第 147 环 · 凋亡的执行

caspase（胱天蛋白酶） caspase (cysteine aspartic protease)
华农 2 次 · 外校 2 校次

1. 定义 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白水解酶 **2.** 场所 存在于细胞质中
3. 组成 活性位点包含半胱氨酸残基 **4.** 机制 切割靶蛋白活化或失活而非完全降解
5. 分类 炎症caspase产生白介素1 **6.** 过程 起始caspase负责切割效应酶
7. 机制 效应酶负责切割结构蛋白和调控蛋白

凋亡复合体 apoptosome
华农 2 次

1. 定义 凋亡内源途径的多蛋白复合物 **2.** 过程 线粒体释放细胞色素c
3. 过程 细胞色素c与APAF-1结合聚合 **4.** 组成 APAF-1招募caspase-9酶原
5. 机制 caspase-9酶原同源活化 **6.** 意义 激活caspase-3/7引发凋亡

Apaf-1 apoptotic protease activating factor 1
华农 1 次

1. 定义 凋亡蛋白酶活化因子-1 **2.** 条件 细胞色素c从线粒体释放 **3.** 组成 组装凋亡复合体
4. 机制 作为平台活化caspase-9 **5.** 过程 再活化效应caspase **6.** 意义 启动凋亡内源途径

p53
华农 1 次

1. 定义 转录因子 **2.** 条件 DNA损伤使p53水平上升 **3.** 机制 激活DNA修复系统
4. 机制 启动下游基因转录 **5.** 定义 肿瘤抑制因子 **6.** 机制 诱导凋亡或细胞衰老
7. 意义 避免DNA损伤细胞癌变

大题｜2010 细胞 · 论述

从细胞受损和胁迫开始直到凋亡发生的主要事件

1. 胁迫信号 DNA损伤、氧化应激、病原体感染、生长因子缺乏、内质网应激
2. p53 DNA损伤经ATM/ATR激活p53，诱导Bax、Puma
3. BH3 蛋白 只含BH3结构域的蛋白（Bid、Bim、Puma）被激活
4. 解除抑制 解除Bcl-2、Bcl-xL对Bax、Bak的抑制
5. 外膜通透 Bax、Bak寡聚化转到线粒体外膜，VDAC开放，膜电位下降
6. 释放 细胞色素c、Smac、AIF从膜间隙释放到细胞质
7. 凋亡复合体 细胞色素c与Apaf-1（dATP）组装凋亡复合体，活化caspase-9
8. Smac 结合cIAP解除对caspase的抑制，与外源途径交汇
9. 外源途径 Fas配体、TNF结合死亡受体，FADD招募caspase-8酶原成DISC
10. 放大 caspase-8切割Bid成tBid，转到线粒体激活内源途径
11. 执行 效应caspase-3、6、7切割核纤层蛋白、骨架蛋白、PARP
12. DNA 降解 caspase激活的脱氧核糖核酸酶进入细胞核，在核小体间切断DNA
13. 不依赖 caspase AIF、核酸内切酶G降解DNA
14. 形态 染色质固缩边集、细胞皱缩、质膜起泡包裹成凋亡小体
15. 清除 磷脂酰丝氨酸外翻“吃我”信号，被吞噬，不引起炎症

大题｜2009 细胞 · 问答

诱导细胞凋亡的因子有哪些，试举 2 例

1. 外源因子 TNF、Fas配体、TRAIL
2. 免疫因素 穿孔素、颗粒酶、糖皮质激素
3. 内源因子 DNA损伤、氧化应激、内质网应激
4. 内源因子 生长因子/细胞因子缺乏、Ca^{2+}失衡、病毒感染
5. 理化因素 电离辐射、紫外线、热、化疗药物
6. 举例1机制 Fas配体结合Fas受体
7. 举例1机制 三聚化-FADD-caspase-8-DISC
8. 举例1机制 caspase-8活化-caspase-3
9. 举例2机制 DNA损伤-ATM/ATR-p53
10. 举例2机制 p53诱导Bax/Puma，线粒体释放细胞色素c
11. 举例2机制 Apaf-1-caspase-9-caspase-3
12. 意义 清除病毒感染细胞、多余淋巴细胞；p53突变不敏感

大题｜精华例题

线粒体与细胞凋亡

1. 外膜通透化 Bax、Bak寡聚，Bcl-2抑制
2. 外源途径 caspase-8切割Bid激活Bax、Bak
3. 释放结合 细胞色素c漏到胞质与Apaf-1结合
4. 凋亡体 dATP聚凋亡体，CARD激活caspase-9
5. 级联 caspase-9切割激活caspase-3、7
6. 底物切割 切割核纤层蛋白、细胞骨架蛋白、ICAD
7. DNA切割 CAD把DNA切成约200 bp整倍数
8. 形态变化 细胞皱缩、染色质凝集、凋亡小体被吞噬
9. 其他因子 Smac解除IAP；AIF不依赖caspase
10. 2022打孔 多肽打孔，细胞色素c、Smac进入胞质
11. 2022后果 激活凋亡体和caspase级联，细胞凋亡
12. 线粒体损伤 电子传递受损、ATP合成减少、ATP耗竭转为坏死

大题｜精华例题

程序性坏死和凋亡在质膜上有什么差别；TNF 怎样引起程序性坏死（660）

1. 凋亡质膜 质膜保持完整、内容物不外漏
2. 凋亡早期 磷脂酰丝氨酸翻到外层
3. 凋亡后期 质膜反折形成凋亡小体
4. 坏死质膜 MLKL形成通道，质膜破裂内容物外漏
5. TNF受体 TNF结合TNFR1诱导凋亡或坏死
6. 坏死复合物 RIPK3聚成坏死复合物并磷酸化活化
7. RIPK3作用 RIPK3招募并磷酸化MLKL
8. MLKL成通道 MLKL结合磷脂酰肌醇磷酸，质膜屏障消失

大题｜2025 首都师范大学

说明外源凋亡信号介导的细胞凋亡途径。

1. 起始受体 Fas 在 Fas 配体刺激下
2. 招募 FADD 招募 caspase-8 酶原到细胞膜
3. 复合物 形成死亡诱导信号复合物 DISC
4. 激活 caspase-8 酶原自身切割同源活化
5. 切割 切割 caspase-3 酶原
6. 结果 有活性 caspase-3 导致细胞凋亡

大题｜2025 西北大学

简述细胞凋亡的分子机制。（15 分）

1. 外源 Fas-FADD招募caspase-8
2. 外源 DISC中caspase-8同源活化
3. 外源 caspase-8切割caspase-3
4. 内源 线粒体释放细胞色素c
5. 内源 APAF-1形成凋亡复合体
6. 内源 凋亡复合体活化caspase-9
7. 内源 caspase-9活化caspase-3
8. 关联 切割Bid→Bax/Bak放大
9. 关联 Smac活化caspase-8交汇
10. 非依赖 AIF、限制性内切核酸酶G

第 148 环 · 程序性坏死与焦亡

程序性坏死 programmed necrosis (necroptosis)
外校 2 校次

1. 定义 细胞死亡方式的一种 **2.** 机制 不同信号触发、信号传递分子介导
3. 特点 膜通透性增高、细胞肿胀 **4.** 特点 细胞器变形或肿大
5. 特点 早期核无明显形态学变化 **6.** 特点 细胞破裂、释放内含物、引起炎症

细胞焦亡 pyroptosis
外校 1 校次

1. 定义 伴随大量炎性因子释放的程序性坏死 **2.** 条件 病原体感染等触发
3. 机制 炎性caspase切割GSDMD **4.** 过程 形成质膜孔洞 **5.** 过程 释放IL-1β
6. 过程 钠离子伴随大量水分子内流 **7.** 过程 细胞膨胀破裂死亡

大题｜2025 东北林业大学

什么是细胞程序性死亡？简述植物细胞和动物细胞程序性死亡的生理学意义。

1. 定义 内在遗传机制控制的主动死亡
2. 胚胎发育 保证胚胎发育、塑造器官形态、免疫耐受
3. 自稳态 凋亡和增殖速率维持细胞数量稳定
4. 肿瘤监控 清除受损细胞、DNA损伤诱发凋亡
5. 替补凋亡 凋亡不能正常发生时作为替补
6. 免疫反应 DAMP、PAMP释放促发免疫反应
7. 植物防御 超敏反应阻止病原体侵染其他部位
8. 环境胁迫 缺氧、高盐引发程序性死亡
9. 发育分化 发育进程中细胞组织分化

大题｜2025 厦门大学

Casdermin D（GSDMD）在细胞焦亡中发挥关键作用，已知 GSDMD 的切割生成的 N 端蛋白片段可以在细胞膜上形成膜孔，引起细胞内容物外泄，从而诱导细胞死亡。最近科学家发现一种药物处理细胞，会引发细胞发生典型的细胞焦亡形态变化，但是 Western Blotting 检测并没有发现 Casdermin D 切割 N 端片段，请给出这种药物几种可能的作用机制。

1. 正常机制 炎性小体/病原体成分活化caspase-1/4/5/11
2. 正常机制 切割GSDMD中部特异位点→N端片段聚合成质膜孔洞
3. 机制1 抑制炎性caspase活性
4. 机制2 竞争结合GSDMD切割位点
5. 机制3 激活替代通路直接改变膜通透性形成膜孔
6. 机制4 影响线粒体释放AIF、Endo G切割核DNA
7. 机制5 破坏细胞膜脂质双层结构或膜蛋白组成
8. 机制6 调节钙离子浓度导致细胞膜通透性增加

