

专题 1 基因工程

1.1 DNA 重组技术的基本工具

【新课探究】

知识点一

1. 体外 DNA 重组 DNA 分子 2. 剪切 表达

例 1 D [解析] 基因工程的最终目的是定向改造生物的遗传性状。

例 2 A [解析] 基因工程的操作中能够有目的地将需要的基因导入受体细胞内,A 项正确;基因工程的原理是基因重组,B 项错误;基因工程是分子水平上的生物工程,C 项错误;基因工程的产物对人类并不都是有益的,D 项错误。

知识点二

1. (1)原核生物

(2)特定核苷酸序列 磷酸二酯键 6

(3)黏性末端和平末端

(4)GAATTC G 和 A CCCGGG C 和 G

2. (1)磷酸二酯键

(2)*E. coli* DNA 连接酶 T_4 DNA 连接酶 黏性末端 黏性末端 平末端

3. (1)①环状 DNA 分子 人工改造

②λ 噬菌体的衍生物

(3)①一个至多个 ②自我复制

③标记基因 鉴定和选择

例 1 C [解析] 甲、乙、丙的黏性末端是由三种限制酶切割产生的,A 正确。甲、乙的黏性末端互补,所以甲、乙可以形成重组 DNA 分子;甲、丙的黏性末端不互补,所以甲、丙无法形成重组 DNA 分子,B 正确。DNA 连接酶作用于磷酸二酯键,而 b 处是氢键,C 错误。甲、乙黏性末端形成的

重组 DNA 分子片段为 $\begin{array}{c} \text{—GAATTG—} \\ \text{—CTTAAC—} \end{array}$,其中没有切割产生

甲的限制酶的识别序列及酶切位点,D 正确。

例 2 B [解析] 质粒是一种具有自主复制能力的很小的双链环状 DNA 分子,不含游离的磷酸基团,完全水解后最多可产生 6 种化合物(脱氧核糖、磷酸、4 种含氮碱基),A、C 项错误,B 项正确;质粒是基因工程的运载工具,不是工具酶,D 项错误。

【当堂自测】

1. (1)× (2)× (3)× (4)× (5)× (6)× (7)√

[解析] (1)限制酶能识别 DNA 上特定的核苷酸序列,含有该特定序列的 DNA 均能被限制酶切割。

(2)限制酶能识别双链 DNA 分子的某种特定核苷酸序列,但不能识别经其切割后形成的黏性末端或平末端。

(3)DNA 分子经限制酶切割后,将形成黏性末端或平末端。

(4)DNA 连接酶连接的是两个 DNA 片段,催化形成的是磷酸二酯键。

(5)*E. coli* DNA 连接酶只能将双链 DNA 片段互补的黏性末端之间连接起来。

(6)基因工程中常用的载体有质粒、λ 噬菌体的衍生物和一些动植物病毒等。

2. D [解析] 基因工程能在不同物种间进行。

3. D [解析] *E. coli* DNA 连接酶不能连接平末端,A 项错误;DNA 连接酶能将断开的两个 DNA 片段连接起来,重新形成磷酸二酯键,氢键不用 DNA 连接酶的催化就能形成,B、C 项错误; T_4 DNA 连接酶既能连接黏性末端,也能连接平末端,但连接平末端的效率比较低,D 项正确。

4. D [解析] 基因工程的载体除质粒外,还有 λ 噬菌体的衍生物、动植物病毒等。

GTGCAC

5. (1)CACCTG (2)3

[解析] 片段乙和片段丁是同种限制酶切割后形成的,二者存在相同的黏性末端,可以首尾相接,形成环状的 DNA 分子(乙—丁);乙和丁本身也会发生“两两”连接,形成(乙—乙)和(丁—丁)两种环状的 DNA 分子。

1.2 基因工程的基本操作程序

第 1 课时 基因工程的基本操作程序(一)

【新课探究】

知识点一

1. 目的基因的获取 基因表达载体的构建

(1)蛋白质

(2)人工的方法

2. (1)①DNA 片段 储存 ②基因组文库 部分基因文库 ③核苷酸 染色体 转录 ④限制酶 mRNA DNA 无 无 部分基因

(2)①体外 ②DNA 双链复制 ③核苷酸序列 引物

④变性 引物 DNA 聚合酶 延伸 ⑤PCR 扩增仪

⑥指数 (3)小 核苷酸序列

例 1 A [解析] cDNA 文库属于部分基因文库,比基因组文库小,A 项错误。

例 2 C [解析] 果蝇 X 染色体上的所有基因组成的文库是部分基因文库,A 项正确;cDNA 文库中的基因可以在不同物种间进行交流,B 项正确;取出果蝇某细胞中全部 mRNA,通过逆转录产生的全部 DNA 片段称为 cDNA 文库,C 项错误;以 mRNA 为模板逆转录形成的 cDNA 中既无启动子,又无终止子,D 项正确。

例 3 D [解析] PCR 过程中通过加热使 DNA 变性解旋为单链,不需要解旋酶。

知识点二

1. 受体细胞中稳定存在 表达和发挥作用

2. 启动子 标记基因

3. RNA 聚合酶识别和结合

4. 鉴别受体细胞 受体细胞

例 1 C [解析] 基因工程的核心是基因表达载体的构建,即构建重组 DNA 分子,A 正确;质粒 pZH22 上存在启动子,它是 RNA 聚合酶结合的位点,B 正确;重组质粒中仍然含有限制酶 E 和限制酶 F 的切割位点,因此重组质粒 pZH22 除了能被限制酶 G、H 切割,也能被限制酶 E、F 切割,C 错误;质粒的化学本质是 DNA,DNA 复制时需要 DNA 聚合酶的催化,D 正确。

例 2 C [解析] 启动子是 RNA 聚合酶识别和结合的部位,A 错误;可从动物垂体细胞中提取 mRNA 通过逆转录获得生长激素基因,B 错误;终止子位于基因尾端,是一段有特殊结构的 DNA 片段,C 正确;构建表达载体的目的是使生长激素基因在受体细胞中稳定存在,并且可以遗传给下一代,同时,使目的基因能够表达和发挥作用,D 错误。

【当堂自测】

1. (1)× (2)√ (3)× (4)√ (5)× (6)× (7)×

[解析] (1)cDNA 文库是利用细胞中的 mRNA 逆转录得到的 DNA 所构建的,因细胞中的基因并不是全部发生了转录,故 cDNA 文库不可能包括该细胞内所有的基因信息。

- (2)通过 mRNA 逆转录得到的胰岛素基因中的核苷酸数目少于体内胰岛素基因的核苷酸数目。
- (3)PCR 技术不需要解旋酶,且所用的 DNA 聚合酶需要耐高温,而体内 DNA 复制需要解旋酶。
- (5)启动子、终止子与目的基因转录的起始和终止有关,而与其复制无关。
- (6)质粒通常采用抗生素抗性基因来作为标记基因。
- (7)启动子和终止子决定着转录的开始与结束。
2. D **【解析】**一种生物的基因组文库含有本物种生物的全部基因,A 项正确;基因文库的构建中使用了限制酶,B 项正确;cDNA 文库的实质就是一个受体菌群,C 项正确;基因组文库中的部分基因可以在物种间进行交流,D 项错误。
3. C **【解析】**变性过程破坏的是 DNA 分子内碱基对中的氢键,A 项正确;复性过程中引物与 DNA 模板链的结合是通过碱基互补配对完成的,B 项正确;延伸过程中需要热稳定的 DNA 聚合酶、四种脱氧核糖核苷酸等,C 项错误;与细胞内 DNA 复制相比,PCR 所需酶的最适温度较高,D 项正确。
4. B **【解析】**基因表达载体的构建是基因工程的核心内容,一个基因表达载体的组成,除了目的基因外,还有启动子、终止子和标记基因等,①错误;启动子在基因的首端,它是 RNA 聚合酶的结合位点,控制着转录的开始,②正确;终止子在基因的尾端,控制着转录的结束,③正确;不同基因表达载体的构建是不完全相同的,④错误。
5. (1)限制性核酸内切
(2)转录 逆转录 脱氧核苷酸 逆转录酶
【解析】(1)甲表示直接从细胞中获取目的基因,用限制酶切割含有目的基因的 DNA 分子,可用于构建基因组文库。(2)乙表示采用人工合成法(逆转录法)合成目的基因,其中 c 表示转录形成 mRNA 过程;d 表示逆转录过程,该过程需要的酶是逆转录酶。

第 2 课时 基因工程的基本操作程序(二)

【新课探究】

知识点一

- 维持稳定 表达
- 农杆菌转化法 花粉管通道法
- (1)①双子叶植物 单子叶植物 ②T-DNA
④T-DNA 农杆菌
- (2)单子叶
- (1)显微注射技术
- (2)受精卵
- (3)提纯
- (1)单细胞 较少
(2) Ca^{2+} 感受态 感受态

