

生物

如何看懂生物题目中的电泳图

北京市第四中学教师 郭羽

核酸(包括DNA和RNA)电泳或者蛋白质电泳的结果图经常出现在生物试题中,并且与各种情景相结合。考生该如何应对这类问题呢?对此,考生要清楚核酸电泳或者蛋白质电泳的基本原理,结合实验课上观察过的DNA电泳结果,看懂电泳条带的含义,将信息转化为有力的解题工具。

一、核酸或蛋白质电泳的基本原理

在特定的缓冲液中,核酸或者蛋白质分子带负电荷,且带电荷的多少与其分子量成正比。以浸泡在缓冲液中的凝胶作为介质,在凝胶两端施加电场,带负电荷的分子在凝胶中从负极向正极移动。由于分子迁移速率与携带电荷数成正比,小分子比大分子迁移快,因此,电泳是根据分子量大小分离纯化或者鉴定核酸/蛋白质分子的好方法。

电泳结束后,如果想观察到本身无色的条带,可以用染料进行染色,或者用有放射性同位素标记的核酸探针特异性识别核酸片段,或者用带有标记的抗体特异性结合蛋白质分子。以图1中展示的核酸电泳结果为例,最左侧一列“M”是分子量标记,在电泳中必不可少,是用已知分子量大小的片段作为“标尺”,衡量待检测样品的分子量大小。DNA分子量的单位常用bp(碱基对)或者kb(千碱基对)表示,蛋白质分子量的单位常用kD(千道尔顿)表示。按照惯例,电泳图从上往下依次是分子量从大到小的条带。

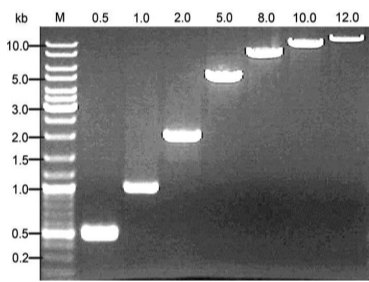


图1

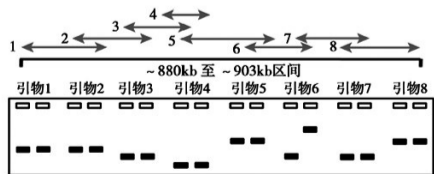
二、电泳结果图在题目中的应用

(一) 电泳区分不同分子量的DNA片段

【例1】在基因工程操作中,科研人员利用识别两种不同序列的限制酶(R_1 和 R_2)处理基因载体,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,结果如右图所示。以下相关叙述中,不正确的是()

- A. 该载体最可能为环形DNA分子
 - B. 两种限制酶在载体上各有一个酶切位点
 - C. 限制酶 R_1 与 R_2 的切点最短相距约200 bp
 - D. 限制酶作用位点会导致氢键和肽键断裂
- 答案:D

【例2】亚洲棉的光籽(无短绒)和毛籽(有短绒)是一对相对性状,研究者获得了一株表型为光籽的突变体甲。研究发现,棉花8号染色体的~880kb至~903kb区间与光籽表型相关。根据野生型毛籽棉的该区间设计连续的重叠引物,提取突变体甲和野生型的_____进行PCR,产物扩增结果如下。



注: \leftarrow代表扩增的区间,其左侧数字为引物编号; \square代表点样处,每对引物对应的电泳结果左为野生型,右为突变体甲。

据图可知,分子量较大的扩增产物与点样处的距离较_____ (选择“大”或“小”),推测8号染色体上第_____对引物对应的区间是突变体甲光籽出现的根本原因。
答案:基因组DNA;小;6

(二) 通过DNA电泳判断基因型

【例3】苯丙酮尿症(PKU)是一种严重的单基因遗传病(显、隐性基因分别用A、a表示)。图2是某患者的家族系谱图,其中II-1、II-2、II-3及胎儿III-1(羊水细胞)的DNA经限制酶Msp I消化,产生不同的片段。经电泳后用苯丙氨酸羟化酶cDNA探针杂交,结果见图3。请回答下列问题:

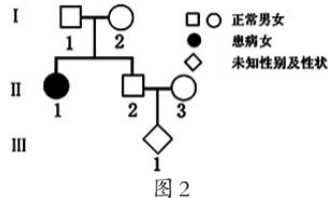


图2

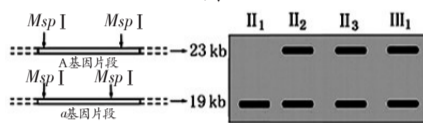


图3

- (1) I-1、II-1的基因型分别为_____。
- (2) 依据cDNA探针杂交结果,胎儿III-1的基因型是_____。

答案:(1)Aa,aa (2)Aa

本题体现了DNA电泳与系谱图、限制酶切相结合进行遗传病的基因诊断。首先根据遗传图判断苯丙酮尿症是常染色体隐性遗传病,则II-1基因型为aa,I-1和I-2的基因型均为Aa。根据图3中基因条带的特征,可以直接读出II-2、II-3、III-1的基因型均为Aa。

【例4】Hedgehog基因(H)广泛存在于无脊椎动物和脊椎动物中,在胚胎发育中起重要作用。我国科研工作者利用基因敲除和核酸分子杂交技术研究了H基因在文昌鱼胚胎发育中的作用。

(1)研究者使用了两种TALE蛋白对文昌鱼的H基因进行敲除。TALE蛋白的结构是人工设计的,蛋白质的中央区能够结合H基因上特定的序列,F区则能在该序列处将DNA双链切开,如下图所示。