大题｜2026 厦门大学

细胞程序性坏死和细胞凋亡在细胞质膜上的差异，以及 TGF（肿瘤坏死因子）介导细胞程序性坏死的信号通路。

1. 凋亡质膜 质膜完整，膜反折形成凋亡小体
2. 凋亡磷脂 磷脂酰丝氨酸外翻，不引发炎症
3. 坏死质膜 质膜破裂形成孔洞，内容物外泄
4. 坏死炎症 诱发炎症，无凋亡小体形成
5. 第一步 RIPK3聚合形成坏死复合物
6. 第二步 RIPK3在坏死复合物中磷酸化活化
7. 第三步 RIPK3招募并磷酸化MLKL，MLKL寡聚化
8. 第四步 磷酸化MLKL寡聚体结合PIP，膜上形成通道

第 149 环 · 植物程序性死亡

大题｜2009 细胞·问答

各举 1 例说明植物 PCD 在器官建成和抗逆中的作用

1. 器官建成例 导管分化：液泡破裂、原生质体被消化
2. 其他例子 绒毡层退化、胚乳储存养分、离层细胞死亡
3. 抗逆例① 超敏反应
4. 超敏反应 侵染点周围细胞主动死亡、活性氧爆发、形成枯斑
5. 作用 把病原体困住、断其营养、诱导系统获得性抗性
6. 抗逆例② 淹水缺氧时乙烯诱导皮层细胞死亡形成通气组织
7. 意义 改善氧气供应，增强耐涝性

大题｜2007 细胞·论述

胚乳细胞一边程序性死亡，一边高效积累养分

1. 发生时间 灌浆期开始，中心向外周，与养分积累重叠
2. 成熟时 除外层糊粉层细胞外，淀粉胚乳细胞全部死亡
3. 细胞核 核变形、染色质凝集、DNA断裂
4. 细胞器 细胞器解体，细胞壁和淀粉粒蛋白体保留
5. 调控 乙烯促进、ABA延缓，发育程序控制
6. 糊粉层 存活到萌发，赤霉素诱导分泌水解酶后PCD
7. 协调安排 同一发育程序协调，使命是为胚储存养分
8. 边死边存 先保证储藏物质合成，降解细胞核和细胞器
9. 意义 不再消耗养分、耐储藏、水解酶分解储藏物
10. 应用 启动过早产量降低，调控时间提高粒重和品质

大题｜精华例题

植物 PCD 与动物凋亡的异同（以导管分化为例）

1. 第一步 伸长、加厚次生壁（木质化）
2. 第二步 液泡膜破裂、水解酶倾泻；或与质膜融合
3. 第三步 细胞核、细胞器、原生质体被消化
4. 过程结果 端壁穿孔，只剩加厚细胞壁
5. 植物启动 发育程序、超敏反应、缺氧高盐、乙烯赤霉素
6. 动物启动 DNA损伤、生长因子缺乏、死亡配体、甲状腺激素
7. 植物执行 类caspase活性的液泡加工酶和metacaspase
8. 植物执行 没有典型caspase级联和凋亡小体
9. 动物执行 caspase级联、染色质固缩、DNA梯状断裂、凋亡小体
10. 植物结果 细胞壁保留成导管、管胞，不需吞噬细胞
11. 动物结果 凋亡小体被巨噬细胞或邻近细胞吞噬，不留残迹不发炎
12. 相同点 基因控制主动死亡、染色质凝集和DNA降解、DNA梯状条带、参与发育防御

第 150 环 · 癌基因与抑癌基因

癌基因 oncogene
华农 2 次

1. 定义 控制细胞生长和分裂的正常基因　**2.** 过程 突变引起正常细胞癌变
3. 分类 分为细胞癌基因和病毒癌基因　**4.** 定义 正常细胞基因组中起主要调控作用
5. 过程 突变或被异常激活后具有致癌能力
6. 定义 反转录病毒基因组带有，使宿主细胞癌变

抑癌基因 tumor suppressor gene
外校 2 校次

1. 定义 编码正常细胞增殖负调控因子的基因　**2.** 定义 又称抗癌基因
3. 机制 检查点上阻止周期进程或促进细胞凋亡　**4.** 机制 突变丧失细胞增殖负调控作用
5. 机制 细胞周期失控而过度增殖　**6.** 举例 p53、Rb

原癌基因 proto-oncogene
外校 1 校次

1. 定义 正常细胞中存在的一类基因　**2.** 特点 参与细胞生长和分化
3. 组成 生长因子、受体、信号转导蛋白等　**4.** 机制 发生突变或过度表达转变为癌基因
5. 过程 细胞生长失控形成肿瘤　**6.** 意义 理解肿瘤发生机制、开发治疗策略

肿瘤干细胞 cancer stem cell
外校 1 校次

1. 定义 存在于某些肿瘤组织中　**2.** 定义 干细胞样细胞
3. 特点 无限增殖、转移、抗化学毒物损伤　**4.** 特点 高致瘤性　**5.** 特点 耐药性强

癌细胞 cancer cell
外校 1 校次

1. 定义 细胞分裂调节失控而无限增殖　**2.** 分类 仅位于某些组织等部位称为良性肿瘤
3. 举例 疣和息肉　**4.** 特点 浸润性、扩散性和转移能力　**5.** 分类 称为恶性肿瘤，即癌症发生
6. 分类 源于上皮组织的恶性肿瘤称为癌

大题｜2021 细胞・简答

突变率稳定，为什么癌症发病率随年龄急剧增高；白血病为什么不同

1. **多步癌变** 累积多次独立的打击
2. **基因事件** 原癌基因激活、抑癌基因两个拷贝失活
3. **结肠癌例** APC失活→K-ras激活→p53失活
4. **概率时间** 各次概率的乘积、很长时间很多次细胞分裂
5. **加速** 前一步突变让后续突变更快
6. **年龄上升** 发病率幂次上升而非线性
7. **环境机体** 致癌物暴露时间越长免疫监视DNA修复下降
8. **白血病** 少数关键事件、染色体易位融合基因
9. **造血干细胞** 造血干细胞增殖旺盛、累积突变时间短
10. **结论** 儿童期发病高峰不随年龄陡升

大题｜精华例题

原癌基因突变为什么会致癌；p53 在 DNA 损伤后的功能（660）

1. **定义** 正常基因 调控细胞生长和分裂 不致癌
2. **编码产物** 生长因子 跨膜受体 G蛋白 蛋白激酶 转录因子
3. **突变致癌** 异常激活 功能获得 持续分裂信号
4. **举例** Ras GTP酶活性丧失 MAPK持续激活
5. **遗传显性** 显性 一个突变足以起作用
6. **累积癌变** 叠加抑癌基因失活 修复基因失灵 突变累积
7. **活化** p53被ATM ATR磷酸化活化
8. **p53停G_1** p21抑制E-CDK2 pRb扣E2F
9. **凋亡** 损伤过重 诱导凋亡
10. **意义** 基因组卫士 失活后不停不修不死

大题｜2025 苏州大学

什么是原癌基因？为什么原癌基因突变后可能会导致细胞癌变？

1. **定义** 正常细胞基因组中的癌基因
2. **正常功能** 调控细胞生长和分化
3. **癌变原因** 突变或异常激活成癌基因
4. **机制①** 编码区突变改变产物性质
5. **机制②** 调节区突变使表达量增加
6. **机制③** 染色体重排合成融合蛋白
7. **机制④** 病毒感染、化学致癌物、辐射
8. **结论** 打破生长增殖正常调控

大题｜2025 中国科学院大学

Rb 基因是第一个被克隆的抑癌基因，最初发现于儿童的视网膜母细胞瘤。Rb 基因定位于人类 13 号染色体，全长 200Kb，在大量患者的肿瘤细胞中均发现 Rb 基因异常。（1）请提出两种可能导致 Rb 基因失活的原因.（2）试设计实验证明你的假说

1. **原因一** Rb 基因突变、蛋白功能异常
2. **原因二** 13号染色体缺失、易位或重排
3. **实验材料** 肿瘤组织与正常组织对照
4. **基因测序** Rb 基因全序列测序
5. **构建突变体** CRISPR-Cas9 构建突变体
6. **增殖检测** 细胞计数法或 MTT 法
7. **细胞周期** G_0/G_1 减少、$S/G_2/M$ 增加
8. **核型分析** 13q14 缺失、易位或重排
9. **FISH验证** Rb 基因信号缺失、减弱或位置改变
10. **显带验证** 染色体显带技术

大题｜2026 湖南师范大学

从周期蛋白 - CDK 复合体和检验点调控角度，分析癌细胞增殖失控的可能机制

1. **结论** 周期蛋白-CDK异常激活与检验点失效
2. **正常调控** Cyclin与CDK结合推动G1→S、G2→M
3. **G1/S检验点** Rb抑制E2F、阻止DNA复制启动
4. **G1/S检验点** Cyclin D-CDK4/6磷酸化Rb
5. **癌细胞** Cyclin D或CDK4/6过表达、Rb持续失活
6. **DNA损伤检验点** p53上调p21抑制CDK、停滞修复
7. **p53失活** p53突变或失活、损伤DNA继续复制
8. **纺锤体检验点** 纺锤体检验点失效、染色体错误分离

大题｜2026 浙江师范大学

抗癌基因 p53 在 DNA 损伤后的主要功能

1. **前提** DNA损伤使p53水平上升
2. **修复** p53作为转录因子激活DNA修复系统
3. **转录** 启动下游基因转录包括p21
4. **周期阻滞** p21抑制cyclin-CDK→周期阻滞
5. **凋亡** 严重损伤诱导凋亡因子表达→程序死亡

第 151 环 • 显微镜

负染色 negative staining

华农 2 次

1. **定义** 电镜制样技术　2. **组成** 磷钨酸、醋酸双氧铀等重金属盐溶液
3. **过程** 对载网上样品染色，干燥后形成重金属盐薄层
4. **特点** 衬托精细结构，分辨率可达1.5nm左右
5. **应用** 显示纯化的线粒体、核糖体、病毒等细胞组分