例 1 C 【解析】将目的基因导入植物细胞,常用农杆菌转化法,A 项正确;将目的基因导入动物细胞,一般选择受精卵作为受体细胞,B 项正确;将目的基因导入微生物细胞一般用氯化钙处理法,C 项错误;基因枪法是单子叶植物中常用的一种基因转化方法,但是成本较高,D 项正确。

例 2 (1)体外重组的质粒可以进入受体细胞;真核生物基因可在原核细胞中表达

- (2)外壳蛋白(或噬菌体蛋白) 细菌
(3)蛋白酶缺陷型 蛋白酶

【解析】(1)非洲爪蟾核糖体蛋白基因与质粒重组后被导入大肠杆菌细胞并进行了表达,该实验中目的基因已经进行了表达,则能说明体外重组的质粒可以进入受体细胞中;真核生物基因可在原核细胞中表达。(2)基因工程中将目的基因导入微生物细胞最常用的转化方法是用 Ca^{2+} 处理细胞,使细胞处于一种能吸收周围环境中 DNA 分子的生理状态,这种细胞称为感受态细胞。可通过这种转化方法将重组质粒导入大肠杆菌细胞中。病毒的结构比较简单,由蛋白质外壳和壳内的遗传物质组成,病毒在宿主细胞内完成

自身遗传物质和蛋白质外壳的组装。噬菌体的宿主细胞是细菌。(3)酶具有专一性,蛋白酶能专一性降解蛋白质。为防止大肠杆菌内真核生物基因表达出的蛋白质被降解,在实验中选择用蛋白酶缺陷型的大肠杆菌作为受体细胞,在蛋白质纯化过程中,应添加蛋白酶抑制剂,以抑制蛋白酶的活性,防止蛋白质被降解。

知识点二

- (1)插入了目的基因 DNA 分子杂交技术 放射性同位素 杂交带
(2)分子杂交技术 标记的目的基因
(3)蛋白质 抗原—抗体杂交
- (1)抗虫或者抗病的接种
(2)天然产品

例 1 C 【解析】目的基因的检测包括 4 个方面:检测转基因生物的 DNA 上是否插入了目的基因;检测目的基因是否转录出了 mRNA;检测目的基因是否翻译出了蛋白质;检测转基因生物是否表现出目的性状。

例 2 C 【解析】核酸分子杂交可以是两条脱氧核苷酸链的杂交,也可以是单链 DNA 和 RNA 的杂交,A 项错误。抗原—抗体杂交的原理是抗体能与对应的抗原发生特异性结合,B 项错误。核酸分子杂交可检测目的基因的存在和转录情况,C 项正确。抗原—抗体杂交中目的基因的表达产物常作为抗原,D 项错误。

【当堂自测】

- (1)√ (2)× (3)× (4)× (5)× (6)× (7)×
【解析】(1)目的基因只有插入真核细胞的染色体 DNA 上才能随着染色体的复制而复制并分配到子细胞中。
(2)自然条件下,农杆菌对大多数单子叶植物没有感染能力。
(3)抗原—抗体杂交技术可鉴定目的基因是否成功地翻译出蛋白质,但不涉及碱基互补配对原则。
(4)基因探针还能用来鉴定目的基因是否转录产生 mRNA。
(5)有时需要进行个体生物学水平的鉴定,才能确定基因工程是否成功。
(6)植物细胞具有全能性,其体细胞也可以是基因工程的受体细胞。
(7)目的基因的检测与鉴定需在分子水平和个体水平进行。
- B **【解析】**将基因表达载体导入微生物细胞的常用转化方法:首先用 Ca^{2+} 处理细胞,使细胞处于一种能吸收周围环境中 DNA 分子的生理状态,然后将基因表达载体在缓冲液中与感受态细胞混合,在一定的温度下促进感受态细胞吸收 DNA 分子,完成转化过程,B 项错误。
- C **【解析】**该人胰岛 A 细胞和肝细胞中的 DNA 都含有胰岛素基因,能与探针形成杂交带,①④正确;该人胰岛 B 细胞中的胰岛素基因会转录形成 mRNA,该 mRNA 能与探针形成杂交带,②正确;该人胰岛 A 细胞中含胰岛素基因,但胰岛素基因不表达,所以该细胞中的 mRNA 不能与探针形成杂交带,③错误。故答案选 C。
- (1)基因 A 有内含子,在大肠杆菌中,其初始转录产物中与内含子对应的 RNA 序列不能被切除,无法表达出蛋白 A
(2)噬菌体 噬菌体的宿主是细菌,不是家蚕(细胞)
(3)繁殖快、容易培养 (4)蛋白 A 的抗体
(5)DNA 可以从一种生物个体转移到另一种生物个体

【解析】病毒侵染宿主细胞具有专一性,昆虫病毒能侵染家蚕细胞,而噬菌体是细菌病毒,不能侵染家蚕细胞。以原核生物细胞作为受体细胞,是利用了原核生物的几个优点:繁殖快、易培养、多为单细胞、遗传物质相对较少等。要检测基因 A 是否翻译出蛋白 A,方法是抗原—抗体杂交法,这里的抗原就是蛋白 A,抗体就是蛋白 A 的抗体。艾弗里等人的肺炎双球菌转化实验体现了一种生物的 DNA 可以转移到另外一种生物体内且可以表达。

1.3 基因工程的应用

【新课探究】

知识点一

抗虫 抗病 抗逆

例 1 C 【解析】我国的抗虫棉是转入了 Bt 毒蛋白基因培育出来的,A 错误;抗虫基因还有 Bt 毒蛋白基因、淀粉酶抑制剂基因等,B 错误;利用可以调节细胞渗透压的基因可提高作物抗盐碱和抗旱的能力,D 错误。

例 2 D 【解析】由题意能说明萤火虫与烟草植物的 DNA 结构基本相同,①正确,荧光素基因转入烟草植物细胞后能成功表达,说明萤火虫和烟草植物合成蛋白质的方式基本相同,这两种生物共用一套遗传密码,在烟草细胞内荧光素基因指导合成了荧光素,②③④正确。

知识点二

生长激素 乳糖 药用蛋白 显微注射 受精卵 受精卵 泌乳期 乳汁 调节因子 抗原决定 抗原决定

例 1 D 【解析】转基因动物是指利用基因工程手段导入了目的基因且目的基因可以高效表达的动物,A 项错误;提高基因表达水平是指设法提高牛的乳腺细胞合成人白蛋白的能力,B 项错误;只在转基因牛乳汁中才能获取人白蛋白,是因为人白蛋白基因只在牛乳腺细胞中表达,C 项错误;转基因牛的肌肉细胞中也有人白蛋白基因,但不发生转录、翻译,故不合成人白蛋白,D 项正确。

例 2 D 【解析】用转基因动物作为器官移植的供体时,可将某种调节因子导入器官供体基因组,以抑制抗原决定基因的表达,或设法除去抗原决定基因,再结合克隆技术,培育出没有免疫排斥反应的转基因克隆器官,D 错误。

知识点三

1. 基因工程 外源基因

2. 正常基因 表达产物 体外基因 体外 体内

例 A 【解析】基因治疗是利用转基因技术治疗疾病的新途径,A 项正确;口服基因达不到治疗疾病的目的,B 项错误;基因治疗的主要原理是将外源正常基因导入靶细胞,以纠正基因异常或补偿基因缺陷,而不是修复患者的缺陷基因,C 项错误;基因治疗目前只是处于初期的临床试验阶段,D 项错误。

【当堂自测】

1. (1)× (2)× (3)√ (4)× (5)× (6)×

【解析】(1)Bt 毒蛋白基因编码的蛋白质主要抗虫,而不能抗病毒、细菌、真菌。

(2)一方面棉铃虫等害虫可能会发生突变,另一方面抗虫棉的抗虫基因同其他基因一样也会发生突变,因此抗虫棉不具有永久抗虫的能力。

(3)只有雌性哺乳动物才能分泌乳汁,将目的基因导入受体细胞时需鉴定受体细胞的性染色体组成。

(4)培育转入人胰岛素基因的动物时,受体细胞一般是受精卵,由其增殖分化形成的各个细胞均含有人胰岛素基因。

(5)基因工程药物主要由工程菌生产。

(6)基因治疗是把正常基因导入病人体内,使该基因的表达产物发挥功能,从而达到治疗疾病的目的。

2. B 【解析】几丁质酶基因及抗毒素合成基因一般是抗真菌转基因植物的目的基因。

3. A 【解析】从基因疫苗的制备过程可看出,基因疫苗是目的基因与质粒重组后形成的,即重组质粒,A 项正确。

1.4 蛋白质工程的崛起

【新课探究】

知识点一

(1)自然界已存在 (2)人类生产和生活

(3)①干扰素 ②赖氨酸

例 C 【解析】如果将天冬氨酸激酶的第 352 位的苏氨酸变成异亮氨酸,将二氢吡啶二羧酸合成酶中 104 位的天冬酰胺变成异亮氨酸,就可以使玉米叶片和种子中的游离赖氨酸分别提高 5 倍和 2 倍。因此可通过修饰天冬氨酸激酶基因和二氢吡啶二羧酸合成酶基因的个别碱基来达到目的。

