

王后雄学案

教材完全学案

选修·专题

高中生物 选修3

现代生物科技专题

丛书主编：王后雄

本册主编：徐启发



王后雄学案

王后雄主编《王后雄学案》

教材完全学案

选修·专题

**高中生物 选修3
现代生物科技专题**

丛书主编：王后雄
本册主编：徐启发
编委：徐一鸣
马功成
刘文才
徐火升
韩秋亮
吴文雄

王玉一
胡林石
江文秀
韩用平
张大年



全国优秀出版社

野史... (节) 新... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...

... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...

... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...

... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...

... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...
... 示... 真... 全...

图书在版编目(CIP)数据

教材完全学案. 高中生物. 3: 选修/王后雄主编.
—2版. —南宁: 接力出版社, 2010 (2010.3重印)
ISBN 978-7-5448-0466-0

I. ①教… II. ①王… 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044936号

丛书策划: 熊 辉
责任编辑: 吴惠娟
责任校对: 李青云
封面设计: 王 亮

JIAOCAI WANQUAN XUE AN
GAOZHONG SHENGWU

教材完全学案

高中生物 选修3 现代生物科技专题

丛书主编: 王后雄 本册主编: 徐启发

*

社 长: 黄 俭 总编辑: 白 冰

接力出版社出版发行

广西南宁市园湖南路9号 邮编: 530022

E-mail: jielipub@public.nn.gx.cn

咸宁市中南科译印务有限责任公司印刷 全国新华书店经销

*

开本: 889毫米×1194毫米 1/16 印张: 10.5 字数: 275千

2010年4月第2版 2010年4月第3次印刷

ISBN 978-7-5448-0466-0

定价: 21.30元

如有印装质量问题,可直接与本社调换。如发现
画面模糊,字迹不清,断笔缺画,严重重影等疑似盗
版图书,请拨打举报电话。

盗版举报电话: 0771-5849336 5849378

读者服务热线: 027-61883306



接力出版社

www.jielipub.com

《教材完全学案》导读图示

完备的学习方案

详尽的问题剖析

深入的学习引导

精辟的课堂讲解

新典的母题迁移

分层的优化测训

让我们一起去揭开《教材完全学案》神奇高效的学习秘密!

课标考纲解读

全真展示每课(节)内容的课标要求及考纲指向,权威锁定学习目标 and 考点能级,伴您在学习中把握方向,在考试中稳操胜券。

状元学习方案

权威名师指点学习方法,点拨解疑点,理清基本思路,制定学习方案,搭建智力平台,助您倍速学习,提升学习成绩。

考点知识清单


全息式呈现学科基本知识点和能力点,菜单式的科学梳理将考点习题化设计,便于您在练习中实现对学科考点的理解和记忆。

要点核心解读

同步、完备的学习方案,总结、提炼知识、规律和方法,系统形成知识结构,凸现解题的答题要点和思路规律。

典例分类剖析

例题新颖、科学,具有母题的特征和功能。以案例剖析方式进行示范,展示解题思路和方法,让您的解题能力和技巧全面提升。



专题 1 基因工程

1:1 基因工程操作的工具

课标考纲解读

1. 简要叙述基因工程诞生所依赖的三大发现及技术上的三大发明。
2. 举例说出基因工程操作的工具,理解 DNA 限制酶、DNA 连接酶、运载体的来源、特点、种类、功能等。

状元学习方案

本讲内容是生命科学最前沿技术,研究的问题深入到分子水平,加之有许多问题正在深入研究之中,不确定因素多,给学习理解带来了很大困难,学习之前应对必修 2 的相关知识进行复习,提前通读教材,充分利用图解及教材资源、媒体条件将知识学活,发展科学思维能力。

教材知识检举

考点知识清单

1. 基因工程的诞生

(1) 20 世纪中叶,基础理论取得了重大突破:一是_____是遗传物质的证明;二是 DNA 双螺旋结构和_____的确定;三是_____的突破。

(1) _____

(2) _____

【解析】本实验可以被认为是在基因工程发展史上的一个里程碑。带有大鼠生长激素基因的质粒被转入小鼠受精卵内并将早期胚胎移入小鼠子宫内发育,分提出了体型巨大的巨型小鼠,此实验说明外源基因导入受精卵中,且在新个体中表达了外源基因的性质。

【答案】(1) 外源基因可以转入动物的受精卵基因组中 (2) 在受精卵发育成的新个体中表现出外源基因所决定的性状

【点拨】解答这类试题可直接从题干中提取信息用于答题。

【目标检测】1. 催生基因工程的三大基础理论为()。

① DNA 是遗传物质的证明 ② 工具酶的发现 ③ DNA 双螺旋结构和中心法则的确立 ④ 重组 DNA 表达实验的成功 ⑤ 遗传密码的破译 ⑥ 第一例转基因动物的问世 ⑦ PCR 技术的发明 ⑧ DNA 测序技术的发明 ⑨ 质粒功能的发现

A. ①②③ B. ④⑤⑥ C. ⑦⑧⑨ D. ①③⑤

要点核心解读

1. 基因工程的诞生

(1) 基因工程的概念

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

典例分类剖析

考点 1 基因工程的诞生和发展

母题链接

生物化学、分子生物学、微生物学等学科的发展及相关技术的发展催生了基因工程,与其有关的学科知识及科学探究均可作为命题的素材和命题的对象。

【例 1】(2010 年浙江杭州)1982 年,美国科学家帕米特(R. Palmiter)等采用显微注射法,将经过重组的带有大鼠生长激素基因的质粒转入小鼠受精卵内,并将早期胚胎植入小鼠体内妊娠,分娩出了带有大鼠生长激素基因的小鼠。该小鼠生长迅速,体型大小是同一胎其他小鼠的 1.8 倍,称为巨型小鼠。此实验的成功表明:

自主评价反馈

考点知识清单

1. DNA 中心法则 遗传密码 质粒 限制酶 连接酶 测序 PCR
2. 生物类型 DNA 重组 转基因 DNA 分子
3. 原核生物 4 000 特定核苷酸 特定部位 磷酸二酯键 中心轴侧侧链 双链 DNA 片段 磷酸二酯键 大肠杆菌 T₄ 噬菌体 黏性末端 外源 DNA 质粒 噬菌体 自我复制 整合到 同步复制 一个至多个 母题迁移

1. D

2. (1)③ 平 T, DNA 连接酶 (2)② ④ 黏性 E·coli DNA 连接酶

3. C 4. C

教辅大师、特级教师王后雄教授科学超前的体例设置，帮您赢在学习起点，成就您人生夙愿。

题记

优化分层测训

精心设计“基础巩固题”“能力提高题”“综合拓展题”三层递进测试，分别适用于巩固、提高、迁移和运用训练，使课堂知识得到延伸与拓展，试题新颖，训练效果显著。

单元知识整合

整理单元知识，构建结构体系，让您对本单元的知识、规律和方法一目了然，强化知识记忆，是在单元测试中取得高分的必经阶梯。

新典考题分析

展示高考真题，探究出题规律。权威的命题分析、精透的解题分析、明晰的错解误区思辨，使您对高考内容及题型了如指掌。

答案与提示

稍有难度的题目皆提供详细的解题步骤和思路点拨，鼓励一题多解。让您不但知其然，且知其所以然。能使您养成良好规范的答题习惯。

优化分层测训

学业水平测试

- 1983年，科学家采用农杆菌转化法，培育出世界上第一例转基因烟草。至此，基因工程()。
 - 正式问世
 - 进入迅速发展阶段
 - 进一步发展和完善
 - 可能发展
- 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
 - 基因工程的目的是为了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

高考能力测试

(测试时间:40分钟 测试满分:100分)

- 一、选择题(10×6分=60分)
- (2007年全国)下列有关基因工程中限制酶的描述，错误的是()。
 - 一种限制性内切酶只能识别一种特定的脱氧核苷酸序列
 - 限制性内切酶的活性受温度影响
 - 限制性内切酶能识别和切割RNA
 - 限制性内切酶可从原核生物中提取

单元知识整合

- 基因工程的操作

基因工程是指在基因水平上，采用与工程设计十分类似的方法，根据人们的意愿，主要是先在体外进行基因切割、基因拼接

和基因重组，再转入生物体内，产生出人们所期望的产物，或创造出具有新的遗传特征的生物类型，并能使之稳定地遗传给后代。

新典考题分析

【例1】科学家通过基因工程方法，将苏云金芽孢杆菌的Bt毒蛋白基因转入普通棉细胞内，并成功实现了表达，从而培育出了能抗棉铃虫的棉花植株——抗虫棉。其过程大致如下图所示：