原子力显微镜 atomic force microscope (AFM)

华农 1 次

1. **定义** 利用微小探针操纵和测量样品　2. **功能** 测量形貌和微观力学性质
3. **应用** 研究蛋白质折叠展开、配体结合

大题｜2013 细胞・实验

什么是分辨率，影响因素有哪些，怎样提高

1. **定义** 区分开两个相邻质点的最小距离

2. **区别** 放大不能增加细节

3. **公式** D＝0.61λ÷(N・sin(α/2))

4. **符号** λ波长、N折射率、α镜口角、数值孔径

5. **关系** 波长越短、数值孔径越大，D越小

6. **光镜数据** 可见光400～700 nm、油镜N约1.5、分辨极限约0.2 μm

7. **油镜** 滴香柏油增大折射率和数值孔径

8. **光镜提高** 短波长光、物镜质量、共聚焦或超分辨

9. **电镜原理** 电子束波长极短、加速电压越高波长越短

10. **电镜限制** 球差等像差、很小镜口角、约0.2 nm、制样限制

11. **电镜提高** 提高加速电压、校正透镜像差

12. **改进制样** 快速固定、超薄切片、负染、冷冻制样与冷冻电镜

大题｜2009 细胞・实验

怎样制备透射电镜用的超薄切片

1. **原理** 电子束穿透力弱、需在高真空中工作

2. **取材** 迅速取下 1 mm^3 以内的小块，培养细胞离心成团

3. **固定** 2.5% 戊二醛前固定、1% 四氧化锇后固定

4. **植物固定** 植物材料抽气使固定液渗入

5. **脱水** 乙醇或丙酮由低到高浓度梯度逐级脱水

6. **浸透包埋** 环氧树脂逐步浸透，放入包埋模具，加温聚合

7. **切片** 超薄切片机配玻璃刀或金刚石刀切 40～50 nm

8. **染色** 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色，增加电子散射

9. **观察** 透射电镜下观察、拍照

第 152 环 ・ 荧光技术

免疫荧光技术 immunofluorescence technique

华农 1 次 ・ 外校 1 校次

1. **定义** 免疫学方法与荧光标记技术结合　**2.** **意义** 研究特异蛋白抗原在细胞内的分布

3. **分类** 直接免疫荧光和间接免疫荧光　**4.** **过程** 荧光抗体制备、免疫染色、观察记录

荧光共振能量转移（FRET） fluorescence resonance energy transfer

华农 1 次

1. **定义** 检测活细胞内两种蛋白质相互作用　**2.** **过程** 供体发出荧光A、受体不被激发

3. **条件** 供体发射光谱与受体吸收光谱重叠　**4.** **条件** 间距小于10纳米

5. **机制** 供体能量转移至受体发出荧光B

流式细胞术 flow cytometry

外校 1 校次

1. **定义** 对细胞定量分析与分选　**2.** **条件** 特异荧光染色　**3.** **过程** 细胞逐个通过激光束

4. **机制** 液滴带电，依电荷差异分选　**5.** **意义** 定量DNA/RNA、特异蛋白含量

6. **意义** 统计亚群、分离特定细胞或染色体

大题｜2011 细胞・实验

免疫荧光的原理；怎样提高阳性检出率、减少非特异性染色

1. **原理** 抗原抗体特异性结合、荧光素标记抗体

2. **原理** 激发光照射发荧光、定性定位

3. **原理** 间接法二抗信号放大

4. **提高阳性** 高亲和力高特异性抗体

5. **提高阳性** 固定透化适度、抗原修复

6. **提高阳性** 间接法/多层放大、抗淬灭剂及时观察

7. **减少非特异** BSA、正常血清封闭非特异位点

8. **减少非特异** 最佳抗体浓度时间温度、充分洗涤

9. **减少非特异** 预吸附二抗、醛基淬灭自发荧光

10. **减少非特异** 阴性阳性单染对照、排除假阳性

大题｜精华例题

荧光显微镜的应用：三色标记、微管动态、观察细胞器

1. **定位应用** 免疫荧光、荧光探针、荧光蛋白融合定位

2. **动态流动** 活细胞延时观察、漂白恢复测膜流动性和分子更新

3. **多色定量** 多色标记观察结构关系、共聚焦三维重建、流式细胞术定量

4. **分子互作** 荧光共振能量转移检测分子相互作用

5. **三色探针** MitoTracker、DAPI小沟、鬼笔环肽F-肌动蛋白

6. **固定透化** 4%多聚甲醛固定、Triton X-100透化

7. **染色顺序** MitoTracker固定前染、鬼笔环肽DAPI透化后染

8. **成像对照** 波长分开、三通道叠加、单染对照

9. **微管标记** GFP-α-微管蛋白转染、荧光微管蛋白掺入微管

10. **动态不稳** 实时看组装解聚、正极端生长与缩短交替（动态不稳定性）

11. **细胞器探针** ER-Tracker、KDEL、神经酰胺、高尔基体驻留酶

12. **溶酶体探针** LysoTracker弱碱性、酸性腔质子化富集

13. **活细胞流程** 爬片37°C孵育15～30分钟洗去、转染24～48小时

14. **免疫荧光** 固定→透化→封闭→标志蛋白一抗→荧光二抗→封片

大题｜精华例题

荧光漂白恢复、荧光共振能量转移的原理；GFP 的应用（660）

1. **标记** 荧光素或GFP与蛋白或脂质偶联
2. **光漂白** 高能激光小块区域不可逆淬灭
3. **恢复与定量** 未漂白分子移入恢复，速度算扩散系数迁移率
4. **FRET体系** CFP供体YFP受体融合，光谱重叠，只激发CFP
5. **距离荧光** 10 nm内CFP减弱YFP增强，以上只见CFP
6. **FRET法** 活细胞内实时检测直接结合，效率反映强弱
7. **酵母双杂交** 诱饵接DNA结合域、猎物接激活域，报告基因表达
8. **酵母双杂交特点** 活细胞灵敏、可筛选未知结合蛋白、假阳性
9. **免疫共沉淀** 温和裂解，抗体加蛋白A微珠拉下复合物
10. **鉴定** SDS-PAGE、Western印迹或质谱鉴定
11. **局限** 分不清直接还是间接结合
12. **GFP应用** 融合看定位动态，FRAP/FRET，报告基因

大题｜2025 中国科学技术大学

简述荧光漂白恢复技术原理

1. **标记** 荧光素GFP偶联标记膜蛋白或膜脂
2. **漂白** 激光照射形成光漂白区
3. **恢复** 蛋白质运动使荧光恢复
4. **推算** 荧光恢复速度推算扩散速度

大题｜2026 浙江师范大学

简述荧光共振能量转移技术的原理

1. **定义** 检测蛋白质是否直接相互作用
2. **供体** 供体分子被激发出荧光A
3. **受体** 同一激发光不能激发受体发出荧光B
4. **光谱重叠** 荧光光谱A与吸收光谱B相互重叠
5. **距离条件** 两个发光基团距离小到一定程度
6. **FRET** 能量转移，以供体波长A观察受体荧光B
7. **体内** 荧光标记，距离10 nm之内可能FRET
8. **结论** 认为存在直接相互作用

大题｜2026 苏州大学

举例说明绿色荧光蛋白 GFP 在细胞生物学研究中的应用

1. **应用一** 基因表达与定位
2. **方法** GFP与目标蛋白融合表达观察活细胞分布
3. **举例** GFP标记微管蛋白追踪微管形态变化
4. **应用二** 细胞器动态示踪
5. **方法** 特定信号肽引导GFP定位至细胞器
6. **举例** mito-GFP观察线粒体融合、分裂及运输
7. **应用三** 分子相互作用检测
8. **技术** 结合FRET技术
9. **连接** GFP与变异体YFP分别连接至互作蛋白质
10. **判断** 通过能量转移效率判断是否直接结合

第 153 环 · 离心与盐析

非细胞体系 cell-free system
华农 2 次

1. **定义** 去除完整细胞结构 **2.** **定义** 保留生物大分子及代谢必需组分 **3.** **定义** 体外实验系统
4. **特点** 成分可控、干扰因素少、反应高效 **5.** **意义** 体外转录翻译、DNA复制等研究

盐析 salting out
华农 1 次 · 外校 1 校次

1. **定义** 离子强度到一定水平时蛋白质沉淀 **2.** **机制** 大量盐离子降低水活度
3. **机制** 自由水转变为盐离子的水化水 **4.** **机制** 暴露疏水基团，疏水聚集沉淀
5. **意义** 分离纯化蛋白质 **6.** **特点** 保持蛋白质天然构象 **7.** **举例** 常用硫酸铵

密度梯度离心 density gradient centrifugation
外校 1 校次

1. **定义** 分离细胞组分的技术 **2.** **过程** 样品铺在蔗糖/氯化铯密度梯度
3. **机制** 重力或离心力按沉降率形成不同带 **4.** **分类** 速度沉降分离密度相近、大小不同
5. **分类** 等密度沉降分离密度不同 **6.** **意义** 分离纯化不同特性样品

盐溶 salting in
外校 1 校次

1. **条件** 低浓度中性盐 **2.** **定义** 增加蛋白质溶解度 **3.** **机制** 吸附盐类离子后带电层排斥
4. **机制** 蛋白质与水分子相互作用加强

透析 Dialysis
外校 1 校次

1. **定义** 蛋白分子不能通过半透膜 **2.** **定义** 蛋白质与其他小分子物质分离
3. **组成** 玻璃纸等纤维素材料 **4.** **过程** 待纯化蛋白溶液装透析袋
5. **条件** 放入透析液（蒸馏水或缓冲液） **6.** **过程** 更换至小分子物质浓度最少

大题｜精华例题

纯化表与活力单位的计算

1. **回收率** 回收率=最后总活力/粗提液总活力=80%
2. **粗提液比活力** 360/150=2.4 U/mg
3. **最后比活力** 288/0.08=3600 U/mg
4. **纯化倍数** 3600/2.4=1500倍
5. **每小时分解** 0.25×60/5=3 g
6. **1 mL活力** 1 mL含3个活力单位
7. **1000 mL** 1000 mL含3×1000=3000单位
8. **每克酶制剂** 每克酶制剂含3000个活力单位

大题｜2026 厦门大学

从猪肝匀浆中分离纯化蛋白 X 现有 SDS-PAGE、WB、280nm 紫外检测计、盐析、透析、凝胶层析柱、酶活力测定等手段（1）利用上述手段分离纯化蛋白X 写出方案和流程图 （2）上述手段哪些是分离手段哪些是检测手段 （3）WB 的原理? 以及 WB 在分离纯化蛋白 X 中起什么作用?