知识点二

1. 结构

2. 从预期的蛋白质功能出发 氨基酸序列

3. 基因

4. 基因修饰 基因合成 一种新的蛋白质

例 (1)氨基酸序列(或结构)

(2)P P1 DNA 和 RNA(或遗传物质) DNA→RNA、RNA→DNA、RNA→蛋白质(或转录、逆转录、翻译)

(3)设计蛋白质的结构 推测氨基酸序列

生物功能

知识点三

1. 胰岛素

2. 体积小、耗电少和效率高

3. 高级结构

例 C 【解析】蛋白质工程实施的最大难题是科学家对于大多数蛋白质的高级结构了解不清楚。

【当堂自测】

1. (1)× (2)× (3)× (4)× (5)√ (6)√

【解析】(1)蛋白质工程通过基因修饰或基因合成来获取目的基因的,不需通过 mRNA 的逆转录获取目的基因。

(2)决定氨基酸的密码子具有简并性,故所设计的 DNA 分子可能存在多种碱基序列。

(3)生产新的蛋白质要通过对基因的改造来完成。

(4)蛋白质工程是一项难度很大的工程,目前成功的例子不多。

(5)由于基因控制蛋白质的合成,所以蛋白质工程的操作对象是基因。

2. A 【解析】蛋白质工程可以对现有蛋白质进行改造,也可以制造一种新的蛋白质,A 项正确。蛋白质工程的基本途径是从预期的蛋白质功能出发→设计预期的蛋白质结构→推测应有的氨基酸序列→找到相对应的脱氧核苷酸序列(基因),所以该工程并不是直接对蛋白质分子进行操作,B 项错误。蛋白质工程是通过基因修饰或基因合成来改造或制造蛋白质的,而不是通过直接改造相应的 mRNA 来改造蛋白质,C 项错误。蛋白质工程的流程与天然蛋白质合成的过程不同,D 项错误。

3. B 【解析】蛋白质工程是对基因进行修饰或重新合成,然后使其进行表达,故蛋白质工程需要用到限制酶和 DNA 连接酶,A 项正确;通过蛋白质工程,可生产自然界没有的蛋白质,B 项错误;溶菌酶中引入二硫键提高了它的热稳定性是蛋白质工程应用的体现,C 项正确;蛋白质工程能通过基因修饰或基因合成,定向地对现有蛋白质分子的结构进行改造,使之更加符合人类需要,D 项正确。

专题 2 细胞工程

2.1 植物细胞工程

2.1.1 植物细胞工程的基本技术

【新课探究】

知识点一

1. 遗传物质 基因

专题 1 基因工程

1.1 DNA 重组技术的基本工具

- D 【解析】基因工程又叫作 DNA 重组技术,其生物学原理是基因重组,A 项正确;基因工程可以按照人们的意愿,通过体外 DNA 重组和转基因等技术定向改造生物性状,B 项正确;基因工程属于分子水平的操作,C 项正确;将目的基因导入受体细胞是实施基因工程的第三步,说明基因工程是在细胞外和细胞内进行的,D 项错误。
- C 【解析】限制性核酸内切酶识别 DNA 分子中特定的脱氧核苷酸序列,并在特定位点进行切割,A 正确,C 错误;酶的活性受温度、pH 等因素影响,B 正确;限制性核酸内切酶主要从原核生物中提取,D 正确。
- D 【解析】一种限制性核酸内切酶通常只能识别一种特定的脱氧核苷酸序列,①正确;T₄ DNA 连接酶可以连接 DNA 片段的黏性末端和平末端,②正确;限制性核酸内切酶只能识别和切割 DNA,③错误;可从原核生物(如大肠杆菌)中提纯分离获得限制性核酸内切酶,④正确;限制性核酸内切酶的操作对象是目的基因和载体,⑤错误。
- D 【解析】质粒被选为载体的理由:有一个至多个限制酶切割位点,供外源 DNA 片段插入其中;具有自我复制的特点或能整合到染色体 DNA 上,随染色体 DNA 进行同步复制;含有特殊的标记基因,供重组 DNA 的鉴定和选择。
- B 【解析】质粒是广泛存在于细菌细胞质中能够自主复制的小型环状 DNA 分子,不是细胞器,A 项错误,B 项正确;质粒上有细菌生活所必需的部分基因,C 项错误;细菌质粒的复制过程在宿主细胞内进行,D 项错误。
- C 【解析】构建基因表达载体时,常用相同的限制性核酸内切酶处理目的基因和质粒,以产生相同的黏性末端,A 项正确。在三种工具中,载体质粒的化学本质是 DNA,其基本单位是脱氧核糖核苷酸;两种酶的化学本质是蛋白质,其基本单位是氨基酸,B 项正确。DNA 连接酶能够催化形成磷酸二酯键,是基因工程中的“分子缝合针”,C 项错误。限制性核酸内切酶主要是从原核生物中分离获得的,具有识别特定脱氧核苷酸序列的能力,即具有专一性,D 项正确。
- C 【解析】①表示限制性核酸内切酶切割 DNA 分子双链产生黏性末端的过程;②是黏性末端连接的过程,用到的酶是 DNA 连接酶;③是 DNA 分子解旋的过程,要用解旋酶;④是 DNA 分子复制时子链的形成过程,需要 DNA 聚合酶。故答案选 C。
- D 【解析】不同的限制酶识别不同的脱氧核苷酸序列并识别不同的切割位点,但只要切下的游离碱基互补即可互补黏合,BamH I 和 Bgl II 都可切下序列—GATC—,故末端互补序列为—GATC—。故答案选 D。
- D 【解析】由题图可知,该基因经酶切后形成 4 个 DNA 片段,因此该正常基因中有 3 个—CCTAGG—序列,A 项错误;产生的 DNA 片段可用 DNA 连接酶连接起来,B 项错误;DNA 分子是两条链,用该酶处理得到题图所示基因片段要水解 6 个磷酸二酯键,C 项错误;若该基因某处有一个—CCTAGC—序列突变为—CCTAGG—序列,则有 4 个切点,用该酶处理后将产生 5 个片段,D 项正确。
- A 【解析】第①组中细胞在含氨苄青霉素的培养基上和含四环素的培养基上均能生长,说明抗氨苄青霉素基因和抗四环素基因都没有被破坏。因此外源基因插入的位置是 c;同理第②组中抗氨苄青霉素基因没有被破坏,抗四环素基因被破坏,外源基因插入的位置是 b;第③组中抗氨苄青霉素基因被破坏,抗四环素基因没有被破坏,外源基因插入的位置是 a。因此①②③三种重组细菌的外源基因插入点分别是 c、b、a。故答案选 A。
- (1)限制性核酸内切 —GAATTC— 鸟嘌呤脱氧核苷酸 腺嘌呤脱氧核苷酸 磷酸二酯

(2)DNA 连接酶 鸟嘌呤脱氧核苷酸 腺嘌呤脱氧核苷酸 磷酸二酯 重组 DNA 分子

【解析】(1)限制性核酸内切酶能识别特定的脱氧核苷酸序列并在特定部位切割(破坏的是磷酸二酯键),形成黏性末端或平末端。(2)DNA 连接酶能连接两个脱氧核苷酸之间的磷酸二酯键,将不同来源的 DNA 片段连接起来,构成重组 DNA 分子。

- (1)DNA 能够自我复制、具有遗传效应

(2) $\begin{array}{c} \text{CGCGT} \\ \text{A} \end{array}$ DNA 连接酶

(3)标记基因 供重组 DNA 的鉴定和选择

(4)C

【解析】(1)a 是拟核中的大型环状 DNA 分子,质粒是细胞质中的小型环状 DNA 分子;二者还具有其他共同点:能够自我复制、具有遗传效应、具有双螺旋结构等。(2)根据

碱基互补配对原则,外源基因的切割末端应为 $\begin{array}{c} \text{CGCGT} \\ \text{A} \end{array}$;

DNA 连接酶能将两个互补的 DNA 片段连接到一起。(3)氨苄青霉素抗性基因在质粒 DNA 上称为标记基因,能对重组 DNA 进行鉴定和选择。(4)质粒是基因工程中常用的载体,除此之外还有 λ 噬菌体的衍生物和动植物病毒等。