- 根据题意，回答下列问题：
- 基因工程的操作程序主要包括的四个步骤是_____。
 - Ti质粒是农杆菌中的一种质粒，其上有T-DNA，把目的基因插入Ti质粒的T-DNA中是利用T-DNA_____的特点。

【解析】本题以抗虫棉的培育为背景，考查了运用基因工程技术生产转基因作物的步骤、方法。农杆菌转化法是将目的基因导入植物细胞的常用方法，利用它能在自然条件下感染双子叶植物和裸子植物，以及其Ti质粒上的T-DNA能转移至受体细胞，并且整合到受体细胞染色体DNA上的特点，可以把目的基因插入其Ti质粒的T-DNA中，借助其作用使目的基因成功导入受体细胞。

【答案】(1)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)可转移至受体细胞并且整合到受体细胞染色体DNA上

答案与提示

专题1 基因工程

1.1 基因工程操作的工具

学业水平测试

- 1.B 【解析】选项A，将质粒pSC101与非爪哇糖被糖体蛋白基因重组的DNA转入大肠杆菌DNA中，转录出相应的mRNA，表明基因工程正式问世。PCR技术的发明，使基因工程技术进一步完善。

- 2.D 【解析】基因工程是在分子水平上，对DNA进行设计

和施工，按照人们的意愿定向地改造生物性状，创造出符合人们需要的生物类型或生物产品，基本原理应为基因重组。

3.D 4.A 5.A

高考能力测试

- 1.C 【解析】该题考查了限制性内切酶的功能和酶的特性。限制性内切酶主要存在于微生物中。一种限制性内切酶只能识别一种特定的核苷酸序列，并在特定的切点上切割DNA分子，其作用对象不是RNA分子，故C错。

目 录

CONTENTS

专题1 基因工程	
1.1 基因工程操作的工具	1
1.2 基因工程的基本操作程序	6
1.3 基因工程的应用	14
1.4 蛋白质工程	22
单元知识整合	28
新典考题分析	29
专题2 克隆技术	
2.1 植物的组织培养	30
2.1.1 植物细胞工程的基本技术	30
2.1.2 植物细胞工程的实际应用	36
2.2 动物细胞工程	41
2.2.1 动物细胞培养和核移植技术	41
2.2.2 动物细胞融合与单克隆抗体	47
单元知识整合	53
新典考题分析	54
专题3 胚胎工程	
3.1 体内受精和早期胚胎发育	55
3.2 体外受精和早期胚胎培养	61
3.3 胚胎工程的应用及前景	66
单元知识整合	72
新典考题分析	74
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	75
4.2 关注生物技术的伦理问题	80
4.3 禁止生物武器	85
单元知识整合	88
新典考题分析	90
专题5 生态工程	
5.1 生态工程的基本原理	91
5.2 生态工程的实例和发展前景	96
单元知识整合	101
新典考题分析	102
答案与提示	104



专题1 基因工程

1.1 基因工程操作的工具

课标考纲解读

1. 简要叙述基因工程诞生所依赖的三大发现及技术上的三大发明。
2. 举例说出基因工程操作的工具,理解 DNA 限制酶、DNA 连接酶、运载体的来源、特点、种类、功能等。

状元学习方案

本讲内容是生命科学最前沿技术,研究的问题深入到分子水平,加之有许多问题正在深入研究之中,不确定因素多,给学习理解带来了很大困难,学习之前应对必修2的相关知识进行复习,提前通读教材,充分利用图解及教材资源、媒体条件将知识学活,发展科学思维能力。

教材知识检索

考点知识清单

1. 基因工程的诞生
 - (1) 20世纪中叶,基础理论取得了重大突破:一是_____是遗传物质的证明;二是 DNA 双螺旋结构和_____的确定;三是_____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——_____的发现;多种_____和_____,以及逆转录酶的发现;DNA 合成和_____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、_____技术的发明。
2. 基因工程的概念
 - (1) 目的:按照人们的愿望,进行严格设计,创造出更符合人们需要的新的_____和生物产品。
 - (2) 手段:通过体外_____和_____等技术,赋予生物以新的遗传特性。
 - (3) 设计和施工水平:_____水平,故基因工程又叫 DNA 重组技术。
3. 基因操作的基本工具
 - (1) 限制性核酸内切酶——“分子手术刀”

来源:主要来自于_____。

种类:约_____种。

特点:①识别双链 DNA 分子的某种_____序列。

②切割每一条链中_____的两核苷酸之间的_____。

结果:①黏性末端:在识别序列的_____将 DNA 的两条链切开时产生。

②平末端:在识别序列的中心轴线处切开时产生。
 - (2) DNA 连接酶——“分子缝合针”

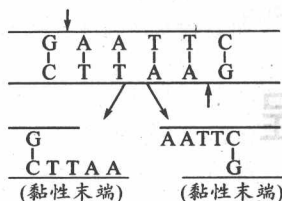
作用:将_____缝合起来,恢复被限制酶切开的两个核苷酸之间的_____。

- 种类:① *E. coli* DNA 连接酶。
- 来源:_____。
- 特点:只能连接双链 DNA 片段互补的黏性末端。
- ② T_4 DNA 连接酶。
- 来源:_____。
- 特点:既可“缝合”双链 DNA 片段互补的_____,又可“缝合”双链 DNA 片段的平末端。
- (3) 基因进入受体细胞的载体——“分子运输车”
- 作用:携带_____片段进入受体细胞。
- 种类:_____、_____的衍生物、动植物病毒等。
- 特点:①能够在受体细胞中进行_____或_____染色体 DNA 上,随染色体 DNA 进行_____。
- ②有_____限制酶切割位点,供外源基因插入。
- ③具有特殊的标记基因,供重组 DNA 的鉴定和选择。

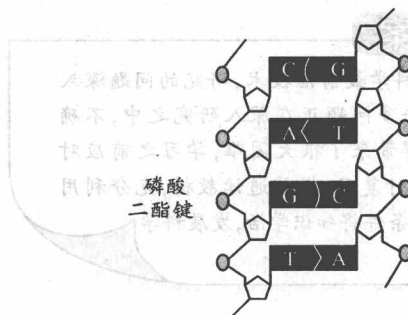
要点核心解读

1. 基因工程的诞生
 - (1) 基因工程的概念

基因工程按照人们的愿望,进行严格的设计,通过体外 DNA 重组和转基因技术,赋予生物新的遗传特性,创造出更符合人们需要的新的生物类型和生物产品。基因工程是在 DNA 分子水平上进行设计和施工的,又叫做 DNA 重组技术。
 - (2) 基因工程诞生的理论基础与技术支持
 - ① 理论基础:DNA 是遗传物质;DNA 双螺旋结构和中心法则的确立;遗传密码的破译。
 - ② 技术支持:基因转移载体的发现;工具酶的发明;DNA 体外重组的实现;重组 DNA 表达实验的成功。
2. 限制性核酸内切酶
 - (1) 特点:具专一性,表现在两个方面:
 - ① 识别双链 DNA 中特定的核苷酸序列。
 - ② 切割特定序列中的特定位置,特定序列表现为中心对称,如 *EcoRI* 酶的切割序列(如下图)。

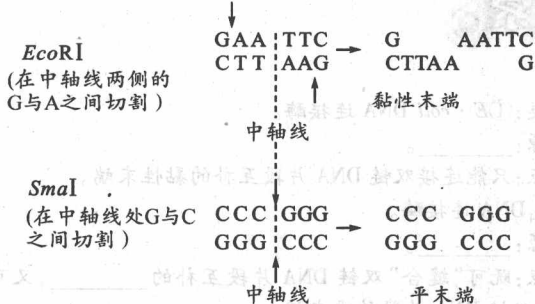


(2)作用部位:限制酶切割 DNA 分子时被断开的是 DNA 链中的磷酸二酯键(连接相邻脱氧核苷酸的键),而不是碱基间的氢键,如下图所示:



双链DNA结构和磷酸二酯键位置

(3)结果:切割形成的 DNA 片段产生两种末端,如下图所示:



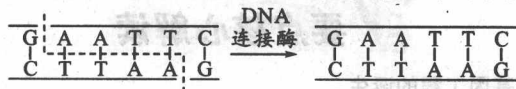
3. DNA 连接酶

(1)种类:根据 DNA 连接酶的来源不同,可分为两类:

①E·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。

②T₄ DNA 连接酶:来源于 T₄ 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。如下图所示:



4. 基因进入受体细胞的载体

(1)作用:①作为运输工具,将目的基因导入受体细胞中去。

②利用它在受体细胞内对目的基因进行大量复制。

(2)载体必须具备的三个条件:

- ①能在受体细胞内稳定保存并大量复制。
- ②有一个至多个限制酶切点,以便与外源基因连接。
- ③具有某些标记基因,以便进行筛选。

(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(一般有 1kb~200kb, kb 为千碱基对),有的细菌只有一个,有的细菌有多个。

②λ 噬菌体的衍生物。

③动植物病毒。

④一般来说,天然载体往往不能满足人类的所有要求,因此人们根据不同的目的和需要,对某些天然的载体进行人工改造。

典例分类剖析

考点 1 基因工程的诞生和发展

命题规律

生物化学、分子生物学、微生物学等学科的发展及相关技术的发展催生了基因工程,与其有关的学科知识及科学探究均可作为命题的素材和考查的对象。

[例 1] (2010 年浙江杭州)1982 年,美国科学家帕米特(R. Palmiter)等采用显微注射法,将经过重组的带有大鼠生长激素基因的质粒转入小鼠受精卵内,并将早期胚胎植入小鼠体内妊娠,分娩出了带有大鼠生长激素基因的小鼠。该小鼠生长迅速,体型大小是同一胎其他小鼠的 1.8 倍,称为巨型小鼠。此实验的成功表明:

- (1) _____;
 (2) _____。

[解析] 本实验可以被认为是基因工程发展史上的一个里程碑。带有大鼠生长激素基因的质粒被转入小鼠受精卵内,并将早期胚胎移入小鼠子宫内发育,分娩出了体型巨大的巨型小鼠,此实验说明外源基因导入受精卵中,且在新个体中表达了外源基因的性质。

[答案] (1)外源基因可以转入动物的受精卵基因组中

(2)在受精卵发育成的新个体中表现出外源基因所决定的性状

[点拨] 解答这类试题可直接从题干中获取信息用于答题。

母题迁移

1. 催生基因工程的三大基础理论为()。

①DNA 是遗传物质的证明 ②工具酶的发现 ③DNA 双螺旋结构和中心法则的确立 ④重组 DNA 表达实验的成功 ⑤遗传密码的破译 ⑥第一例转基因动物的问世 ⑦PCR 技术的发明 ⑧DNA 测序技术的发明 ⑨质粒功能的发现

A. ①②③

B. ④⑤⑥

C. ⑦⑧⑨

D. ①③⑤

考点 2 限制性核酸内切酶

命题规律

(1)限制性核酸内切酶的作用特点及结果是常考考点;

(2)将限制性核酸内切酶放在基因操作的程序中进行考查。

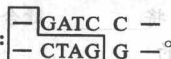
[例 2] (2010 年山东烟台)限制性核酸内切酶 I 的识别序列和切点是—G[↓]GATCC—,限制性核酸内切酶 II 的识别序列和切点是—[↓]GATC—。在质粒上有酶 I 的一个切点,在目的基因的两侧各有 1 个酶 II 的切点。

(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。

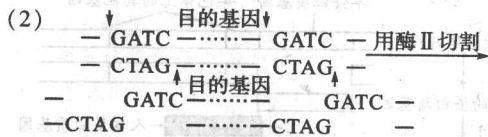
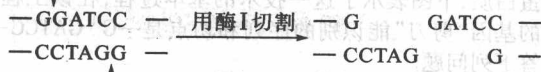
(3)在 DNA 连接酶的作用下,上述两种不同限制酶切割后形成的黏性末端能否连接起来?为什么?若能,写出连接后形成的碱基序列。

[解析] 一般来说每一种限制性核酸内切酶只能识别一种特定的核苷酸序列,并在特定的切割位点切割 DNA。酶 I 切割后形成的黏性末端是 —G 和 GATCC—,酶 II 切割后形成的黏性末端是 —CTAG 和 —,所以两酶切割后形成的黏性末端是可以互补的,因此 DNA 连接酶可以将两种酶切割后形成的黏性末端连接起来,连接后的序列为:





[答案] (1)



(3)能;因为上述两种不同限制酶切割后形成的黏性末端是相同的碱基序列: $\begin{array}{l} \text{—GATC—} \text{C—} \\ \text{—CTAG—} \text{G—} \end{array}$

母题迁移 2. 以下是两种限制酶切割后形成的 DNA 片段, 分析回答问题。

- ① GC... ② AATTC... ③ ...GC ④ ...CTAA
CG... G... ...CG ...G

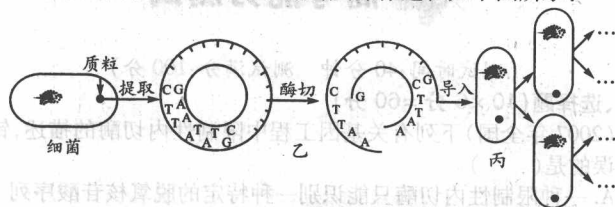
(1)其中①和②是由一种限制酶切割形成的黏性末端, 两者要重组成一个 DNA 分子, 所用 DNA 连接酶通常是 DNA 连接酶。
(2)③和④是由另一种限制酶切割形成的黏性末端, 两者要重组成一个 DNA 分子, 所用 DNA 连接酶通常是 DNA 连接酶。

考点 3 DNA 连接酶

命题规律

- (1)考查 DNA 连接酶的作用特点、类型等;
- (2)结合限制性内切酶和 DNA 连接酶综合考查。

[例 3] 治疗糖尿病用的胰岛素, 在过去主要是从动物(如猪、牛)体获得的。自 20 世纪 70 年代基因工程发展起来以后, 人们开始采用高新技术生产胰岛素, 其操作过程如下图所示:



- (1)图中的质粒存在于细菌细胞中, 从其分子结构看, 可确定它是一种环状 DNA 分子。
- (2)限制酶的作用部位是 DNA 的磷酸二酯键, DNA 连接酶的连接部位是 DNA 的磷酸二酯键。
- (3)在 DNA 连接酶的作用下, 甲与乙能否连接起来, 并说明理由。
- (4)目的基因通过表达后, 能使细菌产生胰岛素, 这是因为该基因具有控制蛋白质合成的功能。

[解析] (1)质粒的化学本质是环状 DNA 分子, 其基本组成单位是脱氧核苷酸。

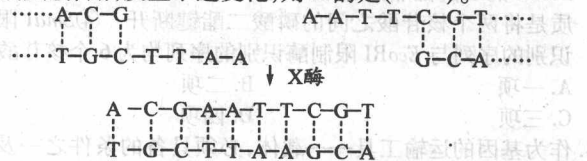
(2)限制酶和 DNA 连接酶是基因工程中的两种工具酶, 前者断裂的是磷酸二酯键, 后者连接的也是磷酸二酯键。

(3)质粒被限制酶切割后的黏性末端乙是 $\begin{array}{l} \text{—G} \\ \text{—CTTAA} \end{array}$, 而目的基因被限制酶切割后产生的黏性末端甲是 $\begin{array}{l} \text{AATTC—} \\ \text{G—} \end{array}$, 故甲、乙黏性末端相同, 可通过 DNA 连接酶连接。

(4)目的基因是胰岛素合成基因, 故导入细菌后会表达出胰岛素。

[答案] (1)DNA (2)磷酸二酯键 磷酸二酯键 (3)能;二者具有相同的黏性末端。 (4)胰岛素

母题迁移 3. 如下图, 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. DNA 连接酶
- B. RNA 聚合酶
- C. DNA 聚合酶
- D. 限制酶

考点 4 分子运输车——运载体

命题规律

- (1)考查质粒等作为运载体具有的必备条件;
- (2)结合基因操作的程序进行综合考查。

[例 4] 质粒被用作载体的理由不包括()。
A. 能复制 B. 具有标记基因
C. 具有多个限制酶切点 D. 是环状 DNA

[试解] D。(做后再看答案, 发挥母题功能)

[解析] 作为基因工程的载体, 需满足以下条件: (1)有多个酶切位点; (2)在宿主细胞中能保存并能大量复制; (3)有一定的标记基因, 便于进行筛选。

[答案] D

母题迁移 4. 下列哪项不是基因工程中经常使用的运载目的基因的载体? ()

