

第4单元 核酸

(一) 名词解释

1. 增色效应(hyperchromic effect); 2. 分子杂交 (molecular hybridization); 3. 聚合酶链式反应 (PCR); 4. DNA 的变性与复性 (denaturation and renaturation of DNA); 5. T_m ; 6. 内含子与外显子

(二) 填充题

- 核酸分子中糖环与碱基之间为_____型的_____键，核苷与核苷之间通过_____键连接成多聚体。
- DNA 变性后，紫外吸收_____，粘度_____，浮力密度_____，生物活性_____。
- DNA 双螺旋直径为_____nm，每隔_____nm 上升一圈，相当于_____个碱基对。
- Z-DNA 为_____手螺旋。
- hn-RNA 是真核生物_____的前体。
- 用 Sanger 的链末端终止法测定 DNA 一级结构时，链终止剂是_____。
- 维系 DNA 双螺旋结构稳定的力主要有_____和_____。
- 在碱性条件下，_____核酸比_____核酸更容易降解，其原因是因为_____核酸的每个核苷酸上_____的缘故。

(三) 选择题 (在备选答案中选出 1 个或多个正确答案)

- 有关核酸的杂交
 - DNA 变性的方法常用加热和碱变性
 - 相同来源的核酸才能通过变性而杂交
 - 不同来源的核酸复性时，若全部或部分碱基互补就可以杂交
 - 杂交可以发生在 DNA 与 DNA 之间，RNA 与 DNA，RNA 与 RNA 之间
 - 把待测 DNA 标记成探针进行杂交
- DNA 的复性速度与以下哪些有关
 - 温度
 - 分子内的重复序列
 - pH
 - 变性 DNA 的起始浓度
 - 以上全部
- 某 DNA 分子中腺嘌呤的含量为 15%，则胞嘧啶的含量应为
 - 15%
 - 30%
 - 40%
 - 35%
 - 70%
- DNA 变性是指
 - 分子中磷酸二酯键断裂
 - 多核苷酸链解聚
 - DNA 分子由超螺旋→双螺旋
 - 互补碱基之间氢键断裂
 - DNA 分子中碱基丢失
- 寡聚 dT-纤维素柱层析用于
 - 从总 DNA 中分离纯化质粒 DNA
 - 从总核蛋白中分离 DNP
 - 除去杂蛋白
 - 从总 RNA 中纯化 mRNA
- 关于双螺旋结构学说的叙述哪一项是错误的 (福建师大 1999 年考研题)
 - 由两条反向平行的脱氧多核苷酸链组成
 - 碱基在螺旋两侧，磷酸与脱氧核糖在外围
 - 两条链间的碱基配对非常严格，A 与 T 间形成三个氢键，G 与 C 间形成两个氢键
 - 碱基对平面垂直于中心轴，碱基对之间的作用力为范德华力
 - 螺旋每转一圈包含 10 个碱基对

7. 下列关于双链 DNA 碱基含量关系，哪一个是错误的
A. $A=T, G=C$ B. $A+T=G+C$ C. $A+G=C+T$ D. $A+C=G+T$
8. 下列是几种 DNA 分子的碱基组成比例。哪一种的 T_m 值最高
A. $A+T=15\%$ B. $G+C=25\%$ C. $G+C=40\%$ D. $A+T=80\%$

(四) 判断题

1. 生物体内，天然存在的 DNA 分子多为负超螺旋。
2. RNA 分子可以发生热变性，并有增色效应。
3. 水分子可以插入天然 DNA 分子双螺旋空隙中。
4. 从结构基因中的 DNA 序列可以推出相应的蛋白质序列。
5. 提高盐浓度可使 DNA 分子的熔点 (T_m) 升高。
6. RNA 的局部螺旋区中，两条链之间的方向也是反向平行的。

(五) 分析计算题

1. 简述 B-DNA 的结构特征。
2. 何谓 T_m ? 影响 T_m 大小的因素有哪些? 在实验中如何计算 T_m 值?
3. 如果人体有 10^{14} 个细胞，每个体细胞的 DNA 含量为 6.4×10^9 个碱基对。试计算人体 DNA 的总长度是多少? 是太阳-地球之间距离 (2.2×10^9 公里) 的多少倍? 已知双链 DNA 每 1000 个核苷酸重 $1 \times 10^{-18}g$ ，求人体的 DNA 的总质量。
4. 什么是 DNA 变性? DNA 变性后理化性有何变化?
5. 什么是核酸杂交? 有何应用价值?