1. **材料预处理** 猪肝匀浆 离心取上清
2. **初步分离脱盐** 硫酸铵分级沉淀 透析除去硫酸铵
3. **精细分离洗脱** 凝胶层析 280 nm 紫外检测 蛋白峰
4. **鉴定纯度** SDS-PAGE 检测纯度
5. **鉴定目标蛋白** WB 特异性鉴定目标蛋白X
6. **检测活性** 酶活力测定 生物活性
7. **分离手段** 盐析 透析 凝胶层析柱
8. **检测手段** SDS-PAGE WB 紫外 酶活力测定
9. **WB原理** 免疫印迹 凝胶电泳 分子量 固相支持物 抗体
10. **WB作用** 特异性鉴定 定性检测 纯度与完整性 追踪定位

第 154 环 · 层析

亲和层析 affinity chromatography

华农 2 次 · 外校 2 校次

1. **定义** 生物分子对配体专一性识别　2. **机制** 特异性配体共价固定于载体
3. **机制** 目标分子特异吸附、洗脱纯化　4. **举例** 凝集素、免疫亲和层析
5. **特点** 一步处理分离很少蛋白质　6. **特点** 去除失活杂质

分子筛效应 molecular sieve effect

外校 1 校次

1. **定义** 凝胶过滤又称大小排阻层析、分子筛　2. **机制** 多孔介质排阻能力不同分离蛋白
3. **过程** 比凝胶孔径大的分子不能进入凝胶珠　4. **过程** 比凝胶孔径小的分子流动距离长
5. **过程** 大分子物质先被洗脱出来　6. **过程** 小分子物质后被洗脱出来
7. **特点** 同样质量线型分子在前球状分子在后

大题｜2023 生化・问答

列举三种纯化方法并说明原理

1. **盐析条件** 加入大量中性盐（常用硫酸铵）
2. **盐析原理** 盐离子夺走水化层并中和表面电荷，蛋白质聚集沉淀
3. **分段沉淀** 不同蛋白质开始沉淀的盐浓度不同，可分段沉淀
4. **离子交换原理** pH下带电不同，与相反电荷交换剂结合强弱不同
5. **交换剂洗脱** DEAE结合负电，CM结合正电，盐/pH洗脱
6. **凝胶过滤** 大分子不能进孔先流出，小分子进孔后流出
7. **亲和层析** 特异可逆结合配体固定，目标蛋白留住后洗脱

大题｜2013 生化・分析

设计纯化方案（8 分）

1. **思路** 杂蛋白甲 pI 不同，按电荷分
2. **思路** pI 几乎相同，分子量相差一倍多，按大小分
3. **条件** pH 6.0～6.5 上 DEAE-纤维素柱
4. **原理** 酶带负电被吸附，杂蛋白甲带正电流出
5. **洗脱** 提高盐浓度，把酶洗脱下来
6. **凝胶** 覆盖 10 000～24 000 的凝胶
7. **分离** 酶分子较大先流出，杂蛋白乙进入凝胶孔后流出
8. **顺序** 先离子交换后凝胶过滤，离子交换浓缩
9. **纯度** SDS-PAGE 只出现一条带，比活力不再提高

大题｜2025 2026 首都师范大学、2025 湖南大学

蛋白质分离纯化技术凝胶过滤层析和 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳机制有什么不同和相同之处？原因是什么?

1. **相同点1** 均基于分子大小差异分离
2. **相同点2** 多孔介质凝胶的筛分效应
3. **操作不同** 层析柱中不需电泳，电泳在缓冲液
4. **层析结果** 大分子物质先被洗脱，小分子物质后
5. **电泳结果** 大蛋白移动慢，小分子蛋白移动快
6. **层析原因1** 大蛋白不进入分子筛，路程短先流出
7. **层析原因2** 小分子蛋白进入分子筛，路程长后流出
8. **电泳原因1** 凝胶均匀网状结构，大蛋白阻碍大移动慢
9. **电泳原因2** 小分子更容易通过，先流出
10. **差异本质** 层析仅基于物理尺寸，电泳结合尺寸和电荷差异
11. **层析机制** 分配系数差异，分子大小决定凝胶颗粒内外分布
12. **电泳机制** 电场迁移，网状阻力不同，大小电荷形状影响迁移率

大题｜2025 安徽大学

蛋白质分离纯化的依据是什么？用依据分别写两个纯化方法。

1. **溶解度** 溶解度：盐析、等电点沉淀
2. **电荷** 电荷：电泳、离子交换层析
3. **分子大小** 分子大小：超过滤、凝胶过滤
4. **疏水作用** 疏水相互作用：疏水层析、SDS-PAGE
5. **亲和力** 配基亲和力：免疫亲和、凝集素亲和
6. **密度** 密度：密度梯度离心

大题｜2025 东北林业大学

含有生理 PH 条件下的胃蛋白酶(PI=1.0)、血清蛋白(PI=4.64)、核糖核酸酶(PI=7.8)的混合物，利用哪种离子交换层析法可以有效分离回收各蛋白？请简要说明原理。

1. **pH** 生理 pH 约为 7.4
2. **电荷** 胃蛋白酶、血清蛋白带负电
3. **电荷** 核糖核酸酶几乎不带电
4. **方法** 阴离子交换层析法
5. **原理** 阴离子交换柱结合带负电蛋白质
6. **原理** 带负电越多结合越紧密、洗脱越难
7. **顺序** 核糖核酸酶最先洗脱
8. **顺序** 血清蛋白第二个洗脱
9. **顺序** 胃蛋白酶最后洗脱

大题｜2026 中国海洋大学

细胞内提取酶的一般步骤及注意事项。对提取的酶进一步分离纯化可采用哪些方法？

1. **选材预处理** 酶含量高易破碎材料，清洗去除杂质，低温保存
2. **细胞破碎** 细胞破碎释放酶：研磨、匀浆、超声波
3. **粗提取** 缓冲液低温搅拌溶解酶，离心过滤得粗酶液
4. **浓缩** 超滤、硫酸铵沉淀后复溶
5. **全程低温** 全程0～4℃，防止酶变性失活
6. **缓冲液** 缓冲液保持pH，避免过酸过碱
7. **防降解变性** 蛋白酶抑制剂防降解，避免剧烈搅拌起泡防蛋白质变性
8. **操作快速** 操作快速，减少非天然环境停留时间
9. **盐析法** 硫酸铵分级沉淀，利用溶解度不同
10. **层析法** 最常用最核心：离子交换电荷、凝胶过滤分子大小
11. **亲和层析** 利用底物/抑制剂结合，特异性最强纯度最高
12. **超滤法** 膜分离，用于浓缩与脱盐

第 155 环 · 电泳

溴化乙锭（EB） ethidium bromide
华农 3 次

1. **结构** 扁平分子　2. **机制** 插入相邻碱基对之间　3. **特点** 紫外激发红橙色荧光
4. **意义** 检测DNA和RNA　5. **特点** 结合DNA荧光增强

等电聚焦 isoelectric focusing (IEF)
华农 1 次 · 外校 1 校次

1. **定义** 高分辨率的蛋白质分离技术　2. **条件** 特殊两性电解质形成pH梯度
3. **过程** 外电场作用下迁移　4. **机制** 聚集在等电点相同的pH位置　5. **特点** 不再带有净电荷
6. **举例** 聚丙烯酰胺、琼脂糖和葡聚糖凝胶　7. **意义** 测定蛋白质等电点

双向电泳 two-dimensional electrophoresis
华农 1 次

1. **定义** 等电聚焦和SDS-PAGE结合　2. **过程** 先按等电点差异等电聚焦
3. **过程** SDS-PAGE按分子量分离　4. **机制** 水平向pI、垂直向分子质量
5. **特点** 可分离分子量相同pI不同　6. **特点** 更高分辨率和分离能力

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 SDS-PAGE
外校 1 校次

1. **定义** SDS存在下的聚丙烯酰胺凝胶电泳　2. **组成** 十二烷基硫酸钠阴离子去污剂
3. **机制** 破坏氢键、疏水相互作用、展开　4. **机制** 覆盖远超原有电荷量负电荷
5. **机制** 相同密度负电荷掩盖电荷差别　6. **机制** 改变天然构象、呈同样棒状
7. **特点** 相对分子质量分离、与电荷形状无关

等电聚焦电泳
考点

1. **定义** 高分辨率的蛋白质分离技术　2. **条件** 两性电解质形成pH梯度
3. **过程** 外电场作用下迁移　4. **机制** 与其等电点相同的pH位置
5. **机制** 不再带有净电荷而分离　6. **举例** 聚丙烯酰胺、琼脂糖和葡聚糖凝胶
7. **意义** 测定蛋白质等电点

