

实验教材新学案

高中生物 选修3

舒立军 主编



陕西人民出版社

丛书主编 周仲明
丛书副主编 刘玉涛 周梦佳
本册主编 舒立军
本册副主编 梅文川 颜东辉
编委 王立斌 舒良成 马鹏程 梅英杰 颜培源 刘桦 王心慧 陈丽
夏献平 陈火明 钟大阳 王印国 孔庆敏 黄诗云 庞遐 何学祥
李黎 刘青山 刘胜利 文才亮 曹劲松 刘红兵 宋巨轮 王德昌
陈文宾 程洪 涂志 江新敏 陈志和 万仰兴 周超源 张首群
杨波 童南雄 千建平 周素华 陈军梅 余祥勇 宋道明 刘朝东
尚国平 李东海 饶建兵

实验教材新学案 高中生物 选修3

丛书主编 周仲明
出版发行 陕西人民出版社(西安北大街147号 邮编:710003)

印刷 陕西博亚印务有限责任公司
开本 880mm×1230mm 16开 8.75印张
字数 330千字
版次 2008年8月第1版 2008年8月第1次印刷
书号 ISBN 978-7-224-08579-2
定价 17.50元

前言 QIANYAN

为了配合我省的高中课程改革,我们聘请高中课改实验区山东、广东、江苏、浙江等高中课改实验区的一线教研人员共同编写了《实验教材新学案》丛书。

学会思考,学会学习。本套丛书按照课程标准的要求,结合近年高中课改实验区的经验和成果,以“探究性学习”为核心,以“三维能力建构”为宗旨,精编学习内容,注重能力培养,尽可能兼顾不同学校和不同程度学生的需要。

本书与教材同步,按课前、课中、课后设置栏目,每章前设有“专题概览”“课标要求”“方法指导”,每节设有“学习目标”“复习回顾”“要点活学”“探究活动”“三维测评”,每章后设有“知识网络”“高考之窗”“拓展阅读”“综合测评”等栏目。

栏目说明:

专题概览 简要概述本专题的内容并说明各节间的联系,本专题在全书中的地位及与其他专题的关系。

课标要求 课程标准中相关本单元学习的具体内容标准。

方法指导 和本单元相关的一般性的方法。

学习目标 明确本节学习的三维标准。

复习回顾 与本节学习内容相关的初、高中知识复习。

要点活学 对本节学习内容中的疑难点的讲解和辨析。挖掘要点的内涵本质,突破重点,化解难点,诠释疑点,整合、建构教材主干知识。每个要点的解析后有对应的例题和练习。

探究活动 针对本节内容设计活动,动手实践,动脑思考,重在培养理论联系实际的能力。

三维测评 重视同步性、梯度性、探究性,尽量选编近年课改实验区出现的新题。

知识网络 归纳梳理知识点,构建本专题知识体系。

高考之窗 展示近年高考特别是高中课改实验区高考中和本专题相关的原题。

拓展阅读 对应专题学习内容,选编科技知识、科学小品文和专题综述报告等。

综合测评 针对各专题的测试卷。

专题 1 基因工程

1.1 DNA 重组技术的基本工具	2
1.2 基因工程的基本操作程序	6
1.3 基因工程的应用	12
1.4 蛋白质工程的崛起	16
专题 1 综合测评	22

专题 2 细胞工程

2.1 植物细胞工程	26
2.1.1 植物细胞工程的基本技术	26
2.1.2 植物细胞工程的实际应用	29
2.2 动物细胞工程	33
2.2.1 动物细胞培养和核移植技术	33
2.2.2 动物细胞融合与单克隆抗体	37
专题 2 综合测评	46

专题 3 胚胎工程

3.1 体内受精和早期胚胎发育	50
3.2 体外受精和早期胚胎培养	54
3.3 胚胎工程的应用及前景	59
专题 3 综合测评	67

专题 4 生物技术的安全性和伦理问题

4.1 转基因生物的安全性	71
4.2 关注生物技术的伦理问题	75
4.3 禁止生物武器	79

专题 4 综合测评 84

专题 5 生态工程

5.1 生态工程的基本原理 88

5.2 生态工程的实例和发展前景 92

专题 5 综合测评 99

模块测评 102

专题 1 基因工程



专题概览

基因工程是现代生物技术的核心。必修课有关基因工程的知识为本专题的学习打下了一定的基础。本专题的内容由《科技探索之路》和四节内容构成。《科技探索之路》介绍了相关基础理论研究成果,以及基因工程在技术层面上发明的各种操作手段。第一节介绍了基因工程操作的三种工具,并用类比的方法简述了它们的作用。第二节介绍了基因工程的四步操作程序。第三节主要介绍了基因工程在实际应用领域——农牧业、工业、环境、能源和医药卫生方面的成果和发展前景。第四节在学习基因工程的基础上,认识基因工程的延伸——蛋白质工程的原理和应用,了解蛋白质工程的进展。本模块以专题的形式介绍现代生物科学和技术中一些重要领域的研究热点、发展趋势与应用前景,是学习后面四个专题的基础,多数内容都与其他专题有紧密的联系。



课标要求

1. 简述基因工程的诞生。
2. 简述基因工程的原理及技术。
3. 举例说出基因工程的应用。
4. 简述蛋白质工程。



方法指导

什么是专题综述报告

专题综述报告是针对某一方面的专题,在搜集大量情报资料后,经分析综合而写成的一种学术性、专题性论文,是科学文献的一种。它是反映当前某一领域中某分支学科或重要专题的最新进展、学术见解和建议,能反映出有关问题的新动态、新趋势、新水平、新原理和新技术等。

学写专题综述报告,可以通过搜集文献资料,进一步熟悉科学文献的查找方法和资料的积累方法;在查找的过程中扩大知识面;查找文献资料、写专题综述报告是科研选题及进行科研的第一步,因此学习专题综述报告的撰写也是为今后科研活动打基础;通过写专题综述报告,能提高归纳、分析、综合能力。

专题综述报告与“读书报告”、“文献整理”、“研究进展”等有相似的地方,它们都是从某一方面的专题研究论文或报告中归纳出来的。但是,专题综述报告既不像“读书报告”、“文献整理”那样,单纯把一级文献客观地归纳报告,也不像“研究进展”那样只讲科学进程,它的特点是“综”和“述”。“综”是对文献资料进行综合分析、归纳整理,使材料更精练明确,更有逻辑层次;“述”就是要求对综合整理后的文献进行比较专门的、全面的、深入的、系统的论述。