- A. 细菌质粒
- B. 噬菌体
- C. 细菌核区中的 DNA
- D. 动植物病毒

自主评价反馈

考点知识清单

- 1. DNA 中心法则 遗传密码 质粒 限制酶 连接酶 测序 PCR
- 2. 生物类型 DNA 重组 转基因 DNA 分子
- 3. 原核生物 4 000 特定核苷酸 特定部位 磷酸二酯键 中心轴线两侧 双链 DNA 片段 磷酸二酯键 大肠杆菌 T₄ 噬菌体 黏性末端 外源 DNA 质粒 噬菌体 自我复制 整合到 同步复制 一个至多个

母题迁移

- 1. D
- 2. (1)③ 平 T₄ DNA 连接酶 (2)② ④ 黏性 E·coli DNA 连接酶
- 3. C 4. C

优化分层测试

学业水平测试

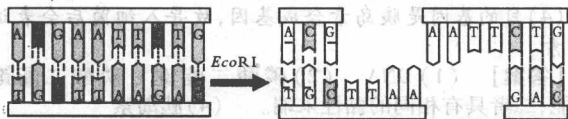
1. 1983 年, 科学家采用农杆菌转化法, 培育出世界上第一例转基因烟草。至此, 基因工程()。

- A. 正式问世
- B. 进入迅速发展阶段
- C. 进一步发展和完善
- D. 可能发展

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. 基因工程的目的是为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. 基因工程育种的基本原理是基因重组
3. 下列为 *EcoRI* 限制酶的切割位置示意图, 相关叙述正确的有 ()。



- ①限制酶 *EcoRI* 能识别 GAATTC 序列的位点 ②限制酶 *EcoRI* 的切割位点为 G 和 A 之间 ③限制酶 *EcoRI* 的作用本质是将两个核苷酸之间的磷酸二酯键断开 ④ *SmaI* 限制酶识别的序列与 *EcoRI* 限制酶识别的序列均为 6 个核苷酸
- A. 一项 B. 二项
 C. 三项 D. 四项

4. 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. 能够在受体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. 具有多个限制酶切割位点, 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. 能够在受体细胞中复制并稳定保存, 以便于进行筛选

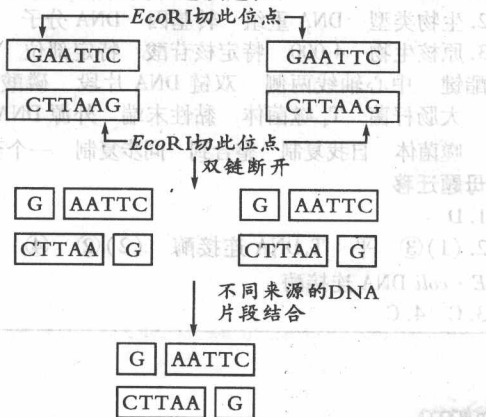
5. 下列关于 DNA 连接酶的叙述正确的是 ()。
- ①催化相同黏性末端的 DNA 片段之间的连接 ②催化不同黏性末端的 DNA 片段之间的连接 ③催化两个黏性末端互补碱基间氢键的形成 ④催化 DNA 分子两条链的脱氧核糖与磷酸二酯键的形成
- A. ①③ B. ②④ C. ②③ D. ①④

6. 要使目的基因与对应的运载体重组, 所需的两种酶是 ()。
- ①限制酶 ②连接酶 ③解旋酶 ④还原酶
- A. ①② B. ③④ C. ①④ D. ②③

7. 质粒是基因工程中常用的运载体, 它的主要特点是 ()。
- ①能自主复制 ②不能自主复制 ③结构很小 ④蛋白质 ⑤环状 RNA ⑥环状 DNA ⑦能“友好”地“借居”
- A. ①③⑤⑦ B. ①③⑥⑦
 C. ②④⑥ D. ②④⑥⑦

8. 下列不属于基因工程常用载体的是 ()。
- A. 核 DNA B. 动物病毒
 C. λ 噬菌体的衍生物 D. 植物病毒

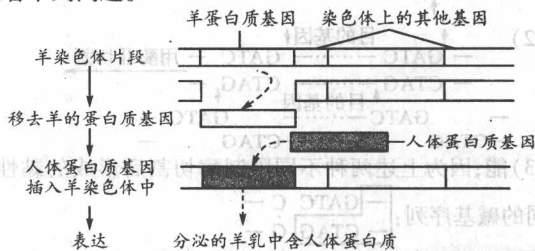
9. 下图为 DNA 分子的切割和连接过程:



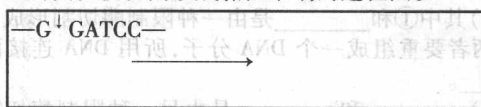
- (1) *EcoRI* 是一种 _____ 酶, 其识别序列是 _____, 切割位点是 _____ 与 _____ 之间的 _____ 键。切割结果产生的 DNA 片段末端形式为 _____。
- (2) 不同来源的 DNA 片段结合, 在这里需要的酶应是 _____ 连接酶, 此酶的作用是在 _____ 与 _____ 之间形成 _____ 键, 而起“缝合”作用。还有一种连接平末端的连接酶是 _____。

10. (2010 年广东惠州) 通过 DNA 重组技术使原有基因得以改

造的动物称为转基因动物。运用这一技术使羊奶中含有人体蛋白质, 下图表示了这一技术的基本过程, 在该工程中所用的基因“剪刀”能识别的序列和切点是—G⁺GATCC—, 请回答下列问题。



- (1) 从羊染色体中“剪下”羊蛋白质基因的酶是 _____。人体蛋白质基因“插入”后连接在羊体细胞染色体中需要的酶是 _____。
- (2) 请画出质粒被切割形成黏性末端的过程图。



- (3) 人体蛋白质基因之所以能“插入”羊的染色体内, 原因是 _____。

11. 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?

高考能力测试

(测试时间: 40 分钟 测试满分: 100 分)

- 一、选择题 (10 × 6 分 = 60 分)
1. (2007 年全国) 下列有关基因工程中限制性内切酶的描述, 错误的是 ()。
- A. 一种限制性内切酶只能识别一种特定的脱氧核苷酸序列
 B. 限制性内切酶的活性受温度影响
 C. 限制性内切酶能识别和切割 RNA
 D. 限制性内切酶可从原核生物中提取
2. 以下关于基因工程的操作工具的说法正确的是 ()。
- A. 所有的限制酶只能识别一种特定的核苷酸序列
 B. 质粒是基因工程中唯一的运载体
 C. 运载体必须具备的条件之一是: 具有多个限制酶切点, 以便与外源基因连接
 D. DNA 连接酶使黏性末端的碱基之间形成氢键
3. 下列黏性末端属于同一种限制酶切割而成的是 ()。
- ① — T — C — G —
 | | |
 — A — G — C — T — T — A — A —
- ② — C — A —
 | | |
 — G — T — T — C — C — A —
- ③ — A — A — T — T — C —
 | | |
 — G —
- ④ — A — G — C — T — T — C —
 | | |
 — A — G —
- A. ①② B. ①③ C. ①④ D. ②③
4. (2009 年浙江) 下列关于基因工程的叙述, 错误的是 ()。
- A. 目的基因和受体细胞均可来自动、植物或微生物
 B. 限制性核酸内切酶和 DNA 连接酶是两类常用的工具酶



- C. 人胰岛素原基因在大肠杆菌中表达的胰岛素原无生物活性
 D. 载体上的抗性基因有利于筛选含重组 DNA 的细胞和促进目的基因的表达
5. (2006 年四川) 用基因工程技术可使大肠杆菌合成人体蛋白质。下列叙述不正确的是()。
- A. 常用相同的限制性内切酶处理目的基因和质粒
 B. DNA 连接酶和 RNA 聚合酶是构建重组质粒必需的工具酶
 C. 可用含抗生素的培养基检测大肠杆菌中是否导入了重组质粒
 D. 导入大肠杆菌的目的基因不一定能成功表达
6. 下列关于基因工程的叙述, 正确的是()。
- A. 基因工程经常以抗菌素抗性基因为目的基因
 B. 细菌质粒是基因工程常用的运载体
 C. 通常用一种限制性内切酶处理含目的基因的 DNA, 用另一种处理运载体 DNA
 D. 为育成抗除草剂的作物新品种, 导入抗除草剂的基因时只能以受精卵为受体
7. 下列有关基因工程中载体的说法正确的是()。
- A. 在进行基因工程操作中, 被用作载体的质粒都是天然质粒
 B. 所有的质粒都可以作为基因工程中的载体
 C. 质粒是一种独立于细菌染色体外的链状 DNA 分子
 D. 质粒 DNA 分子上应有对重组 DNA 进行鉴定和选择的标记基因

