

1. 進行 DNA 複製時，DNA polymerase 可利用那些機制維護複製的忠誠度 (5%)。
2. 說明下列各組有關核酸複製的酵素或蛋白質，在生物體的功能：
 - (a) Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)(2%)
 - (b) Replication protein A (RPA) (2%)
 - (c) helicase (2%)
 - (d) DNA topoisomerase (2%)
 - (e) DNA polymerase α /primase (2%)
3. 說明下列各組有關核酸修復的酵素或蛋白質，在生物體的功能及作用機制：
 - (a) MSH2/MSH6, MLH1/PMS1 (5%)
 - (b) Uracil DNA Glycosylase, AP endonuclease (5%)
4. 請從下方所列名詞中，挑選出與基因轉錄(transcription)相關元素，並描述其在基因轉錄中所扮演的角色 (5%)
 - (a) DNA polymerase
 - (b) RNA polymerase
 - (c) Topoisomerase
 - (d) Ribosome
 - (e) Promoter
 - (f) Small nuclear ribonuclear proteins (snRNPs)
 - (g) Transcription factors
5. 真核細胞中進行基因轉錄後產生的 pre-mRNA 會再經過 5'capping 以及 3'polyadenylation 等步驟修飾，請問此二步驟的目的為何? (5%)
6. 請簡述何謂 RNA 剪接(RNA splicing)，並試著說明為何高等生物體內需要有這個機制的存在，若是 RNA splicing 出了問題，可能會發生什麼事? (5%)
7. 您從真核生物的基因體中 clone gene X 到一個質體上，進行定序得到結果如下：

Reference gene X DNA: GAT CGT ACA TAT A...
Reference gene X RNA: GAU CGU ACA UAU
A...
Reference gene X Leu Ala Cys Ile
Protein:
Cloned gene X DNA: GATGCGTACATATA...

由定序結果來看，請問您 cloned 的 gene X 序列是否正確? 如果不正確，請問發生什麼問題? 這個基因是否能轉譯出正確的蛋白質? 您會如何解決問題? (5%)
8. 與正常細胞相比，癌細胞中的 gene Y 表現量顯著較高，您打算將 gene Y 的表現量降低來研究 gene Y 是否會影響癌細胞的生長。請詳細說明您會用什麼方式來抑低 (knock down)或是剔除(knock out) gene Y? (5%)
9. 蛋白質合成的機轉中主要需要那四種元素? (5%)
10. 比較真核生物與原核生物之轉譯 (translation) 之異同。(10%)

見背面

11. 什麼是 internal ribosome entry site (IRES)及其功能為何? (5%)

12. A 研究生在做專題研究時發現當病毒感染細胞後跟沒有病毒感染的組別相比, X 蛋白質的表現量增加但 X 基因的 mRNA 量並沒有改變, 請問你覺得 X 蛋白質增加的可能原因為何? 如何設計實驗證明你的推論? (5%)

13. 研究設計題

你即將是位研究生, 正要利用分子生物學的技术了解某基因的突變。你取得了正常基因核苷酸序列(Wild-type)與突變基因核苷酸序列(Mutation-type)的比對與轉譯資訊(如下圖一), 突變的序列以「-」表示, 並且取得胺基酸密碼對照表(如下表一)。請問:

- (a) 這是屬於那一種型態(種)突變? (請精準並完整描述) (2%) 受到影響的氨基酸序列為第幾個至第幾個? (2%)
- (b) 這種突變是否會造成胺基酸的改變? (2%) 如不會, 請說明為什麼不會造成改變? 如會, 請明確描述胺基酸如何改變? (3%)
- (c) 如果想要檢測這樣的突變, 你會使用甚麼方法搭配怎樣的儀器設備來檢測? (3%)
- (d) (承上題) 請說明你所選用的方法的原理, 及其優缺點。(5%)
- (e) (承上題) 根據圖一, 請詳細說明你的檢測實驗設計與結果判讀。(請包含材料、物質、方法、流程、步驟。如涉及引子序列, 請標示出引子座落的序列; 並試圖敘述實驗結果及如何判讀) (8%)