1.1 DNA 重组技术的基本工具

学习目标

1. 简述 DNA 重组技术所需三种基本工具的作用。
2. 认同基因工程的诞生和发展离不开理论研究和技术创新。

复习回顾

DNA 的结构特点与复制

学习限制酶与 DNA 连接酶时,可与必修本中有关 DNA 结构的知识紧密联系,有了 DNA 结构知识才能较好地理解这两种酶的功能。

1. DNA 结构的主要特点:

由两条脱氧核苷酸链反向平行盘旋而成双螺旋结构。由脱氧核糖和磷酸交替连接构成基本骨架,两条链上的碱基通过氢键形成碱基对。

2. DNA 的复制过程

(1) 解旋: DNA 分子利用线粒体提供的能量,在解旋酶的作用下,把两条螺旋的双链解开。

(2) 合成子链,以解开的每一段母链为模板,以游离的四种脱氧核苷酸为原料,遵循碱基互补配对原则,在有关酶的作用下,各自合成与母链互补的子链。

(3) 形成子代 DNA: 每条子链与其对应的模板链盘旋成双螺旋结构。从而形成两个与亲代 DNA 完全相同的子代 DNA 分子。

要点活学

★要点 1 理解限制性核酸内切酶——“分子手术刀”

来源	主要从原核生物中分离纯化出来
种类	限制酶代表一类酶而不是一种,目前发现的种类约 4000 种
作用特点	主要切割外源 DNA,而对自身的 DNA 不起作用,达到保护自身的目的
	只能识别双链 DNA 分子中特定的核苷酸序列,且使每一条链中特定部位的两个核苷酸之间的磷酸二酯键断开
	大多数限制酶的识别序列由 6 个核苷酸组成,也有少数限制酶的识别序列由 4、5 或 8 个核苷酸组成

续表

来源	主要从原核生物中分离纯化出来
作用结果	①切出黏性末端:限制酶在它识别序列的中心轴线两侧将 DNA 的两条链分别切开,形成黏性末端 ②切出平末端:限制酶在它识别序列的中心轴线处切开时,形成平末端
作用实质	使特定部位的两个核苷酸之间的磷酸二酯键断开

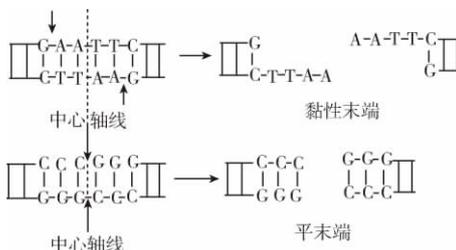
思维突破:

利用图解法理解记忆限制酶的有关问题。

1. 实质:限制酶都是切割识别的特定核苷酸序列的两个核苷酸之间的磷酸二酯键。

2. 区别:限制酶切出的黏性末端和平末端的区别见下图。

若限制酶切割后形成的是黏性末端,则形成的两个黏性末端是反向重复序列。



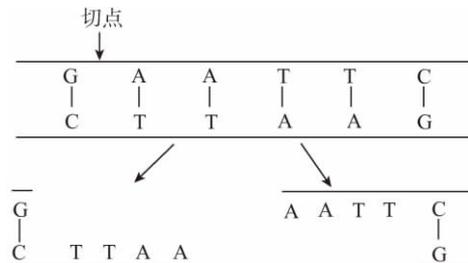
典例 1 细菌中具有限制性核酸内切酶的意义可能是

- ()
- A. 切割自身的 DNA B. 保护自身的 DNA
C. 切割入侵的外源 DNA D. 没什么实际意义

解析 目前只在一些细菌和真菌中发现有限制性核酸内切酶,它对自身生物的遗传起的作用不大,主要是分解入侵的外源 DNA。由于细菌等微生物的结构简单,容易受外界环境的影响,一些外源的 DNA 容易入侵,因此,在长期进化过程中,细菌等微生物形成了具有防御功能的限制性核酸内切酶,切割外源 DNA,以达到保护自身的目的。

答案 C

练习 1 如图所示为一种限制酶切割 DNA 分子:



(1) 这种限制酶切点是 _____ 间,形成 _____ 个黏性末端,其特点是 _____。

- (2) 此限制酶识别特点是_____。
 (3) 如果 G 碱基发生基因突变,可能发生的情况:_____。

★要点2 理解 DNA 连接酶——“分子缝合针”

1. 常用的 DNA 连接酶

$E \cdot coli$ DNA 连接酶 { 来源: 大肠杆菌
作用: 使黏性末端之间连接 }
 T_4 DNA 连接酶 { 来源: T_4 噬菌体
作用: 既能连接黏性末端也能连接平末端,但后者效率低 }

2. 作用实质

恢复被限制酶切开了的两个核苷酸之间的磷酸二酯键。

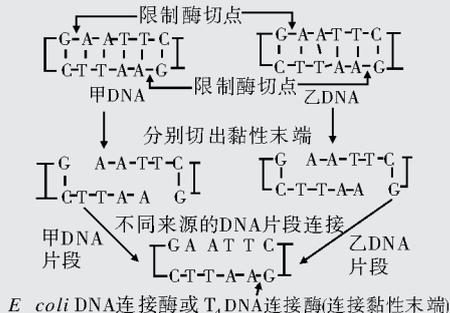
3. DNA 连接酶和 DNA 聚合酶的比较:

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,但是两者作用存在差别,表现在两个方面:

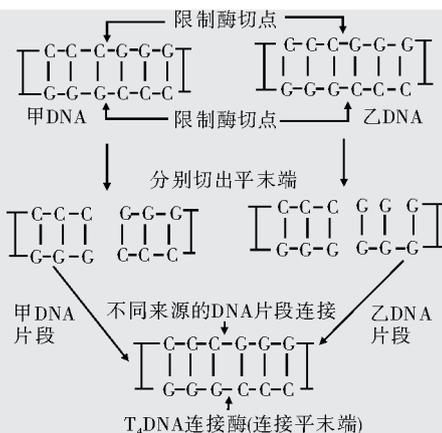
	DNA 连接酶	DNA 聚合酶
连接 DNA 链	双链。将 DNA 双链上的两个缺口同时连接起来,不需要模板	单链。以一条 DNA 链为模板,将单个核苷酸通过磷酸二酯键形成一条与模板链互补的 DNA 链
连接部位	在两 DNA 片段之间形成磷酸二酯键	将单个核苷酸加到已存在的核酸片段的 3' 端的羟基上,形成磷酸二酯键

思维突破:

DNA 连接酶连接的是核苷酸之间的磷酸二酯键,不能连接 DNA 分子中碱基对之间的氢键。结合图(1)图(2)理解记忆该知识点。



(1)



(2)

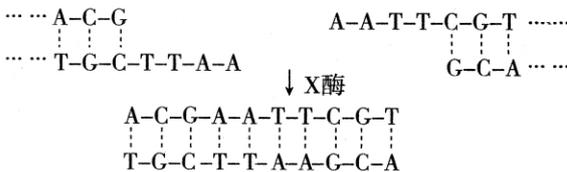
典例2 下列关于 DNA 连接酶的叙述中,正确的是

- ()
- A. DNA 连接酶不需要识别特定的核苷酸序列
 B. 一种 DNA 连接酶只能连接一种黏性末端
 C. 将单个核苷酸加到某 DNA 片段末端,形成磷酸二酯键
 D. 连接两条 DNA 链上碱基之间的氢键

解析 DNA 连接酶只能连接 DNA 片段,DNA 聚合酶能连接单个的核苷酸。DNA 上的氢键的连接不需要酶,DNA 连接酶不需要识别特定的核苷酸序列。

答案 A

练习2 如图,两个核酸片段在适宜条件下,经 X 酶的催化作用,发生下述变化,则 X 酶是



- A. 连接酶 B. RNA 聚合酶
 C. DNA 聚合酶 D. 限制酶

★要点3 理解基因进入受体细胞的载体——“分子运输车”

1. 使用载体的目的

在基因工程中使用载体有两个目的:一是用它作为运载工具,将目的基因转移到宿主细胞中去;二是利用它在宿主细胞内对目的基因进行大量的复制(称为克隆)。

思考讨论 为什么载体要具有随染色体 DNA 进行同步复制的能力?