- (1)乙 甲 (2)a 处 磷酸二酯键

绿色硬纸板(甲 DNA 分子)的碱基序列:

……ATAGCATGCTATCCATG || AATTCGGCATAC ……

……TATCGTACGATAGGTACTTAA || GCCGTATG ……

红色硬纸板(乙 DNA 分子)的碱基序列:

……TCCTAG || AATTCTCGGTATG || AATTCCATAC ……

……AGGATCTTAA || GAGCCATACTTAA || GGTATG ……

(3)不能

【解析】(1)甲 DNA 分子中有一个 EcoR I 的识别序列,乙 DNA 分子中有两个 EcoR I 的识别序列,故甲是“质粒”,乙是含“目的基因”的 DNA 分子。(2)限制酶的作用位点是磷酸二酯键。(3)该活动中模拟插入的 DNA 片段不能称为一个基因。

- (1)限制酶 DNA 连接酶

$\begin{array}{c} \text{—GGATCC—} \\ \text{—CCTAGG—} \end{array} \xrightarrow{\text{限制酶切割}} \begin{array}{c} \text{—G} \\ \text{—CCTAG} \end{array} \begin{array}{c} \text{GATCC—} \\ \text{G—} \end{array}$

(2)

(3)人的遗传物质(基因)与羊的遗传物质都为 DNA,其物质组成和空间结构相同

(4)基因重组

【解析】(1)在基因工程中用到的“剪刀”是限制酶;“缝合针”是 DNA 连接酶。(2)该工程中所用的基因“剪刀”能识别的序列和切点是—G↓GATCC—,因此质粒被切割形成黏性末端的过程图是

$\begin{array}{c} \text{—GGATCC—} \\ \text{—CCTAGG—} \end{array} \xrightarrow{\text{限制酶切割}} \begin{array}{c} \text{—G} \\ \text{—CCTAG} \end{array} \begin{array}{c} \text{GATCC—} \\ \text{G—} \end{array}$

(3)人体蛋白质基因之所以能“插入”羊的染色体,是因为人与羊的遗传物质都是 DNA,其基本组成单位相同,且都具有相同的双螺旋结构。(4)将人体蛋白质基因导入羊体内并成功地表达,使羊产生新的性状,这需要采用基因工程技术,原理是基因重组。

1.2 基因工程的基本操作程序

第 1 课时 基因工程的基本操作程序(一)

- C 【解析】基因工程的基本操作步骤:目的基因的获取→

- 基因表达载体的构建→将目的基因导入受体细胞→目的基因的检测与鉴定。
2. C [解析] 目的基因是从供体细胞中提取的,故C项错误。
3. D [解析] 真核生物的基因组文库中只有部分基因可以在物种间进行交流,D项错误。
4. B [解析] PCR技术的基本原理是DNA双链复制,即半保留复制,A正确;引物DNA是单链,可以与相应的模板链结合,B错误;起催化作用的是热稳定DNA聚合酶,C正确;子代DNA数量的增殖呈指数方式,约为 2^n (n 为扩增循环次数),D正确。
5. C [解析] 利用PCR技术扩增目的基因需要以DNA分子的两条链为模板;从基因文库中获取目的基因不需要模板;反转录法合成目的基因需要以mRNA为模板;通过DNA合成仪人工合成目的基因不需要模板。故选C项。
6. D [解析] PCR扩增中没有使用解旋酶,而是利用高温将DNA双链解开,D错误。
7. C [解析] 题图表示基因表达载体的构建,需用同种限制性核酸内切酶切割质粒和人的生长激素基因,使其出现相同的黏性末端,再用DNA连接酶进行连接,形成重组DNA分子。
8. D [解析] 由于质粒与目的基因具有相同的黏性末端,黏性末端的碱基互补配对,因此,考虑两两连接,可出现两个目的基因连接形成环状的外源DNA,两个质粒连接形成环状的载体DNA,质粒与目的基因连接形成重组质粒三种情况,故A、B、C三项均可能出现。
9. B [解析] A项中,用含有青霉素的培养基培养大肠杆菌时,如果大肠杆菌不死亡,则说明质粒携带目的基因进入了大肠杆菌。B项中,已知四环素不能杀死大肠杆菌,故无论含目的基因的质粒是否成功导入大肠杆菌,其都能在含四环素的培养基上生长。C项和D项中,质粒上的标记基因均可明显指示出目的基因是否进入大肠杆菌。
10. B [解析] cDNA文库是通过细胞中的mRNA反转录而来的,cDNA文库中只含有某种生物的部分基因,基因组文库中含有某种生物的全部基因,A项正确。与基因组文库中的基因相比,cDNA文库中的基因不包含基因的启动子和内含子等部分,B项错误,C项正确。生物在不同的发育时期,基因的表达情况不同,故所构建的cDNA文库不同,D项正确。
11. D [解析] 甲表示启动子,位于基因的首端,它是RNA聚合酶识别、结合的部位,A错误;乙表示终止子,位于基因的尾端,作用是使转录过程停止,B错误;丙表示标记基因,目的基因在启动子和终止子之间,C错误;复制原点有利于目的基因在宿主细胞中扩增,D正确。
12. A [解析] 质粒用限制酶I切割,仅能识别和切割Gene II;如用限制酶II切割,能识别和切割Gene I和Gene II,质粒的2个标记基因都将被破坏。目的基因用限制酶I切割,仅能切割左侧,不能获取目的基因;若用限制酶II切割,左右两侧均有序列 \downarrow —GATC—,能获取目的基因,且切割目的基因形成的末端可与切割质粒形成的末端连接形成重组DNA,故答案选A。
13. D [解析] 等位基因是位于同源染色体相同位置上控制相对性状的基因,所以基因 amp^R 和 Tet^r 不是一对等位基因,A项错误;ori为质粒复制所必需的核苷酸序列,其与重组质粒能否顺利导入受体细胞没有直接的联系,B项错误;重组质粒2的四环素抗性基因没有被破坏,因此导入重组质粒2的大肠杆菌能在含有四环素的培养基上分裂、生长,C项错误;从题图中可以看出,重组质粒1的ori被破坏,质粒无法完成复制,而重组质粒3的氨苄青霉素抗性基因被破坏,因此导入重组质粒1或3的大肠杆菌都不能在含有氨苄青霉素的培养基上分裂、生长,D项正确。
14. (1)mRNA 反转录法 不含有
(2)基因表达载体的构建 T_4 DNA连接酶
(3)PCR DNA双链复制 热稳定DNA聚合酶(或Taq酶)
[解析] (1)cDNA文库是以mRNA为模板,通过反转录法建立的。启动子和终止子不能转录形成mRNA,故以mRNA为模板反转录形成的cDNA中不含有启动子、终止子等结构。(2)基因工程操作的核心步骤是基因表达载

