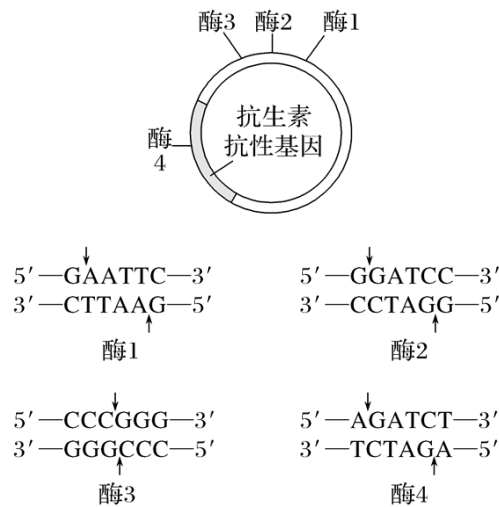


基因工程的基本工具和基本操作程序练习

一、选择题

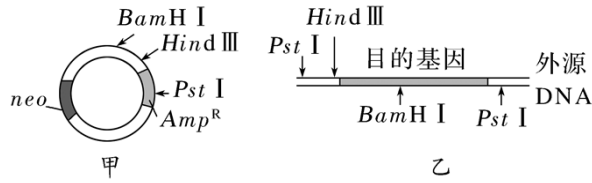
1. 某同学拟用限制酶(酶 1、酶 2、酶 3 和酶 4)、DNA 连接酶为工具，将目的基因(两端含相应限制酶的识别序列和切割位点)和质粒进行切割、连接，以构建重组表达载体。限制酶的切割位点如图所示。



下列重组表达载体构建方案合理且效率最高的是()

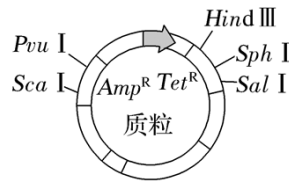
- A. 质粒和目的基因都用酶 3 切割，用 *E. coli* DNA 连接酶连接
- B. 质粒用酶 3 切割、目的基因用酶 1 切割，用 T4 DNA 连接酶连接
- C. 质粒和目的基因都用酶 1 和酶 2 切割，用 T4 DNA 连接酶连接
- D. 质粒和目的基因都用酶 2 和酶 4 切割，用 *E. coli* DNA 连接酶连接

2. 图甲、乙中的箭头表示三种限制性内切核酸酶的酶切位点，*Amp^r* 表示氨苄青霉素抗性基因，*neo* 表示新霉素抗性基因。下列叙述错误的是()



- A. 在构建重组质粒时，可用 *Pst I* 和 *Hind III* 切割质粒和外源 DNA
- B. 在酶切过程中，不能破坏质粒中全部的标记基因
- C. 若只用 *Pst I* 处理质粒和外源 DNA 分子片段，无法避免自身环化和反向连接
- D. 导入重组质粒的大肠杆菌可以在含氨苄青霉素的培养基中生长

3. 用氨苄青霉素抗性基因 (*Amp^R*)、四环素抗性基因 (*Tet^R*) 作为标记基因构建的质粒如图所示。用含有目的基因的 DNA 片段和用不同限制酶酶切后的质粒，构建基因表达载体(重组质粒)，并转化到受体菌中。下列叙述错误的是()



- A. 若用 *Hind III* 酶切，目的基因转录的产物可能不同
- B. 若用 *Pvu I* 酶切，在含 Tet (四环素) 培养基中的菌落，不一定含有目的基因
- C. 若用 *Sph I* 酶切，可通过 DNA 凝胶电泳技术鉴定重组质粒构建成功与否
- D. 若用 *Sph I* 酶切，携带目的基因的受体菌在含 Amp (氨苄青霉素) 和 Tet 的培养基中能形成菌落

4.

“DNA 粗提取与鉴定”实验的基本过程是：裂解→分离→沉淀→鉴定。

下列叙述错误的是()

- A. 裂解：使细胞破裂释放出 DNA 等物质
 - B. 分离：可去除混合物中的多糖、蛋白质等
 - C. 沉淀：可反复多次以提高 DNA 的纯度
 - D. 鉴定：加入二苯胺试剂后即呈现蓝色
5. 提取 DNA 时，向鸡血细胞液中加入一定量的蒸馏水并搅拌，过滤后所得滤液进行下列处理后再进行过滤，在得到的滤液中加入特定试剂后容易提取出 DNA 相对含量较高的白色丝状物的处理方式是()

- A. 加入适量的木瓜蛋白酶
- B. 37~40 °C 的水浴箱中保温 10~15 分钟
- C. 加入与滤液体积相等的、体积分数为 95% 的冷却的酒精
- D. 加入 NaCl 调节浓度至 2 mol/L→过滤→加入 NaCl 调节浓度至 0.14 mol/L

