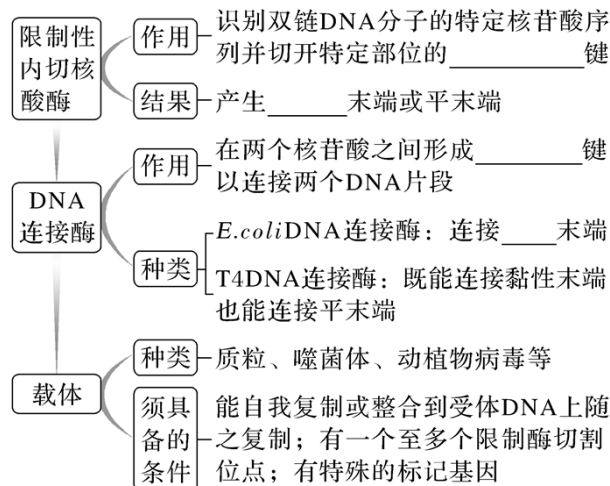


课时 2 赋予生物新的遗传特性的基因工程

重点 1 基因工程和蛋白质工程

【知识盘查】

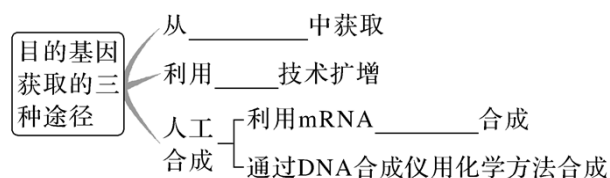
1.归纳基因工程的基本工具



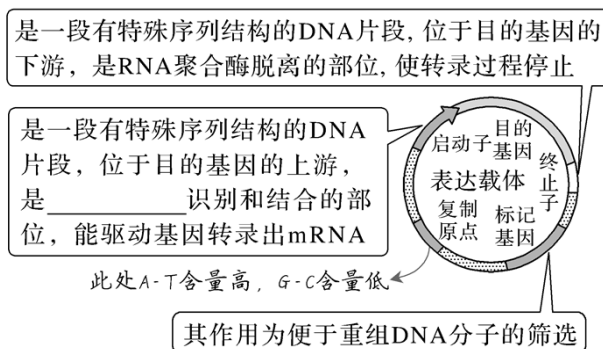
提醒 若用不同的限制酶切割出不同的黏性末端,则能使目的基因和载体定向连接,避免自身环化和反向连接,提高连接的有效性。

