

高中新课标

◎根据教育部最新教材编写◎



教材全解丛书

中学教材全解

ZHONGXUEJIAOCAI
QUANJIE

总主编 / 薛金星

高中生物学

选修三——现代生物科技专题

配套中国地图出版社实验教科书



陕西人民教育出版社

高中新课标

根据教育部最新教材编写

中学教材全解

高中生物学选修三—现代生物科技专题

配套中国地图出版社实验教科书



总主编 薛金星
本册主编 郑郭义
刘宁富
副主编 于明英
孙烈杰
王常知

陕西人民教育出版社

图书在版编目(CIP)数据

中学教材全解. 高中生物:选修/薛金星主编;郑敦义分册主编. —西安:陕西人民教育出版社, 2005. 3

ISBN 7—5419—9272—0

I. 中... II. ①薛... ②郑... III. 生物课—高中—教学参考资料 IV. G634

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 028957 号

中学教材全解

高中生物学选修三——现代生物科技专题

配套中国地图出版社实验教科书

陕西人民教育出版社出版发行

(西安市长安南路 181 号)

各地书店经销 北京市昌平兴华印刷厂印刷

890×1240 毫米 32 开本 7 印张 230 千字

2005 年 11 月第 1 版 2005 年 11 月第 1 次印刷

ISBN 7—5419—9272—0/G·8069

定价:9.80 元

出版前言

《中学教材全解》系列丛书根据教育部最新教材编写。值此出版之际,我们祝愿《中学教材全解》将伴随您度过中学阶段的美好时光,帮您迈向日夜向往的高等学府。

这套丛书与其他同类书相比具有以下几个鲜明特色:

第一,新。

首先是教材新。本书以最新教改精神为依据,以现行初、高中最新教材为蓝本编写。其次是体例新。紧扣教材,步步推进,设题解题、释疑解难、课后自测、迁移延伸,逐次深入。其三是题型(材料)新。书中选用的题型(材料)都是按中考、高考要求精心设计挑选的,让读者耳目一新。

第二,细。

首先是对教材讲解细致入微。以语文科为例,小到字的读音、词的辨析,大到阅读训练和作文训练都在本书中有所体现。其次是重点难点详细讲析,既有解题过程又有思路点拨。其三是解题方法细,一题多解,多题一法,变通训练,总结规律。

第三,精。

首先是教材内容讲解精。真正体现围绕重点,突破难点,引发思考,启迪思维。根据考点要求,精讲精析,使学生举一反三,触类旁通。其次是问题设置精,注重典型性,避免随意性,注重迁移性,避免孤立性,实现由知识到能力的过渡。

第四,透。

首先是对教纲考纲研究得透。居高临下把握教材,立足于教材,又不拘泥于教材。其次是对学生知识储备研究得透。学习目标科学可行,注重知识“点”与“面”的联系,“教”与“学”的联系。再次是对问题讲解得透,一题多问,一题多解,培养求异思维和创新思维能力。

第五,全。

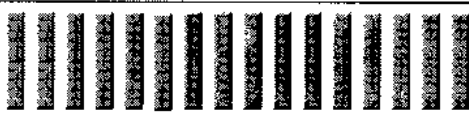
首先是知识分布全面。真正体现了“一册在手,学习内容全有”的编写指导思想。其次是该书的信息量大。它涵盖了中学文化课教学全部课程和教与学的全部过程,内容丰富,题量充足。再次是适用对象全面。本书着眼于面向全国重点、普通中学的所有学生,丛书内容由浅入深,由易到难,学生多学易练,学习效果显著。

本系列丛书虽然从策划、编写,再到出版,精心设计,细致操作,可谓尽心尽力,但疏漏之处在所难免,诚望广大读者批评指正。

薛金星于北师大



目 录



第一单元 生物技术与生物工程

第一章 基因工程和蛋白质工程

本章综合解说	(1)
第一节 基因工程的原理	(2)
最新课标要求	(2)
相关知识要览	(2)
教材内容全解	(2)
典型例题讲解	(11)
新课标新问题剖析	(14)
本节内容小结	(14)
渗透新课标理念的考题研究	(14)
课后巩固提高答案	(15)
综合素质训练	(15)
综合素质训练答案	(17)
第二节 基因工程的应用	(17)
最新课标要求	(17)
相关知识要览	(18)
教材内容全解	(18)
典型例题讲解	(21)
新课标新问题剖析	(22)
本节内容小结	(22)
渗透新课标理念的考题研究	(22)