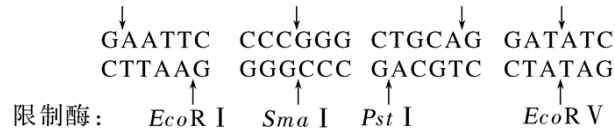
6. 下列关于 DNA 粗提取与鉴定的叙述，错误的是()

- A. 用同样方法从等体积兔血和鸡血中提取的 DNA 量相近
- B. DNA 析出过程中，搅拌操作要轻柔以防 DNA 断裂
- C. 预冷的乙醇可用来进一步纯化粗提的 DNA
- D. 用二苯胺试剂鉴定 DNA 需要进行水浴加热

二、非选择题

7. 用 DNA 重组技术可以赋予生物以新的遗传特性，创造出更符合人类需要的生物产品。在此过程中需要使用多种工具酶，其中 4 种限制性

内切核酸酶的切割位点如图所示。



回答下列问题:

(1)常用的 DNA 连接酶有 *E. coli* DNA 连接酶和 T4 DNA 连接酶。上图中_____酶切割后的 DNA 片段可以用 *E. coli* DNA 连接酶连接。上图中

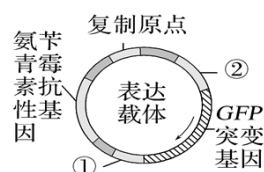
_____酶切割后的 DNA 片段可以用 T4 DNA 连接酶连接。

(2)DNA 连接酶催化目的基因片段与质粒载体片段之间形成的化学键是_____。

(3)DNA 重组技术中所用的质粒载体具有一些特征。如质粒 DNA 分子上有复制原点,可以保证质粒在受体细胞中能_____;质粒 DNA 分子上有_____,便于外源 DNA 插入;质粒 DNA 分子上有标记基因(如某种抗生素抗性基因),利用抗生素可筛选出含质粒载体的宿主细胞,方法是_____。

(4)表达载体含有启动子,启动子是指_____。

8. GFP 是水母体内存在的能发绿色荧光的一种蛋白。科研人员以 *GFP* 基因为材料,利用基因工程技术获得了其他颜色荧光的蛋白,丰富了荧光蛋白的颜色种类。回答下列问题。



(1) 构建目的基因表达载体。科研人员从构建的 *GFP* 突变基因文库中提取目的基因(均为突变基因)构建表达载体,其模式图如图所示(箭头为 *GFP* 突变基因的转录方向)。图中①为_____；②为_____, 其作用是_____

_____;

图中氨苄青霉素抗性基因是一种标记基因, 其作用是_____

_____。

(2) 目的基因的表达。科研人员将构建好的表达载体导入大肠杆菌中进行表达, 发现大肠杆菌有的发绿色荧光, 有的发黄色荧光, 有的不发荧光。请从密码子特点的角度分析, 发绿色荧光的可能原因是_____

_____ (答出 1 点即可)。

(3) 新蛋白与突变基因的关联性分析。将上述发黄色荧光的大肠杆菌分离纯化后, 对其所含的 *GFP* 突变基因进行测序, 发现其碱基序列与 *GFP* 基因的不同, 将该 *GFP* 突变基因命名为 *YFP* 基因(黄色荧光蛋白基因)。若要通过基因工程的方法探究 *YFP* 基因能否在真核细胞中表达, 实验思路是_____

_____。

9. 接种疫苗是预防传染病的一项重要措施，乙肝疫苗的使用可有效阻止乙肝病毒的传播，降低乙型肝炎发病率。乙肝病毒是一种 DNA 病毒。重组乙肝疫苗的主要成分是利用基因工程技术获得的乙肝病毒表面抗原(一种病毒蛋白)。回答下列问题。

(1) 接种上述重组乙肝疫苗不会在人体中产生乙肝病毒，原因是_____

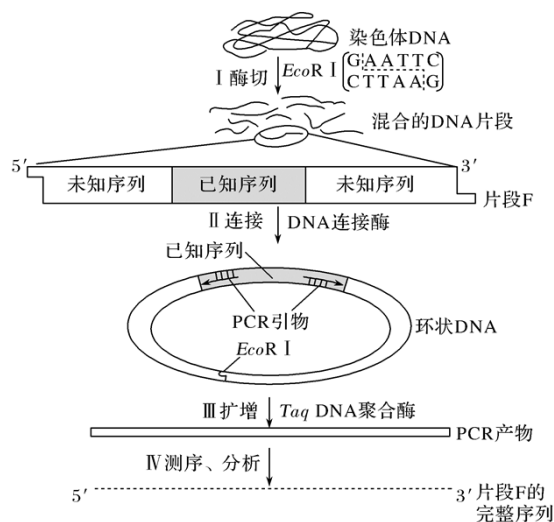
_____。
_____。

(2) 制备重组乙肝疫苗时，需要利用重组表达载体将乙肝病毒表面抗原基因(目的基因)导入酵母细胞中表达。重组表达载体中通常含有抗生素抗性基因，抗生素抗性基因的作用是_____。能识别载体中的启动子并驱动目的基因转录的酶是_____。

