



重难点手册

新课标

高中生物

- ★四千万学子的制胜宝典
- ★八省市名师的在线课堂
- ★十八年书业的畅销品牌

配人教版

选修 **3** 现代生物科技专题

徐启发 主编

华中师范大学出版社



重难点手册

配人教版

生物

现代生物科技专题

编 徐启发

★四千万学子
★八省市名师
★十八年书业的



华中师范大学出版社

新出图证(鄂)字 10 号

图书在版编目(CIP)数据

重难点手册——高中生物选修 3(配人教版)/徐启发 主编.

—武汉:华中师范大学出版社,2011.1.(2011.6 重印)

ISBN 978-7-5622-4733-3

I. ①重… II. ①徐… III. ①生物课—高中—教学参考资料

IV. ①G634

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 250878 号

重难点手册——高中生物选修 3(配人教版)

主编:徐启发

责任编辑:史小艳

责任校对:张晶晶

封面设计:新视点

选题策划:华大鸿图编辑室(027-67867361)

出版发行:华中师范大学出版社 ©

社址:湖北省武汉市珞喻路 152 号

邮编:430079

销售电话:027-67867371 027-67865356 027-67867076

传真:027-67865347

邮购电话:027-67861321

网址:<http://www.ccnapress.com>

电子信箱:hscbs@public.wh.hb.cn

印刷:京山德兴印刷有限公司

督印:章光琼

字数:304 千字

开本:880mm × 1230mm 1/32

印张:9.75

版次:2011 年 1 月第 1 版

印次:2011 年 6 月第 4 次印刷

定价:16.00 元

欢迎上网查询、购书

敬告读者:为维护著作人的合法权益,并保障读者的切身利益,本书封面采用压纹制作,压有“华中师范大学出版社”字样及社标,请鉴别真伪。若发现盗版书,请打举报电话 027-67861321。

体例特色与使用说明

- **新课标：**贯彻新课标精神，定位新课标“三维”目标，贴近新课标高考大纲要求，注重学习规律和考试规律的整合，全面提升考试成绩和综合素质。
- **大突破：**突破传统的单向学习模式，将教材知识、拓展知识和隐性方法类知识植入新课堂，立体凸现学科知识结构和解题方法规律，破解高考“高分”瓶颈。

课标考纲双向解读

导引学习探究总方向，唤起师生对核心要素的关注，使学习过程围绕目标进行，精力投注于有价值的知识目标和能力领域，使学习倍速高效。

重难点考四点梳理

由易到难突破重点，由浅入深化解难点，抓住本质阐释疑点，强略得当梳理考点，使方法过程和思维过程内化为生物科学素养。

规律·方法·技巧

结合每节内容，挖掘教材隐性的策略性知识、解题方法类知识，以规律—题例—点拨搭建思维平台，核心内容彰显学习科学规律，系统提升解题思维能力。

新典母题归类探密

以知识模块的子考点为目，精选新颖典型的优秀考题为母题，分类总结题型特点，点拨解题思路，传授方法技巧，探寻命题规律，达到实现研读母题一例到弄通子题一类的最高境界。



专题1

基因工程

1.1 DNA重组技术的基本工具

课标考纲双向解读

1. 简述DNA重组技术所需三种基本工具(限制性核酸内切酶、DNA连接酶、基因转移载体)的作用。
2. 明确基因工程操作所需具备的条件。
3. 认同基因工程的诞生和发展离不开理论研究和技术创新。

重难点考四点梳理

1. 基因工程的概念

基因工程是按照人们的愿望，经过严格的设计，通过体外DNA重组和转基因技术，赋予生物以新的遗传特性，从而创造出更符合人们需要的新的生物类型和生物产品。由于基因工程是在DNA分子水平上进行设计和施工的，因此又叫DNA重组技术。

【概念延伸】 基因工程得以实现的理论基础：(1) 所有生物的DNA都是以4种脱氧核苷酸为基本单位，构成独特的双螺旋结构，这为不同种生物的DNA拼接成功提供物质基础。