圖一、某基因突變序列及轉譯胺基酸對應圖。

| | | | | | | | | | | |
|---------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|-----|-----|
| | 2080 | | 2080 | | 2100 | | 2100 | | | |
| | Pro | Ser | Gly | Glu | Ala | Pro | Asn | Gln | Ala | Leu |
| Wild-type | CCC | AGT | GGA | GAA | GCT | CCC | AAC | CAA | GCT | CTC |
| Mutation-type | CCC | AGT | GGA | GAA | GCT | CCC | AAC | CAA | GCT | CTC |
| | 2110 | | 2120 | | 2130 | | 2130 | | | |
| | Leu | Arg | Ile | Leu | Lys | Glu | Thr | Glu | Phe | Lys |
| Wild-type | TTG | AGG | ATC | TTG | AAG | GAA | ACT | GAA | TTC | AAA |
| Mutation-type | TTG | AGG | ATC | TTG | AAG | GAA | ACT | GAA | TTC | AAA |
| | 2140 | | 2150 | | 2160 | | 2160 | | | |
| | Lys | Ile | Lys | Val | Leu | Gly | Ser | Gly | Ala | Phe |
| Wild-type | AAG | ATC | AAA | GTG | CTG | GGC | TCC | GGT | GCG | TTC |
| Mutation-type | AAG | ATC | AAA | GTG | CTG | GGC | TCC | GGT | GCG | TTC |
| | 2170 | | 2180 | | 2190 | | 2190 | | | |
| | Gly | Thr | Val | Tyr | Lys | Gly | Leu | Trp | Ile | Pro |
| Wild-type | GGC | ACG | GTG | TAT | AAG | GGA | CTC | TGG | ATC | CCA |
| Mutation-type | GGC | ACG | GTG | TAT | AAG | GGA | CTC | TGG | ATC | CCA |
| | 2200 | | 2210 | | 2220 | | 2220 | | | |
| | Glu | Gly | Glu | Lys | Val | Lys | Ile | Pro | Val | Ala |
| Wild-type | GAA | GGT | GAG | AAA | GTT | AAA | ATT | CCC | GTC | GCT |
| Mutation-type | GAA | GGT | GAG | AAA | GTT | AAA | ATT | CCC | GTC | GCT |
| | 2230 | | 2240 | | 2250 | | 2250 | | | |
| | Ile | Lys | Glu | Leu | Arg | Glu | Ala | Thr | Ser | Pro |
| Wild-type | ATC | AAG | GAA | TTA | AGA | GAA | GCA | ACA | TCT | CCG |
| Mutation-type | ATC | AA- | - | - | - | - | - | ACA | TCT | CCG |
| | 2260 | | 2270 | | 2280 | | 2280 | | | |
| | Lys | Ala | Asn | Lys | Glu | Ile | Leu | Asp | Glu | Ala |
| Wild-type | AAA | GCC | AAC | AAG | GAA | ATC | CTC | GAT | GAA | GCC |
| Mutation-type | AAA | GCC | AAC | AAG | GAA | ATC | CTC | GAT | GAA | GCC |
| | 2290 | | 2300 | | 2310 | | 2310 | | | |
| | Tyr | Val | Met | Ala | Ser | Val | Asp | Asn | Pro | His |
| Wild-type | TAC | GTG | ATG | GCC | AGC | GTG | GAC | AAC | CCC | CAC |
| Mutation-type | TAC | GTG | ATG | GCC | AGC | GTG | GAC | AAC | CCC | CAC |
| | 2320 | | 2330 | | 2340 | | 2340 | | | |
| | Val | Cys | Arg | Leu | Leu | Gly | Ile | Cys | Leu | Thr |
| Wild-type | GTG | TGC | CGC | CTG | CTG | GGC | ATC | TGC | CTC | ACC |
| Mutation-type | GTG | TGC | CGC | CTG | CTG | GGC | ATC | TGC | CTC | ACC |
| | 2350 | | 2360 | | 2370 | | 2370 | | | |
| | Ser | Thr | Val | Glu | Leu | Ile | Thr | Gln | Leu | Met |
| Wild-type | TCC | ACC | GTG | CAG | CTC | ATC | ACG | CAG | CTC | ATG |
| Mutation-type | TCC | ACC | GTG | CAG | CTC | ATC | ACG | CAG | CTC | ATG |

表一、胺基酸密碼子對照表

| | | | | | | | | | | |
|----------|-----|----------|-----|-----|-----|------|------|-----|------|---|
| | | 2nd base | | | | | | | | |
| | | T | C | A | G | | | | | |
| 1st base | T | TTT | Phe | TCT | Ser | TAT | Tyr | TGT | Cys | T |
| | | TTC | | TCC | | TAC | | TGC | | C |
| | | TTA | Leu | TCA | | TAA | Stop | TGA | Stop | A |
| | TTG | | TCG | | TAG | Stop | TGG | Trp | G | |
| C | CTT | Leu | CCT | Pro | CAT | His | CGT | Arg | T | |
| | CTC | | CCC | | CAC | CGC | C | | | |
| | CTA | | CCA | | CAA | CGA | A | | | |
| | CTG | | CCG | | CAG | CGG | G | | | |
| A | ATT | Ile | ACT | Thr | AAT | Asn | AGT | Ser | T | |
| | ATC | | ACC | | AAC | AGC | C | | | |
| | ATA | | ACA | | AAA | AGA | A | | | |
| | ATG | | ACG | | AAG | AGG | G | | | |
| G | GTT | Val | GCT | Ala | GAT | Asp | GGT | Gly | T | |
| | GTC | | GCC | | GAC | GGC | C | | | |
| | GTA | | GCA | | GAA | GGA | A | | | |
| | | | GCG | | GAG | GGG | G | | | |
| | | | | | | | | | | |