(3) 若要通过实验检测目的基因在酵母细胞中是否表达出目的蛋白，请简要写出实验思路。

_____。

10. 如果已知一小段 DNA 的序列，可采用 PCR 的方法，简捷地分析出已知序列两侧的序列，具体流程如图(以 *EcoR* I 酶切为例)：



请据图回答问题：

- (1) 步骤 I 用的 *EcoR* I 是一种_____酶，它通过识别特定的_____切割特定位点。
- (2) 步骤 II 用的 DNA 连接酶催化相邻核苷酸之间的 3' — 羟基与 5' — 磷酸间形成_____； PCR 循环中，升温到 95 ℃ 是为了获得_____； *Taq* DNA 聚合酶的作用是催化_____。
- (3) 若如表所列为已知的 DNA 序列和设计的一些 PCR 引物，步骤 III 选用的 PCR 引物必须是_____ (从引物①②③④中选择，填编号)。

	DNA 序列(虚线处省略了部分核苷酸序列)
已知序列	5'—AACTATGCGCTCATGA·····GCAATGCGTAGCCTCT—3' 3'—TTGATACGCGAGTACT·····CGTTACGCATCGGAGA—5'
PCR 引物	①5' —AACTATGCGCTCATGA—3' ②5' —GCAATGCGTAGCCTCT—3' ③5' —AGAGGCTACGCATTGC—3'

	④5' —TCATGAGCGCATAGTT—3'
--	--------------------------

(4)对 PCR 产物测序，经分析得到了片段 F 的完整序列。下列 DNA 单链序列中(虚线处省略了部分核苷酸序列)，结果正确的是_____。

- A. 5' —AACTATGCG-----AGCCCTT—3'
- B. 5' —AATTCCATG-----CTGAATT—3'
- C. 5' —GCAATGCGT-----TCGGGAA—3'
- D. 5' —TTGATACGC-----CGAGTAC—3'

11. PCR 是以模拟体内 DNA 复制的方式在体外选择性地将 DNA 某个特殊区域进行扩增的技术。DNA 扩增过程的产物有长产物片段和短产物片段两种，其形成过程如图 1 所示。请回答下列问题：

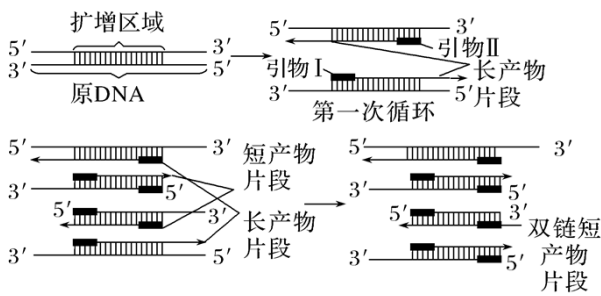


图 1

(1)DNA 复制时子链延伸的方向是_____ (填“5' →3' ”或“3' →5' ”)。由于 DNA 聚合酶不能直接催化两个单核苷酸之间的反应，因此 DNA 复制需要一段单链 DNA 或 RNA 作为_____。

(2)如果扩增序列为图 2 所示的两段序列之间的 DNA 片段，请从表中列出的引物中选出一对合适的引物_____。

- 5' —GACCTGTGGAAGC·····CATACGGGATTG—3'
- 3' —CTGGACACCTTCG·····GTATGCCCTAAC—5'

图 2

引物 I	引物 II		
甲	5' —GACCTGTGGAAGC	A	5' —CATACGGGATTG
乙	5' —CTGGACACCTTCG	B	5' —GTATGCCCTAAC
丙	5' —CGAAGGTGTCCAG	C	5' —GTTAGGGCTTAC
丁	5' —GCTTCCACAGGTC	D	5' —CAATCCCGTATG

(3) 下面为某同学利用 PCR 仪进行 PCR 的操作步骤, 请完善相关步骤内容。

- 按配方准备好各组分。
- 用微量移液器向微量离心管中依次加入各组分: 模板 DNA、4 种脱氧核糖核苷三磷酸、_____、引物、缓冲液等。
- _____使反应液聚集在微量离心管底部。
- 将微量离心管放入 PCR 仪, 设定好 PCR 仪的循环程序。
- 进行 PCR。

(4) PCR 的产物片段中, 只有_____才是符合要求的目标产物。

12. 为了将某纳米抗体和绿色荧光蛋白基因融合表达, 运用重组酶技术构建质粒, 如图 1 所示。请回答下列问题:

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。

如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/117053126043006115>