2.理解掌握基因工程的操作步骤

(1)目的基因的筛选与获取



(2)基因表达载体的构建——重组质粒的构建

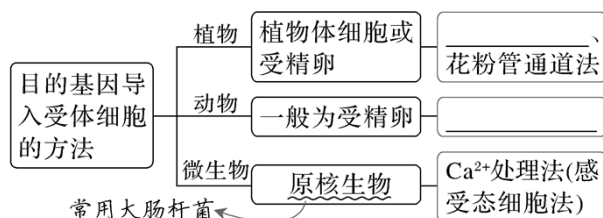


提醒 ①启动子和终止子: 启动子(DNA片段)≠起始密码子(位于mRNA上); 终止子(DNA片段)≠终止密码子(位于mRNA)上。

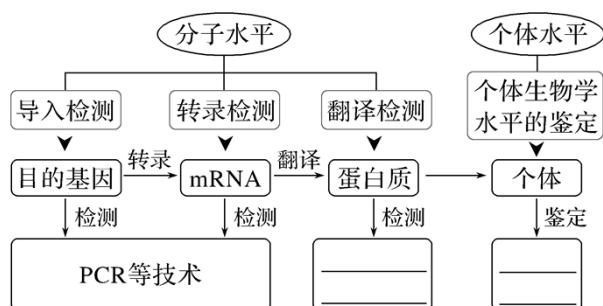
②目的基因插入位置：启动子与终止子之间。

③利用乳腺生物反应器生产药物时，应将目的基因与乳腺中特异表达的基因的启动子等调控元件重组在一起。

(3)将目的基因导入受体细胞

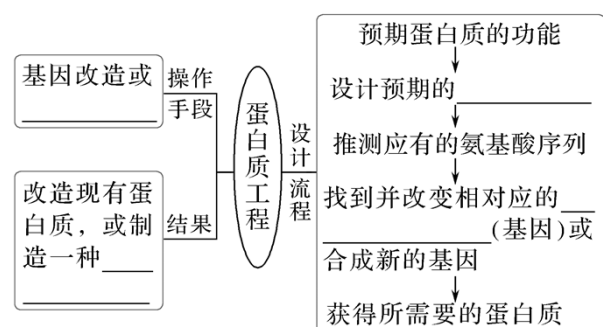


(4)目的基因的检测与鉴定



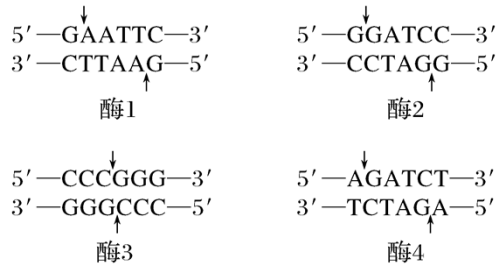
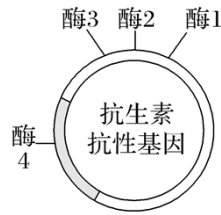
提醒 PCR 技术不仅可用于获取和扩增目的基因，还能用于检测受体细胞中是否含有目的基因或受体细胞中的目的基因是否转录出 mRNA。

3.图示法解读蛋白质工程



【曾经这样考】

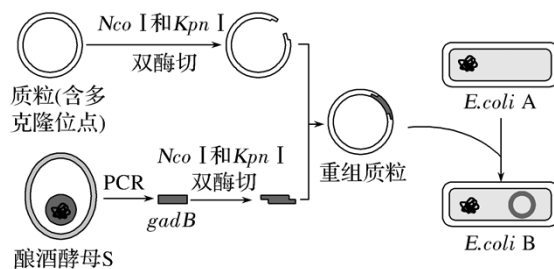
1.(2023·新课标卷，6)某同学拟用限制酶(酶 1、酶 2、酶 3 和酶 4)、DNA 连接酶为工具，将目的基因(两端含相应限制酶的识别序列和切割位点)和质粒进行切割、连接，以构建重组表达载体。限制酶的切割位点如图所示。



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

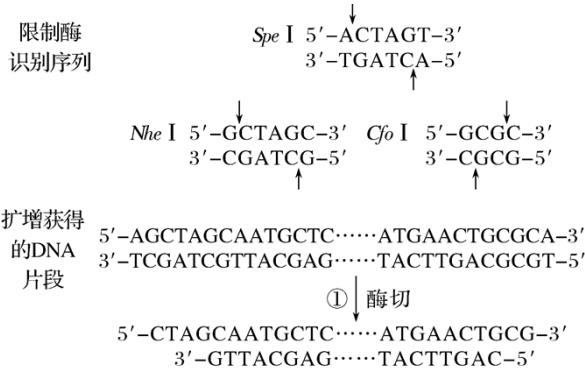
2.(2024·江西卷, 12) γ -氨基丁酸在医药等领域有重要的应用价值。利用 L-谷氨酸脱羧酶(GadB)催化 L-谷氨酸脱羧是高效生产 γ -氨基丁酸的重要途径之一。研究人员采用如下图方法将酿酒酵母 S 的 L-谷氨酸脱羧酶基因(*gadB*)导入生产菌株 *E.coli* A, 构建了以 L-谷氨酸钠为底物高效生产 γ -氨基丁酸的菌株 *E.coli* B。下列叙述正确的是()



- A.图中表明，可以从酿酒酵母 S 中分离得到目的基因 *gadB*
- B.*E.coli* B 发酵生产 γ -氨基丁酸时，L-谷氨酸钠的作用是供能
- C.*E.coli* A 和 *E.coli* B 都能高效降解 γ -氨基丁酸
- D.可以用其他酶替代 *Nco* I 和 *Kpn* I 构建重组质粒

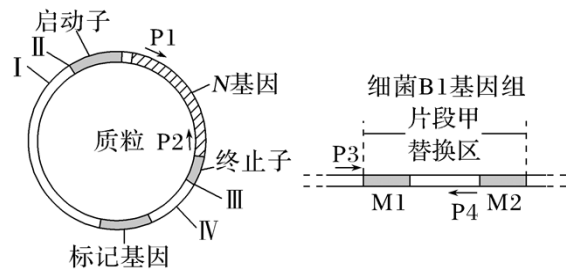
3.(2023·重庆卷, 12)某小组通过 PCR(假设引物长度

为 8 个碱基，短于实际长度)获得了含有目的基因的 DNA 片段，并用限制酶进行酶切(如下图)，再用所得片段成功构建了基因表达载体。下列叙述错误的是()



- A.实验所用引物，其中一个序列为 5'-TGCGCAGT-3'
- B.步骤①所用酶是 *Spe* I 和 *Cfo* I
- C.用步骤①的酶对载体进行酶切至少获得了 2 个片段
- D.酶切片段和载体连接时可使用 *E.coli* DNA 连接酶或 T4 DNA 连接酶