(2) 所有生物共用一套遗传密码子，为某种生物的基因能够在其他种受体细胞内正常指导蛋白质的合成提供可能。

2. 基因工程的诞生

基因工程是在生物化学、分子生物学和微生物学等学科的基础上发展起来的，这些学科的基础理论和相关技术的发展催生了基因工程。

(1) 20世纪中叶，基础理论取得了重大突破：一是DNA是遗传物质的证明；

规律·方法·技巧

模拟操作——重组DNA分子的模拟操作

目的要求：模拟重组DNA分子的操作过程，说出其基本原理。

实验原理：模拟重组DNA分子的操作过程中限制酶和DNA连接酶的作用。

用剪刀代表限制酶EcoRI，在DNA链上找到特定序列和切点进行切割，使不同DNA分子露出相同粘性末端。用透明胶条代表DNA连接酶，将切口连接起来，实现粘性末端的配对情况。

材料用具：两种颜色的硬纸版，剪刀(代表EcoRI)，透明胶条(代表DNA连接酶)。

方法步骤：

(1) 准备DNA序列

选两种颜色的等宽硬纸版，如绿色硬纸版和粉红色硬纸版。在绿色硬纸版上

新典母题归类探密

知识点1 限制性核酸内切酶

【题组1】 (2010·河北邯郸)某线性DNA分子含有5000个碱基对(bp)，先用限制酶a切割，再把得到的产物用限制酶b切割，得到的DNA片段大小见下表。限制酶a和b的识别序列和切割位点如图1-1-5所示。下列有关说法不正确的是()

| a 酶识别产物(bp) | b 酶再次切割产物(bp) | a 酶识别序列和切割位点 | b 酶识别序列和切割位点 |
|-----------------------|--------------------------------|---------------------|----------------------|
| 2100, 1400, 1000, 500 | 1900, 200, 800, 500, 1000, 700 | -AGATCT- -CTAGA- | -GGATCC- -CCTAGG- |

图 1-1-3

- A. 在该DNA分子中，a酶与b酶的识别序列分别有3个和2个
- B. a酶与b酶切出的黏性末端不能相互连接
- C. a酶与b酶切出的化学键相同
- D. a酶与b酶对该DNA反复切割后再用DNA连接酶连接，则

新课标《生物重难点手册》新突破

- **讲实用：**完全同步于新教材，导—学—例—训四位一体，落实课程内容目标和考纲能力要求，揭密高考解题依据和答题要求，破解重点难点。
- **大品牌：**十多年的知名教辅品牌，一千多万学子全程参与，十余万名一线教师的倾力实验，堪称学习规律与考试技术深度融合的奇迹，缔造着使用效果显著、发行量惊叹的神话。