8. (2010 年武汉) 质粒是基因工程中最常用的载体, 它存在于许多细菌体内, 某细菌质粒上的标记基因如右图所示, 通过标记基因可以推知外源基因(目的基因)是否转移成功。外源基因插入的位置不同, 细菌在培养基上的生长情况也不同, 如图所示外源基因在质粒中可插入的位置有 a、b、c 点。某同学根据实验现象对其插入的位点进行分析, 其中分析正确的是()。

抗青霉素基因
 抗四环素基因

	实验现象		实验推论
	在含青霉素培养基上生长情况	在含四环素培养基上生长情况	
A	能生长	能生长	a
B	不能生长	能生长	b
C	能生长	不能生长	c
D	不能生长	不能生长	c

9. 实施基因工程第一步的一种方法是把所需的基因从供体细胞内分离出来, 这要利用限制酶。一种限制酶能识别 DNA 中的 GAATTC 顺序, 切点在 G 和 A 之间, 这是应用了酶的()。
- A. 高效性
 B. 专一性
 C. 多样性
 D. 催化活性受外界条件影响
10. (2010 年云南) 下表关于基因工程中有关基因操作的名词及对应的内容, 正确的组合是()。

	供体	剪刀	针线	载体	受体
A	质粒	限制性核酸内切酶	DNA 连接酶	提供目的基因的生物	大肠杆菌等
B	提供目的基因的生物	DNA 连接酶	限制性核酸内切酶	质粒	大肠杆菌等

续表

	供体	剪刀	针线	载体	受体
C	提供目的基因的生物	限制性核酸内切酶	DNA 连接酶	质粒	大肠杆菌等
D	大肠杆菌等	DNA 连接酶	限制性核酸内切酶	提供目的基因的生物	质粒

二、非选择题(共 40 分)

11. (10 分) 下图为一种限制酶切割 DNA 分子示意图。

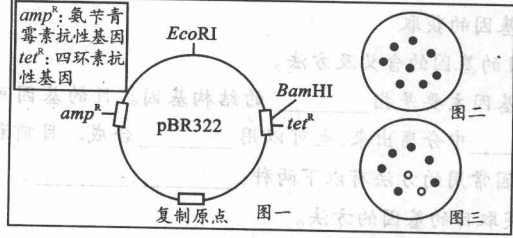
(1) 这种限制酶切点是在 _____ 之间, 形成 _____ 个黏性末端, 其特点是 _____。

(2) 此限制酶识别特点是 _____。

(3) 如果 G 碱基发生基因突变, 可能发生的情况是 _____。

12. (10 分) 科学家通过基因工程, 需要从苏云金芽孢杆菌中提取抗虫基因, 放入棉花细胞中发挥作用, 回答有关问题:
- (1) 从苏云金芽孢杆菌中切割抗虫基因所用的工具是 _____。此工具主要存在于 _____ 中, 其特点是 _____。
- (2) 导入棉花细胞需要运输工具具有的特点是 _____、_____、_____。一般所采用的载体是 _____, 除了它还有 _____、_____。
- (3) 抗虫基因导入棉花细胞之前需进行 _____。

13. (20 分) (2010 年南京) 目前基因工程所用的质粒载体主要是以天然细菌质粒的各种元件为基础重新构建的人工质粒, pBR322 质粒是较早构建的质粒载体, 其主要结构如图一所示。



- (1) 构建人工质粒时要有抗性基因, 以便于 _____。
- (2) pBR322 分子中有单个 EcoRI 作用位点, EcoRI 只能识别序列—GAATTC—, 并只能在 G 与 A 之间切割。若在某目的基因的两侧各有 1 个 EcoRI 的切点, 请画出目的基因两侧被 EcoRI 切割后所形成的黏性末端。
- (3) pBR322 分子中另有单个的 BamHI 作用位点, 现将经 BamHI 处理后的质粒与用另一种限制酶 Bgl II 处理得到的目的基因, 通过 DNA 连接酶作用恢复 _____ 键, 成功获得了重组质粒, 说明 _____。
- (4) 为了检测上述重组质粒是否导入原本无 amp^R 和 tet^R 的大肠杆菌, 将大肠杆菌在含氨苄青霉素的培养基上培养, 得到如图二的菌落。再将灭菌绒布按到培养基上, 使绒布面沾上菌落, 然后将绒布按到含四环素的培养基上培养, 得到如图三的结果(空圈表示与图二对照无菌落的位置)。与图三空圈相对应的图二中的菌落表现型是 _____。图三结果显示, 多数大肠杆菌导入的是 _____。



1.2 基因工程的基本操作程序

课标考纲解读

1. 理解获取目的基因的方法:从基因文库中获取目的基因、利用 PCR 技术扩增目的基因、人工合成目的基因。
2. 理解基因表达载体的构建原理。
3. 理解将目的基因导入受体细胞的方法;明确受体细胞不同导入的方法不同。
4. 理解目的基因的检测与鉴定可以采用不同的方法。

状元学习方案

基因工程的基本操作程序是现代生物科学最重要的核心知识,涉及大量的现代科学技术的运用问题。学习时要围绕目的基因的获取、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四个程序,思考各种技术手段在不同操作程序中的作用,借助教材课程资源进行全面深入的认知,利用学案的帮助系统发展生物学科素养。

教材知识检索

考点知识清单

1. 基因工程的基本操作程序

- (1) 目的基因的获取。
- (2) 基因表达载体的构建。
- (3) 将目的基因导入受体细胞。
- (4) 目的基因的检测与鉴定。

2. 目的基因的获取

(1) 目的基因的含义及方法。

目的基因主要是指 的结构基因。目的基因可以从 中分离出来,也可以用 合成。目前获取目的基因常用的方法有以下两种: 、 。

(2) 获取目的基因的方法。

①从基因文库获取目的基因:

基因文库的含义:基因文库是指将含有某种生物不同 , 导入受体菌的群体中储存,各个受体菌分别含有这种生物的不同 ,称为 。

种类:有一些基因文库很大,包含了一种生物所有的基因,叫做 。也有一些基因文库比较小,只包含了一种生物的一部分基因,这种基因文库叫做 ,如 。

②利用 PCR 技术扩增目的基因:

PCR 的含义:是一项在生物体外 的核酸合成技术。

前提条件:有一段已知目的基因的 序列,以便根据这一序列合成 。

过程:目的基因受热形成 ,与 结合,在 的作用下延伸形成 DNA,如此重复循环多次。

方式:指数扩增,约为 2^n (n 代表扩增循环的次数)。

③人工合成法:若 较小, 已知,可以人工合成。

3. 基因表达载体的构建

(1) 功能:基因工程的核心是 。其目的是使 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 。

(2) 表达载体的组成:一个基因表达载体的组成,除了目的基因外,还必须有 、 、 等。

(3) 启动子、终止子、标记基因。

启动子:位于基因的 ,它是 识别和结合的部位,驱动转录产生 。

终止子:位于基因的 ,终止 。

标记基因作用: 受体细胞中是否含有 ,从而将含有目的基因的细胞筛选出来。

4. 将目的基因导入受体细胞

(1) 转化: 进入受体细胞,并在受体细胞内 和 的过程。

(2) 将目的基因导入植物细胞。

方法: 、 、 。

农杆菌特点:易感染 植物和裸子植物,对多数 植物没有感染力;Ti 质粒上的 可转移至受体细胞,并整合到受体细胞染色体的 上。

(3) 将目的基因导入动物细胞。

常用方法: 注射技术。

常用受体细胞: 。

基本的操作程序是:先将含 的表达载体提纯;再从动物体内取出卵(可以体内受精,也可以体外受精),采用显微

注射仪进行_____；再将含目的基因的受精卵移植到雌性动物的_____或_____内，使其发育成为具有新性状的动物。

(4) 将目的基因导入微生物细胞。

原核生物特点：_____、多为_____、遗传物质少。

对受体细胞的常用处理方法：先用_____处理，使细胞处于吸收 DNA 分子的状态(这种细胞称为_____)。再让其吸收 DNA，完成转化过程。

(5) 分子水平检测及方法。

①检测转基因生物的染色体 DNA 上的_____，使用 DNA 分子杂交技术。

②检测目的基因是否转录出_____，使用分子杂交技术。

③检测目的基因是否翻译成_____，使用抗原—抗体杂交技术。

(6) 个体水平鉴定：除了上述的_____外，还需要进行_____水平的鉴定，如抗虫、抗病鉴定等。

要点核心解读

1. 目的基因的获取

(1) 目的基因：编码蛋白质的结构基因。

(2) 目的基因的获取方法：①从供体细胞直接获取；②从基因文库中获取；③利用 mRNA 反转录形成；④利用 PCR 扩增技术；⑤人工合成。

(3) 基因文库、基因组文库、cDNA 文库概念及作用：基因文库含有一种生物的全部基因，而 cDNA 文库指含有一种生物的部分基因，二者都是基因文库；有了基因文库，就可随时从中提取所需要的目的基因，引入受体细胞使之表达。