4.(2024·新课标卷, 35)某研究小组将纤维素酶基因(*N*)插入某种细菌(*B1*)的基因组中，构建高效降解纤维素的菌株(*B2*)。该小组在含有 *N* 基因的质粒中插入 *B1* 基因组的 *M1* 与 *M2* 片段；再经限制酶切割获得含 *N* 基因的片段甲，片段甲两端分别为 *M1* 与 *M2*；利用 CRISPR/Cas9 基因组编辑技术将片段甲插入 *B1* 的基因组，得到菌株 *B2*。酶切位点(I~IV)、引物(P1~P4)的结合位置、片段甲替换区如下图所示，→表示引物 5'→3'方向。回答下列问题。



(1)限制酶切割的化学键是_____。为保证 *N* 基因能在菌株 *B2* 中表达，在构建片段甲时，应将 *M1* 与 *M2* 片段分别插入质粒的 I 和 II、III和IV酶切位点之间，原因是_____。

(2)CRISPR/Cas9 技术可以切割细菌 *B1* 基因组中与向导 RNA 结合的 DNA。向导 RNA 与 *B1* 基因组 DNA 互补配对可以形成的碱基对有 G—C 和_____。

(3)用引物 P1 和 P2 进行 PCR 可验证片段甲插入了细菌 B1 基因组,所用的模板是_____ ; 若用该模板与引物 P3 和 P4 进行 PCR, 实验结果是_____。

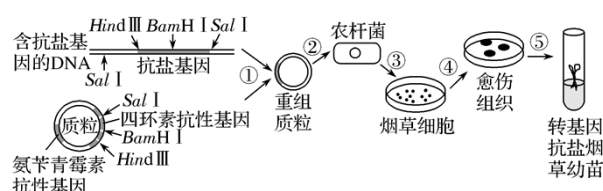
(4)与秸秆焚烧相比, 利用高效降解纤维素的细菌处理秸秆的优点是_____
_____(答出 2 点即可)。

【还会这样考】

1.(2024·九省联考甘肃卷, 15)胰岛素可用于治疗糖尿病, 我国科学家打破国外技术垄断, 研发了拥有自主知识产权的重组人胰岛素药物, 下列叙述错误的是()

- A.用 PCR 技术扩增人胰岛素基因时, 每次循环包括变性、复性、延伸三步
- B.构建人胰岛素基因表达载体时, 需使用限制性内切核酸酶和 DNA 连接酶
- C.大肠杆菌细胞经 Ca^{2+} 处理后, 更容易吸收重组的人胰岛素基因表达载体
- D.抗原-抗体杂交法不能检测人胰岛素基因表达载体是否导入大肠杆菌细胞

2.(2024·重庆市质量检测)烟草是我国一些地区的经济作物之一, 提高烟草质量有利于提高经济收入。我国科研团队研究了一种转基因抗盐烟草新品种, 抗盐基因的结构和获得转基因抗盐烟草新品种的过程(①~⑤)如图所示。回答下列问题:



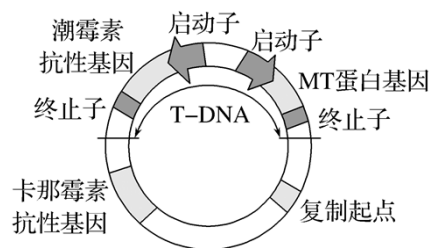
(1)获得转基因抗盐烟草新品种过程中利用的生物技术有_____
_____(答出 2 项)等。

(2)为确保目的基因定向插入质粒, 应该选择限制酶_____切割含目的基因的 DNA 和质粒。在培养基中加入_____(填“氨苄青霉素”或“四环素”)以便于重组 DNA 分子的筛选。

(3)培育转基因抗盐烟草新品种的核心工作是图中过程_____(填序号)。过程②③采用的方法是_____。

(4)过程⑤需要用到_____等植物激素, 在诱导愈伤组织分化成幼苗的过程中, 这两种植物激素的比例会发生变化, 原因是

3.(2024·湖南雅礼中学调研)金属硫蛋白(MT)是一类低分子量、富含半胱氨酸、具有金属结合能力的普遍存在于生物体内的金属结合蛋白，具有多种生物学功能。近年来，因其与 Zn、Cu、Cd 等金属的结合能力较强而用于生态修复。科研人员成功地将人 MT 蛋白基因用农杆菌转化法转入番茄，成功培育转基因番茄。回答下列问题：