三级题型优化测训

基础题、综合题、拓展题分层测训，促进学生能力高层次发展。图文并茂、情景新颖、重点突出、思维严密、难易梯度递进，坚持习练定能取得理想效果！

知识梳理与能力整合

对每章的重点、难点、考点知识和解题规律进行科学的梳理和提炼，优化知识结构。最新典题例析，帮助您认识考试考查类型、角度和深度，全面提高复习和考试水平。

单元能力测评试题

选择新颖、典型、难易适中的试题进行检测，强化知识整合与能力品质提升，让您在测试中发展、在演练中体会成功！

参考答案与提示

所有试题均提供规范答案，有难度的试题给出提示和解析。使您养成良好的答题习惯，掌握举一反三、触类旁通的解题方法，在学习和考试中立于不败之地！

三级题型优化测训

夯实基础题

1. 以下有关基因工程的叙述，正确的是()。

- 基因工程是细胞水平上的生物工程
- 基因工程的目的是获得目的基因表达的蛋白质产物
- 基因工程产生的变异属于人工诱变
- 基因工程育种的基本原理是基因重组

综合应用题

7. 下列关于 DNA 连接酶和 DNA 聚合酶的叙述，正确的是()。

- 两种酶的作用都是连接两条 DNA 链碱基之间的氢键
- 两种酶催化时都没有特异性，不能识别特定序列的 DNA
- 两种酶都能催化形成磷酸二酯键，作用完全相同

创新拓展题

11. (2009·上海高考改编)人体细胞内含有抑制癌变发生的 p53 基因，生物技术可对此类基因的变化进行检测。

(1) 如图表示从正常人和患者体内获取的 p53 基因的部分区域，与正常人相比，患者在该区域的碱基会发生变化。请在图中用方框圈出发生改变的

专题 1 知识梳理与能力整合

知识梳理

科技探索之路——基础理论和技术的发展催生了基因工程

“分子手术刀”，限制性核酸内切酶——来源、作用和结果

基本工具——“分子缝合针”，DNA 连接酶——分类和作用

“分子运输车”，重组进入受体细胞的载体——条件、结构和其他载体

目的基因的获取——从基因文库中获取——基因文库和 cDNA 文库

利用 PCR 技术扩增——原理和过程

构建目的基因表达载体——构建目的基因表达载体

导入受体细胞的方法、农杆菌转化法和其他方法

目的基因导入受体细胞——导入受体细胞的方法、显微注射技术

导入受体细胞的方法

分子水平的检测

个体生物学水平的鉴定

植物基因工程——抗虫、抗病、抗逆和改良品质

动物基因工程——提高生长速度、改善畜产品品质、生产药物和器官移植供体

基因工程药物

专题 1 能力测评试题

- 测试时间：60 分钟 满分：100 分 成绩：_____
- 一、选择题(本大题包括 20 小题，每小题 3 分，共 60 分)
1. 蛋白质工程的目标是()。
- 通过对基因进行诱变，产生新的蛋白质
 - 通过基因重组，合成生物体本身没有的蛋白质
 - 根据人们对蛋白质功能的特定需求，改造或制造蛋白质
 - 生产大量的蛋白质
2. (2010·全国高考真题)下列叙述符合基因工程概念的是()。
- 创造自然界没有的新基因和性状
 - 将人的干扰素基因重组到细胞后导入大肠杆菌，获得能产生人干扰素的菌株



参考答案

与提示

专题 1 基因工程

1. D
2. D [先写出另一单位，再观察识别序列和切点的位置。]
3. A、C、D 5、C
4. C (1) [说明：改用由序列中的所有 GATC 序列，这样的识别序列共有 4 个。](2) 6 个。
7. B 8. C
9. A [限制酶 1 切割成黏性末端保留黏性末端 Gene 1，限制酶 2 可切割目的基因的两侧。]

《生物重难点手册》编委会

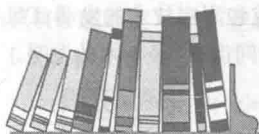
| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 主 编 | 徐启发 | | |
| 编 委 | 徐一鸣 | 王五一 | 马功成 |
| | 胡林石 | 徐永平 | 刘文才 |
| | 吴文雄 | 韩秋亮 | 刘永才 |
| | 张大年 | 胡志利 | 袁伟亮 |
| | 肖红梅 | 陈世华 | 鲁志军 |
| | 朱光辉 | 石武仁 | 江文秀 |
| | 刘 源 | 史 册 | 江 姗 |

目 录

| | |
|--------------------------|-------|
| 专题 1 基因工程 | (1) |
| 1.1 DNA 重组技术的基本工具 | (1) |
| 1.2 基因工程的基本操作程序 | (15) |
| 1.3 基因工程的应用 | (36) |
| 1.4 蛋白质工程的崛起 | (52) |
| 专题 1 知识梳理与能力整合 | (63) |
| 专题 1 能力测评试题 | (68) |
| 专题 2 细胞工程 | (75) |
| 2.1 植物细胞工程 | (75) |
| 2.1.1 植物细胞工程的基本技术 | (75) |
| 2.1.2 植物细胞工程的实际应用 | (88) |
| 2.2 动物细胞工程 | (100) |
| 2.2.1 动物细胞培养和核移植技术 | (100) |
| 2.2.2 动物细胞融合与单克隆抗体 | (112) |
| 专题 2 知识梳理与能力整合 | (121) |
| 专题 2 能力测评试题 | (125) |
| 专题 3 胚胎工程 | (132) |
| 3.1 体内受精和早期胚胎发育 | (132) |
| 3.2 体外受精和早期胚胎培养 | (145) |
| 3.3 胚胎工程的应用及前景 | (155) |



| | |
|---------------------------------|--------------|
| 专题 3 知识梳理与能力整合 | (169) |
| 专题 3 能力测评试题 | (173) |
| 专题 4 生物技术的安全性和伦理问题 | (180) |
| 4.1 转基因生物的安全性 | (180) |
| 4.2 关注生物技术的伦理问题 | (192) |
| 4.3 禁止生物武器 | (204) |
| 专题 4 知识梳理与能力整合 | (212) |
| 专题 4 能力测评试题 | (216) |
| 专题 5 生态工程 | (223) |
| 5.1 生态工程的基本原理 | (223) |
| 5.2 生态工程的实例和发展前景 | (235) |
| 专题 5 知识梳理与能力整合 | (250) |
| 专题 5 能力测评试题 | (255) |
| 总复习能力测评试题 | (263) |
| 参考答案与提示 | (274) |