课后巩固提高答案	(23)
综合素质训练	(24)
综合素质训练答案	(25)
第三节 蛋白质工程	(26)
最新课标要求	(26)
相关知识要览	(26)
教材内容全解	(26)
典型例题讲解	(29)
新课标新问题剖析	(30)
本节内容小结	(31)
渗透新课标理念的考题研究	(31)
课后巩固提高答案	(32)
综合素质训练	(32)
综合素质训练答案	(33)
本章知识大综合	(34)
知识网络图示	(34)
高考趋势分析	(34)
专题归纳总结	(35)
综合题型讲解	(36)
专题综合检测	(37)
专题综合检测答案	(41)
第二章 细胞工程	(42)
本章综合解说	(42)

第一节 动物细胞培养	(43)	综合素质训练	(74)
最新课标要求	(43)	综合素质训练答案	(76)
相关知识要览	(43)	第四节 干细胞工程	(76)
教材内容全解	(43)	最新课标要求	(76)
典型例题讲解	(46)	相关知识要览	(76)
新课标新问题剖析	(48)	教材内容全解	(76)
本节内容小结	(49)	典型例题讲解	(81)
渗透新课标理念的考题研究	(49)	新课标新问题剖析	(83)
课后巩固提高答案	(50)	本节内容小结	(83)
综合素质训练	(50)	渗透新课标理念的考题研究	(83)
综合素质训练答案	(52)	课后巩固提高答案	(84)
第二节 植物组织培养	(52)	综合素质训练	(84)
最新课标要求	(52)	综合素质训练答案	(85)
相关知识要览	(53)	第五节 克隆技术	(85)
教材内容全解	(53)	最新课标要求	(85)
典型例题讲解	(57)	相关知识要览	(86)
新课标新问题剖析	(58)	教材内容全解	(86)
本节内容小结	(59)	典型例题讲解	(90)
渗透新课标理念的考题研究	(59)	新课标新问题剖析	(91)
课后巩固提高答案	(60)	本节内容小结	(92)
综合素质训练	(61)	渗透新课标理念的考题研究	(92)
综合素质训练答案	(62)	课后巩固提高答案	(93)
第三节 细胞融合技术	(62)	综合素质训练	(93)
最新课标要求	(62)	综合素质训练答案	(94)
相关知识要览	(62)	本章知识大综合	(95)
教材内容全解	(63)	知识网络图示	(95)
典型例题讲解	(68)	高考趋势分析	(95)
新课标新问题剖析	(71)	专题归纳总结	(96)
本节内容小结	(72)	综合题型讲解	(96)
渗透新课标理念的考题研究	(72)	专题综合检测	(98)
课后巩固提高答案	(73)	专题综合检测答案	(100)
		第三章 胚胎工程	(101)
		本章综合解说	(101)

第一节 动物胚胎发育的基本过程

..... (102)

最新课标要求 (102)

相关知识要览 (102)

教材内容全解 (102)

典型例题讲解 (106)

新课标新问题剖析 (109)

本节内容小结 (109)

渗透新课标理念的课题研究

..... (110)

课后巩固提高答案 (110)

综合素质训练 (110)

综合素质训练答案 (112)

第二节 良种化胚胎工程 (112)

最新课标要求 (112)

相关知识要览 (112)

教材内容全解 (113)

典型例题讲解 (117)

新课标新问题剖析 (118)

本节内容小结 (119)

渗透新课标理念的课题研究

..... (119)

课后巩固提高答案 (120)

综合素质训练 (120)

综合素质训练答案 (121)

第三节 胚胎工程的新进展 (121)

最新课标要求 (121)

相关知识要览 (121)

教材内容全解 (122)

典型例题讲解 (124)

新课标新问题剖析 (126)

本节内容小结 (127)

渗透新课标理念的课题研究

..... (127)

课后巩固提高答案 (128)

综合素质训练 (128)

综合素质训练答案 (129)

本章知识大综合 (130)

知识网络图示 (130)