大题｜2010 生化・问答

两种蛋白质在 PAGE 和 SDS-PAGE 上

1. **PAGE原理** 迁移率取决于电荷、大小和形状
2. **PAGE理由** 分子量相同、近似球形、pI相同、带电相同
3. **PAGE结果** 迁移率基本一样，各出现一条带，位置相同
4. **SDS原理** SDS使亚基解离
5. **SDS原理** 电荷和形状差异被消除，只按亚基分子量分离
6. **a结果** 两条带40 000和10 000，10 000跑得更远
7. **b结果** 只有一条带，在25 000处
8. **结论** 天然PAGE反映整个分子
9. **结论** SDS-PAGE反映亚基组成
10. **意义** 两者结合可推断寡聚蛋白由几种亚基组成

大题｜精华例题

测分子量的两种方法：凝胶过滤与 SDS-PAGE

1. **凝胶过滤原理** 凝胶颗粒内部有一定大小的孔
2. **大分子先出** 不能进入颗粒，只在颗粒间隙流动，路程短先流出
3. **小分子后出** 进入颗粒内部，路程长，后流出
4. **定量关系** Ve与lg Mr成直线，标准蛋白测Ve作标准曲线
5. **待测测定** 再测待测蛋白Ve，从曲线上读出分子量
6. **测分子量特点** 天然状态整个分子，要求近似球形
7. **SDS作用** 带负电的去垢剂，使蛋白质变性伸展
8. **SDS电荷** 负电远超自身电荷，电荷质量比一致、成棒状
9. **肽链伸展** β-巯基乙醇或DTT打开二硫键，亚基分开
10. **聚丙烯酰胺** 网孔对大分子阻力大，迁移率只取决于分子量
11. **测定** 相对迁移率与lg Mr成直线，标准蛋白作标准曲线
12. **结论** 亚基（单条肽链）的分子量

大题｜精华例题

双向电泳与蛋白质组学

1. **第一向** 第一向等电聚焦，按pI分离
2. **第二向** 第二向SDS-PAGE，按分子量分离
3. **原理结论** pI和分子量相互独立，分辨率很高
4. **应用** 分离全部蛋白、比较差异蛋白、检测翻译后修饰
5. **定义** 一定条件下表达的全部蛋白质
6. **学科定义** 整体水平研究蛋白质组
7. **分离** 提取总蛋白，双向电泳或液相色谱
8. **比较** 对比图谱，找出差异或目标蛋白斑点
9. **鉴定** 切下斑点酶解，质谱，检索数据库

大题｜2025 郑州大学

凝胶过滤层析、SDS-PAGE 均使用凝胶，按分子大小分离蛋白质，为什么凝胶过滤层稀，蛋白质越小，洗脱速度越慢，而 SDS-PAGE 分子越小迁移速度越快?

1. **分离原理** 多孔介质排阻能力不同
2. **大蛋白** 大蛋白不能进入凝胶珠，通过凝胶珠之间空隙先流出
3. **小蛋白** 小蛋白进入凝胶珠，后流出柱外
4. **浓缩** 不连续两相间浓缩成起始区带
5. **分离依据** 电泳迁移率
6. **大蛋白慢** 均匀网状结构，大蛋白阻碍大移动慢
7. **小分子快** 小分子更容易通过，先流出

大题｜2026 暨南大学

有一组单亚基蛋白质具有不同的分子量和等电点，分别为：A（4.5 kD，pI 5.4）、I kD，pI 10.6）、C（17 kD，pI 7.0）、D（69 kD，pI 4.8）、E（90 kD，pI 5.9）。（2）指出经过等电聚焦电泳后，从负极到正极方向的蛋白质在条带的排列顺序，并说明原因；（3）试述根据分子量分离蛋白质的方法有哪些?

1. **顺序** E→D→C→B→A
2. **作用** 覆盖大量负电荷，掩盖原有电荷差异
3. **构象** 改变天然构象呈同样的棒状
4. **分离依据** 基于亚基的分子质量分离蛋白
5. **顺序** B→C→E→A→D
6. **pH梯度** 两性电解质形成pH梯度
7. **停止** 到达pH=pI净电荷为0停止移动
8. **方向** pI越大越靠近负极，pI越小越靠近正极
9. **方法** 凝胶过滤、SDS-PAGE、沉降、质谱

第 156 环 · 抗体技术

Western 印迹 Western blotting
华农 3 次

1. **定义** 蛋白质检测与分析技术　2. **机制** 抗原-抗体特异反应
3. **过程** 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质　4. **过程** 转移至膜上　5. **过程** 抗原-抗体结合显色
6. **特点** 特异性强、灵敏度高　7. **举例** 检测蛋白质表达水平

抗原决定簇 antigenic determinant (epitope)
华农 1 次

1. **定义** 抗原上被抗体或T细胞受体识别　2. **组成** 氨基酸序列、多糖构成
3. **分类** 构象决定簇与线性决定簇　4. **意义** 决定抗原抗体结合的专一性
5. **意义** 启动特异性免疫应答的分子基础

单克隆抗体 monoclonal antibody
外校 1 校次

1. **定义** 单一B细胞克隆产生的抗体　2. **特点** 高度均一　3. **特点** 仅针对某一特定抗原表位
4. **过程** 细胞融合、选择培养、细胞克隆　5. **意义** 疾病诊断、治疗、药物研发
6. **意义** 免疫学研究　7. **举例** 治疗癌症、自身免疫疾病

蛋白质印迹 Western blot
外校 1 校次

1. **定义** 抗原抗体特异反应检测目标蛋白　2. **过程** SDS-PAGE分离蛋白质
3. **过程** 转移到硝酸纤维素/PVDF膜　4. **过程** 特异性抗体识别结合
5. **过程** 酶标记二抗底物反应产信号　6. **特点** 高特异性和灵敏度
7. **功能** 定性定量检测表达修饰相互作用

酶联免疫吸附测定 enzyme-linked immunosorbent assay
外校 1 校次

1. 定义 筛查和定量抗原或抗体的分析技术　**2.** 机制 待测抗原/抗体与酶标抗体特异结合
3. 机制 酶活力测定确定抗原或抗体含量　**4.** 过程 抗原或抗体吸附到固相载体
5. 过程 酶催化底物颜色深浅与浓度成正比　**6.** 特点 高灵敏度、特异性、操作简便
7. 意义 医学诊断、食品安全检测和科学研究

大题｜精华例题

用到抗体的方法

1. Western原理应用 SDS-PAGE分离、电转移、一抗二抗显色、检测特定蛋白表达量
2. ELISA原理 抗原抗体特异结合、酶催化底物显色、颜色深浅与含量相关
3. 夹心法步骤 包被、封闭、加样、洗涤、加酶标抗体、显色、测吸光度
4. 三种方式 间接法测抗体、双抗体夹心法测两个以上决定簇大分子、竞争法负相关
5. ELISA应用 定量、临床检测病毒抗原或抗体、激素、食品和环境检测
6. 免疫亲和层析 抗体固定、低pH洗脱、碱性中和、一步纯化含量很低的蛋白
7. 免疫组化/免疫荧光 标记抗体结合切片抗原、显微镜显示位置
8. 2009首选和低含量 已知分子量特异条带、免疫沉淀富集后电泳Western
9. 2009 ELISA和原位 ELISA抗体捕获测吸光度、切片原位显色显示部位

大题｜精华例题

免疫荧光与免疫电镜比较；电镜与分子技术结合的应用

1. 优点 简便快速、多色标记、共聚焦三维、活细胞测表面抗原
2. 不足 光镜0.2 μm、细胞器层次、淬灭、自发荧光
3. 优点 分辨率高、定位到膜和细胞器亚结构、数金颗粒定量
4. 不足 制样复杂耗时昂贵、抗原失活、死细胞二维切面
5. 固定切片 4%多聚甲醛加低浓度戊二醛、30～50 μm振动切片
6. 封闭 BSA或正常血清封闭、H_2O_2灭活内源性过氧化物酶
7. 抗体孵育 一抗孵育、辣根过氧化物酶标记的二抗
8. 显色后固定 DAB+H_2O_2氧化聚合、1%四氧化锇后固定成锇黑
9. 包埋观察 脱水、树脂包埋、超薄切片、透射电镜观察
10. 原理 电镜高分辨率定位、分子技术特异性
11. 胶体金流程 低温亲水树脂包埋、切片捞镍网金网、胶体金标记二抗、醋酸铀柠檬酸铅染色
12. 双标记 不同大小金颗粒双标记
13. 原位杂交 生物素或地高辛探针、金标抗体检测
14. 细胞化学 酸性磷酸酶磷酸铅沉淀定位溶酶体、高尔基体
15. 冷冻电镜 快速冷冻纯化蛋白复合物、计算机重构近原子分辨率

大题｜2025 西南大学

免疫印迹法的原理和步骤？

1. 分离 聚丙烯酰胺凝胶电泳依据分子量大小分离
2. 转移 电泳技术将凝胶中蛋白质转移到固相支持物
3. 原理 利用特异性抗体检测目标蛋白质
4. 特点 检测微量成分和近似相对分子质量、高效简便灵敏
5. 应用 测定抗原的相对丰度或与其他已知抗原的关系
6. 支持物 固体支持物常为硝酸纤维素薄膜
7. 封闭 非特异性蛋白溶液进行封闭
8. 第一抗体 待测蛋白质上抗原决定簇特异性的抗体为探针
9. 免疫反应 第一抗体与固体支持物上的蛋白质进行免疫反应
10. 第二抗体 偶联辣根过氧化物酶或碱性磷酸酯酶的第二抗体
11. 免疫反应 第二抗体与第一抗体进行免疫反应