参考答案

(一) 名词解释

1. 核酸从双链变为单链的无规则卷曲状态时，在 260nm 处的吸光度增加，称“增色效应”。
2. 不同的 DNA 片段之间，DNA 片段与 RNA 片段之间，如果彼此间的核苷酸排列顺序互补也可以复性，形成新的双螺旋结构。这种按照互补碱基配对而使不完全互补的两条多核苷酸相互结合的过程称为分子杂交。
3. 聚合酶链式反应 (PCR) 是扩增样品中的 DNA 量和富集众多 DNA 分子中的一个特定的 DNA 序列的一种技术。在该反应中，使用与目的 DNA 序列互补的寡核苷酸作为引物，进行多轮的 DNA 合成。其中包括 DNA 变性，引物退火和在 T_{ap} DNA 聚合酶催化下的 DNA 合成。
4. DNA 的变性是指 DNA 双螺旋区的氢键断裂，变成单链并不涉及共价键的断裂。DNA 的复性是指变性 DNA 在适当条件下，又可使两条彼此分开的链重新缔合成为双螺旋结构。
5. 通常把加热变性 DNA 使增色效应达到最大增量一半时的温度称为该 DNA 的熔点或熔解温度，用 T_m 表示。
6. 内含子是指结构基因中存在于外显子之间的非编码序列，也是基因中不表达的序列，属插入序列。外显子是指基因中编码蛋白质的序列。

(二) 填空题

1. β , 糖苷, 磷酸二酯; 2. 增加, 下降, 升高, 丧失; 3. 2, 3, 4, 10; 4. 左; 5. mRNA;
6. 双脱氧核苷三磷酸; 7. 氢键, 碱基堆积力; 8. 核糖, 脱氧核糖, 核糖, $2' -OH$ 。

(三) 选择题

1. (A, C, D) DNA 对碱较稳定，因此 DNA 常用热变性和碱变性。当两条不同来源的 DNA (或 RNA) 链或 DNA 链与 RNA 之间存在互补序列时，在一定条件下可以发生互补配对形成双螺旋分子，即杂交分子。分子杂交是常用标记的探针与待测分子杂交。
2. (E) DNA 的复性速度与温度, 分子内的重复序列, pH, 变性 DNA 的起始浓度, DNA 长度都

有关系。

3. (D) 按照碱基配对规律，A 和 T 的含量 15%，G 和 C 的含量应为 35%。
4. (D) DNA 的变性是指 DNA 双螺旋区的氢键断裂变成单链，并不涉及共价键的断裂。
5. (D) 因为 mRNA 含有 polyA 尾，所以用寡聚 dT-纤维素柱可以从总 RNA 中分离 mRNA。
6. (C) A 和 T 之间形成两个氢键，G 和 C 之间形成三个氢键。
7. (B) 因为 DNA 分子中 A-T, G-C 配对，所以 A=T, G=C, A+G=T+C, A+C=T+G。
8. (A) DNA 的 T_m 值与 G-C 含量成正比，所以 G-C 含量最高的， T_m 值应最高。

(四) 判断题

1. 对。生物体内的负超螺旋 DNA 容易解链，便于进行复制、转录等反应。
2. 对。因为 RNA 有局部双螺旋结构，变性之后形成单链状，所以有增色效应。
3. 错。双螺旋内部碱基对与碱基对间是重叠的电子云，水分子无法进入。
4. 错。真核生物的结构基因中包括内含子和外显子，经转录、加工后只有外显子部分翻译成蛋白质，与蛋白质氨基酸序列相对应。
5. 对。可以减弱核苷酸链之间的磷酸基之间的排斥作用，从而使其分开更难， T_m 升高。
6. 对。RNA 可形成局部双螺旋，两链之间是反向平行的。