2. 种类

可用作载体的主要有:质粒、λ噬菌体的衍生物、动植物病毒等。其中常用的载体是质粒。

3. 条件

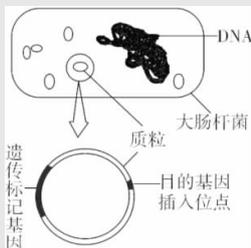
作载体必须具备三个条件:

- (1) 能够在宿主细胞中稳定地保存,并能够复制;
- (2) 具有多个限制酶切点,便于与外源基因结合;
- (3) 具有标记基因,便于进行检测和筛选。

思维突破:

常用的载体——质粒

1. 来源及结构:质粒存在于细菌等原核生物中,是一种裸露、结构简单、独立于细菌染色体之外,并且具有自我复制能力的双链环状DNA分子,如下图所示:



2. 遗传标记基因:质粒上有一些特殊的基因,如抗四环素基因、抗氨苄青霉素基因,用于对重组DNA进行鉴定和选择。

典例3 质粒之所以能作基因工程的运载体,是由于它 ()

- 含蛋白质从而能完成生命活动
- 能够自我复制而保持连续性
- 是RNA能够指导蛋白质的合成
- 具有环状结构能够携带目的基因

解析 作为运载体应该具备四个条件:一是对受体细胞生命活动不起决定性作用;二是能够随受体细胞的无性繁殖进行DNA扩增;三是具有多个限制酶切点,便于目的基因的连接;四是有标记基因,利于目的基因的检测。

答案 B

练习3 下列哪项不是基因工程中经常用来运载目的基因的运载体 ()

- 细菌质粒
- 细菌核区的DNA
- 动植物病毒
- 噬菌体

探究活动

探究限制性内切酶的作用机理。

1. 活动器材:彩色绘图纸,笔,剪刀,透明胶带。

2. 活动步骤:

(1) 以随意的顺序写出1条含50对碱基的双链DNA分子序列,用字母A、C、G和T分别表示四种碱基。要求下图中所示的三组碱基顺序至少在序列中各出现一次。

(2) 用三种不同颜色的纸带(如绿、红、白)将该DNA

序列复制成三份。

(3) 观察下图,弄清限制性内切酶 *EcoR* I 是怎样切断你的DNA双链的。仿照 *EcoR* I 的作用机理,将绿色纸带剪断。



(4) 按照步骤(3)所述,仿照限制性内切酶 *Bam* I 的作用机理切断白色纸带。仿照限制性内切酶 *Hae* III 的作用机理切断红色纸带。

(5) 模仿DNA的再结合过程。用胶带将你的DNA片段与另一位同学的DNA片段粘合起来,两段DNA片段的单链末端必须互补。这样就成了一条新的、长长的DNA分子。

3. 分析和结论:

(1) 观察:哪一种限制性内切酶产生的可连接的片段最多? 哪一种最少?

(2) 使用模型:你连接在一起的两条片段是由同一种限制性内切酶切断的吗? 在连接前必须要保证它们是由同一种限制性内切酶切断的吗? 解释你的答案。

(3) 推断:为什么在切成可连接的DNA片段时,限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Bam* I 比 *Hae* III 更好?

问题:

限制性内切酶 I 的识别序列和切点是—G↓GATCC—, 限制性内切酶 II 的识别序列和切点是—↓GATC—。在质粒上有酶 I 的一个切点,在目的基因的两侧各有一个酶 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。

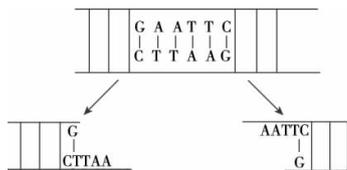
2. 请画出目的基因两侧被限制酶 II 切割后所形成的黏性末端。

3. 在DNA连接酶作用下,上述两种不同限制酶切割后的片段是否可以连接? 为什么?

三维测评

基础达标

1. 科学家们经过多年的努力,创立了一种新兴生物技术——基因工程,实施该工程的最终目的是 ()
 - A. 定向提取生物体的 DNA 分子
 - B. 定向地对 DNA 分子进行人工“剪切”
 - C. 在生物体外对 DNA 分子进行改造
 - D. 定向地改造生物的遗传性状
2. 以下有关基因工程的叙述,正确的是 ()
 - A. 基因工程是细胞水平上的生物工程
 - B. 基因工程的目的是获得目的基因表达的蛋白质产物
 - C. 基因工程产生的变异属于人工诱变
 - D. 基因工程育种的优点之一是可以定向地使生物产生可遗传的变异
3. 质粒是基因工程常用的载体,它的特点是 ()
 - ①能自主复制 ②不能复制 ③结构简单 ④单链 DNA
 - ⑤环状 DNA ⑥含有标记基因
 - A. ①③⑤⑥
 - B. ③④⑤⑥
 - C. ①③④⑤
 - D. ②③④⑤
4. 如图所示是限制酶切割某 DNA 分子的过程,从图中可知,该限制酶能识别的碱基序列及切点是 ()



- A. CTTAAG,切点在 C 和 T 之间
 - B. CTTAAG,切点在 G 和 A 之间
 - C. GAATTC,切点在 G 和 A 之间
 - D. GAATTC,切点在 C 和 T 之间
5. 要想将目的基因与载体连接起来,基因操作应选用 ()
 - A. 只需 DNA 连接酶
 - B. 只需限制性核酸内切酶
 - C. 同一种限制酶和 DNA 连接酶
 - D. 不同限制酶和 DNA 连接酶
 6. 可作为“分子运输车”的是 ()
 - ①天然质粒 ②人工改造的质粒 ③λ 噬菌体的衍生物
 - ④动植物病毒
 - A. ①②③④
 - B. ①②③
 - C. ②③④
 - D. ①②④
 7. 基因工程中,科研人员切下的某目的基因的黏性末端为 $\begin{array}{|c|} \hline \text{G} \\ \hline \text{C} \text{TTAA} \\ \hline \end{array}$, 则其载体与之对应的黏性末端为 ()

- A. $\begin{array}{|c|} \hline \text{AATT} \\ \hline \end{array}$
- B. $\begin{array}{|c|} \hline \text{AATT} \\ \hline \end{array}$



8. DNA 连接酶的重要功能是 ()
 - A. DNA 复制时使母链与子链之间形成氢键
 - B. 黏性末端碱基之间形成氢键
 - C. 将两条 DNA 片段末端之间的缝际连接起来
 - D. 以上都不正确
9. 要想获取一个特定性状的目的基因,必须用几种限制性核酸内切酶? 会有几个切口? 形成几个黏性末端?