专题1

基因工程

1.1 DNA 重组技术的基本工具



课标考纲双向解读

1. 简述 DNA 重组技术所需三种基本工具(限制性核酸内切酶、DNA 连接酶、基因转移载体)的作用。
2. 明确基因工程载体所需具备的条件。
3. 认同基因工程的诞生和发展离不开理论研究和技术创新。



重难点考四点梳理

1. 基因工程的概念

基因工程是指按照人们的愿望,经过严格的设计,通过体外 DNA 重组和转基因技术,赋予生物以新的遗传特性,从而创造出更符合人们需要的新的生物类型和生物产品。由于基因工程是在 DNA 分子水平上进行设计和施工的,因此又叫 DNA 重组技术。

拓展延伸

基因工程得以实现的理论基础:(1)所有生物的 DNA 都是以 4 种脱氧核苷酸为基本单位,构成独特的双螺旋结构,这为不同种生物的 DNA 拼接成功提供物质基础。

(2)所有生物共用一套遗传密码子,为某种生物的基因能够在其他种类生物细胞内正常指导蛋白质的合成提供可能。

2. 基因工程的诞生

基因工程是在生物化学、分子生物学和微生物等学科的基础上发展起来的,这些学科的基础理论和相关技术的发展催生了基因工程。

(1)20 世纪中叶,基础理论取得了重大突破:一是 DNA 是遗传物质的证明;

二是 DNA 双螺旋结构和中心法则的确定;三是遗传密码的破译。

(2) 技术发明使基因工程的实施成为可能,包括基因转移载体——质粒的发现;多种限制酶、连接酶以及逆转录酶的发现;DNA 合成和测序技术的发明;DNA 重组的实现,重组 DNA 表达的成功;第一例转基因动物问世,PCR 技术的发明。

3. 限制性核酸内切酶——“分子手术刀”

(1) 来源:主要从原核生物中分离纯化出来。

问题·释疑

问题 限制酶在原核生物中的作用是什么?

释疑 原核生物容易受到自然界中外源 DNA 的入侵,但是,生物在长期的进化过程中形成了一套完善的防御机制,以防止外来病原物的侵害。限制酶就是细菌的一种防御性工具,当外源 DNA 侵入时,限制酶会将外源 DNA 切割掉,以保证自身的安全。所以,限制酶在原核生物中主要起切割外源 DNA、使之失效,从而保护自身的目的。

(2) 种类:迄今已从近 300 种不同的微生物中分离出约 4000 种限制酶。

(3) 特点:限制酶具有专一性,即一种限制酶只能特异性地识别双链 DNA 分子中特定的核苷酸序列,而且只能切割特定序列中的特定位点。

限制酶所识别的序列,大多由 6 个核苷酸组成,少数由 4、5 或 8 个核苷酸组成,无论哪种序列,都可找到一条中轴线,中轴线两侧的双链 DNA 上的碱基是反向对称、重复排列的,即序列表现为中心对称。示意图如图 1.1-1。

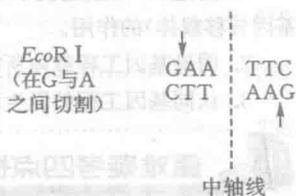


图 1.1-1

拓展延伸

部分限制酶的识别序列

| 酶 | 来源 | 识别序列 |
|-----------------|-----------|----------|
| <i>EcoR</i> I | 大肠杆菌 RY13 | GAATTC |
| <i>Bam</i> H I | 解淀粉芽孢杆菌 H | GGATCC |
| <i>Hac</i> III | 埃及嗜血杆菌 | GGCC |
| <i>Hind</i> III | 流感嗜血杆菌 Rd | AAGCTT |
| <i>Hpa</i> I | 副流感嗜血杆菌 | GTTAAC |
| <i>Mbo</i> I | 牛摩拉氏菌 | GATC |
| <i>Not</i> I | 豚鼠耳炎诺卡菌 | GCGGCCGC |
| <i>Taq</i> I | 水生嗜热菌 | TCGA |

(4) 作用部位:限制酶切割 DNA 分子时断开的是 DNA 链中的磷酸二酯键(即连接相邻脱氧核苷酸的键),而不是碱基间的氢键,如图 1.1-2 所示。

拓展延伸 什么叫磷酸二酯键?