大题｜2026 中国科学院大学

简述 ELISA 的用途。以测定抗原、使用一抗和酶标二抗为例简述主要步骤。

1. 用途 快速筛查和定量样品中的一个抗原
2. 原理 待测抗原和酶标抗体特异性反应和酶活力测定
3. 第一步 待测样品中的蛋白吸附到惰性表面
4. 第二步 非特异蛋白温育封闭未被样品蛋白结合表面
5. 第三步 抗待测蛋白质的抗体处理，缓冲液洗去
6. 第四步 第二抗体共价连接催化生成有色产物的酶
7. 第五步 加入酶的底物，有色产物与抗原含量成正比
8. 应用 疾病诊断检测病原体抗原或抗体
9. 应用 生物标志物检测监测疾病进展或治疗效果
10. 应用 免疫研究细胞因子分泌、免疫球蛋白水平

第 157 环 · 核酸探针与印迹

限制性核酸内切酶 restriction endonuclease
外校 2 校次

1. 定义 原核生物中存在的一类　**2.** 定义 识别外源DNA中的回文序列
3. 特点 4-8个碱基对、二重旋转对称　**4.** 过程 某位点水解DNA双螺旋链
5. 过程 粘性末端或平末端　**6.** 意义 基因工程中特异切割DNA的工具酶

Northern杂交 Northern blot
外校 1 校次

1. 定义 检测特定RNA序列存在和大小　**2.** 特点 分析RNA而不是DNA
3. 过程 RNA样品凝胶电泳分离　**4.** 过程 转移到硝酸纤维素滤膜或尼龙膜
5. 过程 标记的核酸探针杂交　**6.** 过程 检测杂交信号确定RNA存在和大小
7. 意义 研究基因表达、RNA剪接、RNA编辑

Southern印迹法 Southern blot
外校 1 校次

1. 定义 DNA印迹　**2.** 过程 限制性内切酶消化　**3.** 过程 琼脂糖凝胶电泳分离
4. 过程 变性转移到硝酸纤维素薄膜或尼龙膜　**5.** 条件 与标记DNA或RNA探针反应
6. 意义 确定特定DNA序列的存在和大小　**7.** 意义 基因克隆、基因定位、遗传病诊断

大题｜2011 细胞・实验、2009 生化・简答

怎样鉴定是 DNA 还是 RNA，怎样判断有无污染

1. 化学法 二苯胺-脱氧核糖蓝色；地衣酚-核糖绿色
2. 酶法/稀碱 DNase、RNase降解；稀碱水解RNA
3. 水解 稀盐酸脱去嘌呤暴露醛基
4. 显色 醛基与Schiff试剂呈紫红色
5. DNA特异原因 RNA核糖2′羟基糖苷键稳定不暴露醛基
6. 注意事项 酸水解温度和时间严格控制
7. 注意事项 Schiff试剂新鲜避光、DNase阴性对照
8. 蛋白质污染 核酸260 nm、蛋白质280 nm最大吸收
9. 蛋白质污染 A_{260}/A_{280}约1.8，明显偏低混有蛋白质
10. RNA污染 比值高于1.8提示RNA；RNase/电泳

大题｜2013 生化・分析

两管 DNA 忘了贴标签，怎样鉴定（8 分）

1. 思路 GC 含量相差 16.6 个百分点
2. 首选 相同离子强度下测 Tm
3. Tm 原因 G≡C 有三个氢键、堆积力也更强
4. Tm 规律 GC 含量越高 Tm 越高
5. Tm 结论 Tm:E. coli约91°C>海胆约84°C
6. 密度方法 CsCl 密度梯度离心
7. 密度公式 ρ = 1.660 + 0.00098 ×（%GC）
8. 密度结论 ρ:E. coli约1.711>海胆约1.694
9. 其他方法 酸水解后层析或测序
10. 其他比较 成本高，不如前两种简便

大题｜2025 2026 南开大学、2025 四川大学

简述核酸分子杂交原理及其在生命科学研究中与应用。

1. 原理 变性和复性使互补区异源核酸分子碱基配对
2. 杂交类型 DNA-DNA或DNA-RNA杂交双链
3. 探针检测 探针已知序列特异性靶序列检测
4. Southern分离 琼脂糖凝胶电泳分离限制酶消化DNA片段
5. DNA变性 胶上DNA变性成单链DNA片段
6. 转移 单链DNA片段转移至尼龙膜或固相支持物
7. 固定 干烤或紫外线照射固定
8. 显色结果 放射自显影确定位置大小，检查特定基因及酶切位点
9. Northern RNA吸印检测不同基因表达
10. 菌落原位 菌落原位杂交筛选阳性克隆
11. 点印迹 点印迹检查基因，不能检出大小或重复程度
12. 基因探针 标记已知序列互补目的基因，杂交信号显示目的基因

第 158 环 ・ PCR与测序

聚合酶链式反应（PCR） polymerase chain reaction
华农 5 次 ・ 外校 2 校次

1. 定义 DNA的体外酶促扩增　**2.** 过程 高温使DNA变性两条链解开
3. 过程 降低温度使引物与模板退火结合　**4.** 条件 DNA聚合酶以4种dNTP为底物
5. 过程 合成与模板互补的新DNA链　**6.** 特点 重复此过程DNA以指数方式扩增
7. 举例 基因合成、基因诊断、病原体检测

ddNTP dideoxynucleoside triphosphate
华农 3 次

1. 定义 双脱氧核苷三磷酸　**2.** 结构 3′ 位没有羟基　**3.** 机制 掺进新链后接不上
4. 结果 链在这里终止　**5.** 举例 Sanger 法测序

脱氧胸苷三磷酸（dTTP） deoxythymidine triphosphate
华农 1 次

1. 定义 胸腺嘧啶核苷酸dTMP　**2.** 定义 dTMP是脱氧核糖核酸组成
3. 过程 dUMP经甲基化生成dTMP　**4.** 机制 胸苷酸合酶　**5.** 条件 甲基来自亚甲基四氢叶酸

实时荧光定量 PCR real-time PCR (quantitative PCR, qPCR)
华农 1 次

1. 过程 每一轮都测荧光　**2.** 机制 荧光达阈值轮数越少，原有模板越多

退火 annealing
外校 1 校次

1. 条件 DNA变性后缓慢冷却　**2.** 定义 热变性DNA重新缔合成双螺旋结构
3. 应用 单链DNA或RNA与互补序列杂交　**4.** 应用 PCR引物与模板DNA结合
5. 意义 基因克隆、突变检测、基因表达分析

抗体 antibody
外校 1 校次

1. 定义 B细胞产生的糖蛋白　**2.** 场所 存在于血液和体液中
3. 功能 识别结合特定抗原启动免疫应答　**4.** 功能 中和病原体、促进吞噬、激活补体
5. 特点 高度特异性和多样性　**6.** 分类 IgG、IgM、IgA、IgD、IgE

核酸 nucleic acid
外校 1 校次

1. 定义 核苷酸经磷酸二酯键连接　**2.** 分类 分为DNA和RNA两类
3. 功能 遗传信息的携带者和传递者　**4.** 功能 遗传信息储存、复制、表达及调控

大题｜2021、2022 生化・简答

怎样检测新冠病毒的核酸和抗体（两年）

1. 第一步 RNA 病毒，咽拭子提取病毒 RNA
2. 逆转录 逆转录酶合成 cDNA
3. PCR 保守基因引物探针实时荧光定量 PCR
4. 判读 Ct 值越小病毒量越多，低于判定值阳性
5. 优点 灵敏特异，早期诊断
6. 抗体原理 S 蛋白、N 蛋白检测血清特异抗体
7. 方法 ELISA 包被抗原酶标二抗显色，胶体金试纸
8. 抗体判读 IgM 近期感染，IgG 既往感染或接种疫苗
9. 抗体特点 感染后一段时间才出现，辅助诊断和流行病学调查

大题｜精华例题

PCR 的原理、前提与引物设计（PCR 名词考过六年）

1. 体外条件 DNA模板、寡核苷酸引物、Taq酶、dNTP
2. 变性 约94°C双链解开
3. 退火 约55°C引物与模板互补结合
4. 延伸 约72°C从引物3′端按5′→3′合成新链
5. 指数扩增 每轮产物作模板，约30轮扩增百万倍以上
6. 前提信息 两端序列设计互补引物；大致长度设定延伸时间判断产物
7. 上下游 上游与5′端序列相同，下游与3′端互补链相同，按5′→3′书写
8. 引物参数 18～25 nt、GC 40%～60%、Tm相近
9. 3′端 避免自身互补和引物二聚体
10. 5′端 加限制酶切位点和保护碱基
11. 扩增体系 质粒模板、引物、Taq酶、dNTP、Mg^{2+}缓冲液
12. 扩增程序 预变性→循环25～35次→末次延伸→电泳检查

大题｜精华例题

Sanger 双脱氧测序

1. 原理 ddNTP 3′位没有羟基，延伸在此终止
2. 反应体系 单链DNA为模板，引物、DNA聚合酶、dNTP
3. 四管 分成四管，每管加少量一种ddNTP
4. 终止片段 需要A的位置概率掺入ddA，A结尾片段
5. 标记 引物或dNTP带放射性或荧光标记
6. 电泳 四管产物变性聚丙烯酰胺凝胶并排电泳
7. 读序 从胶的底部向上读新合成链5′→3′
8. 模板链 模板链反向互补，取反向互补序列
9. 改进 四种ddNTP荧光，一管反应、毛细管电泳
10. 读长 一次可读700～800个碱基

大题｜2025 山东大学

Sanger 测序法除了 dNTP 外，还需要添加 ddNTP，为什么?