高考趋势分析 (130)

专题归纳总结 (130)

综合题型讲解 (131)

专题综合检测 (132)

专题综合检测答案 (136)

第二单元 生态工程与生物安全

第一章 生态工程 (139)

本章综合解说 (139)

第一节 生态工程及其原理 (141)

最新课标要求 (141)

相关知识要览 (141)

教材内容全解 (141)

典型例题讲解 (149)

新课标新问题剖析 (150)

本节内容小结 (151)

渗透新课标理念的课题研究

..... (151)

课后巩固提高答案 (152)

综合素质训练 (152)

综合素质训练答案 (156)

第二节 我国的生态工程 (157)

最新课标要求 (157)

相关知识要览 (157)

教材内容全解 (157)

典型例题讲解 (165)

新课标新问题剖析 (166)

本节内容小结	(167)	相关知识要览	(190)
渗透新课标理念的考题研究	(168)	教材内容全解	(190)
课后巩固提高答案	(168)	典型例题讲解	(193)
综合素质训练	(169)	新课标新问题剖析	(193)
综合素质训练答案	(171)	本节内容小结	(194)
本章知识大综合	(172)	渗透新课标理念的考题研究	(194)
知识网络图示	(172)	课后巩固提高答案	(195)
高考趋势分析	(172)	综合素质训练	(195)
专题归纳总结	(173)	综合素质训练答案	(195)
综合题型讲解	(174)	第三节 生物伦理	(196)
专题综合检测	(176)	最新课标要求	(196)
专题综合检测答案	(180)	相关知识要览	(196)
第二章 生物安全与生物伦理	(182)	教材内容全解	(196)
本章综合解说	(182)	典型例题讲解	(202)
第一节 基因工程的风险	(183)	新课标新问题剖析	(203)
最新课标要求	(183)	本节内容小结	(203)
相关知识要览	(183)	渗透新课标理念的考题研究	(203)
教材内容全解	(183)	课后巩固提高答案	(205)
典型例题讲解	(186)	综合素质训练	(205)
新课标新问题剖析	(187)	综合素质训练答案	(207)
本节内容小结	(187)	本章知识大综合	(208)
渗透新课标理念的考题研究	(187)	知识网络图示	(208)
课后巩固提高答案	(188)	高考趋势分析	(208)
综合素质训练	(188)	专题归纳总结	(209)
综合素质训练答案	(189)	综合题型讲解	(210)
第二节 生物武器	(190)	专题综合检测	(212)
最新课标要求	(190)	专题综合检测答案	(215)

教材全解

第一章

基因工程和蛋白质工程

本章综合解说

1. 内容简析

本章包括“基因工程的原理”“基因工程的应用”和“蛋白质工程”三部分内容,重点介绍了基因工程和蛋白质工程的方法、原理及其在工农业生产和生活实际中的应用。这些新技术,可以帮助人们根据不同的需要设计和创造世界上不存在的新基因、新蛋白质和不同用途的产品,所以有非常广阔的应用前景。

2. 学法指导

学习基因工程的相关内容时,注意联系前面学过的DNA分子和基因的结构,以及基因控制蛋白质的转录和翻译过程,充分理解基因工程的原理和方法。学习蛋白质工程时,结合蛋白质的分子组成、结构特点与功能,理解其原理与应用。人们在不同的年代,对生物的遗传变异的认识水平不同,这主要是受当时科学技术水平的影响,以及人们对自然界认识的限制。这充分说明人类认识自然界的道路的漫长与艰难,表明科学家追求真理的不变恒心。

第一节 基因工程的原理

最新课标要求

一、知识与技能目标

本节你要知道基因工程中应用的“工具”及其作用,熟悉基因工程的一般程序,掌握 DNA 的提取方法。

二、过程与方法目标

通过探究基因工程中应用的酶和载体,初步认识基因工程,通过学习 DNA 的提取、目的基因的获得、重组载体的构建、转化和筛选以及目的基因的表达与鉴定,自己归纳出基因工程的过程和方法。