3',5'-磷酸二酯键是核酸中核苷酸的连接方式,组成了核酸的一级结构。在核酸中一个核苷酸核糖上第 3 位的羟基与下一个核苷酸核糖上第 5 位的磷酸羟基脱水缩合成酯键,该酯键称 3',5'-磷酸二酯键。若干个核苷酸间以 3',5'-磷酸二酯键连接成的多核苷酸链为核酸。在链的一端的一个核苷酸,其核糖上第 5 位连接的磷酸

只有一个酯键,称此核苷酸为 DNA 链的 5'磷酸末端或 5'端。另一端核苷酸上第 3 位的羟基是自由的,所以此核苷酸称为 3'羟基末端或 3'端。链内的核苷酸第 5 位上的磷酸已形成二酯键,第 3 位上的羟基也已参与二酯键的形成,故称核苷酸残基。

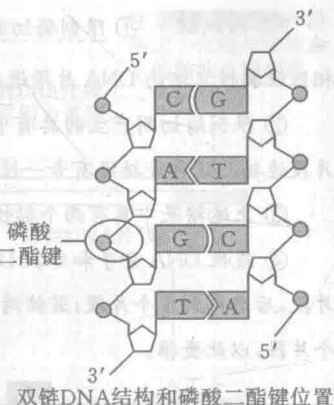


图 1.1-2

(5) 结果:切割形成的 DNA 片段产生两种末端。示例如图 1.1-3 所示:

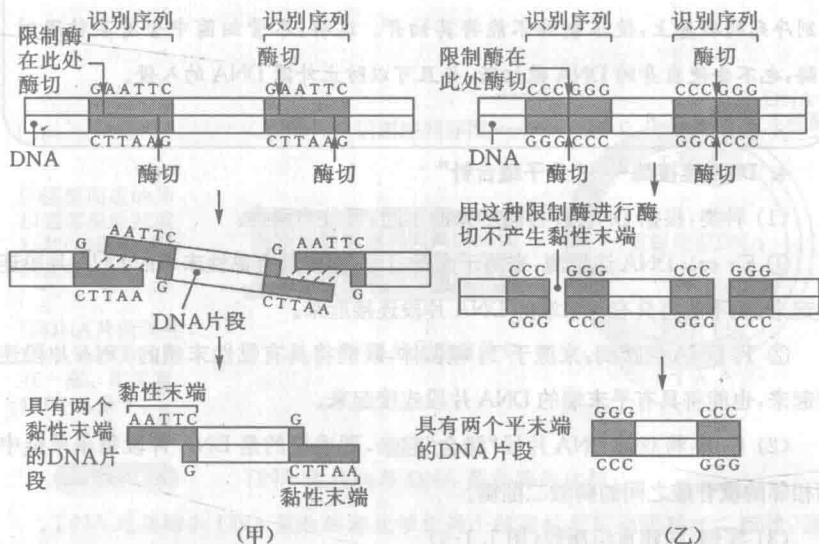


图 1.1-3



易错提醒

① 限制酶切割产生的具有黏性末端的片段,可以与其他具有相匹配黏性末端的 DNA 片段进行连接。这种连接具有专一性,与识别序列相关。

② 限制酶切割产生的具有平末端的 DNA 片段,可与其他任何具有平末端的片段连接。这种连接没有专一性。

③ 上述结果中具有两个黏性末端(或平末端)的 DNA 片段通常为目的基因。

④ 线性 DNA 分子和环状 DNA 分子分别被 1 个限制酶酶切,前者得到 2 个片段,后者得到 1 个片段;若被两个限制酶切割,则前者得到 3 个片段,后者得到 2 个片段,以此类推。

问 题 · 释 疑

问题 为什么限制酶不剪切细菌本身的 DNA?