1. 方法 双脱氧链终止法
2. 体系 单链模板引物四种dNTP聚合酶
3. 标记 一种dNTP放射性同位素标记
4. 四组 每组按比例加入一种ddNTP
5. 底物类似物 2’,3’-双脱氧核苷三磷酸
6. 反应终止 退火延伸后随机掺入立即终止
7. 电泳 变性剂聚丙烯酰胺凝胶电泳
8. 读序 放射自显影推测核苷酸序列
9. 提取 DNA样本提取纯化
10. 引物 设计互补特异性引物

大题｜2026 首都师范大学、2025 云南大学

PCR 基本反应步骤及实验反应体系中的核心成分及其作用，并讨论实际操作中如何优化 PCR 条件以提高扩增效率和特异性，

1. 核心成分 DNA模板 Taq酶 dNTP 引物 Buffer
2. 成分作用 DNA聚合酶催化 单核苷酸为原料 引物引导
3. 变性 靶DNA双链受热变性为两条单链模板
4. 退火 37~65°C 引物与互补单链DNA模板结合
5. 延伸 72°C 引物3’端起点 5’→3’延伸
6. 循环 解链退火延伸热循环 2n形式扩增
7. 延伸时间 1kb片段需1min 避免短片段积累
8. 退火温度 引物Tm值-5°C 非特异性条带梯度升高
9. Mg^{2+}浓度 Mg^{2+}是Taq酶活性关键调控因素 过低下降 过高非特异性
10. 引物浓度 过高引物二聚体 过低效率低 上下游一致避免非对称扩增
11. 引物设计 20-25bp GC含量40%-60% 避免发夹和引物二聚体
12. 模板浓度 模板浓度过高杂质积累 抑制酶活性

DNA重组技术 recombinant DNA technology
外校 1 校次

1. 定义 遗传信息分子施工的分子工程 **2.** 组成 基因克隆、重组和表达 **3.** 条件 以分子遗传学为理论基础 **4.** 过程 体外构建杂种DNA分子 **5.** 过程 导入活宿主细胞 **6.** 意义 改变遗传特性、获得新品种

基因工程 genetic engineering
外校 1 校次

1. 定义 DNA重组技术 **2.** 组成 基因克隆、重组和表达 **3.** 过程 体外构建杂种DNA分子 **4.** 过程 导入活宿主细胞 **5.** 意义 改变遗传特性、获得新品种

大题 | 2008 生化 · 简答

什么是 cDNA 文库，与基因组文库有何差别

1. cDNA定义 全部 mRNA 为模板，逆转录酶合成 cDNA
2. cDNA定义 连到载体导入宿主细胞，全部克隆总和
3. 分离mRNA oligo dT 纤维素柱，高盐结合低盐洗脱
4. 基因组文库定义 限制酶部分酶切随机片段，全部克隆到载体
5. 来源区别 cDNA来自mRNA逆转录；基因组来自基因组DNA
6. 内容区别 cDNA不含内含子、启动子等非编码和调控序列
7. 内容区别 基因组包括内含子、调控序列和不表达的基因
8. 组织特异性 cDNA不同组织发育时期不同，高丰度mRNA克隆多
9. 组织特异性 基因组没有，同一个体各种细胞所建的相同
10. 片段与载体 cDNA较小用质粒λ；基因组片段大用黏粒BAC YAC
11. cDNA用途 研究基因表达、获得编码序列、原核细胞表达真核蛋白
12. 基因组用途 研究基因组结构、分离完整基因和调控序列

大题 | 2007 生化 · 简答

A 细胞只比 B 细胞多表达一种蛋白质 X，怎样得到 X 的 cDNA

1. 提取 RNA 分别提取 A、B 细胞的总 RNA
2. 分离 mRNA oligo dT 纤维素柱亲和层析分离 mRNA
3. 逆转录 oligo dT 为引物合成 cDNA 第一链
4. 双链 cDNA 再合成双链 cDNA
5. 扣除杂交 A 的单链 cDNA 与过量的 B 的 mRNA 杂交
6. A 特有 剩下的单链 cDNA 就是 A 特有的
7. 芯片 基因芯片杂交或 RNA-Seq 比较表达量
8. 克隆鉴定 候选 cDNA 克隆到表达载体中，测序
9. 验证 表达蛋白质后用 X 的抗体做 Western 印迹验证
10. 备选 简并引物 RT-PCR；探针筛选 cDNA 文库

大题 | 2021 生化 · 简答

我国五种新冠病毒疫苗设计的基本原理

1. 共同原理 不致病的病原体成分→抗体和记忆细胞
2. 灭活 β-丙内酯破坏核酸不能复制致病
3. 免疫原性 保留蛋白外壳免疫原性
4. 减毒活疫苗 致病力大大降低活病毒减毒流感病毒载体携带抗原基因
5. 黏膜免疫 有限复制引起黏膜免疫的免疫应答
6. 重组蛋白 CHO表达刺突蛋白受体结合域纯化加佐剂
7. 腺病毒载体 复制缺陷型腺病毒插入刺突蛋白基因表达抗原
8. 体液细胞免疫 引起体液和细胞免疫
9. mRNA疫苗 脂质纳米颗粒包裹编码刺突蛋白的修饰mRNA
10. 翻译 核糖体翻译出抗原
11. 后三种前提 已知抗原基因序列前提基因组测序克隆表达技术

大题 | 2020 生化 · 问答

蛋白质结构改造的分子设计原理

1. 依据 同源蛋白质之间的进化关系
2. 依据 一级结构与空间结构的关系
3. 核心 结构与功能的关系、结构决定功能
4. 理性设计 已知三维结构基础上定点突变改关键残基
5. 热稳定性 引入二硫键或环区脯氨酸提高热稳定性
6. 专一性 改活性中心或结合口袋改变专一性和催化效率
7. 溶解度 改表面残基提高溶解度
8. 延长寿命 去掉易氧化、易被蛋白酶切的位点延长寿命
9. 其他手段 拼接结构域、做融合蛋白
10. 定向进化 定向进化：易错PCR、DNA混编制造大量随机变体
11. 筛选 按所需性质筛选、多轮累积有利突变
12. 流程 分析结构→计算机辅助设计突变→定点诱变→循环改进

大题 | 精华例题

基因编辑的原理和在生物学、医学、农业上的前景

1. 原理 细菌抗噬菌体防御系统
2. 引导 sgRNA 引导 Cas9 到靶位点
3. 切割 PAM 常 NGG，Cas9 造成双链断裂
4. 修复 非同源末端连接失活，同源重组敲入
5. 对比 ZFN/TALEN 换靶点重新设计蛋白
6. 优势 只需改写 sgRNA，简单便宜高效
7. 生物学 确定功能、疾病模型、代谢途径、基因组筛选
8. 医学 致病基因、CAR-T、CCR5、供体猪
9. 农业 抗病抗逆高产优质、雄性不育系、畜禽
10. 问题 脱靶、递送、嵌合体、生殖细胞伦理监管