(五) 分析计算题

1. (1) 两条反向平行的多核苷酸链围绕同一中心轴相互缠绕形成右手螺旋；(2) 嘌呤和嘧啶碱位于双螺旋的内侧，磷酸和核糖在外侧，彼此通过 3'，5' 磷酸二酯键相连接，形成 DNA 分子的骨架。碱基平面和纵轴垂直，糖环的平面则和纵轴平行；(3) 双螺旋的平均直径为 2nm，两个相邻的碱基对之间相距的高度，碱基堆积距离为 0.34nm，两个核苷酸之间的夹角为 36 度；(4) 两条核苷酸链依靠彼此碱基之间形成的氢键相联系而结合在一起；(5) 碱基在一条链上的排列顺序不受任何限制。

2. DNA 的变性从开始解链到完全解链，是在一个相当窄的温度范围内完成的，在这一范围内，紫外线吸收值的增加量达到最大增加量的 50% 时的温度为 DNA 的解链温度（溶解温度，melting temperature, T_m ）。 T_m 值大小主要与 GC 含量有关，GC 含量越高， T_m 值越大；另外核酸分子越大， T_m 值也越大，溶液 pH 值大于 11.3，核酸完全变性，小于 5.0 则核酸容易脱嘌呤。降低溶液的离子强度会使 T_m 值下降，尿素等变性剂也会使 T_m 值下降。在实验中， T_m 值计算公式： $T_m = 69.3 + 0.41(G+C\%)$ ，小于 20bp 的寡核苷酸： $T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$ 。

3. 每个体细胞的 DNA 的总长度为： $6.4 \times 10^9 \times 0.34 \text{nm} = 2.176 \times 10^9 \text{nm} = 2.176 \text{m}$ ，

3. 人体内所有体细胞的 DNA 的总长度为： $2.176 \text{m} \times 10^{14} = 2.176 \times 10^{11} \text{km}$

这个长度与太阳-地球之间距离 (2.2×10^9 公里) 相比为： $2.176 \times 10^{11} / 2.2 \times 10^9 = 99$ 倍，

每个核苷酸重 $1 \times 10^{-18} \text{g} / 1000 = 10^{-21} \text{g}$ ，所以，总 DNA $6.4 \times 10^{23} \times 10^{-21} = 6.4 \times 10^2 = 640 \text{g}$

4. DNA 双链转化成单链的过程成变性。引起 DNA 变性的因素很多，如高温、超声波、强酸、强碱、有机溶剂和某些化学试剂（如尿素，酰胺）等都能引起变性。DNA 变性后的理化性质变化主要有：(1) 天然 DNA 分子的双螺旋结构解链变成单链的无规则线团，生物学活性丧失；(2) 天然的线型 DNA 分子直径与长度之比可达 1:10，其水溶液具有很大的黏度。变性后，发生了螺旋-线团转变，黏度显著降低；(3) 在氯化铯溶液中进行密度梯度离心，变性后的 DNA 浮力密大大增加；(4) 沉降系数 S 增加；(5) DNA 变性后，碱基的有序堆积被破坏，碱基被暴露出来，因此，紫外吸收值明显增加，产生所谓增色效应。(6) DNA 分子具旋光性，旋光方向为右旋。由于 DNA 分子的高度不对称性，因此旋光性很强，其 $[\alpha]_D^{25} = 150$ 。当 DNA 分子变性时，比旋光值就大大下降。

5. 热变性后的 DNA 片段在进行复性时，不同来源的变性核酸（DNA 或 RNA）只要有一定数量的碱基互补（不必全部碱基互补），就可形成杂化的双链结构。此种使不完全互补的单链在复性的条件下结合成双链的技术称为核酸杂交。用被标记的已知碱基序列的单链核酸小

分子作为探针，可确定待检测的 DNA，RNA 分子中是否有与探针同源的碱基序列。用此原理，制作探针，再通过杂交，可用于细菌，病毒，肿瘤和分子病的诊断（基因诊断）。也可用于基因定位，目的基因筛选，基因表达状况的分析等研究工作。