释疑 基因工程中使用的限制酶绝大部分都是从细菌或霉菌中提取出来的,它们各自可以识别和切断 DNA 上特定的碱基序列。细菌中限制酶之所以不切断自身 DNA,是因为在长期的进化过程中形成了一套完善的防御机制,可以将外源入侵的 DNA 降解掉。含有某种限制酶的细胞,其 DNA 分子中或者不具备这种限制酶的识别切割序列,或者通过甲基化酶将甲基转移到所识别序列的碱基上,使限制酶不能将其切开。这样,尽管细菌中含有某种限制酶,也不会使自身的 DNA 被切断,并且可以防止外源 DNA 的入侵。

4. DNA 连接酶——“分子缝合针”

(1) 种类:根据 DNA 连接酶的来源不同,可分为两类:

① *E. coli* DNA 连接酶:来源于大肠杆菌,能将具有黏性末端的 DNA 片段连接起来,而不能将具有平末端的 DNA 片段连接起来。

② T_4 DNA 连接酶:来源于 T_4 噬菌体,既能将具有黏性末端的 DNA 片段连接起来,也能将具有平末端的 DNA 片段连接起来。

(2) 作用:将双链 DNA 片段“缝合”起来,即连接的是 DNA 片段每条单链中两相邻的核苷酸之间的磷酸二酯键。

(3) 实例:构建重组质粒(图 1.1-4)

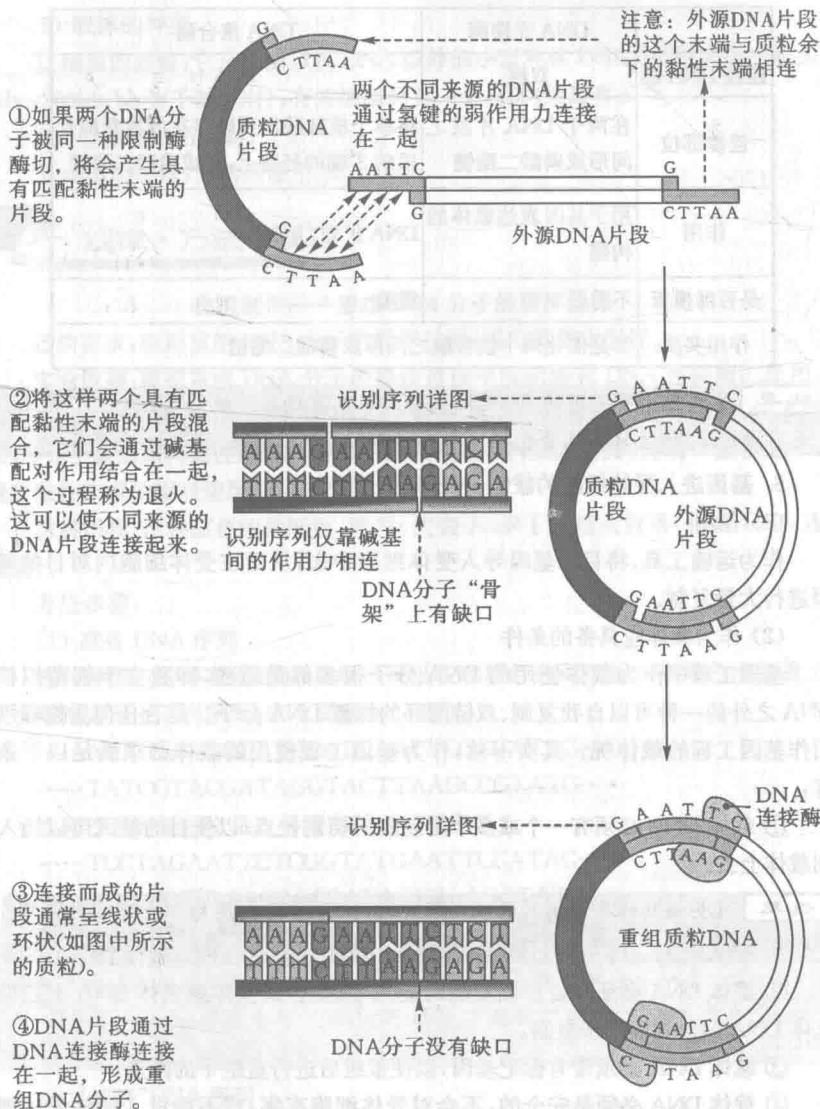


图 1.1-4

归纳总结

DNA 连接酶与 DNA 聚合酶的比较

DNA 连接酶和 DNA 聚合酶都能催化两个核苷酸之间形成磷酸二酯键，但两者的作用存在差别，比较如下：

| | DNA 连接酶 | DNA 聚合酶 |
|----------|---------------------|--------------------------------------|
| 连接 DNA 链 | 双链 | 单链 |
| 连接部位 | 在两个 DNA 片段之间形成磷酸二酯键 | 将单个核苷酸加到已存在的核苷酸片段的 3' 端的羟基上, 形成磷酸二酯键 |
| 作用 | 用于基因表达载体的构建 | DNA 扩增(复制) |
| 是否需模板 | 不需要 | 需要 |
| 作用实质 | 都是催化两个核苷酸之间形成磷酸二酯键 | |