三、情感与价值观目标

积极参与调查了解本地转基因作物的种植情况和基因工程产品的应用情况,体验高科技对人们生活的影响,树立认真学习、攀登科学技术高峰的信心和决心。

相关知识要览

1. 基因工程的诞生。
2. 基因工程的一般程序。

教材内容全解

杂交育种,可以实现同种生物的不同个体间基因重组,将不同个体的优良性状集中到一个个体中。如果将不同生物的 DNA 分子进行“嫁接”,可以实现不同种生物间的基因重组,从而将不同物种的优良性状组合在一起。基因工程可以实现这一梦想。

全解一 基因工程的诞生

自从孟德尔奠定了遗传学的基础以来,遗传学取得了突飞猛进的发展,但是人们只能有目的地选择所需要的突变类型,而不能定向地创造新类型。选择必须在很大的群体中进行,这样就不可避免地要浪费不少人力和物力。所以,定向地创造新类型是人类若干年来梦寐以求的目标。分子遗传学的发展,使人们意识到基因决定性状,如果我们定向地取得基因,并实现定向的转移,就可定向地改造生物。70 年代以来,分子遗传学技术尤其是限制性内切酶的发现以及分子杂交技术的创建为实现上述目的提

供了可能性。按照预先设计好的蓝图,进行施工生产,最后获得新的生产类型,这一全过程就叫做遗传工程。一般认为,遗传工程可分为狭义的和广义的两种。狭义的遗传工程即基因工程(重组 DNA 技术),广义的遗传工程还包括细胞水平上的遗传操作(细胞工程)。那么什么是基因工程,它又是怎样改变生物遗传特性的呢?

基因工程又叫做基因拼接技术或 DNA 重组技术。这种技术是在生物体外,通过对 DNA 分子进行人工“剪切”和“拼接”,对生物的基因进行改造和重新组合,然后导入受体细胞内进行无性繁殖,使重组基因在受体细胞内表达,产生出人类所需要的基因产物。通俗地说,就是按照人们的意愿,把一种生物的个别基因复制出来,加以修饰改造,然后放到另一种生物的细胞里,定向地改造生物的遗传性状。

由于基因工程是在 DNA 分子水平上进行设计施工的,而 DNA 分子的直径只有 2.0 nm,其长度也是极其短小的。如流感嗜血杆菌的 DNA,长度只有 0.83 μm ,即使较大的人肠杆菌,其长度也只有 1.36 μm 。要在如此微小的 DNA 分子上进行剪切和拼接,必须要有专门的工具。

用什么样的工具才能准确无误地对基因进行剪切和拼接呢?以基因工程培育抗虫棉为例:首先需要将抗虫的基因从某种生物(如苏云金杆菌)中提取出来。而苏云金芽孢杆菌的一个 DNA 分子有许多基因,怎样从它的 DNA 分子的长链上辨别出抗虫基因,并且把它切下来。其次是如何将切割下来的抗虫基因与棉的 DNA“缝合”起来。要完成上述精细的工作,普通的工具显然是无法完成的。科学家进行了许多试验,最后他们发现了一种“基因手术刀”和“基因缝纫针”,可以用来完成基因的剪切和拼接。

1. 基因手术刀——限制性内切酶

限制性内切酶简称限制酶,主要存在于微生物中,一种限制酶只能识别一种特定的核苷酸序列,并且能在特定的切点上切割 DNA 分子(图 1-1-1)。例如,从大肠杆菌中发现的一种限制酶只能识别 GAATTC 序列,并在 G 和 A 之间将这段序列切开。目前已经发现了 200 多种限制酶,它们的切点各不相同。苏云金芽孢杆菌中的抗虫基因,就能被某种限制酶切割下来。

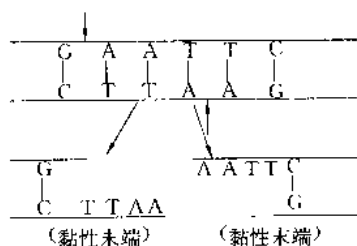


图 1-1-1 限制酶切割 DNA 分子示意图



①在基因工程中经常使用的限制酶能特异性地识别核苷酸序列,即只能在一定的 DNA 序列上进行切割。这种能被特异性识别的切割部位都具有一定的碱基对序列,也就是在切割部位,一条链正向读的碱基序列与另一条链反向读的顺序完全一致,如图 1-1-1 所示 DNA 的碱基顺序。