- 体的构建;根据酶的来源不同,DNA连接酶可分为两类: $E \cdot coli$ DNA连接酶、 T_4 DNA连接酶,二者都能连接黏性末端,此外, T_4 DNA连接酶还可以连接平末端,但连接平末端时的效率比较低。(3)PCR技术可在体外大量扩增目的基因,其原理是DNA双链复制。PCR在较高温度下进行,因此该技术中需使用一种特殊的酶,即热稳定DNA聚合酶(或Taq酶)。
15. (1)逆转录酶
(2)热稳定
(3)DNA聚合酶 催化⑤过程的酶耐高温
(4)60
[解析] (1)①过程是逆转录过程,需逆转录酶催化。(2)DNA分子具有热稳定性,因此需要加热至 $90 \sim 95^\circ\text{C}$ 时才能完成变性过程。(3)催化②过程(DNA复制)需要的酶是DNA聚合酶,催化⑤过程(DNA单链延伸)的酶也是DNA聚合酶;⑤过程进行的温度是 $70^\circ\text{C} \sim 75^\circ\text{C}$,因此催化该过程的酶耐高温。(4)RNA单链中A占25%,U占15%,那么由它逆转录形成的双链DNA分子中 $A+T=25\%+15\%=40\%$, $G+C=60\%$,已知RNA单链中有碱基100个,则双链DNA分子中的碱基数是200个,因此双链DNA片段中的C有 $200 \times 60\% \div 2 = 60$ (个)。
16. (1) $Sau3A$ I 两种酶切割后产生的片段具有相同的黏性末端
(2)甲和丙 甲中目的基因插入的位置在启动子的上游,丙中目的基因插入的位置在终止子的下游,二者的目的基因均不能被转录
(3) $E \cdot coli$ DNA连接酶 T_4 DNA连接酶 T_4 DNA连接酶
[解析] (1)由于限制酶BamHI与Sau3AI切割后的黏性末端相同,所以经BamHI酶切后得到的目的基因可以与表达载体被Sau3AI酶切后的产物连接。(2)基因表达载体的启动子和终止子应分别位于目的基因的首端和尾端,甲中目的基因插入的位置在启动子的上游,丙中目的基因插入的位置在终止子的下游,二者的目的基因均不能被转录。(3)常见的DNA连接酶有 $E \cdot coli$ DNA连接酶和 T_4 DNA连接酶,其中既能连接黏性末端又能连接平末端的是 T_4 DNA连接酶。
- ### 第2课时 基因工程的基本操作程序(二)
1. D [解析] 农杆菌是细菌,属于原核生物,没有线粒体,A错误;农杆菌可以通过二分裂的方式进行增殖,B错误;农杆菌在自然条件下感染双子叶植物和裸子植物,对大多数单子叶植物没有感染能力,C错误;Ti质粒上的T-DNA片段可转移到受体细胞,并且可以整合到受体细胞染色体的DNA上,D正确。
2. B [解析] Ti质粒是能够自主复制的环状双链DNA分子,A项错误;Ti质粒是环状DNA分子,其分子内部的磷酸基团都与两个脱氧核糖相连接,B项正确;重组Ti质粒的受体细胞可以是植物愈伤组织细胞,也可以是其他的植物细胞,如植物的受精卵,C项错误;农杆菌有Ti质粒,Ti质粒上有一段T-DNA,目的基因插入Ti质粒上的T-DNA中,再导入农杆菌,让农杆菌侵染植物,农杆菌的Ti质粒上的T-DNA片段(内有目的基因)整合到受体细胞的染色体上,D项错误。
3. D [解析] 原核生物适于作基因工程受体细胞的原因包括繁殖速度快、多为单细胞、遗传物质相对较少。
4. A [解析] 采用花粉管通道法将目的基因导入植物体细胞的方法比较经济有效,A错误;将目的基因导入动物细胞多采用显微注射法,B正确;受体细胞是微生物时,采用钙离子处理,使细胞处于一种能吸收周围环境中DNA分子的生理状态(感受态),C正确;将目的基因导入植物细胞最常用的方法是农杆菌转化法,D正确。
5. B [解析] 将目的基因导入植物细胞的方法有农杆菌转化法、花粉管通道法和基因枪法等,故选B项。
6. D
7. D [解析] 亲子鉴定的原理是DNA分子杂交,用到的探针是一段单链DNA,它能与目的基因的一条链互补配对,D项正确。

8. A **【解析】**目的基因是已经合成的一段 DNA 片段,不能直接打上放射性标记;利用重组质粒的标记基因,可以在特定的培养基上鉴定重组质粒是否导入大肠杆菌;利用 DNA 分子杂交技术可以检测目的基因是否成功导入受体细胞;利用抗原—抗体杂交技术可以检测目的基因是否翻译成蛋白质。故答案选 A。
9. C **【解析】**人工合成目的基因有两条途径:①由 mRNA 逆转录形成 DNA;②由蛋白质中的氨基酸序列推测出 DNA 的核苷酸序列,然后利用化学合成法人工合成 DNA,这两个过程都涉及碱基互补配对。制备重组 DNA 分子涉及黏性末端碱基序列的互补配对。检测目的基因是否存在于受体细胞中,以及目的基因是否转录形成 mRNA 时,都要用 DNA 探针进行检测,该过程中会进行碱基互补配对。将目的基因导入受体细胞的过程不进行碱基互补配对。故选 C 项。
10. C **【解析】**题图中 2、5、3、7 表示从供体细胞获得目的基因的过程,该过程需要限制酶的参与,A 项正确;基因表达载体 8 上带有标记基因,便于筛选导入目的基因的受体细胞,B 项正确;黏性末端碱基之间的连接并不需要 DNA 连接酶的催化,DNA 连接酶催化两个核苷酸之间形成磷酸二酯键,C 项错误;在大肠杆菌中发现胰岛素,说明目的基因被成功导入受体细胞并完成了表达,D 项正确。
11. (1)单子叶植物 将目的基因导入植物细胞 染色体的 DNA T-DNA 片段(内部)
(2)DNA 连接酶、限制
(3)酚
(4)基因枪法、花粉管通道法
【解析】(1)农杆菌可感染双子叶植物和裸子植物,一般不能感染单子叶植物;利用其感染性,可实现目的基因导入植物细胞的目的。T-DNA 可转移至受体细胞并整合到受体细胞染色体的 DNA 上,因此目的基因必须插入该部位导入才能成功。(2)根据 T-DNA 这一转移特点,可以推测该 DNA 片段能控制合成 DNA 连接酶、限制酶以实现与植物细胞染色体 DNA 的整合。(3)植物细胞受伤后可产生酚类物质,促进农杆菌向植物细胞转移。(4)植物基因工程中除了农杆菌转化法之外,还有基因枪法和花粉管通道法等。
12. (1)基因组文库 部分基因文库(如 cDNA 文库) cDNA 文库
(2)—CGATATCG— 切割产生的黏性末端与限制酶 I
—GCTATAGC— 切割产生的黏性末端相同
(3)基因枪法 容易从周围环境吸收 DNA 分子
(4)检测转基因生物的染色体(DNA)上是否插入了目的基因 (生物)个体
【解析】(1)基因文库包括基因组文库和部分基因文库;通过反转录技术可利用 mRNA 合成 cDNA。(2)根据限制酶 I 切出的黏性末端分析,该限制酶识别的核苷酸序列是—CGATATCG—;只有限制酶 II 切割产生的黏性末端和限制酶 I 切割产生的黏性末端相同,两种酶切割 DNA 产生的末端才能拼接到一起。(3)将目的基因导入单子叶植物细胞,常用的方法是基因枪法;用钙离子处理大肠杆菌后,细胞具有吸收周围环境中的 DNA 分子的特点,即处于感受态。(4)目的基因在真核细胞中能否稳定遗传的关键是目的基因是否插入受体细胞染色体的 DNA 上;鉴定目的基因是否成功表达,除了分子水平检测外,还可以从个体水平鉴定。
13. (1)E1 和 E4 甲的完整 甲与载体正确连接
(2)转录 翻译
(3)核 DNA
【解析】(1)L1 基因的左侧是 E1 的酶切位点,GFP 基因的右侧是 E4 的酶切位点,用这两种限制酶切割 DNA,既可以保证甲的完整性,又保证了甲与载体正确连接。(2)若细胞中观察到绿色荧光,说明 L1 基因已经表达,即完成了转录和翻译过程。(3)采用 PCR 方法检测甲是否存在于

克隆牛的不同组织细胞中时,应分别以该牛不同组织细胞中的核 DNA 作为 PCR 的模板。

14. (1)PCR 多肽(或蛋白质)
(2)载体 总 RNA
(3)非天然氨基酸(Uaa) D
(4)细胞

【解析】(1)利用 PCR 技术可扩增目的基因;将某些基因内个别编码氨基酸的序列替换成不能编码氨基酸的序列,可使翻译过程提前终止,无法合成完整长度的多肽(或蛋白质)。(2)将目的基因导入细胞需要借助载体,因此应将目的基因与载体连接后导入细胞;根据题意要筛选成功表达特殊 tRNA 的转基因宿主细胞,应该鉴定细胞转录形成的 RNA 中有没有该种 tRNA,可以提取出宿主细胞总 RNA 进行分子杂交鉴定。(3)将(1)中的重组质粒导入(2)中的转基因宿主细胞,应在补加非天然氨基酸(Uaa)的培养基中进行培养,这样在改造的病毒基因表达时就可以利用宿主细胞中的特殊 tRNA 运输 Uaa,将改造序列对应的终止密码子位置翻译为 Uaa,从而使改造后的基因也可以表达出完整蛋白;特殊 tRNA 基因转录时,识别启动子的酶是宿主细胞的 RNA 聚合酶。(4)不具有侵染性的流感病毒灭活疫苗,不能侵染宿主细胞,只能引起体液免疫;该病毒活疫苗可以侵染宿主细胞,引起细胞免疫,增强免疫保护效果。