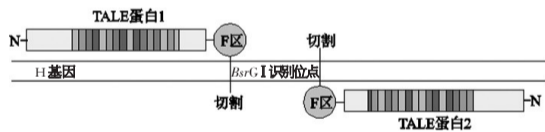


图4 基因敲除示意图

- ① 根据TALE蛋白的功能设计出其氨基酸序列,再根据氨基酸序列对应的_____序列推测出编码TALE蛋白的DNA序列,人工合成DNA序列之后再以其为模板进行_____生成mRNA。
- ② 将两种mRNA用_____法导入文昌鱼的卵细胞中,然后滴加精液使卵受精。此受精卵发育成的个体为 F_0 代。
- ③ F_0 代个体细胞内被两种TALE蛋白处理过的DNA重新连接后,H基因很可能因发生碱基对的_____而丧失功能,基因丧失功能则被称为“敲除”。

(2)提取 F_0 代胚胎细胞DNA,克隆H基因,用_____进行切割,电泳后用放射性同位素标记的H基因片段为探针进行DNA分子杂交,实验结果如图5所示。图中样品_____代表的 F_0 个体中部分H基因已被敲除。

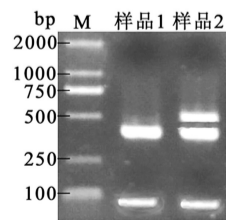


图5 DNA电泳及杂交结果

- 答案:(1)①密码子(mRNA);转录 ②显微注射
- ③缺失 (2)BsrG I;样品2

例4中,成功被“敲除”的H基因由于缺乏BsrG I酶切位点,无法被切开,因此电泳时表现为有更大的片段;而样品1中只有被酶切开的两条小片段。

【例5】水稻是我国主要的农作物之一,水稻的花为两性花,雄性不育植株不能产生可育花粉,但能产生正常雌配子。
(1)在雄性不育系大田中偶然发现,一株黄叶突变体

X,将突变体X与正常水稻H杂交得 F_1 均为绿叶, F_1 自交得 F_2 群体中绿叶、黄叶之比为3:1。由以上可以推测,X的黄叶性状由_____性基因控制。

(2)为确定控制黄叶基因的位置,选用某条染色体上的两种分子标记(RM411和WY146),分别对 F_2 的绿色叶群体的10个单株(10G)和黄色叶群体10个单株(10Y)进行PCR,之后对所获得的DNA进行电泳,电泳结果可反映个体的基因型。M为标准样品,结果如下图所示。

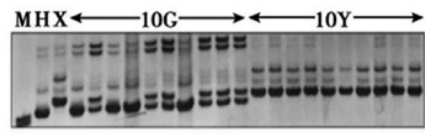


图6

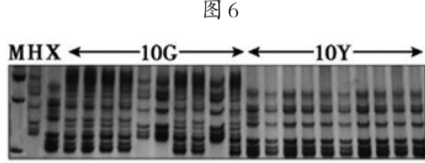


图7

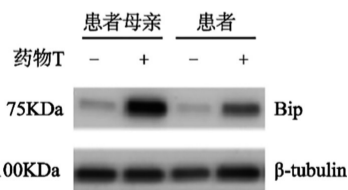
从上图可以看出,每图的10G个体中的基因型为_____种,其中_____ (填写“图6”或“图7”)的比例与理论比值略有不同,出现不同的最可能原因是_____。每图中10Y的表现均一致,说明两个遗传标记与黄叶基因在染色体上的位置关系是_____。

答案:(1)隐 (2)2;图6;待测样本数少;位于同一条染色体上

本题是通过PCR扩增和电泳染色体上已知分子标记的方法对未知基因进行定位。其实同源染色体上同一位置不同大小的分子标记可以视为等位基因,因此是通过电泳判断基因型的一种特例。以RM411为例,设水稻H的分子标记基因型为RR,水稻X的为rr,则由图可见10G中RR:Rr=4:6,而10Y全都为rr,可以判断黄叶基因和r连锁。若黄叶基因与RM411标记不连锁,则为自由组合,黄叶个体中RR:Rr:rr≈1:2:1,PCR结果不会全都是rr。在连锁的情况下, F_2 的绿色叶群体中RR:Rr的理论值为1:2,但实际为4:6,是因为只取了10株,样本量太少,导致误差较大。

(三) 蛋白质电泳示蛋白质表达量变化

【例6】完全色盲患者眼部感光细胞功能异常,经过测序发现,该疾病是由基因A单个碱基对的替换导致。研究者推测患者的基因A突变导致Bip蛋白(功能:帮助蛋白质进行折叠)的表达受影响。从患者母亲(正常人)和患者体内获取成纤维细胞进行体外培养,分别用能促进基因A表达的药物T处理。一段时间后,用凝胶电泳方法测定Bip蛋白和 β -tubulin蛋白含量,结果如图所示。



(1)由于细胞中 β -tubulin蛋白的表达量相对稳定,在实验中可作为_____物质,以排除细胞培养操作、_____检测方法等无关变量对实验结果的影响。

(2)患者母亲的实验数据说明:_____;综合患者母亲和患者的实验数据,推测患者感光细胞功能异常的原因可能是_____。

答案:(1)参照(或“标准”);点样量(或“加样量”)
(2)基因A表达促进正常人Bip蛋白的表达;突变基因对Bip基因表达的促进作用降低,进而影响了感光细胞中的蛋白质折叠

例6中,需要注意细胞骨架蛋白如actin等由于表达量相对稳定,经常被用作蛋白质电泳的“内参”。题中已经说明了“内参”的作用,是蛋白质定量的必要参照。