②用限制酶切割 DNA 分子时被破坏的是 DNA 链中的磷酸二酯键(即连接相邻脱氧核苷酸的键)。

2. 基因缝纫针——DNA 连接酶

从图 1-1-2 中可以看出,被限制酶切开的 DNA 两条单链的切口,带有几个伸出的核苷酸,它们之间正好互补配对,这样的切口叫做黏性末端。可以设想,如

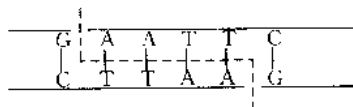


图 1-1-2 DNA 连接酶的连接作用示意图

果把两种来源不同的 DNA 用同一种限制酶来切割,然后让二者的黏性末端黏合起来,就可以合成重组的 DNA 分子了。这就要靠另一种极其重要的工具——DNA 连接酶。



DNA 连接酶的作用是催化在两条 DNA 链之间形成磷酸二酯键,从而将相邻的脱氧核苷酸连接起来。在 DNA 分子复制过程中也用到 DNA 连接酶。

3. 基因的运输工具——载体

要将一个外源基因,如上面所说的杀虫基因,送入受体细胞,如棉细胞,还需要有运输工具,这就是载体。作为载体必须具备以下条件:能够在宿主细胞中复制并稳定地保存;具有多个限制酶切点,以便与外源基因连接;具有某些标记基因,便于进行筛选,如抗生素抗性基因、产物具有颜色反应的基因等。目前,符合上述条件并经常使用的载体有质粒、噬菌体和动植物病毒等。

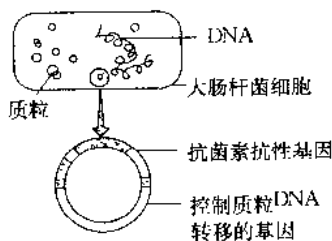


图 1-1-3 大肠杆菌质粒的分子结构示意图

质粒是基因工程最常用的载体,它存在于许多细菌以及酵母菌等生物中,是细胞染色体外能够自主复制的很小的环状 DNA 分子,最常用的质粒是大肠杆菌的质粒(图 1-1-3)。大肠杆菌的质粒中常含有抗药基因,如抗四环素的标记基因。细菌质粒的大小只有普通细菌染色体 DNA 的百分之一左右。质粒能够“友好”地“借居”在宿主细胞中。一般来说,质粒的存在与否对宿主细胞生存没有决定性的作用。但是,质粒的复制则只能在宿主细胞内完成。

【注意】

①一般来说,天然载体往往不能同时具备载体必须具备的条件,所以在基因工程中需要根据不同的目的和需要,对载体进行人工改建。现在所使用的质粒载体几乎都是经过改建的。

②作为载体必须具有多个限制酶切点,而且每种酶的切点最好只有一个。因为某种限制性内切酶只能识别单一切点,若载体上有一个以上的酶切点,则切割重组后可能丢失某些片段,若丢失的片段含复制起点区,则进入受体细胞后便不能自主复制。一个载体若只有某种限制酶的一个切点,则酶切后既能把环打开接纳外源 DNA 片段,又不会丢失自己的片段。

③大肠杆菌、枯草杆菌、土壤农杆菌等细菌中都有质粒。它存在于细菌的细胞质中,上面一般含几个到几百个基因,控制着细菌的抗药性、固氮、抗生素合成等性状。由于土壤农杆菌很容易感染植物细胞,使细胞生有瘤状物。所以科学家培育转基因植物时,常常用土壤农杆菌中的质粒做载体。

实例 1 作为基因的运输工具——载体,必须具备的条件之一及理由是()

- A. 能够在宿主细胞中稳定地保存下来并大量复制,以便提供大量的目的基因
- B. 具有多个限制酶切点,以便于目的基因的表达
- C. 具有某些标记基因,以便为目的基因的表达提供条件
- D. 能够在宿主细胞中复制并稳定保存,以便于进行筛选

讲解:本题考查的是载体必须具备的条件及理由,条件与理由必须相符。作为载体要携带目的基因进入受体细胞并使之表达,必须能够在宿主细胞内稳定地保存并大量复制,以便通过复制提供大量目的基因。同时要具有某些标记基因,是为了通过标记基因是否表达来判断目的基因是否进入了受体细胞,从而进行筛选受体细胞。载体要具有多个限制酶切点,则是为了便于与外源基因连接。综上所述,正确答案应为 A。

