

# 生醫工程實驗期中報告

## Central Dogma & PCR

### A · Central Dogma

#### 1 · DNA & RNA

	去氧核糖核酸，DNA ( <u>d</u> eoxyribo <u>n</u> ucleic <u>a</u> cid)	核糖核酸，RNA ( <u>r</u> ibo <u>n</u> ucleic <u>a</u> cid)
組成 (核甘酸， nucleotide)	A、T、C、G	A、U、C、G
形狀	雙股螺旋	單股彎折
核甘酸數量	上億個	數千個
功能	儲存基因資訊	功能各異
備註	存在細胞核中 (真核生物)	主要分爲 mRNA(messenger RNA) tRNA(translation RNA) rRNA (ribosomal RNA)

#### 2 · Central Dogma 的意義與功用

蛋白質對生物的生理有重大的影響，而每個細胞所需的蛋白質各不相同，因此藉由 central dogma 的過程，細胞得以依其基因特性製造出所需要的蛋白質。由於所有的生物都是經由這樣的過程來生存、繁衍，因而稱之為 central dogma。

#### 3 · 轉錄 (transcription)：由 DNA 複製出 RNA 的過程

- (1) RNA polymerase 上有 sigma factor，可以在 DNA 上辨視出開始複製的位置，即 promoter，而 RNA polymerase 便於此附著在 DNA 上，開始進行複製。
- (2) DNA 逐步打開其雙股，而經由 RNA polymerase 的作用，ribonucleoside triphosphate(rNTP)會以 DNA 單股 3'端到 5'端的方向，形成 RNA 的長鍊 (由於以互補核甘酸的方式形成，所以 RNA 是 5'端到 3'端)，而 sigma factor 在開始複製不久後便會脫落。
- (3) RNA polymerase 順著 DNA 單股依序複製 RNA，直到碰到 DNA 上指示停止複製的位置，即 terminator，這時 RNA polymerase 脫落，而 RNA 的複製完成。
- (4) RNA polymerase 和自由 sigma factor 結合，並繼續下一個 RNA 複製過程。

#### 4 · 轉譯 (translation)：由 mRNA 製造出蛋白質的過程

##### I 背景介紹

- mRNA 由 A、U、C、G 的核甘酸組成，而蛋白質由胺基酸 (amino acid) 組

成，兩者之間必須存在一對應關係，才能由 mRNA 進行蛋白質的合成。

- mRNA 中的三個核甘酸組合 (codon) 對應到一個胺基酸，因此共有 64 種組合，但有三種組合對應到「停止轉譯」的指令 (UAA、UGA、UAG)，因此總共為 61 種 codon 對應到 20 種胺基酸，即不同的 codon 可能對應到同一種胺基酸，自然界生物的基因表現皆為此種對應關係。
- tRNA (transfer RNA) 在轉譯中扮演很重要的角色，其由約 80 個核甘酸構成，可藉 anticodon 在 mRNA 中辨視相對應的 codon，進而將其攜帶的特定胺基酸加到序列上，形成蛋白質長鍊。
- tRNA 有 31 種，但胺基酸只有 20 種，因此不同的 tRNA 可能攜帶相同的胺基酸。但 codon 有 61 種，因此同一個 tRNA 也可能對應到不同的 codon 上，而帶來同一種胺基酸，我們稱這些對應到同一種胺基酸的不同 codon 為 wobbles，它們只會在第三個核甘酸有差別。
- 核糖體 (ribosome) 是蛋白質合成的「場所」，由蛋白質和 rRNA 組合而成，分為 large 和 small 的 subunit，上面有 E、P、A 三個位置。

## II 進行程序

- (1) 核糖體的 small subunit 和 Met 胺基酸在 mRNA 上找 AUG 的 codon (對應 Met)，以作為蛋白質合成的起始位置。
- (2) 找到 AUG 後，large subunit 附著至 small subunit 上，將 Met 擺在 P 的位置，開始進行合成。
- (3) 視 AUG 下一個 codon 為何而決定何種 tRNA 將附著在蛋白質的長鍊上，其將置於 large subunit 的 A 位置。
- (4) Large unit 移動，新的 tRNA 移至 E 位置上，上附的胺基酸附著至長鍊上而舊 tRNA 脫落，回到(3)的步驟繼續進行合成，直到遇見停止的 codon。

## B · PCR (Polymerase Chain Reaction, 聚合酶連鎖反應)

### 1 · 簡介

PCR 是一種使特定 DNA 片段大量複製的技術。主要原理為利用具高耐熱的 DNA 聚合酵素 (DNA polymerase) 在一對高專一性的引子 (primers) 指引下，快速複製、放大特定之 DNA 序列。理論上，該 DNA 片段的數量在每一回合將成為兩倍，因此其為幾何倍數的成長。

### 2 · 程序

- (1) 將欲複製的 DNA 檢體加熱到  $90^{\circ}\text{C}$ ，使雙股打開成單股，為複製的模板。
- (2) 當溫度下降到  $50^{\circ}\text{C}$ ，引子和模板結合。
- (3) 溫度上升到  $75^{\circ}\text{C}$ ，藉由 DNA 聚合酵素的作用，DNA 開始複製，則 DNA 片段的數量可加倍。
- (4) 重覆以上程序，則 DNA 的特定片段可被快速放大。