大题｜精华例题

用基因工程表达一个外源蛋白：从基因到纯蛋白（880）

1. 获取基因 限制酶切、化学合成、cDNA、PCR

2. 真核基因 cDNA除内含子、引物5′加位点

3. 载体元件 复制起点、筛选标记、强启动子、SD序列、终止子

4. 定向连接 两种限制酶、DNA连接酶、阅读框对齐

5. 导入细胞 $CaCl_2$感受态热激、电穿孔、Ti/原生质体、病毒/脂质体

6. 筛选鉴定 抗性、菌落PCR、双酶切、测序确认插入方向和阅读框

7. 蓝白斑平板 pET无lacZ、含氨苄青霉素/IPTG/X-gal平板

8. 蓝白斑载体 pUC载体、lacZ α肽编码段、多克隆位点

9. α互补显色 缺α肽β-半乳糖苷酶、α互补、X-gal水解成蓝色

10. 重组白斑 插入使α肽失活、白斑确认后再亚克隆表达载体

11. 诱导表达 IPTG或T7、低温/分子伴侣、糖基化改酵母昆虫哺乳动物

12. 纯化鉴定 His/Ni^{2+}、GST/谷胱甘肽、SDS-PAGE纯度分子量、测活性

大题｜精华例题

CRISPR 敲除了基因却看不到表型，可能是什么原因（880）

1. 原因1 功能冗余：同源基因或代偿通路

2. 原因2 编辑效率低或得到嵌合体

3. 原因3 插入缺失是 3 的倍数不造成移码，残留蛋白仍有功能

4. 原因4 只在特定胁迫、组织或发育时期起作用

5. 原因5 表型很弱，现有指标分辨不出

6. 原因6 其他通路补偿

7. 排查1 测序确认突变类型、用抗体确认蛋白缺失

8. 排查2 改变处理条件和检测指标

9. 排查3 同时敲除同源基因

10. 排查4 做过表达或敲低互相印证

第 160 环 · 示踪

人工同步化 artificial synchronization

外校 1 校次

1. 定义 使细胞处于同一时相的过程　**2.** 条件 利用细胞培养及理化因素处理

3. 分类 分为人工选择或人工诱导

大题｜2012 细胞 · 实验

用同位素示踪追踪蛋白质的合成与分泌：原理和步骤

1. 原理 ^{3}H-亮氨酸标记蛋白质合成前体

2. 原理 标记分子化学性质与普通分子相同

3. 自显影原理 射线使溴化银乳胶感光显影出现银颗粒

4. 追踪方式 脉冲-追踪看蛋白质随时间的去向

5. 脉冲标记 短时间加^{3}H-亮氨酸，只有新合成的被标记

6. 追踪 洗去标记前体，换含大量未标记亮氨酸培养基

7. 取样 不同时间点固定细胞、包埋切片

8. 放射自显影 切片涂核乳胶，暗处曝光数天至数周，显影定影

9. 观察 光镜或电镜下数各细胞器上的银颗粒

10. 结果 银颗粒依次粗面内质网→高尔基体→分泌泡→细胞外

11. 替代方法 ^{35}S-甲硫氨酸，免疫沉淀加SDS-PAGE

大题｜精华例题

怎样用实验证明一个小泡是溶酶体；怎样证明蛋白质的分泌途径

1. 标志酶 酸性磷酸酶、Gomori 法

2. 测 pH pH 5 中性红、吖啶橙

3. 看功能 带标记大分子进入小泡被降解

4. 免疫标记 抗 LAMP 抗体免疫荧光/免疫电镜

5. 脉冲-追踪 ^{3}H-亮氨酸脉冲-追踪（Palade）

6. 免疫电镜 抗该蛋白抗体配胶体金免疫电镜

7. 活细胞成像 GFP 融合延时拍摄各站

8. 温度阻断 温度敏感运载蛋白或低温阻断再升温放行

第 161 环 · 细胞培养

细胞系 cell line

华农 2 次

1. 定义 原代细胞传至40~50代的传代细胞　**2.** 特点 保持二倍体数量和接触抑制

3. 分类 分为有限细胞系和无限细胞系　**4.** 分类 无限细胞系可无限制传代

原生质体 protoplast

华农 1 次

1. 定义 去除细胞壁、细胞膜包裹　**2.** 组成 含细胞质、细胞核、细胞器

3. 特点 植物、真菌、细菌中　**4.** 特点 保留基本生命活动能力

5. 意义 易吸收外源 DNA、蛋白质　**6.** 意义 基因工程、细胞融合材料

细胞克隆 cell clone

华农 1 次

1. 条件 单细胞克隆培养或药物筛选　**2.** 过程 分离出单个细胞　**3.** 过程 增殖形成细胞群体

4. 特点 遗传性状基本一致　**5.** 意义 单克隆抗体技术

细胞株 cell strain

华农 1 次

1. 定义 从细胞系分离单个细胞　**2.** 条件 单细胞克隆培养或药物筛选

3. 过程 增殖形成遗传性状基本一致群体　**4.** 特点 生物学鉴定特殊遗传标记或性质

接触抑制 contact inhibition

华农 1 次

1. 条件 细胞培养时　**2.** 过程 分散的细胞贴壁铺展　**3.** 过程 有丝分裂形成单层细胞

4. 条件 细胞彼此相互接触　**5.** 过程 运动和分裂活动停止

原代培养 primary culture

外校 1 校次

1. 定义 从动物机体取出后立即培养　**2.** 过程 组织剪碎

3. 过程 胰酶或胶原酶配合EDTA分散细胞　**4.** 条件 营养液与无菌环境培养

5. 特点 传至10代左右难以继续传代　**6.** 特点 细胞生长停滞、大部分衰老死亡

大题｜2021 细胞・问答

体外培养的组织为什么达不到体内组织的功能

1. 三维结构 单层贴塑料，细胞形状、极性和受力改变

2. 细胞外基质 细胞外基质影响形态、增殖和分化

3. 细胞间 旁分泌信号、细胞连接和间隙连接通讯缺失

4. 动态调节 激素、生长因子、营养、氧分压、pH不能精细动态调节

5. 血清 血清成分不确定

6. 整体调控 没有神经和体液的整体调控

7. 血管 无法持续供氧供养、排出代谢废物，中心缺氧坏死

8. 去分化 长期传代使细胞去分化，失去特化功能

9. 核型改变 核型改变和转化，无限细胞系异倍体、失去接触抑制

10. 改进方向 三维培养、类器官、共培养、生物支架和灌流培养系统

大题｜2025 湖南师范大学

什么是细胞原代培养和传代培养？请以动物组织和细胞为例，阐述原代培养和传代培养的操作步骤

1. 原代定义 动物组织分散成单个游离细胞置合适培养基

2. 原代特性 第1代至第10代，保留生物学特性

3. 组织取材 动物相应组织块，如幼年动物肾、肺、卵巢、精巢、肌肉及肿瘤

4. 组织处理 剪碎成较小组织碎片，增加接触面积

5. 细胞分散 胰酶或胶原酶/EDTA分解连接物质成细胞悬液

6. 接种培养 培养瓶或培养皿、营养液、无菌、体温、pH、血清

7. 贴壁生长 促进贴壁生长与分裂，形成致密细胞单层，完成原代培养

8. 传代定义 空间、营养限制时转移到新培养容器继续培养

9. 观察准备 生长至一定密度，单层且接触、空间不足，观察确定状态良好

10. 消化收集 去除原培养液，加消化液脱离，含血清终止，离心收集

11. 计数接种 计数稀释接种，37°C、5%CO_2培养

12. 传代监测 定期换液、观察形态、鉴定和监测

第 162 环 ・ 研究蛋白质功能

蛋白质组 proteome

外校 1 校次

1. 定义 基因组或细胞组织表达的所有蛋白质　**2.** 特点 动态性和多样性

3. 条件 随着细胞状态和环境条件变化　**4.** 机制 一个基因多种mRNA形式剪接

5. 特点 多样性可能超过基因组基因种类数量

酵母双杂交系统 yeast two-hybrid system

外校 1 校次

1. 定义 利用酵母在体内分析蛋白质相互作用　**2.** 机制 转录激活因子有DB和AD

3. 机制 DB识别转录调控序列并结合　**4.** 机制 AD形成转录复合体启动表达

5. 意义 研究蛋白质-蛋白质相互作用

大题｜2008 生化・综合

分离到一种新蛋白质，怎样研究它的功能

1. 测序列 Edman降解或质谱测部分序列，查到编码基因

2. 比对 数据库比对找同源蛋白，预测结构域和模体

3. 三维结构 必要时测三维结构

4. 表达谱 RNA-Seq、定量PCR看组织、时期、条件表达

5. 定位 GFP融合观察定位，制备抗体做免疫荧光、免疫电镜

6. 相互作用 免疫共沉淀加质谱鉴定结合蛋白，酵母双杂交筛互作

7. 结合DNA 凝胶阻滞、足印法、染色质免疫沉淀看是否结合DNA

8. 生化活性 纯化蛋白体外测酶活、结合常数

9. 缺失与获得 CRISPR敲除、RNA干扰、过表达，看表型变化

10. 无表型 敲除无表型时考虑功能冗余

11. 定点突变 改变关键残基，确定功能由哪一部分负责

12. 互补 转回野生型基因做互补实验

大题｜2022 生化・简答

什么是蛋白质组学，如何运用蛋白质组学检测目标蛋白

1. 蛋白质组 一定条件下表达的全部蛋白质

2. 蛋白质组学 整体水平研究组成、含量、修饰、相互作用

3. 延伸 功能基因组学延伸、不同状态蛋白质组不同

4. 分离 双向电泳（pI、分子量）或液相色谱

5. 比较 不同状态图谱找差异斑点并定量

6. 鉴定 胰蛋白酶酶解、质谱、检索数据库

7. 鸟枪法 总蛋白酶解、液相色谱-串联质谱

大题｜2025 华南师范大学

三种方法说明蛋白的相互作用

1. 酵母双杂交原理 转录激活因子DB、AD与蛋白A/B融合
2. 报告基因 形成转录复合物启动报告基因
3. 应用 研究蛋白质相互作用
4. FRET原理 荧光光谱A与吸收光谱B重叠
5. 能量转移 距离小到一定程度发生能量转移
6. FRET应用 检测直接相互作用、动态变化、强度
7. 免疫共沉淀原理 抗原-抗体特异性结合、非变性条件
8. 沉淀复合物 A/G琼脂糖珠沉淀抗原-抗体复合物
9. 鉴定复合物 Western blotting鉴定复合物
10. 应用与意义 接近生理条件、设置对照排除干扰

第 163 环 · 学以致用

大题｜精华例题

生化在农业生产中的应用（每年最后一题）

1. 缺钴 B_{12}甲基丙二酸单酰CoA变位酶失活
2. 后果 丙酸不能经琥珀酰CoA异生成糖；补钴恢复
3. 饲料 必需氨基酸比例；赖氨酸甲硫氨酸；蛋白质利用率
4. 酮病原因 泌乳初期糖异生跟不上；脂肪大量动员；乙酰CoA过多；草酰乙酸不足；酮体堆积
5. 酮病防治 补充丙二醇、丙酸盐等生糖前体
6. 有机磷杀虫 乙酰胆碱酯酶丝氨酸磷酰化；乙酰胆碱堆积
7. 草甘膦选择 芳香族氨基酸合成途径EPSP合酶；动物没有这条途径
8. 生物技术育种 PCR、分子标记辅助选择；Bt毒蛋白基因；CRISPR/Cas9
9. 发酵与酶制剂 微生物发酵生产氨基酸、维生素；植酸酶释放植酸中的磷、提高磷利用率、减少环境污染
10. 总结 揭示动植物生长、营养和抗逆的分子机理；提高产量、改良品质和保护环境

大题｜精华例题

生化在人民健康中的应用

1. 酶抑制剂 甲氨蝶呤抑制二氢叶酸还原酶抗肿瘤
2. 酶抑制剂 他汀抑制HMG-CoA还原酶降胆固醇
3. 酶抑制剂 别嘌呤醇抑制黄嘌呤氧化酶治痛风
4. 2型糖尿病 胰岛素抵抗；二甲双胍激活AMPK减少肝糖异生
5. 苯丙酮尿症 缺苯丙氨酸羟化酶，低苯丙氨酸饮食防智力损伤
6. 核酸抗体肝病心梗 RT-qPCR、ELISA；转氨酶、乳酸脱氢酶同工酶
7. 生物技术药物 基因工程胰岛素、干扰素、疫苗
8. 靶向治疗 单克隆抗体靶向治疗肿瘤、自身免疫病
9. 营养与预防 B_1脚气病、维生素C坏血病；膳食运动防肥胖代谢综合征
10. 总结 诊断、药物和预防的靶点和技术