注意 迄今为止所发现的 DNA 连接酶都不具有连接单链 DNA 的能力, 现在还不清楚原因, 也许将来会发现可以连接单链 DNA 的酶。

5. 基因进入受体细胞的载体——“分子运输车”

(1) 作用

作为运输工具, 将目的基因导入受体细胞中去, 从而在受体细胞内对目的基因进行大量复制。

(2) 作为载体应具备的条件

基因工程中作为载体使用的 DNA 分子很多都是质粒, 即独立于细菌拟核 DNA 之外的一种可以自我复制、双链闭环的裸露 DNA 分子。是否任何质粒都可用作基因工程的载体呢? 其实不然, 作为基因工程使用的载体必须满足以下条件:

① 载体 DNA 必须有一个或多个限制酶的切割位点, 以便目的基因可以插入到载体上去。

注意 这些供目的基因插入的限制酶的切点, 必须是在质粒本身需要的基因片段之外, 这样才不至于因目的基因的插入而失活。

② 载体 DNA 必须具备自我复制的能力, 或整合到受体染色体 DNA 上随染色体 DNA 的复制而同步复制。

③ 载体 DNA 必须带有标记基因, 以便重组后进行重组子的筛选。

④ 载体 DNA 必须是安全的, 不会对受体细胞有害, 或不能进入到除受体细胞外的其他生物细胞中去。

⑤ 载体 DNA 分子大小应适于提取和在体外进行操作, 若太大就不便操作。

注意 自然存在的质粒 DNA 分子并不完全具备上述条件, 都要进行人工改造后才能用于基因工程操作。

(3) 载体的种类

① 细菌的质粒,它是细菌拟核 DNA 以外的小型环状 DNA 分子(大小一般为 1kb~200kb, kb 为千碱基对),有的细菌只有一个,有的细菌有多个。

② λ 噬菌体的衍生物。

③ 动植物病毒:灭活后使用。



规律·方法·技巧

模拟制作——重组 DNA 分子的模拟操作

目的要求:模拟重组 DNA 分子的操作过程,说出其基本原理。

实验原理:模拟重组 DNA 分子的操作过程中限制酶和 DNA 连接酶的作用。用剪刀代表限制酶 *EcoR* I,在 DNA 链上找到特定序列和切点进行切割,使不同 DNA 分子露出相同黏性末端。用透明胶条代表 DNA 连接酶,将切口连接起来,观察黏性末端的配对情况。

材料用具:两种颜色的硬纸板,剪刀(代表 *EcoR* I),透明胶条(代表 DNA 连接酶)。

方法步骤:

(1) 准备 DNA 序列

选两种颜色的等宽硬纸板,如绿色硬纸板和粉红色硬纸板。在绿色硬纸板上依次等距离写上下列字母(字母要清晰、工整):

……ATAGCATGCTATCCATGAATTCGGCATAC……

……TATCGTACGATAGGTAAGCCGTATG……

在粉红色硬纸板上依次等距离写上下列字母:

……TCCTAGAATTCTCGGTATGAATTCATAC……

……AGGATCTTAAGAGCCATACTTAAGGTATG……

注意 上述两个 DNA 分子的碱基对不是随意乱写的。每个 DNA 分子的两条链上的碱基要互补配对;每个 DNA 分子的每条链中都存在一个—G—A—A—T—T—C—的碱基序列,也就是 *EcoR* I 限制酶的识别位点,并存在 G—A 的切割位点。

(2) “切割”DNA 序列

用剪刀(代表 *EcoR* I)进行 DNA “切割”。先分别从两块硬纸板上的一条 DNA 链上找出—G—A—A—T—T—C—序列,并选 G—A 之间作切口进行“切割”;然后从另一条链上互补的碱基之间寻找 *EcoR* I 相应的切口剪开。

(3) “缝合”DNA 序列

待绿色、粉红色硬纸板上的切割位点全部切开后,将粉红色硬纸板上的 DNA

片段“重组”到绿色硬纸板的切口处,此时用透明胶条(代表DNA连接酶)将切口连接起来。这样就完成了一个重组DNA分子的模拟制作。

结果如下:



说明 模拟重组DNA分子中,当拿来剪刀时,首先意识到这是一把代表EcoR I的特异剪刀,应去寻找—G—A—A—T—T—C—的碱基序列,然后从G和A之间剪开;当拿来透明胶条时,意识到只能黏连磷酸二酯键处,而不能黏连碱基对处。

问 题 · 释 疑

问题 1 你模拟插入的DNA片段能称得上一个基因吗?