能力提高

10. 据调查,随着化学农药的产量和品种逐年增多,害虫的抗药性也不断增强,危害很严重。如近年来,棉铃虫在我国大面积爆发成灾,造成严重经济损失。针对这种情况,经研究发现寄生在棉铃虫消化道内的苏云金芽孢杆菌能分泌一种毒蛋白,它能使寄主致死而对人畜无害。通过科技攻关,我国科技工作者已成功地将该毒蛋白基因导入棉花植株体内并实现表达。由于棉铃虫吃了这种“转基因抗虫棉”就会死亡,所以该品种棉被推广后,收到了很好的经济效益。

请分析材料后,回答下列问题:

(1) “转基因”抗虫棉的培育应用了_____技术。这种抗虫棉能否抵抗所有的害虫? 为什么? _____。

(2) 在培育转基因抗虫棉的过程中,所用的基因“剪刀”是_____,基因的“针线”是_____,基因的“运载工具”是_____。

开放探究

11. 质粒是基因工程中常用的运载体,存在于许多细菌及酵母菌等生物中。请根据原料和材料用具,设计实验选择载体,明确质粒的抗生素基因所控制的抗生素类别。

实验原理: 作为载体的质粒必须有标记基因,这一标记基因可以是抗生素抗性基因,故凡有抗生素抗性的细菌,其质粒可以选作载体。

材料用具: 青霉素溶液,10 万单位/mL 的四环素溶液、菌种、灭菌的含有细菌培养基的培养皿、酒精灯、接种环、一次性注射器、蒸馏水、恒温箱等。

方法步骤: 第一步,取三个含细菌培养基的培养皿,编号 1、2、3,在酒精灯旁,用三支注射器分别注入 1 毫升的蒸馏水、青霉素溶液和四环素溶液,并使在整个培养皿表面均匀分布。

第二步,_____。

第三步,_____。

预期结果及结论:



(1) _____

(2) _____

(3) _____

(4) _____

1.2 基因工程的基本操作程序

学习目标

1. 简述基因工程原理及基本操作程序。
2. 尝试设计某一转基因生物的研制过程。

复习回顾

1. 学习目的基因组文库时,可联系必修本中人类基因组计划的内容,从而获得感性认识。在学习 cDNA 文库时,建议联系 DAN 转录的有关知识:获得 RNA 后,以它为模板、反转录则可以获一条 DNA 单链,再以单链为模板合成双链 DNA。

2. 学习 PCR 扩增技术时,可联系必修本中的 DNA 复制内容。

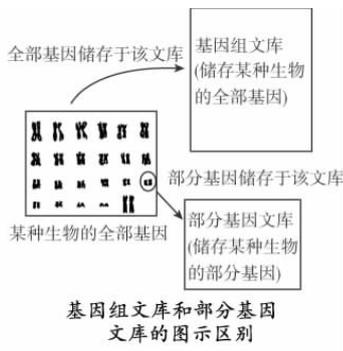
3. 在学习目的基因检测时,可与必修本中 DNA 指导蛋白质合成的过程联系。这样有利于理解为什么要在三个层次上检测:(1) 检测转基因生物是否插入了目的基因;(2) 检测目的基因是否转录出 mRNA;(3) 检测目的基因是否翻译成蛋白质。

要点活学

★要点 1 基因文库、基因组文库和 cDNA 文库

基因文库比较抽象,不好理解。可以把基因文库比喻为“储存某种生物的基因的‘仓库’”,通常该“仓库”内储存的是大量的细菌,该种细菌内带有某种生物的不同基因的 DNA 片段,称这些细菌为受体菌。也就是说,把某种生物的带有基因片段的 DNA 储存在受体菌内,各个受体菌分别含有这种生物的不同基因,成为基因文库。

基因文库是指储存有某种生物基因的菌群(受体菌群)的总称,不是指该种生物的全部基因。可用下图所示比较基因组文库和部分基因文库。



典例 1 下列关于 cDNA 文库和基因组文库的说法中,不正确的是 ()

- A. cDNA 文库中的 DNA 来源于 mRNA 的反转录过程
- B. 如果某种生物的 cDNA 文库中的某个基因与该生物的基因组文库中的某个基因控制的性状相同,则这两个基因的结构也完全相同
- C. cDNA 文库中的基因都没有启动子
- D. 一种生物的 cDNA 文库可以有多种,但基因组文库只有一种

解析 cDNA 文库中的 DNA 来源于 mRNA 的反转录过程,所以该 DNA(或基因)与该生物体内的原 DNA 在结构上是有区别的,如不含有启动子、内含子等。

答案 B

练习 1 比较基因、基因文库和目的基因的不同点。

★要点 2 获取目的基因的方法

1. 从基因文库中获取

基因文库的组建过程就包含基因工程的步骤:

(1) 目的基因的获取:将某种生物体内的 DNA 全部提取出来,选用适当的限制酶,将 DNA 切成一定范围大小的 DNA 片段。

(2) 重组质粒的构建:将所获得的 DNA 片段分别与载体连接起来。

(3) 目的基因导入受体细胞:将重组质粒导入受体菌的群体中储存。

提示 从基因文库中获取目的基因的优点是操作简便,缺点是工作量大,具有一定的盲目性。

2. 利用 PCR 技术扩增目的基因

(1) PCR 技术的工作原理。

以待扩增的 DNA 分子为模板,以一对分别与模板的两端互补的寡核苷酸片段为引物,在 DNA 聚合酶的作用下,按照半保留复制的机制沿着模板链延伸直至完成新的 DNA 合成,重复这一过程,即可使目的 DNA 片段得到扩增。

(2) PCR 技术的过程。

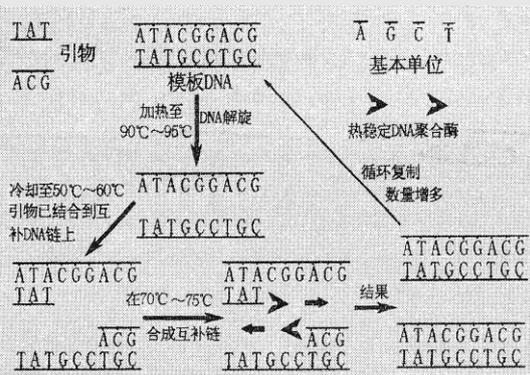
变性: 当温度上升到 90℃ 以上时,双链 DNA 解旋为单链。

复性: 温度下降到 50℃ 左右时,两种引物通过碱基互补配对与两条单链 DNA 结合。

延伸: 温度上升到 72℃ 左右,溶液中的游离脱氧核苷酸(A、T、C、G)在 DNA 聚合酶的作用下,根据碱基互补配对原则合成新的 DNA 链。

思维突破:

结合下图理解 PCR 技术的过程。



PCR 与细胞内 DNA 的复制既类似又有区别: PCR 是体外扩增 DNA 片段,需要引物和耐热的 DNA 聚合酶。

(3) PCR 技术扩增目的基因与 DNA 复制的比较:

		PCR 技术	DNA 复制
相同点	原理	碱基互补配对	
	原料	四种脱氧核苷酸	
	条件	模板、ATP、酶	
不同点	解旋方式	DNA 在高温下变性解旋	解旋酶催化
	场所	体外复制	细胞核内
	酶	热稳定的 DNA 聚合酶(Taq 酶)	细胞内含有的 DNA 聚合酶
	结果	在短时间内形成大量的 DNA 片段	形成整个 DNA 分子

3. 人工合成目的基因

人工合成目的基因的方法主要有两种:

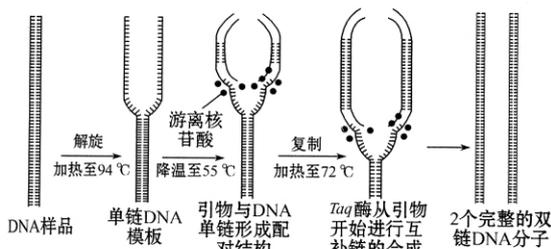
(1) 反转录法: 主要用于相对分子质量较大而又不知其序列的基因,它是以目的基因的 mRNA 为模板,借助反转录酶合成碱基互补的单链 DNA,然后在 DNA 聚合酶的作用下

合成双链 DNA。

(2) 化学合成法: 即依照某一蛋白质的氨基酸序列,通过密码子推算出其基因序列,然后直接合成目的基因。

提示 由于真核细胞的基因含有不表达的 DNA 片段,不能直接用于基因的扩增和表达,因此,在获取真核细胞中的目的基因时,一般是用人工合成目的基因的方法。

典例 2 资料显示,近 10 年 PCR 技术(聚合酶链式反应)成为分子生物学实验室的一种常规实验手段,其原理是利用 DNA 半保留复制的特性,在试管中进行 DNA 的人工复制(如图),在很短的时间内,将 DNA 扩增几百万甚至几十亿倍,使实验所需的遗传物质不再受限于活的生物体。请据下图回答:



(1) 加热至 94℃ 的目的是使 DNA 中的 _____ 键断裂,这一过程在细胞内是通过 _____ 的作用来完成的。

(2) 当温度降低时,引物与模板末端结合,在 DNA 聚合酶的作用下,引物沿模板延伸,最终合成 2 条 DNA 分子,此过程中原料是 _____,遵循的原则是 _____。

(3) Taq 酶的特点是 ()

- A. 耐强酸 B. 耐强碱
C. 耐高温 D. 最适温度 37℃

解析 本题主要考查 PCR 技术与细胞内 DNA 复制与转录的异同点,要对两者从原理、条件、酶等各方面进行对比,然后组织答案。(1) 94℃ 时 DNA 双链解旋,破坏的是两条链之间的氢键,而在细胞内 DNA 复制解旋时解旋酶起相同作用。(2) PCR 技术与 DNA 复制过程原理是相同的,即碱基互补配对,原料均为四种脱氧核苷酸。(3) Taq 酶适于在高温条件下发挥活性。

答案 (1) 氢键 解旋酶 (2) 四种脱氧核苷酸 碱基互补配对 (3) C

练习 2 下列获取目的基因的方法中需要模板链的是

- ()
① 从基因文库中获取目的基因 ② 利用 PCR 技术扩增目的基因
③ 反转录法获取目的基因 ④ 通过 DNA 合成仪利用化学方法人工合成目的基因

- A. ①②③④ B. ①②③
C. ②③④ D. ②③

★要点 3 基因表达载体的构建过程

1. 构建目的

其目的是使目的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。

2. 构建零件及其作用

(1) 目的基因: 要转移的基因。

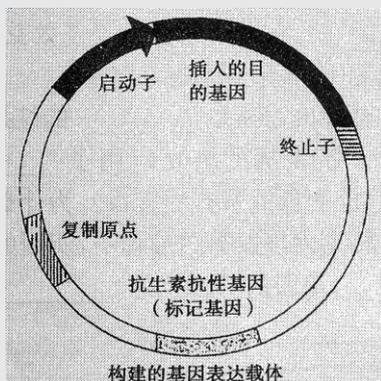
(2) 启动子: 一段有特殊结构的 DNA 片段, 位于基因的首端, 它是 RNA 聚合酶识别和结合的部位, 有了它才能驱动基因转录出 mRNA, 最终获得所需要的蛋白质。

(3) 终止子: 使转录在所需要的地方停止下来。终止子位于基因的尾端, 也是一段有特殊结构的 DNA 片段。

(4) 标记基因: 其作用是为了鉴别受体细胞中是否含有目的基因, 从而将含有目的基因的细胞筛选出来, 如抗生素抗性基因就可以作为这种基因。

思维突破:

结合下图和各个构成的“零件”的名称, 掌握构建的基因表达载体及各部分的作用。

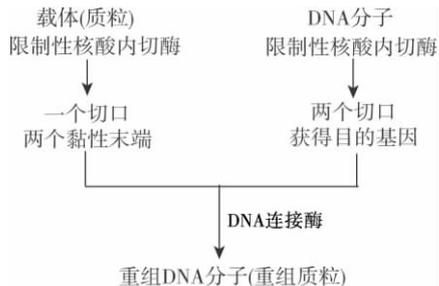


(1) DNA 复制原点是 DNA 内部的某一个碱基位置, 仅与复制有关。

(2) 由于受体细胞有植物、动物、微生物之分, 以及目的基因导入受体细胞的方法不同。因此, 基因表达载体在构建上也会有所差别, 不可能是千篇一律的。

3. 目的基因与载体结合的过程

目的基因与载体结合的过程, 实质上是不同来源的 DNA 重新组合的过程。其过程如下:



为保证目的基因与载体能够结合, 在切割载体和目的基因时要用同一种限制酶。

典例 3 下列关于基因表达载体的叙述中不正确的是

()

- A. 基因表达载体的构建是基因工程的核心
- B. 其上的启动子和终止子都是有特殊结构的 DNA 片段
- C. 一般用抗生素抗性基因作为标记基因
- D. 虽然基因工程中的受体细胞有所不同, 但构建的基

因表达载体都是一样的。

解析 由于受体细胞有植物、动物、微生物之分, 目的基因导入受体细胞的方法不同, 所以, 表达载体的构建也有所差别。

答案 D

练习 3 关于载体的叙述, 正确的是 ()

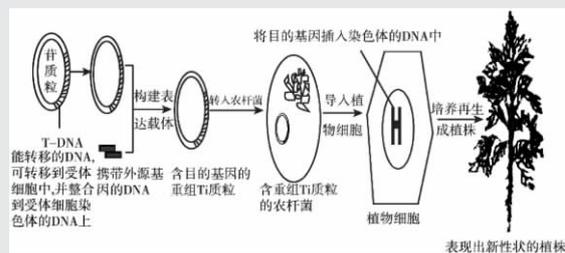
- A. 是基因工程中必不可少的工具酶
- B. 一个载体上必须有启动子、终止子、标记基因、目的基因
- C. 基因工程中的载体是一样的
- D. 载体能在受体细胞中独立地复制和表达