1.3 基因工程的应用

1. B **【解析】**抗棉铃虫转基因抗虫棉的抗虫基因是 Bt 毒蛋白基因,来源于苏云金芽孢杆菌。
2. A **【解析】**该过程采用的是转基因技术,原理是基因重组;生长激素基因表达,产生生长激素的过程为 DNA(生长激素基因)→RNA→蛋白质(生长激素)。
3. A **【解析】**山羊受精卵发育成的各个细胞中都含有人血清白蛋白基因,A 错误;当把目的基因导入动物受精卵时,应用显微注射法,B 正确;欲使人血清白蛋白基因在羊乳腺中表达,则应将人的血清白蛋白基因与羊乳腺蛋白基因的启动子等调控组件进行重组,C 正确;由于不同的物种共用一套密码子,因此羊细胞中能合成人的血清白蛋白,D 正确。
4. D **【解析】**基因工程在医药卫生方面的应用主要包括生物制药、基因诊断、基因治疗三个方面,而用含鸡蛋白基因的酵母菌生产卵清蛋白,属于基因工程在食品工业方面的应用。
5. D **【解析】**基因工程是基因水平上的现代生物技术,21 三体综合征是染色体异常遗传病,无法从基因水平上进行治疗。
6. C **【解析】**运用基因工程技术可以使外源基因在受体细胞中表达,从而生产出所需产品,A、B、D 项获得的药物均为外源基因的表达,而青霉菌产生青霉素是一种自身基因的表达,故 C 项所述不属于利用基因工程制取药物。
7. A **【解析】**检测 C 基因是否整合到菊花染色体上用 DNA 分子杂交的方法,A 错误;将目的基因导入菊花细胞,采用农杆菌转化法,B 正确;基因表达载体含有潮霉素抗性基因,因此被转化的菊花细胞能在添加潮霉素的培养基中存活,C 正确;限制性核酸内切酶 EcoR I 能同时切割目的基因和质粒,再用 DNA 连接酶连接形成重组质粒,D 正确。
8. A **【解析】**肿瘤细胞的形成是原癌基因和抑癌基因发生突变的结果,A 项错误;肿瘤细胞的“自杀”现象是由于导入的 HSV-TK 基因编码的胸苷激酶将原先对细胞无毒或毒性较小的药物前体转化为有活性的药物,进而杀死肿瘤细胞,所以该现象属于细胞凋亡,B 项正确;由题图可知,“自杀”基因的成功表达也会导致邻近肿瘤细胞死亡,即对邻近肿瘤细胞也有毒害作用,C 项正确;向肿瘤细胞中导入 HSV-TK 基因的治病方法属于基因治疗,D 项正确。
9. D **【解析】**用放射性同位素标记 DNA 探针的作用是显示 DNA 探针片段与标本 DNA 片段的杂合程度,D 项错误。
10. B **【解析】**抗虫基因在抗虫植株体细胞染色体上的整合方式一般有三种情况,如图所示:

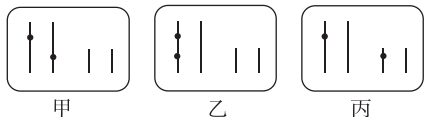


图 L1-1-0

甲图个体相当于显性纯合子,因此自交后代全部含有抗虫基因;乙图个体相当于杂合子,其配子中有一半含有 Bt 基因,自交后代含抗虫基因的植株所占的比例为 $3/4$;丙图个体相当于两对杂合子,产生的配子中有 $3/4$ 含有 Bt 基因,自交后代不含抗虫基因的植株所占的比例为 $1/4 \times 1/4 = 1/16$,含有抗虫基因的植株所占的比例为 $15/16$ 。故答案选 B。

11. (1)将目的基因导入受体细胞
- (2)农杆菌转化法 转化
- (3)目的基因是否插入受体细胞的染色体 DNA 上 DNA 分子杂交技术
- (4)不正确 抗虫棉只能抗棉铃虫等部分害虫,不能抵抗全部害虫(答案合理即可) 有必要 这种转基因棉花纤维内含有 Bt 毒蛋白,可能会使人患病(或没必要 Bt 毒蛋白不会导致人患病)(答案合理即可)
- 【解析】(1)基因工程的操作程序主要包括四个步骤:目的基因的获取、基因表达载体的构建、将目的基因导入受体细胞、目的基因的检测与鉴定。(2)题图中将目的基因导入植物细胞的方法是农杆菌转化法;将 Bt 毒蛋白基因转入普通棉株细胞中并使其成功表达的过程,称为转化。(3)目的基因能否在棉株体内稳定维持和表达其遗传特性的关键是目的基因是否插入受体细胞的染色体 DNA 上。采用 DNA 分子杂交技术可检测目的基因是否插入受体细胞的染色体 DNA 上。(4)抗虫棉抗棉铃虫的生态效果显著,但抗虫棉只能抗棉铃虫等部分害虫,不能抵抗全部害虫。有人认为这种抗虫棉产生的 Bt 毒蛋白存在于棉花纤维内,由此棉花制成的服装等产品会影响人体的健康,对于这种说法分两种情况考虑:①这种担心有必要,理由是这种转基因棉花纤维内含有 Bt 毒蛋白,可能会使人患病;②这种担心没必要,因为 Bt 毒蛋白不会导致人患病。
12. (1)基因表达载体的构建 ADS 酶的基因和 CYP71AV1 酶 抗原—抗体杂交 杂交带
- (2)FRG9 酶 固醇
- (3)逆转录 固相和(基因 A 的)双链模板 放射性同位素标记的目的基因
- (4)抗原决定基因 克隆

【解析】(1)基因表达载体的构建是基因工程的核心步骤;酵母细胞能合成 FPP 合成酶,但不能合成 ADS 酶和 CYP71AV1 酶,即酵母细胞缺乏 ADS 酶基因和 CYP71AV1 酶基因,因此要培育能产生青蒿素的酵母细胞,需要向酵母细胞中导入 ADS 酶基因和 CYP71AV1 酶基因;检测目的基因是否产生相应蛋白质,可采用抗原—抗体杂交的方法,若有杂交带出现,表明目的基因已表达。(2)抑制 FRG9 酶活性,FPP 转化为固醇的量减少,同时转化为青蒿素的量会增加。(3)mRNA 在逆转录酶的作用下能形成 DNA;PCR 技术扩增 DNA 时需模板 DNA、原料、热稳定 DNA 聚合酶和引物;要检测转基因生物 DNA 上是否插入了目的基因,可采用 DNA 分子杂交技术,即用放射性同位素标记的目的基因作为探针进行检测。(4)向供体动物基因组中导入某种调节因子,能抑制抗原决定基因表达,再结合克隆技术,可培育出无免疫排斥的转基因猪器官。

13. (1)功能 染色体 ada 基因发生突变(无正常的 ada 基因)
- (2)载体 能侵染宿主细胞
- (3)T 淋巴细胞 细胞增殖(或有丝分裂)
- (4)体内基因治疗 体外基因治疗

【解析】(1)从该基因文库中获取目的基因时,一般要根据目的基因的有关信息,如基因的核苷酸序列、基因的功能、基因在染色体上的位置、基因的转录产物 mRNA 以及基因的表达产物蛋白质等特性来获取目的基因。由题干信息可知,SCID 患者出现该病症的根本原因是 ada 基因发

生了突变。(2)由题图可知,逆转录病毒相当于基因工程中的工具——载体,其行使功能时利用了病毒能侵染宿主细胞的特性。(3)由于 SCID 属于免疫缺陷病,需要进行基因治疗的应该是免疫细胞,结合题意“将人的正常 ada 基因转入患者的 T 细胞中,可改善患者的免疫功能”可知,乙可能是有缺陷的 T 淋巴细胞;过程Ⅲ代表 2 个细胞生成 4 个细胞的过程,即细胞增殖(或有丝分裂)的过程。(4)基因治疗的方法包括体外基因治疗和体内基因治疗,题图所示的是体外基因治疗;两种方法相比,体外基因治疗虽然操作复杂,但效果较为可靠。