注：T-DNA 中标出的启动子在真核细胞中表达。

(1)感受态农杆菌的制备：取保存的农杆菌菌落用_____接种于相应的液体培养基中，并置于_____中进行振荡培养，完成菌种的活化和扩大培养；取适量菌液置于 CaCl_2 溶液中处理，制得感受态农杆菌。

(2)目的基因的获取和转化：取人肝脏细胞，破碎后提取 mRNA，在逆转录酶的作用下形成 cDNA，经 PCR 扩增后的产物与 Ti 质粒连接形成重组质粒(如图)，将其与制备好的感受态农杆菌混合，使外源 DNA 转入细胞；经适宜条件培养一段时间，再加入适宜浓度的_____筛选出转化的农杆菌。

(3)转化番茄：取番茄子叶进行_____(填“消毒”或“灭菌”)处理后切段，再与转化的农杆菌菌液进行共培养，一段时间后，取出子叶放在_____上吸取多余菌液，再将子叶放在适宜的以_____培养基为基础配制的培养基中进行培养。

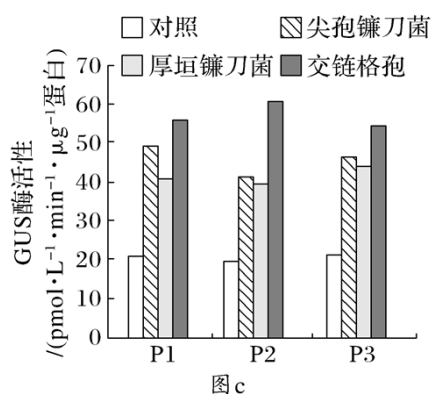
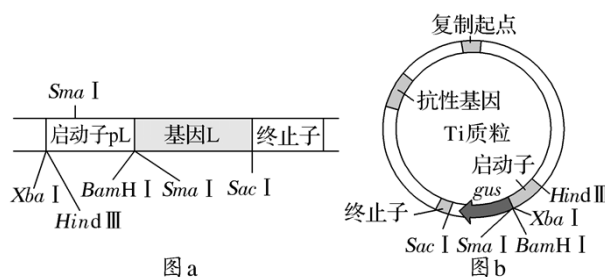
(4)育成转基因番茄：取上述处理的番茄子叶先经_____过程形成愈伤组织，将愈伤组织接种到含有特定激素的培养基上，就可以诱导其_____成胚状体，长出_____，进而发育成完整的番茄植株。

(5)转基因番茄性状的检测和生产应用：为了检测番茄中是否成功导入目的基因，可依据

_____设计引物进行 PCR 扩增，再用凝胶电泳技术进行检测，进行此实验的同时应以_____作为阴性对照，以导入 Ti 质粒的番茄作为阳性对照；已知某转基因番茄植株能大量吸收 Zn、Cd 等，且这些金属元素主要富集在根，生产应用时需对其定期拔除并实施无害处理，原因是_____

_____ (答出 2 点即可)。

4.(2024·湖南卷，21)百合具有观赏、食用和药用等多种价值，科研人员对其进行了多种育种技术研究。回答下列问题：



(1) 体细胞杂交育种。进行不同种百合体细胞杂交前，先用_____去除细胞壁获得原生质体，使原生质体融合，得到杂种细胞后，继续培养，常用_____ (填植物激素名称) 诱导愈伤组织形成和分化，获得完整的杂种植株。

(2) 单倍体育种。常用_____的方法来获得单倍体植株，鉴定百合单倍体植株的方法是_____。

(3) 基因工程育种。研究人员从野生百合中获得一个抵抗尖孢镰刀菌侵染的基因 *pL*，该基因及其上游的启动子 *pL* 和下游的终止子结构如图 a。图 b 是一种 Ti 质粒的结构示意图，其中基因 *gus* 编码 GUS 酶，GUS 酶活性可反映启动子活性。