(4) 比较几种目的基因的获取方法

方法	基因文库的构建		PCR 技术 扩增	人工合成
	基因组文库	部分基因文库 如 cDNA 文库		
过程	供体细胞 中的 DNA ↓ 限制酶 许多 DNA 片段 ↓ 插入 载体 ↓ 导入 受体菌群 (基因组文库) ↓ 外源 DNA 扩增，产生 特定性状 ↓ 分离 目的基因	目的基因 mRNA ↓ 逆转录 单链 DNA ↓ 合成 双链 DNA ↓ 插入 载体 ↓ 导入 受体菌群 (cDNA 文库) ↓ 分离 目的基因	目的基 因 DNA ↓ 高温 解链 单链 DNA ↓ 与引物 结合、 DNA 聚合酶 大量目的 基因	蛋白质的氨 基酸序列 ↓ 推测 mRNA 的核苷 酸序列 ↓ 推测 结构基因的 核苷酸序列 ↓ 化学 合成 目的基因

续表

方法	基因文库的构建		PCR 技术 扩增	人工合成
	基因组文库	部分基因文库 如 cDNA 文库		
优点	专一性强		可在短时间 内大量扩增 目的基因	专一性强，可产 生自然界中不 存在的新基因
缺点	工作量大，盲 目性大，专一 性差	操作过程较 麻烦，技术要 求过高		适用范围狭小

(5) PCR 与生物体内 DNA 复制的比较

	生物体内 DNA 复制	PCR
解旋	在解旋酶作用下，细胞提供能量，DNA 双链部分解旋	加热至 90℃ ~ 95℃ 时。双链全部解开，不需解旋酶
引物	一小段 RNA	可以是 RNA 或单链 DNA 分子片段
合成子链	在引物基础上，一条链连续合成，另一条链不连续合成	分别从两条链的引物端开始，都是连续合成，控制温度在 72℃ 左右
特点	边解旋边复制，半保留复制	体外迅速扩增
Taq DNA 聚合酶	不需要	需要
循环次数	受生物体自身控制	30 多次
相同点	生物体内的 DNA 复制和 PCR 中都需要模板、四种脱氧核苷酸，且都需要在一定的缓冲溶液中进行	

2. 基因表达载体的构建

(1) 目的：使目的基因在受体细胞中稳定存在，并可以遗传给下一代，使目的基因能够表达和发挥作用。

(2) 基因表达载体的组成：目的基因 + 启动子 + 终止子 + 标记基因。



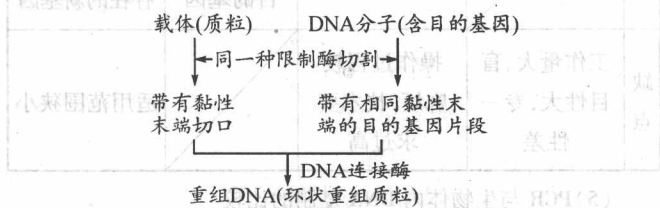
基因表达载体模式图

①启动子:一段有特殊结构的 DNA 片段,位于基因的首端。它是 RNA 聚合酶识别结合的部分。

②终止子:一段有特殊结构的 DNA 短片段,位于基因的尾端,作用是使转录过程停止。

③标记基因:一般为抗生素抗性基因或荧光基因等,其作用是鉴别受体细胞中是否含有目的基因(目的基因是否导入成功)。

(3) 基因表达载体的构建方法:



3. 将目的基因导入受体细胞

(1) 不同受体的导入方法

转化的实质是目的基因整合到受体细胞染色体基因组中。

受体细胞种类	方法
植物细胞	①农杆菌转化法:目的基因插入 Ti 质粒的 T-DNA → 农杆菌 → 导入植物细胞 → 稳定维持和表达 ②基因枪法 ③花粉管通道法
动物细胞	显微注射法:目的表达载体提纯 → 取卵(受精卵) → 显微注射 → 受精卵发育 → 新性状动物
微生物细胞	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

(2) 受体生物不同,所用的受体细胞种类也不相同。

①植物:可以是卵细胞(受精卵)、体细胞(可经组织培养成为完整个体)。

②动物:受精卵(因为体细胞的全能性受到严格限制)。

(3) 转化的过程(以细菌作为受体细胞为例)

受体细胞:细菌

↓氯化钙

细胞壁的通透性增大

↓
重组质粒进入受体细胞

↓
目的基因随受体细胞的繁殖而复制

4. 目的基因的检测与鉴定

(1) 分子水平上进行检测的方法

①转基因生物染色体的 DNA 上是否插入了目的基因,这是目的基因能否在真核生物中稳定遗传的关键。检测方法是采用 DNA 分子杂交技术。

②目的基因是否转录出了 mRNA,这是检测目的基因是否

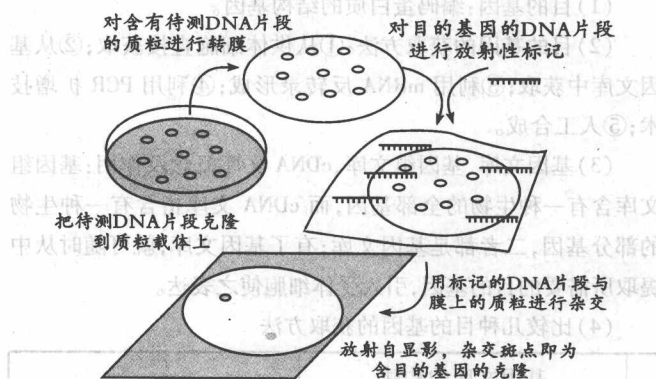
发挥功能作用的第一步。检测方法同样是采用分子杂交技术。

③检测目的基因是否翻译成蛋白质,检测的方法是从转基因生物中提取蛋白质,用相应的抗体进行抗原—抗体杂交,若有杂交带出现,表示目的基因已形成蛋白质产品。

(2) 目的基因检测与鉴定的方法比较

类型	步骤	检测内容	方法	结果显示
分子检测	第一步	目的基因是否进入受体细胞	DNA 分子杂交技术 (DNA 和 DNA 之间)	是否成功显示出杂交带
	第二步	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	包括做抗虫、抗病的接种实验,以确定是否有抗性以及抗性的程度;基因工程产品与天然产品的功能进行活性比较,以确定功能活性是否相同			

(3) 分子杂交检测示意图



分子杂交检测示意图

把目的基因片段进行放射性同位素标记或进行生物素荧光标记,用标记好的基因片段做探针,与受体生物的基因组 DNA 进行杂交,如果有杂交斑点,根据分子杂交的基本原理,说明目的基因与受体细胞基因组 DNA 具有同源性,也就是说目的基因已经被导入受体细胞内,反之,则说明目的基因没有进入受体细胞中。

(4) 蛋白质分子(抗原—抗体)之间的杂交

这是检测目的基因是否表达出蛋白质的一种方法。具体做法是:第一步,将目的基因在大肠杆菌中表达出蛋白质;第二步,用表达出的蛋白质注射动物进行免疫,产生相应的抗体,并提取出抗体(一抗);第三步,从转基因生物中提取蛋白质,进行凝胶电泳;第四步,将凝胶中的蛋白转移到硝酸纤维素膜上;第五步,将抗体(一抗)与硝酸纤维素膜上的蛋白杂交,这时抗体(一抗)与目的基因表达的蛋白(抗原)会特异结合。由于这种抗原—抗体的结合显示不出条带,所以加入一种称为二抗的抗体,它可以与一抗结合。二抗抗体上带有特殊的标记,如果目的基因表达出了蛋白质,则结果为阳性。