1.4 蛋白质工程的崛起

1. A 【解析】要想使蛋白酶热稳定性有所提高,就要改变蛋白质的结构,此类问题一般是对蛋白质中的个别氨基酸进行替换。
2. B 【解析】由于基因控制蛋白质的合成,且改造基因较易于操作,所以对蛋白质设计改造可通过基因修饰或基因合成来完成,且改造后的基因能够遗传给子代。故答案选 B。
3. B 【解析】蛋白质工程的目标是根据人们对蛋白质功能的特定需求,对蛋白质的结构进行分子设计,所以设计蛋白质结构的依据是蛋白质的功能,B 项正确。
4. C 【解析】蛋白质工程的基本途径:从预期的蛋白质功能出发→设计预期的蛋白质结构→推测应有的氨基酸序列→找到相对应的脱氧核苷酸序列(基因)。
5. A 【解析】蛋白质工程能通过基因修饰或基因合成,对现有蛋白质分子的结构进行定向改造,或制造一种新的蛋白质,使之更加符合人类的需要,A 项正确;蛋白质工程的实质是通过改变基因的结构来改变蛋白质的功能,B 项错误;当前限制蛋白质工程发展的关键因素是对大多数蛋白质的高级结构的了解还不够,C 项错误;蛋白质工程操作的直接对象是基因,而不是蛋白质,D 项错误。
6. D 【解析】蛋白质工程是一项难度很大的工程,目前成功的例子不多,主要是因为蛋白质发挥功能必须依赖于正确的高级结构,这种高级结构十分复杂,而目前科学家对大多数蛋白质的高级结构的了解还不够,要设计出更加符合人类需要的蛋白质还需经过艰辛的探索。
7. B
8. C 【解析】A、B、D 三项均是人类有目的地改造或制造蛋白质;C 项则是生物在诱变条件下,不定向地产生一种新蛋白质,故其不属于蛋白质工程的领域。
9. B 【解析】蛋白质工程可通过改造基因来实现对蛋白质分子结构的定向改造,使之更加符合人类的需要,A 正确;将人的胰岛素基因导入大肠杆菌细胞内,使大肠杆菌产生胰岛素的技术属于基因工程,B 错误;蛋白质工程的原理是从预期的蛋白质功能出发最终找到脱氧核苷酸序列的过程,C 正确;目前蛋白质工程成功的例子不多,主要是人们对蛋白质的高级结构的了解还很不够,D 正确。
10. A 【解析】蛋白质工程可以合成新的蛋白质,A 错误;T4 溶菌酶中引入二硫键,属于蛋白质的改造,是蛋白质工程应用的体现,B 正确;蛋白质工程可通过改造基因来实现对蛋白质分子结构的定向改造,使之更加符合人类的需要,C 正确;蛋白质工程的核心是基因工程,故蛋白质工程需要用到限制酶和 DNA 连接酶,D 正确。
11. C 【解析】蛋白质工程通过基因修饰或基因合成,对蛋白质进行改造,可制造一种新的蛋白质,因此蛋白质工程是在基因工程的基础上,延伸出来的第二代基因工程,A、B 正确;干扰素不能进行自我合成,C 错误;基因工程和蛋白质工程操作的对象都是基因,产生的变异都是可遗传的,D 正确。
12. D 【解析】由题意可知,RNA 酶分子复性后与正确折叠的天然蛋白质的结构和功能相同,说明折叠信息包含在氨基酸序列中,A 不符合题意;除去制备物中的脲和巯基乙醇后重新形成的蛋白质在结构和功能上与实验开始时正确折叠的天然蛋白质不可区分,说明天然构象可能是其最稳定的构象,诱发蛋白质变性的因素去掉后,蛋白质又恢复天然构象,B 不符合题意;某些发生蛋白质变性的分子也可以复性,C 不符合题意;根据题意不能得出折叠过程是否需要某种分子的协助的结论,D 符合题意。

13. (1)预期的胰岛素功能 (2)载体 受体细胞
(3)蛋白质工程 基因工程
(4)根据新的胰岛素模型中氨基酸的序列,推测出控制新胰岛素合成的基因中的脱氧核苷酸序列,然后利用 DNA 合成仪合成新的胰岛素基因

[解析] (1)蛋白质工程首先要根据人们对蛋白质功能的特定需求,对蛋白质的结构进行分子设计,因此,题图中构建新的胰岛素模型的主要依据是预期的胰岛素功能。(2)合成的目的基因应与载体结合并导入受体细胞中才能得到表达。(3)利用大肠杆菌生产速效胰岛素,首先需利用蛋白质工程设计出新的胰岛素基因,再将改造好的目的基因通过基因工程转入受体细胞,最后借助工程菌的发酵过程进行生产。因此,此过程涉及的生物工程有蛋白质工程、基因工程和发酵工程。(4)由新的蛋白质模型到合成新的基因,其基本思路是根据新的胰岛素模型中氨基酸的序列,推测出控制新胰岛素合成的基因中的脱氧核苷酸序列,然后利用 DNA 合成仪来合成新的胰岛素基因。

14. (1)可生产出自然界不存在的蛋白质
(2)DNA 合成
(3)脱氧(核糖)核苷酸 逆转录酶
—A—T—C—C—A—G—G—T—C—
—T—A—G—G—T—C—C—A—G—
(4)改造基因的操作更容易,且改造后可以遗传
(5)基因工程

[解析] (1)基因工程原则上只能生产自然界已存在的蛋白质,蛋白质工程可以生产出自然界原来不存在的新的蛋白质。(2)步骤①是由氨基酸序列推测出脱氧核苷酸序列后进行的 DNA 合成过程。(3)DNA 合成的原料是 4 种游离的脱氧核苷酸;由 mRNA 合成 DNA 是逆转录过程,需要逆转录酶催化;合成的 DNA 是双链,根据碱基互补配对原则,其碱基序列应该是一 A—T—C—C—A—G—G—T—C—
—T—A—G—G—T—C—C—A—G—。(4)改造基因的操作比直接改造蛋白质要容易,且改造基因后这种性状是可以遗传的。(5)蛋白质工程是在基因工程的基础上的延伸,又被称为第二代基因工程。

15. (1)从预期的蛋白质功能出发 找到相对应的脱氧核苷酸序列
(2)自然界中已存在 人类生产和生活 基因修饰或基因合成 现有蛋白质
(3)高级 (4)相反

[解析] (1)蛋白质工程的基本途径是从预期的蛋白质功能出发→设计预期的蛋白质结构→推测应有的氨基酸序列→找到相对应的脱氧核苷酸序列(基因)。(2)基因工程在原则上只能生产自然界已存在的蛋白质,但这些天然的蛋白质不一定完全符合人类生产和生活的需求。蛋白质工程可以通过基因修饰或基因合成,对现有蛋白质进行改造,或制造一种新的蛋白质,从而满足人类的生产和生活的需要。(3)蛋白质工程实施难度大的原因在于蛋白质发挥功能必须依赖于正确的高级结构,而这种高级结构十分复杂。(4)天然蛋白质的合成过程是按照中心法则进行的,但蛋白质工程却与之相反。

16. (1)基因表达载体的构建 限制性核酸内切酶(或限制酶)、DNA 连接酶
(2)有一段已知 MPT64 基因的核苷酸序列 使引物结合到互补 DNA 链上(或引物与互补链结合)
(3)Ti 质粒的 T-DNA 上 染色体 DNA DNA 分子杂交
(4)基因修饰或基因合成

[解析] (1)基因工程的核心是基因表达载体的构建,所用到的工具酶有限制性核酸内切酶(或限制酶)和 DNA 连接酶。(2)通常采用 PCR 技术扩增 MPT64 基因(目的基因),前提是要有一段已知 MPT64 基因的核苷酸序列,以便根据这一序列合成引物;在操作步骤中冷却至 55~60 ℃ 的目的是使引物结合到互补 DNA 链上(或引物与互补链结合)。(3)农杆菌 Ti 质粒上的 T-DNA 可转移至受体细胞,并整合到受体细胞的染色体 DNA 上。根据农杆菌的这一特点,如果将 MPT64 基因插入 Ti 质粒的 T-DNA 中,

通过农杆菌的转化作用,可以使目的基因进入胡萝卜细胞,并将其插入胡萝卜细胞中的染色体 DNA 上。要确认 MPT64 基因是否导入到胡萝卜细胞中,可采用 DNA 分子杂交技术检测。(4)蛋白质工程技术是通过基因修饰或基因合成,对现有蛋白质进行改造,或制造一种新的蛋白质。