释疑 不能,因为基因一般有上千个碱基对。

问题 2 如果你操作失误,碱基不能配对,这可能是什么原因造成的?

释疑 可能是剪切位点或连接位点选得不对(还可能是其他原因)。

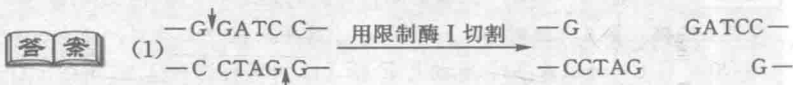
例题 限制酶I的识别序列和切点是—G[↓]GATCC—,限制酶II的识别序列和切点是—[↓]GATC—。在质粒上有限制酶I的一个切点,在目的基因的两侧各有一个限制酶II的切点。

(1) 请画出质粒被限制酶I切割后所形成的黏性末端。

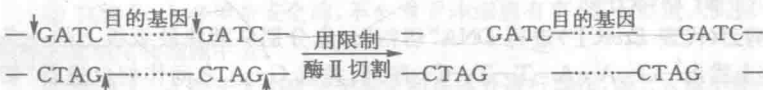
(2) 请画出目的基因两侧被限制酶II切割后所形成的黏性末端。

(3) 在DNA连接酶的作用下,上述两种不同限制酶切割后形成的黏性末端能否连接?为什么?

解析 必须明确限制酶是对DNA双链进行切割,因此先必须写出识别序列双链,再作答。



(2)



(3) 可以连接。因为由两种不同限制酶切割后形成的黏性末端是相同的(或是“可以互补的”)。



新典母题归类探密

知识点1 限制性核酸内切酶

【母题1】(2010·河南调研)某线性DNA分子含有5000个碱基对(bp),先用限制酶a切割,再把得到的产物用限制酶b切割,得到的DNA片段大小见下表。限制酶a和b的识别序列和切割位点如图1.1-5所示。下列有关说法不正确的是()。

| a酶切割产物(bp) | b酶再次切割产物(bp) |
|------------------------|-------------------------------|
| 2100;1400; 1000;500 | 1900;200;800; 600;1000;500 |

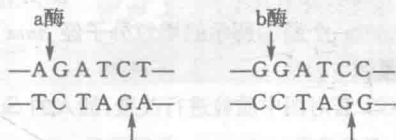


图 1.1-5

- A. 在该DNA分子中,a酶与b酶的识别序列分别有3个和2个
- B. a酶与b酶切出的黏性末端不能相互连接
- C. a酶与b酶切断的化学键相同
- D. a酶与b酶对该DNA反复切割后再用DNA连接酶连接,则—AGATCC—
—TCTAGG—序列会明显增多

解析 选项A,a酶将线性DNA分子(5000个bp)切割成4个片段,说明识别序列有3个;经a酶切割的产物再用限制酶b切割,DNA片段为6个,说明b酶有2个识别序列。选项B,a酶和b酶切出的黏性末端可以进行碱基互补配对。选项C,a酶和b酶切断的化学键均为磷酸二酯键。选项D,a酶和b酶切割后,相同的黏性末端进行连接,则重组序列

名师支招 根据酶切产物的片段数可推测酶切序列数和切割后片段数;根据酶切序列和切割后碱基序列观察黏性末端是否相同。

—AGATCC—
—TCTAGG—增多。

答案 B

知识点2 DNA连接酶

【母题2】(2010·江苏高考)下表中列出了几种限制酶识别序列及其切割位点,图1.1-6①、②中箭头表示相关限制酶的酶切位点。请回答下列问题:

| 限制酶 | <i>Bam</i> HI | <i>Hind</i> III | <i>Eco</i> RI | <i>Sma</i> I |
|-----------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 识别序列及切割位点 | GGATCC CCTAGG | AAGCTT TTCGAA | GAATTC CTTAAG | CCCGGG GGGCCC |