典例分类剖析

考点1 目的基因的获取

命题规律

- (1) 能够区分目的基因获取的几种方法的原理和步骤;
- (2) 考查在新情境中选择使用不同的方法获取目的基因。

【例1】 (2010年烟台)以重组DNA技术为核心的基因工程正在改变着人类的生活。请回答下列问题。

- (1) 获得目的基因的方法通常包括_____、_____和_____。
- (2) 构建基因文库时需要DNA分子进行切割和连接,所使用的酶分别是_____和_____。
- (3) PCR扩增目的基因的原理是_____,前提条件是_____,PCR所使用的酶是_____,该酶具有什么特点?_____。
- (4) 运送目的基因进入受体细胞的载体一般选用病毒或_____,后者的形状呈_____。
- (5) 若目的基因是人胰岛素基因,则其获取的可能方法有_____,将人胰岛素基因导入大肠杆菌和酵母菌,两者生产的胰岛素在功能和_____序列上是相同的。

【解析】 (1) 获取目的基因的方法有从基因文库中获取、PCR技术扩增目的基因和人工合成,其中基因文库包括基因组文库和部分基因文库。

(2) 构建基因文库需用限制酶切割某生物的DNA获取DNA片段,并与载体连接,导入受体菌群进行储存,所以还需用到DNA连接酶。

(3) PCR技术是在生物体外扩增DNA片段,原理是DNA双链复制,前提条件是有一段已知目的基因的核苷酸序列,以便根据其合成引物。PCR技术用到DNA聚合酶,该酶必须在70℃~75℃条件下发挥作用,故必须耐高温。

(4) 运送目的基因的载体常用的是质粒和病毒,质粒为小型环状DNA分子。

(5) 人胰岛素基因序列已知,所以可用逆(反)转录法构建部分基因文库获得,可直接人工合成,也可用PCR技术扩增获得大量目的基因。

【答案】 (1) 从基因文库获取 PCR技术扩增 人工合成

(2) 限制酶 DNA连接酶

(3) 双链DNA复制 有一段已知目的基因的核苷酸序列 DNA聚合酶 耐高温

(4) 质粒 小型环状

(5) 从基因文库中获得、PCR技术扩增、人工合成 氨基酸

母题迁移

1. 下列不属于获取目的基因方法的是()。

- A. 利用DNA连接酶复制目的基因
- B. 利用DNA聚合酶复制目的基因
- C. 从基因文库中获取目的基因
- D. 利用PCR技术扩增目的基因

考点2 基因表达载体的构建

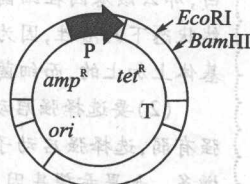
命题规律

- (1) 考查基因表达载体的构建组成;
- (2) 考查基因表达载体各组成要素在基因工程操作中的作用。

【例2】 (2010年南昌)如图为某种质粒表达载体简图,小箭头所指分别为限制性核酸内切酶EcoRI、BamHI的酶切位点,amp^R为青霉素抗性基因, tet^R为四环素抗性基因,P为启动子,T为终止子,ori为复制原点。已知目的基因的两端分别有包括EcoRI、BamHI在内的多种酶的酶切位点。

据图回答:

(1) 将含有目的基因的DNA与质粒表达载体分别用EcoRI酶切,酶切产物用DNA连接酶进行连接后,其中由两个DNA片段之间连接形成的产物有_____、_____、_____三种。若要从这些连接产物中分离出重组质粒,需要对这些连接产物进行_____。



(2) 用上述3种连接产物与无任何抗药性的原核宿主细胞进行转化实验。之后将这些宿主细胞接种到含四环素的培养基中,能生长的原核宿主细胞所含有的连接产物是_____;若接种到含青霉素的培养基中,能生长的原核宿主细胞所含有的连接产物是_____。

(3) 目的基因表达时,RNA聚合酶识别和结合的位点是_____,其合成的产物是_____。

(4) 在上述实验中,为了防止目的基因和质粒表达载体在酶切后产生的末端发生任意连接,酶切时应选用的酶是_____。

【解析】 将含有目的基因的DNA与质粒表达载体分别用EcoRI酶切,所产生的黏性末端相同,用DNA连接酶处理后,不同的片段随机结合,可形成3种不同的连接物,这些连接物可采用电泳、层析或超速离心等手段分离纯化,将这3种连接物导入受体菌后,可根据不同连接物所携带抗性基因的差异选择不同的选择培养基进行筛选。由图示和题目中提供的信息可知,同时应用EcoRI和BamHI进行酶切可有效防止酶切后产生的末端发生任意连接。

【答案】 (1) 目的基因—载体连接物 载体—载体连接物 目的基因—目的基因连接物 分离纯化(其他合理答案也可)

(2) 载体—载体连接物 目的基因—载体连接物、载体—载体连接物

(3) 启动子 mRNA

(4) EcoRI和BamHI(不能只答一种酶)

母题迁移

2. 科学家在培育抗虫棉时,经过了许多复杂的过程和不懈的努力,才获得成功。起初把苏云金芽孢杆菌的抗虫基因插入载体质粒中,然后导入棉花的受精卵中,结果抗虫基因在棉花体内没有表达。然后在插入抗虫基因的质粒中插入启动子(抗虫基因首端),导入棉花受精卵,长成的棉花植株还是没有抗虫能力。科学家又在有启动子、抗虫基因的质粒中插入终止子(抗虫基因末端),再导入棉花受精卵,结果长成的植株有了抗虫能力。由以上过程推知,作为目的基因的运载体应具备的结构是()。

- A. 目的基因、启动子

- B. 目的基因、终止子
- C. 目的基因、启动子、终止子
- D. 目的基因、启动子、终止子、标记基因

【拓展延伸】 基因工程载体构建的因素
基因工程载体的构建主要考虑以下几方面的因素。

(1) 基因的特点: 如果一个来自动物的目的基因含有内含子, 就不能用于转基因植物, 因为动物中内含子的剪接系统与植物的不同, 植物不能将动物基因的内含子剪切掉, 只能用该基因的 cDNA。基因的产物如果是一个糖蛋白, 那么该基因在细菌中表达出来的蛋白就可能不具备天然状态下的活性, 因为糖蛋白上的糖链是在内质网和高尔基体上加上的, 而细菌无这些细胞器。

(2) 要选择强启动子或组织特异性启动子。启动子有强有弱, 选择强启动子可以增加转录活性, 使基因产物量增多。如果希望基因在生物的某个组织表达, 如只在植物种子中表达, 就要选择种子中特异表达的启动子。

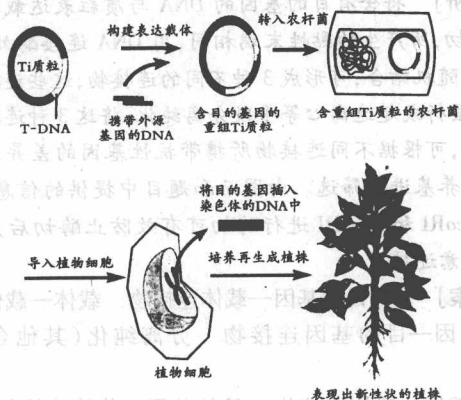
(3) 要选择标记基因, 如抗生素基因, 以便选择出真正的转基因生物。

考点3 将目的基因导入受体细胞

命题规律

- (1) 考查目的基因导入不同受体细胞采用不同的方法的原因;
- (2) 将各种不同导入方法进行比较, 灵活解决新情境中的转基因问题。

【例3】 农杆菌转化法是将目的基因导入植物细胞采用最多的方法。下图为农杆菌转化法示意图, 请据图回答问题。



农杆菌转化法示意图

- (1) Ti 质粒多存在于细菌中, 它是能自我复制的_____。
- (2) 获取外源基因(目的基因)需要限制酶的参与, 而目的基因在重组过程中需要_____酶的参与, 并依据碱基_____原则进行重组。
- (3) Ti 质粒原存在于_____中, 其上的 T-DNA 具有可转移到受体细胞并整合到受体细胞的_____上的特点, 因此携带外源基因的 DNA 片段必须插入到_____部位。
- (4) 首先必须经过组织培养, 人工合成的培养基一般包括_____、_____、维生素等。由植物体细胞发育成完整植株的过程说明植物细胞具有_____。
- (5) 农杆菌转化法适于将目的基因导入_____和裸子植物, 而不易于感染大多数_____。