答案:A

全解二 基因工程的一般程序

基因工程的操作一般要经过 DNA 分子的提取、目的基因的获得、重组载体的构建、重组载体的转化和筛选、目的基因的表达和鉴定五个步骤。

1. 提取 DNA 分子

由于目的基因在 DNA 分子上,所以要想获得目的基因,首先要将具有目的基因的 DNA 分子提取出来。

2. DNA 的提取和鉴定

实验原理:十二烷基硫酸钠(SDS)能够使蛋白质变性,在研磨液中加入 SDS 可以使蛋白质与 DNA 分离。乙二胺四乙酸二钠(EDTA)为 DNA 酶的抑制剂,可以防止细胞破碎后 DNA 分子被降解。DNA 不溶于酒精溶液,而细胞中的许多物质可以溶

于酒精溶液,利用这一原理,可以进一步提取出含杂质较少的 DNA。DNA 遇二苯胺会染成蓝色,因此,二苯胺可以作为鉴定 DNA 的试剂。

实验目的:了解提取 DNA 的基本原理,初步掌握 DNA 的提取和鉴定方法,观察提取出的 DNA。

实验步骤:

(1)DNA 的粗提取

①材料准备:将新鲜菠菜和质量分数为 95% 的酒精冷冻至少 24 h。配制 1 000 mL 研磨液,其中含有 10.1 g 三羟甲基甲烷(Tris)、8.76 g NaCl、37.2 g EDTA、20 g SDS。

②制 DNA 提取液:将 30 g 冷冻后的菠菜切碎放入研钵,加入 10 mL 研磨液,将研钵放于冰上,迅速研磨成糊状。在漏斗底部垫上尼龙纱布过滤糊状研磨液,将滤液进行 1 000 r/min 离心 10 min。

③析出 DNA:将离心后的上清液中倒入两倍体积的 95% 冷酒精,用玻璃棒缓缓搅拌,直至出现絮状物。



实验中将材料、酒精冷冻和研磨时在冰上操作等过程,与 EDTA 一样,都是为了防止 DNA 的降解

(2)DNA 的鉴定

取 4 mL 提取液加入试管中,再加入 4 mL 二苯胺试剂,沸水浴加热 10 min,试管中的溶液逐渐变为蓝色。

3. 目的基因的获得

基因操作的第二步,是取得人们所需要的特定基因,也就是目的基因。如前面提到的苏云金杆菌中的抗虫基因,还有植物的抗病(抗病毒、抗细菌)基因、种子的贮藏蛋白的基因,以及人的胰岛素基因、干扰素基因等,都是目的基因。

要从浩瀚的“基因海洋”中获得特定的目的基因,犹如大海捞针,是十分不易的。科学家们经过不懈地探索,想出了许多办法,概括地说,主要有两条途径:一条是从供体细胞的 DNA 中直接分离基因;另一条是人工合成基因。

直接分离基因最常用的方法是“鸟枪法”。这种方法类似于鸟枪发射霰弹。具体做法是:用若干个合适的限制酶处理供体细胞的某个 DNA 分子,将它切成若干个 DNA 片段。这些片段的长度相当于或略大于一个基因。然后,将这些不同的 DNA 片段分别与适当的载体结合,形成重组 DNA,再将它导入到相应的营养缺陷型细菌中,让供体细胞所提供的 DNA(外源 DNA)的所有片段分别在受体细胞中大量复制(在遗传学中叫做扩增),从中找出含有目的基因的细胞,再用一定的方法把带有目的基因的 DNA 片段分离出来。例如,当我们要提取维生素 B₁₂ 合成酶基因时,就要采用维生素 B₁₂ 的营养缺陷型细菌(它在不含维生素 B₁₂ 的培养基上不能生长)。把整合了不同 DNA 片段的营养缺陷型细菌分别接种到不含维生素 B₁₂ 的培养基上进行培



养,只有那些整合了含有维生素 B₁ 合成酶基因的 DNA 片段的细菌才能正常生长。最后,把这些细菌中的 DNA 片段分离出来,再进行一系列的操作,就可以获得维生素 B₁ 合成酶基因。