★要点 4 将目的基因导入受体细胞

生物种类	植物细胞	动物细胞	微生物细胞
常用方法	农杆菌转化法	显微注射法	Ca^{2+} 处理法
受体细胞	体细胞	受精卵	原核细胞
转化过程	目的基因插入 Ti 质粒的 T-DNA 上 → 农杆菌 → 导入植物细胞 → 整合到受体细胞的 DNA → 表达	目的基因表达载体提纯 → 取卵(受精卵) → 显微注射 → 受精卵发育 → 获得具有新性状的动物	Ca^{2+} 处理细胞 → 感受态细胞 → 表达载体与感受态细胞混合 → 感受态细胞吸收 DNA 分子

思维突破

结合下图理解农杆菌转化法的过程。



思考讨论 为什么说把目的基因整合到受体细胞染色体 DNA 上, 就可以使之遗传特性稳定维持? 在动物中为什么一般不采用体细胞作为受体细胞? 在获取目的基因产物时, 受体细胞一般为大肠杆菌, 有什么优点?

典例 4 下列关于基因表达载体导入微生物细胞的叙述中, 不正确的是 ()

- A. 常用原核生物作为受体细胞, 是因为原核生物繁殖快, 且多为单细胞, 遗传物质相对较少
- B. 受体细胞所处的一种能吸收周围环境中 DNA 分子的生理状态称为感受态
- C. 感受态细胞吸收 DNA 分子需要适宜的温度和酸

碱度

D. 感受态细胞吸收重组表达载体 DNA 分子的液体只要调节适宜的 pH 即可, 没必要用缓冲液

解析 将基因表达载体导入微生物细胞时, 需在一定条件(如适宜的温度、pH 等)下, 将基因表达载体和感受态的微生物细胞混合培养, 在培养过程中, 可能会影响 pH 的变化, 因此要加入缓冲液, 以保持适宜的 pH。

答案 D

练习 4 采用基因工程的方法培育抗虫棉, 下列导入目的基因的做法正确的是 ()

- ①将毒素蛋白注射到棉受精卵中
- ②将编码毒素蛋白的 DNA 序列, 注射到棉受精卵中
- ③将编码毒素蛋白的 DNA 序列, 与质粒重组, 导入细菌, 用该细菌感染棉的体细胞, 再进行组织培养
- ④将编码毒素蛋白的 DNA 序列, 与细菌质粒重组, 注射到棉的子房进入受精卵

A. ② B. ②③ C. ③④ D. ①④

★要点 5 目的基因的检测与鉴定

目的基因导入受体细胞后, 是否可以稳定地维持和表达基因遗传特性, 只有通过检测与鉴定才能知道。目的基因的检测与鉴定的内容及方法可总结于下表:

类型	步骤	检测内容	方法	结果显示
分子检测	第一步	转基因生物染色体的 DNA 上是否插入了目的基因	DNA 分子杂交(DNA 和 DNA 之间)	是否成功显示出杂交带
	第二	目的基因是否转录出 mRNA	分子杂交技术(DNA 和 mRNA 之间)	同上
	第三步	目的基因是否翻译出蛋白质	抗原—抗体杂交	同上
个体水平鉴定	包括抗虫、抗病的接种实验, 以确定是否有抗性以及抗性的程度; 基因工程产品需要与天然产品的活性比较, 以确定功能是否相等等			

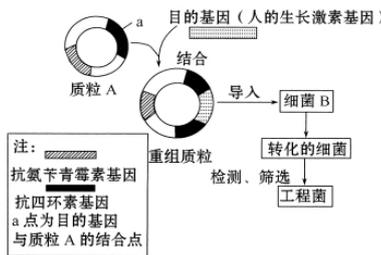
思维突破:

检测目的基因是否导入受体细胞是检测的关键一步, 最终要检测目的基因是否表达, 可联系基因控制蛋白质合成过程中转录和翻译的结果进行分析。

如果测得目的基因已经导入受体细胞, 但目的基因还不一定能够表达, 因此需要做进一步的鉴定。通常是检测目的基因是否控制转录出 mRNA 和翻译合成相应的蛋白质, 或检测是否表达出目的基因控制的性状。如抗虫棉的培育中检测抗虫基因是否表达时, 可以直接让害虫去吃棉花叶, 看能否将害虫毒死即可。

典例 5 下图是将人的生长激素基因导入细菌 B 细胞内, 制造“工程菌”的示意图。所用载体为质粒 A。已知细菌 B 细胞内不含质粒 A, 也不含质粒 A 上的基因, 重组质粒

导入细菌 B 细胞后, 其上的基因能得到表达。请回答下列问题。



(1) 人工获得目的基因的常用方法目前有哪些?

(2) 如何将目的基因和质粒相结合形成重组质粒(重组 DNA 分子)?

(3) 目前把重组质粒导入细菌细胞时, 效率还不高, 导入完成后得到的细菌实际上有的根本没有导入质粒, 有的导入的是普通质粒 A, 只有少数导入的是重组质粒。此处可以通过如下步骤来鉴别得到的细菌是否导入了质粒 A 或重组质粒: 将得到的细菌涂抹在一个含有氨苄青霉素的培养基上, 能够生长的就是导入了质粒 A 或重组质粒, 反之则没有。使用这种方法鉴别的原因是_____。

(4) 若把通过鉴定证明导入了普通质粒 A 或重组质粒的细菌放在含有四环素的培养基上培养, 会发生的现象是_____, 原因是_____。

(5) 怎样检测细菌 B 细胞中已经成功地导入了目的基因?

解析 此题是对基因操作四个步骤比较全面的考查。

(3) 检测质粒或重组质粒是否导入受体细胞, 均需利用质粒上某些标记基因的特性, 即对已经导入质粒或重组质粒处理的、本身无相应特性的受体细胞进行检测, 根据受体细胞是否具有相应的特性来确定。本题利用质粒上抗四环素和抗氨苄青霉素这两个特性以及它们在质粒上的位置进行目的基因是否导入受体细胞的检测。抗氨苄青霉素基因在质粒上, 但它与目的基因是否插入无关, 所以, 用含氨苄青霉素这种选择培养基培养经过导入质粒处理的受体细胞, 凡能生长的则表明质粒导入成功; 不能生长的则无质粒导入。(4) 抗四环素基因不仅在质粒上, 而且它的位置正是目的基因插入质粒之处, 因此有目的基因插入质粒形成重组质粒时, 此处的抗四环素基因的结构和功能就会被破坏, 当然含重组质粒的受体细胞就不能在含四环素的培养基上生长, 而质粒上无目的基因插入, 四环素基因结构是完整的, 这种受体细胞就能在含四环素的培养基上生长。(5) 检测细菌 B 细胞中成功导入目的基因的步骤是: ①检测转基因生物的染色体 DNA 上是否插入了目的基因, 方法是用 DNA 探针, 使 DNA 探针与重组基因 DNA 杂交。②检测目的基因是否转录出了 mRNA, 方法是用基因探针与 mRNA 杂交。③检测目的基因是否翻译成蛋白质, 方法是进行抗原—抗体杂交。