17. (1)脱氧核苷酸
(2)不属于 没有对现有的蛋白质进行改造或制造一种新的蛋白质
(3)mRNA 逆转录 限制酶和 DNA 连接
(4)蛋白质 抗原—抗体

单元测评(一) A

1. C **[解析]** 酶具有多种特性,其中专一性是指一种酶只能催化一种或一类化学反应。一种限制酶只能识别双链 DNA 分子的某种特定核苷酸序列,并且能在特定的切点上切割 DNA 分子,这体现了酶的专一性。
2. B **[解析]** 质粒的化学本质是 DNA,所以可以整合到宿主细胞的染色体 DNA 上,A 项正确;质粒是独立于细菌拟核 DNA 之外的小型环状 DNA,B 项错误;基因工程中使用的质粒载体大多已不是天然的质粒,而是经过人工改造的,这样才便于人类利用,C 项正确;常用的载体有质粒、动植物病毒等,烟草花叶病毒属于植物病毒,D 项正确。
3. D **[解析]** 切割甲的限制酶的识别序列是—GAATTC—,切割乙的限制酶的识别序列是—CAATTG—,A 项正确。甲和乙的黏性末端能互补配对,故甲和乙可以在 DNA 连接酶的作用下连接形成重组 DNA 分子,B 项正确。DNA 连接酶连接的是 DNA 分子片段,该酶能催化磷酸基团和脱氧核糖之间形成磷酸二酯键,C 项正确。由甲、乙片段连接形成的重组 DNA 分子的部分序列是—CAATTC—
—GTTAAG—,而切割甲的限制酶的识别序列是—GAATTC—,因此切割甲的限制酶不能识别并切割由甲、乙片段连接形成的重组 DNA 分子,D 项错误。
4. A **[解析]** 由题图可知,方法 a 为利用逆转录法获得目的基因,需要用到逆转录酶等;方法 b 为直接从生物体内获得目的基因,需要用到限制酶;方法 c 为用 PCR 技术扩增获取目的基因,需要用到 Taq 酶,且三种方法均在生物体外进行,A 项正确。
5. D **[解析]** 通过蛋白质工程产生的蛋白质中的氨基酸种类还是原来的 20 种,不会增多也不会减少,A、B 项错误;蛋白质工程可以改变原有蛋白质也可以合成原来不存在的蛋白质,即新的蛋白质,C 项错误,D 项正确。
6. B **[解析]** 在动物基因工程中受体细胞一般选择受精卵,因为受精卵的全能性较高,A 项正确。采用 DNA 分子杂交技术可检测外源基因是否已导入小鼠细胞内,用抗原—抗体杂交技术才能检测外源基因是否成功表达,B 项错误。人的生长激素基因能在小鼠细胞中成功表达,说明遗传密码具有通用性,C 项正确。与乳腺生物反应器相比,膀胱生物反应器不受性别等的限制,受体来源更广泛,D 项正确。
7. C **[解析]** 基因工程培育的抗虫植物只有抗虫特性,不能抗病毒,A 错误;用转基因动物作为器官移植的供体时,导入的调节因子也属于目的基因,可以抑制抗原合成,B 错误;基因工程在农业上的应用主要是培育高产、稳产、品质优良和具有抗逆性的农作物,C 正确;目前基因治疗还处于初期的临床试验阶段,D 错误。
8. D **[解析]** DNA 疫苗是编码保护性抗原蛋白的基因,因此其表达产物是抗原,A 项错误;DNA 疫苗是指将编码保护性抗原蛋白的基因插入适宜的质粒中得到的重组 DNA 分子,可见其生产过程需要 DNA 连接酶和限制性核酸内切酶,B 项错误;基因在体内表达时,其转录过程需要 RNA 聚合酶的催化,C 项错误;DNA 疫苗的特异性与碱基对的排列顺序有关,与碱基种类无关,D 项正确。
9. C **[解析]** A→B 表示 PCR 过程,该过程中一般用 4 种脱氧核苷酸为原料,并加入两种引物分别与 DNA 分子两条链结合,A 正确;PCR 技术利用了 DNA 双链复制原理,由于 PCR 技术是在较高的温度下进行的,因此需要使用耐高温的 DNA 聚合酶,B 正确;培育转基因动物时,常以受精卵作为受体细胞,C 错误;B→D 为转基因植物的培育过程,其中

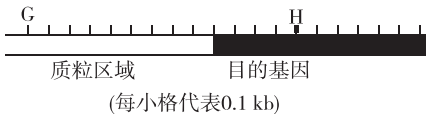
数量,使应答效果显著增强。

10. (1)DNA 连接酶 能

质粒区域 目的基因

(每小格代表0.1 kb)

[解析] (1) 将两个 DNA 片段连接起来需要用到 DNA 连接酶; 重组质粒中含有限制酶 E 的识别序列和切割位点, 因此形成的重组质粒能被限制酶 E 切割。(2) 已知 Ti 质粒的长度为 4.0 kb, 其中 EF 区域长度为 0.2 kb, 所以切去 EF 段后的质粒长度为 $4.0 - 0.2 = 3.8$ (kb)。现用限制酶 G 切割重组质粒, 结果被切割成 1.8 kb 和 3.2 kb 两个片段, 可知重组质粒的总长度为 $1.8 + 3.2 = 5.0$ (kb), 所以目的基因长度为 $5.0 - 3.8 = 1.2$ (kb)。目的基因内部的限制酶 H 的切割位点如下图所示:



11. (1)某种病毒 正常腺苷酸脱氨酶基因 白细胞

(3) 脱氧核苷酸的数目和排列顺序不同(或遗传信息不同或碱基的数目和排列顺序不同)

12. (1) 7.6 kb 中部(含控制溶原生长)

(3) 氨基酸和脱氧核苷酸 上清液

13. (1)mRNA 不同

(3)能自主复制、有多个限制酶切位点、有标记基因(任选 2 点)

(4)从预期蛋白质功能出发→设计预期的蛋白质结构→推测应有的氨基酸序列→找到相对应的脱氧核苷酸序列

1. A [解析] 限制酶和 DNA 连接酶都属于蛋白质, A 正确; DNA 连接酶恢复的是磷酸二酯键, B 错误; 酶在保持活性时可以被反复使用, C 错误; DNA 聚合酶不能代替 DNA 连接酶, DNA 聚合酶用于连接单个脱氧核苷酸, 而 DNA 连接酶用于连接 DNA 片段, 因此在基因工程操作中不可以用 DNA 聚合酶代替 DNA 连接酶, D 错误。

2. A

3. B 【解析】步骤①(RNA→DNA)表示逆转录过程,A项正确。步骤②是构建基因表达载体,需要使用的酶是限制酶和DNA连接酶,B项错误。步骤③是将外源基因导入受体细胞,可用CaCl₂溶液处理大肠杆菌,使其处于感受态,C项正确。检验Q蛋白的免疫反应特性,可用Q蛋白与甲型H1N1流感康复病人的血清进行抗原-抗体特异性反应,D项正确。

4. D [解析] 养殖转生长激素基因鲑鱼能获得分泌更多生长激素的鲑鱼,使其生长更快,个体更大,A项不符合题意;养殖抗口蹄疫病毒的转基因兔,只能获得具有能抗口蹄疫病毒能力的兔,B项不符合题意;养殖含转乳糖酶基因的转基因牛,只能使牛获得产生乳糖酶的能力,C项不符合题意;基因工程可以利用某些特定的外源基因在哺乳动物体内表达,从这些动物的乳腺细胞中获得人类所需要的各类物质,如激素、白蛋白等。从牛乳汁中获得人血清白蛋白,血清白蛋白可用于治疗先天性血栓性休克、脑水肿、流产引起的白蛋白缺乏、肾病等疾病,D项符合题意。

5. D 【解析】蛋白质工程以蛋白质分子的结构规律及其与生物功能的关系作为基础,因此需收集大量的蛋白质分子结构的信息,以便分析结构与功能之间的关系,A正确;蛋白质工程的基本途径是从预期的蛋白质功能出发→设计预期的蛋白质结构→推测应有的氨基酸序列→找到相对应的脱氧核苷酸序列(基因),B、C正确;蛋白质工程是根据人们的需要,通过对基因进行改造来实现对蛋白质的改造,D错误。

6. B 【解析】限制性核酸内切酶的切割位点不一定位于识别序列的内部,也可能在识别序列的外部,如 *Sau3A* I, A 项错误;限制性核酸内切酶切割后不一定形成黏性末端,也可能是平末端,如 *Hind* III、*Sma* I, B 项正确;一种限制性核酸内切酶不一定只能识别一种脱氧核苷酸序列,如 *Hind* II 能识别多种序列, C 项错误;不同限制性核酸内切酶切割后也可以形成相同的黏性末端,如 *Bam* H I 和 *Sau3A* I, D 项错误。

7. D [解析] 目的基因在不同生物细胞中能够表达出相同的蛋白质,说明不同生物的遗传密码是通用的, A 正确;基因通过转录和翻译控制蛋白质的合成, B 正确;只要是双链 DNA 都遵循碱基互补配对原则,其组成原料都是四种脱氧核苷酸, C 正确;生物之间是否有共同的原始祖先与转基因技术之间没有必然关系, D 错误。

8. D 【解析】由题图可知,Klenow 酶可使 DNA 链延伸,说明该酶是一种 DNA 聚合酶,A 项正确。筛选重组质粒需要大肠杆菌质粒中含有标记基因,B 项正确。用不同的酶进行切割可以产生不同的黏性末端,有利于目的基因和载体的定向连接,C 项正确。人工合成的两条 DNA 单链分别含有 72 个碱基,两条链通过 18 个碱基对形成部分双链 DNA 片段,所以补平后合成的双链 DNA 共有 $72 \times 2 - 18 = 126$ (个)碱基对,D 项错误。

9. (1)人工合成 DNA 双链复制

(2)原核生物 大肠杆菌 T₄ 噬菌体

(3) T-DNA 显微注射技术

【解析】(1) 荧光素酶基因属于目的基因。目的基因可以从基因文库中获取,也可以通过人工合成的方法得到,再利用 PCR 技术扩增。利用 PCR 技术扩增目的基因的原理是 DNA 双链复制。(2) 限制酶主要从原核生物中分离纯化出来。DNA 连接酶可以分为两类,一类是从大肠杆菌中分离得到的,称为 *E. coli* DNA 连接酶;另一类是从 *T.* 噬菌体中分离得到的,称为 *T.* DNA 连接酶。(3) 将目的基因导入植物细胞,目前常用的载体是农杆菌的 Ti 质粒,目的基因