用“鸟枪法”获取目的基因的优点是操作简便,许多抗虫、抗病毒基因都可以用此法获得。所以现在仍然广泛采用。缺点是工作量大,专一性较差,分离出来的有时并非一个基因,具有一定的盲目性。又由于真核细胞的基因含有不表达的片段,不能直接用于基因的扩增和表达,因此,在获取真核细胞的目的基因时,一般用人工合成基因的方法。

目前人工合成基因的方法主要有两条途径:反转录法和根据已知的氨基酸序列合成 DNA。反转录法是在核糖体合成多肽的旺盛时期,首先把含有目的基因的 mRNA 的多聚核糖体提取出来,分离出 mRNA,然后以 mRNA 为模板,用反转录酶合成一个互补的 DNA,即 cDNA 单链,再以此单链为模板合成出互补链,就成为双链 DNA 分子。可以将其过程概括如下:目的基因 $\xrightarrow{\text{转录}}$ mRNA $\xrightarrow{\text{逆转录}}$ 单链 DNA $\xrightarrow{\text{互补合成}}$ 双链 DNA。这种方法专一性强,但是操作过程比较麻烦,特别是 mRNA 很不稳定、生存时间短,所以要求技术条件较高。利用已知的氨基酸序列合成 DNA 是建立在 DNA 序列分析基础上的。根据已知的蛋白质的氨基酸序列,推测出相应的 mRNA 序列,然后按照碱基互补配对原则,推测出它的结构基因的核苷酸序列。当清楚一个基因的核苷酸序列以后,就可以按图纸先合成一个个含少量(10~15 个)核苷酸的 DNA 片段,再利用碱基互补配对关系使它们形成双链片段,然后用连接酶把双链片段逐个按顺序连接起来,使双链逐渐加长,最后得到一个完整的基因。其操作过程可以概括为:由蛋白质中的氨基酸序列 $\xrightarrow{\text{推出}}$ mRNA 中碱基序列 $\xrightarrow{\text{推测出}}$ DNA 碱基序列 $\xrightarrow{\text{化学合成}}$ 目的基因。这种方法专一性最强,现在用计算机自动控制的 DNA 合成仪进行基因合成,使基因合成的效率大大提高,而且这种方法还有一个很大的优点,就是可以人工合成自然界不存在的新基因,使生物产生新的性状以满足人类需求。因此,这一方法今后将随着技术的不断进步而得到越来越广泛的应用。



①利用氨基酸的序列合成 DNA 的方法目前仅限于合成核苷酸相对较少的一些简单基因,而且必须事先清楚它们的核苷酸序列。对于许多复杂的、目前尚不知道核苷酸序列的基因就不能用这种方法合成,只能用“鸟枪法”和“反转录法”以及其他方法分离或合成。

②20 世纪 80 年代以后,随着 DNA 核苷酸序列分析技术的发展,人们已经可以通过 DNA 序列自动测试仪对提取出来的基因进行核苷酸序列分析,并且通过一种扩增 DNA 的新技术(也叫 PCR 技术)使目的基因在短时间内成百万倍的扩增。这些新技术大大简化了基因工程的操作技术。

4. 重组载体的构建

将目的基因与载体结合的过程,实际上是不同来源的 DNA 重新组合的过程。如果以质粒为载体,将目的基因与质粒结合的步骤是:

- (1)用一定的限制酶切割质粒,使其出现一个有黏性末端的切口。
- (2)用同种限制酶切断目的基因,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 DNA 连接酶,使质粒与目的基因结合成重组质粒。

5. 重组载体的转化和筛选

(1)重组载体的转化

目的基因的片段与载体在生物体外连接形成重组 DNA 分子以后,下一步是将重组 DNA 分子引入到受体细胞中进行扩增。将带有目的基因的重组载体与相应的受体细胞放在一起培养,通过一定的方式进行诱导,它们会进入受体细胞,这一过程称为转化。运用载体进行转化是基因工程中广泛应用的转化方法。除此之外,基因工程中常用的转化方法还有以下几种:

- ①显微注射法:利用光学显微镜的放大作用,将目的基因重组体通过显微注射装置直接注入细胞中。
- ②基因枪法:将目的基因包裹在微小金粒或钨粒表面,然后将微粒用基因枪高速射入到受体细胞或组织中。
- ③花粉管通道法:将目的基因与花粉混合,然后通过授粉,目的基因沿着花粉管进入胚囊,将来形成的胚就携带了目的基因。

基因工程中常用的受体细胞是大肠杆菌、枯草杆菌、土壤农杆菌、酵母菌、动植物细胞等。用于基因工程的受体菌都是对人无害的。由于它们繁殖力极强,生长速度极快,短期内就会产生大量的后代,所以把目的基因转入这些细菌,就能在短时间内得到大量的基因拷贝,从而产生大量的产物。

用人工的方法使体外重组的 DNA 分子转移到受体细胞,主要是借鉴细菌或病毒侵染细胞的途径。例如,如果载体是质粒,受体细胞是细菌,一般是将细菌用 CaCl_2 处理,以增大细菌细胞壁的通透性,使含有目的基因的重组质粒进入受体细胞。目的基因进入受体细胞后,就可以随受体细胞的繁殖而进行复制,由于细菌繁殖速度非常快,所以在很短时间内就能够获得大量目的基因。



将重组 DNA 分子导入受体细胞的方式,因所用载体和受体细胞的不同而不同。

(2)筛选

经过转化以后,有的细胞可能导入了重组载体,利用选择培养基(培养基中加入某种物质后只允许一种微生物或细胞生存)就可以把它们筛选出来。如大肠杆菌的一种质粒中含有青霉素抗性基因,当用它作载体时,转化后的受体细胞中就会具有这种青霉素抗性基因。当我们把这些转化后的细胞放在含有青霉素的选择培养基上培养时,不含这种重组质粒的细胞就会死亡,含有这种重组质粒的细胞则分离出来。

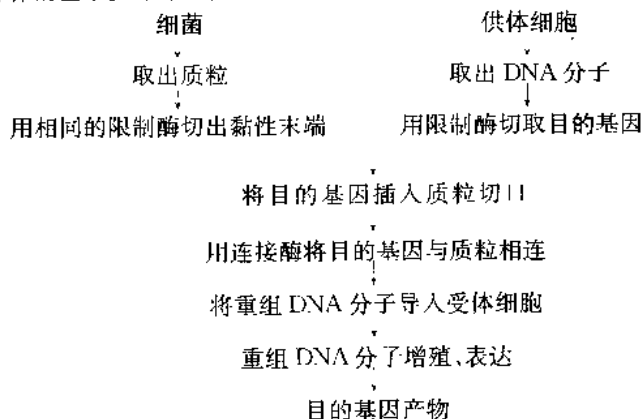
6. 目的基因的表达和鉴定

重组 DNA 分子进入受体细胞以后必须高效表达,产生过量的基因产物——蛋白质,即受体细胞必须表现出特定的性状,才能说明目的基因完成了表达过程。例如,科学家最初做抗虫棉实验时,已经检测出棉的植株中含有抗虫基因,但却无抗虫效果,这说明抗虫基因还不能在高等植物中表达。科学家在研究的基础上对棉植株中的抗虫基因进行了修饰,结果很快出现了抗虫性状,这说明抗虫基因在棉植株中得到了表达。



目的基因在受体细胞中的存在与表达是有区别的。目的基因被受体细胞摄取是表达的前提,但是被摄取并不意味着被表达。由于各种因素的影响,还需要采取一定的措施去促使目的基因的表达。

基因操作的基本步骤可以表示如下:



实例 2 图 1-1-4 是将人的生长激素基因导入细菌 B 细胞内制造“工程菌”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) 人工获得目的基因的途径一般有哪两条?

(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)?

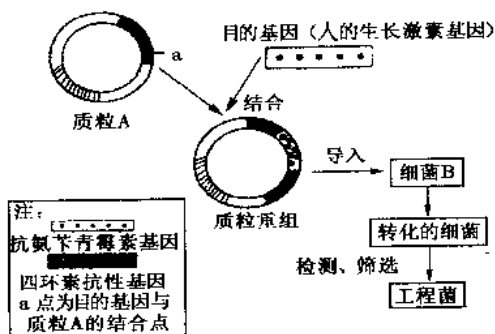


图 1-1-4