答案 (1) 目前常用的方法有两种: ①从基因文库中获得; ②利用 PCR 技术扩增。(2) 将目的基因和质粒相结合形



成重组质粒的过程是:①用一定的限制性核酸内切酶切割质粒,使其出现一个有黏性末端的切口;②用同种限制性核酸内切酶切割目的基因,产生相同的黏性末端;③将切下的目的基因片段插入到质粒的切口处,再加入适量的 DNA 连接酶,使质粒与目的基因结合成重组质粒。(3)普通质粒 A 和重组质粒上都含有抗氨苄青霉素基因 (4)有的能生长,有的不能生长 导入普通质粒 A 的细菌能生长,因为普通质粒 A 上有抗四环素基因;导入重组质粒的细菌不能生长,因为目的基因插在抗四环素基因中,抗四环素基因的结构被破坏 (5)分三步进行检测:①检测目的基因是否导入受体细胞;②检测目的基因是否转录出 mRNA;③检测目的基因是否翻译成蛋白质。

练习 5 基因工程的操作步骤:①使目的基因与运载体相结合,②将目的基因导入受体细胞,③检测目的基因的表达是否符合特定性状要求,④提取目的基因。正确的操作顺序是 ()

- A. ③②④① B. ②④①③
C. ④①②③ D. ③④①②

探究活动

将动物致病菌的抗原基因导入马铃薯制成植物疫苗,饲喂转基因马铃薯可使动物获得免疫力。以下是与植物疫苗制备过程相关的图、表。

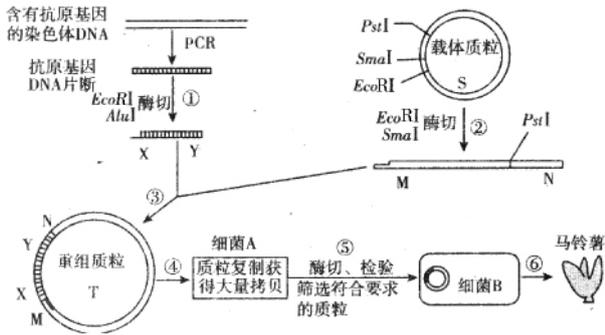


图 1 转基因操作流程

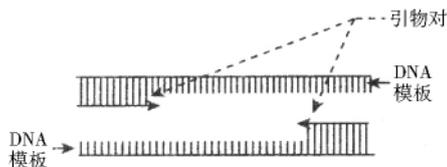


图 2 引物对与模板结合示意图

表 1 引物对序列表

引物对 A	P1	AACTGAAATGTAGCTATC
	P2	TTAAGTCCATTACTCTAG
引物对 B	S1	GTCCGACTAGTGGCTGTG
	S2	AGCTGGCGTTTAGCCTCG

表 2 几种限制酶识别序列及切割位点表

限制酶	<i>Alu</i> I	<i>Eco</i> R I	<i>Pst</i> I	<i>Sma</i> I
切割位点	AG ↓ CT TC ↑ GA	G ↓ AATTC CTTAA ↑ G	CTGCA ↓ G G ↑ ACGTC	CCC ↓ GGG GGG ↑ CCC

问题:

1. 在采用常规 PCR 方法扩增目的基因的过程中,使用的 DNA 聚合酶不同于一般生物体内的 DNA 聚合酶,其最主要的特点是_____。

2. PCR 过程中退火(复性)温度必须根据引物的碱基数量和种类来设定。表 1 为根据模板设计的两对引物序列,图 2 为引物对与模板结合示意图。请判断哪一对引物可采用较高的退火温度?_____。

3. 图 1 步骤③所用的 DNA 连接酶对所连接的 DNA 两端碱基序列是否有专一性要求?

4. 为将外源基因转入马铃薯,图 1 步骤⑥转基因所用的细菌 B 通常为_____。

5. 对符合设计要求的重组质粒 T 进行酶切。假设所用的酶均可将识别位点完全切开,请根据图 1 中标示的酶切位点和表 2 所列的识别序列,对以下酶切结果作出判断。

(1) 采用 *Eco*RI 和 *Pst*I 酶切,得到_____种 DNA 片断。

(2) 采用 *Eco*RI 和 *Sma*I 酶切,得到_____种 DNA 片断。

三维测评

基础达标

1. 下列哪项不是将目的基因导入植物细胞的方法 ()
A. 基因枪法 B. 显微注射法
C. 农杆菌转化法 D. 花粉管通道法
2. 科学家通过基因工程方法,能使马铃薯块茎含有人奶主要蛋白。以下有关该基因工程的叙述中,错误的是 ()

- A. 采用反转录的方法得到的目的基因上有内含子
B. 基因非编码区对于目的基因在块茎中的表达是不可缺少的
C. 马铃薯的叶肉细胞可作为受体细胞
D. 用同一种限制性核酸内切酶分别处理质粒和含目的基因的 DNA,可产生黏性末端而形成重组 DNA 分子
3. 下列说法中正确的是 ()

- A. 基因表达载体的构建方法是一致的
 B. 标记基因也叫做抗生素抗性基因
 C. 显微注射技术是最为有效的一种将目的基因导入植物细胞的方法
 D. 大肠杆菌是常用的微生物受体
4. 控制细菌合成抗生素抗性物质的基因、控制放线菌主要遗传性状的基因、控制病毒抗原特异性的基因依次位于 ()

- ①拟核内大型环状 DNA 上 ②质粒上 ③细胞核染色体上 ④衣壳内的核酸上
- A. ①③④ B. ①②④
 C. ②①③ D. ②①④

5. 基因表达载体的构建所需要的条件是 ()
- ①同一种限制酶 ②具有某些标记基因的质粒 ③RNA 聚合酶 ④目的基因 ⑤DNA 连接酶 ⑥启动子 ⑦终止子
- A. ①②③④⑤⑥⑦ B. ①②④⑤⑥⑦
 C. ②④⑥⑦ D. ①②④⑤

6. 某科学家从细菌中分离出耐高温淀粉酶(Amy)基因 a, 通过基因工程的方法将 a 转到马铃薯植株中, 经检测, 在成熟茎细胞的间隙中发现了 Amy。这一过程涉及 ()
- A. 目的基因来自细菌, 可以不需要载体, 由细菌浸染受体细胞而导入
 B. 基因 a 导入成功后, 将抑制细胞原有代谢, 开辟新的代谢途径
 C. RNA 以自身为模板自我复制
 D. DNA 以其一条链为模板合成 mRNA