(6) 若将相关的目的基因导入动物细胞或微生物细胞则常采用_____和_____。

【解析】 将目的基因导入受体细胞的方法多种多样, 应根据受体细胞的类型和目的基因的特点分别采用相应的方法。农杆菌转化法适于将目的基因导入植物细胞, 而显微注射技术和 Ca^{2+} 处理法分别适于将目的基因导入动物细胞和微生物细胞。

【答案】 (1) 小型环状 DNA 分子 (2) DNA 连接 互配对 (3) 农杆菌细胞质 染色体 DNA T-DNA 片段(内部) (4) 糖类 无机盐 植物激素 全能性 (5) 双子叶植物 单子叶植物 (6) 显微注射技术 Ca^{2+} 处理法

母题迁移 3. 基因工程中科学家常采用细菌、酵母菌等作为受体细胞, 原因是()。

- A. 结构简单, 操作方便
- B. 繁殖速度快
- C. 遗传物质含量少, 简单
- D. 形状稳定, 变异少

考点4 目的基因的检测与鉴定

命题规律

- (1) 考查目的基因导入受体细胞后, 是否可以稳定维持和表达其遗传特性的检测与鉴定的原理和方法;
- (2) 考查分子杂交方法和抗原抗体杂交方法的原理及应用。

【例4】 据媒体报道, 广西大学动物科学院博士生导师的科研小组培育出转基因动物——带有巴马香猪长肉基因的小白鼠。他们将长肉基因与含有绿色荧光蛋白的基因片段结合植入 5 只公鼠的睾丸中, 这些公鼠与 8 只母鼠交配后, 于 2006 年 8 月 8 日和 8 月 13 日产下 60 只小白鼠, 科研人员采集了小白鼠的 DNA 在荧光显微镜下检测发现, 在 23 只小白鼠的细胞中观测到绿色荧光, 37 只不含转基因成分。以下相关说法, 你认为正确的是()。

- A. 运用的生物技术有基因工程、细胞工程和 DNA 重组技术
- B. 长肉基因的编码区是连续的, 绿色荧光蛋白的基因用作标记基因
- C. 所需的基因操作工具有限制性内切酶、DNA 连接酶和动物病毒
- D. 据此分析可知长肉基因在小白鼠细胞中正常表达

【试解】 _____。(做完再看答案, 发挥母题功能)

【解析】 该转基因动物培育是把长肉基因与含有绿色荧光蛋白基因片段结合植入 5 只公鼠的睾丸中, 这些公鼠与 8 只母鼠交配, 得到了转基因的小白鼠。此过程用到了基因工程和 DNA 重组技术, 未用到细胞工程; 长肉基因是真核生物基因, 其编码区是不连续的; 该进程的结果只能证明长肉基因导入了小鼠体内, 并不能证明长肉基因能正常表达。C 选项中的动物病毒起运载体的作用。

【答案】 C

母题迁移 4. (2010 年北京) 利用外源基因在受体细胞中表达, 可生产人类所需要的产品。下列选项中能说明目的基因完成了在受体细胞中表达的是()。

- A. 棉花二倍体细胞中检测到细菌的抗虫基因
- B. 大肠杆菌中检测到人胰岛素基因及其 mRNA
- C. 山羊乳腺细胞中检测到人生长激素 DNA 序列
- D. 酵母菌细胞中提取到干扰素蛋白

[拓展延伸] 辨析比较基因诊断、基因芯片与基因治疗。

- (1) 通过基因诊断可以对肿瘤、遗传病等进行早期诊断。
- (2) 基因芯片能通过尽可能少的样品和尽可能少的检测次数,检测出尽可能多的基因差别,其应用包括发现疾病的相关基因、检测传染病等。
- (3) 基因治疗是把特定的外源基因导入有基因缺陷的细胞中,从而达到治疗疾病的目的,这是治疗遗传病的最有效手段。

自主评价反馈

考点知识清单

1. 目的基因 基因表达载体 受体细胞 检测与鉴定
2. 编码蛋白质 自然界中已有的物种 人工的方法
从基因文库中获取目的基因 利用 PCR 技术扩增目的基因 基因的许多 DNA 片段 基因 基因文库 基因组文库 部分基因文库 cDNA 文库 复制特定 DNA 片段 核苷酸 引物 单链 引物 DNA 聚合酶 基因 核苷酸序列

续

自主评价反馈

3. 基因表达载体的构建 目的基因 表达和发挥作用 启动子 终止子 标记基因 首端 RNA 聚合酶 mRNA 尾端 转录 鉴别 目的基因 4. 目的基因 维持稳定 表达 农杆菌转化法 基因枪法 花粉管道法 双子叶 单子叶 T-DNA DNA 显微 卵细胞 目的基因 显微注射 输卵管 子宫 繁殖快 单细胞 Ca^{2+} 感受态细胞 目的基因 mRNA 蛋白质 分子检测 个体生物学

母题迁移

1. A [解析] 目的基因可以从自然界中已有的物种中分离出来,也可以用人工的方法合成。目的基因主要指编码蛋白质的结构基因,获取目的基因的方法有:(1)从基因文库中获取目的基因,基因文库又分为基因组文库和部分基因文库;(2)利用 PCR 技术扩增目的基因;(3)人工合成。
2. D 3. B
4. D [解析] 选项 A 只能说明抗虫基因已经导入;选项 B 只能检测目的基因导入并转录;选项 C 也只能检测到目的基因的导入;只有选项 D 能说明目的基因在受体细胞中已表达。

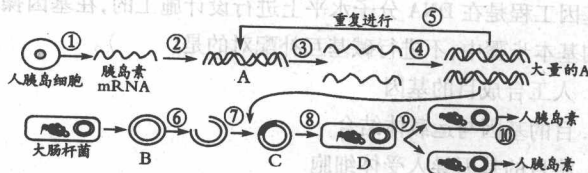
优化分层测训

学业水平测试

1. 下列不属于获取目的基因方法的是()。
 - A. “鸟枪法”
 - B. 转录法
 - C. 反转录法
 - D. 根据已知氨基酸序列合成法
2. 下列操作不属于基因表达载体构建过程的是()。
 - A. 用一定的限制酶切割质粒露出黏性末端
 - B. 用同一种限制酶切割目的基因露出黏性末端
 - C. 将切下的目的基因片段插入质粒切口处
 - D. 将重组 DNA 导入受体细胞中
3. 有关基因表达载体的说法中正确的是()。
 - A. 基因表达载体是基因工程的核心
 - B. 基因表达载体中的终止子是决定翻译过程结束的信号
 - C. 基因表达载体不会因受体细胞不同及导入方法的差别而有所差别
 - D. 有人认为将某生物的所有 DNA 直接导入受体细胞更方便,不需构建基因表达载体
4. (2010 年盐城)对基因组文库的描述,不正确的是()。
 - A. 含有某种生物的全部基因
 - B. 基因中含有启动子和内含子
 - C. 文库的基因是通过受体菌承载的
 - D. 文库中的全部基因可以在物种间交流
5. (2010 年郑州)请分析回答下列有关现代生物科技方面的问题。

- (1) 基因工程的基本操作程序主要包括:第一步是目的基因的获取,第二步是_____ ,第三步是将目的基因导入受体细胞,第四步是_____。
- (2) 为了能把该目的基因转入到受体细胞中,常用的载体是质粒。要使载体与该抗病基因连接,首先应使用某些酶进行切割,切开的是_____。
- (3) 将目的基因导入植物细胞的常用方法有农杆菌转化法、基因枪法和_____ ;将目的基因导入动物细胞的方法是_____。
- (4) 将目的基因导入受体细胞后,对目的基因进行分子水平的检测,其中检测受体细胞染色体 DNA 上是否插入了目的基因以及是否转录出相应的 mRNA,检测方法常采用_____ 技术,试举出该技术在其他领域的应用_____。

6. 下图是利用基因工程技术生产人胰岛素的操作过程示意图,请据图回答问题:



- (1) 能否利用人的皮肤细胞来完成①过程?_____。为什么?_____。
- (2) 过程②、③必需的酶分别是_____、_____。
- (3) 在利用 A 和 B 获得 C 的过程中,必须用_____ 切割