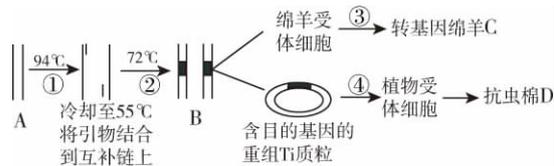
7. 干扰素是病毒侵入人体的细胞后, 由效应 T 细胞产生的一种淋巴因子, 其化学本质是一种糖蛋白。由于干扰素几乎能抵抗所有病毒引起的感染, 如水痘、肝炎、狂犬病等病毒引起的感染, 因此, 它是一种抗病毒的特效药。此外, 干扰素对治疗乳腺癌、骨髓癌、淋巴瘤和某些白血病也有一定疗效。传统的干扰素生产方法是从人血液中的白细胞内提取的, 每 300 L 血液只能提取出 1 mg 干扰素。1980~1982 年, 科学家用基因工程方法从大肠杆菌及酵母菌细胞内获得了干扰素, 从每 1 kg 细菌培养物中可以得到 20~40 mg 干扰素。从 1987 年开始, 用基因工程方法生产的干扰素进入了工业化生产阶段, 并且大量投放市场。

(1) 经专家鉴定, 从酵母菌细胞中获得的干扰素是一种糖蛋白, 具有生物活性。那么糖蛋白上的糖链是在酵母菌细胞中的 _____ 和 _____ (填细胞器名称) 上加上的。

(2) 从基因工程处理的大肠杆菌细胞中获得的“干扰素”, 经鉴定不具备天然生物活性, 还必须经人工处理加上糖基方具活性。原因是 _____。

能力提高

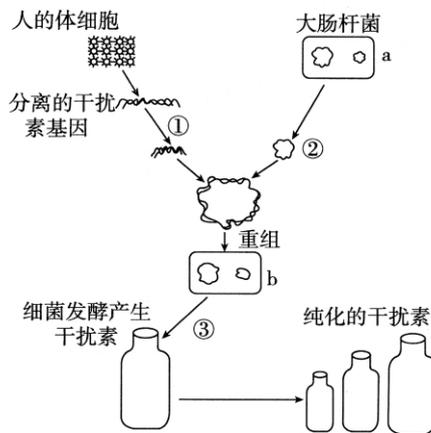
8. 下图为利用生物技术获得生物新品种的过程, 据图回答:
- (1) 在基因工程中, A→B 为 _____ 技术, 利用的



原理是 _____, 其中①为 _____ 过程。

(2) B→D 为抗虫棉的培育过程, 其中④过程常用的方法是 _____, 要确定目的基因(抗虫基因)导入受体细胞后, 是否能稳定遗传并表达, 需进行检测和鉴定工作, 请写出在个体生物学水平上的鉴定过程: _____。

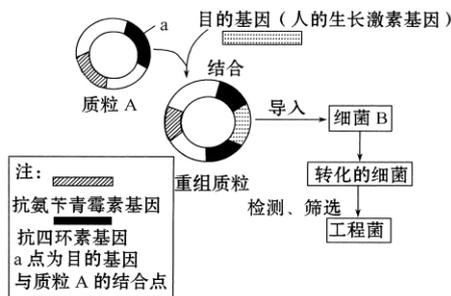
9. 下图是利用基因工程方法生产人白细胞干扰素的过程图, 据图回答:



- (1) ①过程需要 _____ 的参与。
- (2) ②物质是从大肠杆菌分离出的 _____。其化学本质是 _____, 它必须能在宿主细胞中 _____。
- (3) ③过程表明目的基因 _____。

开放探究

10. 下图是将人的生长激素基因导入细菌 B 细胞内制造“工程菌”的示意图, 所用载体为质粒 A。已知细菌 B 细胞内不含质粒 A, 也不含质粒 A 上的基因, 质粒 A 导入细菌 B 后, 其上的基因能得到表达。请回答下列问题:



- (1) 在基因工程中, 质粒是一种最常用的 _____, 它广泛地存在于细菌细胞中, 是一种很小的环状 _____ 分子。
- (2) 在用目的基因与质粒形成重组 DNA 过程中, 一般要用到的工具酶是 _____ 和 _____。



(3) 将含有“某激素基因”的质粒导入细菌细胞后,能在细菌细胞内直接合成“某激素”,则该激素在细菌体内的合成包括_____和_____两个阶段。

(4) 在将质粒导入细菌时,一般要用_____处理细菌,以增大_____。

(5) 导入细菌 B 细胞中的目的基因成功表达的标志是什么?

1.3 基因工程的应用

学习目标

1. 举例说出基因工程应用及取得的丰硕成果。
2. 关注基因工程的进展。
3. 认同基因工程的应用促进生产力的提高。

复习回顾

杂交育种

不同种群、不同基因型个体间进行杂交,并在其杂种后代中通过选择而育成纯合品种的方法。杂交可以使双亲的基因重新组合,形成各种不同的类型,为选择提供丰富的材料;基因重组可以将双亲控制不同性状的优良基因结合于一体,或将双亲中控制同一性状的不同微效基因积累起来,产生在各该性状上超过亲本的类型。正确选择亲本并予以合理组配是杂交育种成败的关键。

人类遗传病的种类

根据染色体、DNA、基因间的关系,基因与性状的关系,人类性别决定类型,可知遗传病有五种类型:常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传、X 染色体显性遗传、X 染色体隐性遗传、Y 染色体遗传。

要点活学

★要点 1 植物基因工程与动物基因工程的效果比较

项目		外源基因类型及举例	成果举例
类型			
植物基因工程 的成果	抗虫转基因植物	抗虫基因: Bt 毒蛋白基因、蛋白酶抑制剂基因、淀粉酶抑制剂基因	抗虫水稻、抗虫棉和抗虫玉米等
	抗病转基因植物	抗病毒基因: 病毒外壳蛋白基因、病毒的复制酶基因 抗真菌基因: 几丁质酶基因和抗毒素合成基因	抗病毒烟草、抗病毒小麦、抗病毒番茄和抗病毒甜椒等
	抗逆转基因植物	抗逆基因: 渗透压调节基因、抗冻蛋白基因、抗除草剂基因	抗盐碱和抗干旱的烟草、抗寒番茄、抗除草剂的大豆和玉米
	改良品质的转基因植物	优良性状基因: 提高必需氨基酸含量的蛋白质编码基因、控制番茄果实成熟的基因、与花青素代谢有关的基因	富含高赖氨酸的玉米、耐储存番茄、新花色矮牵牛
动物基因工程 的成果	提高生长速度的转基因动物	外源生长激素基因	转基因绵羊、转基因鲤鱼等
	改善畜产品品质的转基因动物	肠乳糖酶基因	乳汁中乳糖含量较少的转基因牛
	生产药物的转基因动物	药用蛋白质基因 + 乳腺蛋白基因的启动子	转基因动物具有乳腺生物反应器或乳房生物反应器
	作器官移植供体的转基因动物	导入外源的抗原决定基因表达的调节因子、抑制或除去供体的抗原决定基因	无免疫排斥反应的转基因克隆猪器官

思维突破:

记住动、植物方面基因工程的一些成果,知道转入的外源基因的作用。从基因工程操作的四个步骤方面了解培育的过程。