①

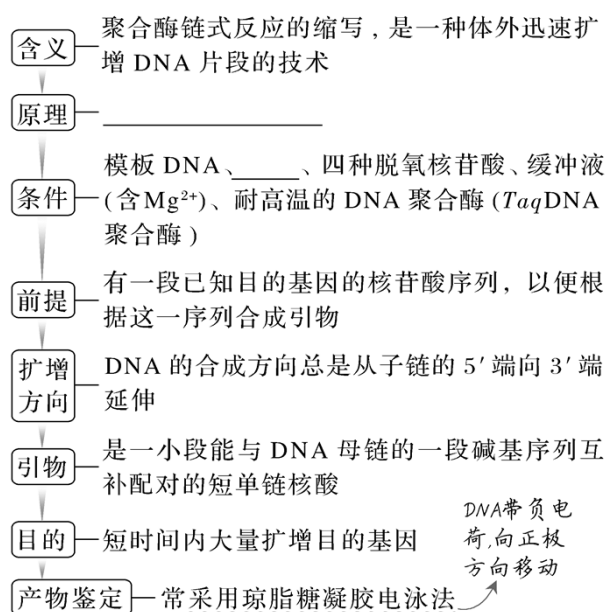
研究病原微生物对 L 的启动子 pL 活性的影响。从图 a 所示结构中获取 L，首先选用_____酶切，将其与相同限制酶酶切的 Ti 质粒连接，再导入烟草。随机选取 3 组转基因成功的烟草(P1、P2 和 P3)进行病原微生物胁迫，结果如图 c。由此可知，三种病原微生物都能诱导 pL 的活性增强，其中_____的诱导作用最强。

②现发现栽培种百合 B 中也有 L，但其上游的启动子与野生百合不同，且抗病性弱。若要提高该百合中 L 的表达量，培育具有高抗病原微生物能力的百合新品种，简要写出实验思路_____。

重点 2 PCR 技术及应用

【知识盘查】

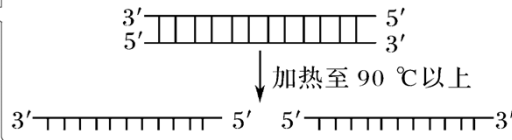
1.PCR 技术原理与条件



2.PCR 技术的过程

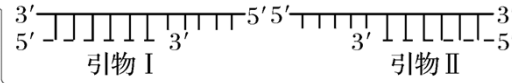
变性

当温度超过 90 ℃ 时，双链 DNA 解聚为单链



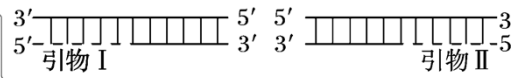
退火

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



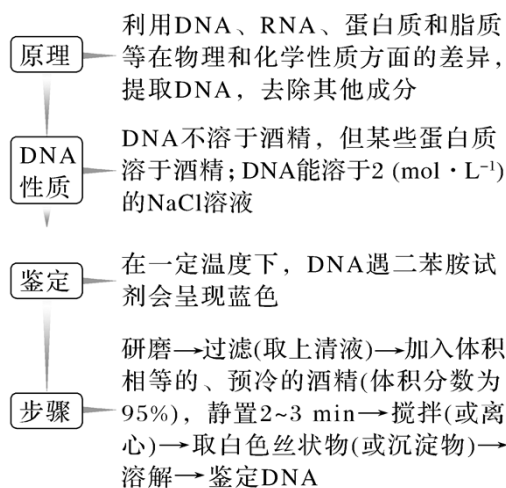
延伸

当温度上升到 _____ 左右时，_____ 从引
物开始进行互补链的合成（从 5' 端向 3' 端延伸）

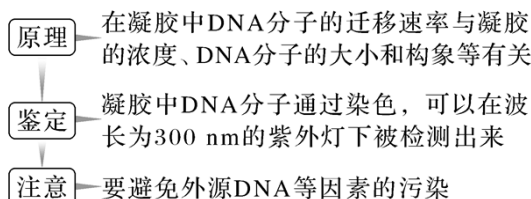


提醒 可通过引物控制 PCR 扩增的基因片段，并在基因两侧引入限制酶识别序列。

3.DNA 的粗提取与鉴定



4.DNA 片段的电泳鉴定

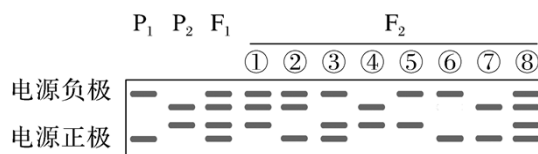


【曾经这样考】

1.(2024·安徽卷，14)下列关于“DNA 粗提取与鉴定”实验的叙述，错误的是()

- A.实验中如果将研磨液更换为蒸馏水，DNA 提取的效率会降低
- B.利用 DNA 和蛋白质在酒精中的溶解度差异，可初步分离 DNA
- C.DNA 在不同浓度 NaCl 溶液中溶解度不同，该原理可用于纯化 DNA 粗提物
- D.将溶解的 DNA 粗提物与二苯胺试剂反应，可检测溶液中是否含有蛋白质杂质

2.(2024·新课标卷，5)某种二倍体植物的 P₁ 和 P₂ 植株杂交得 F₁，F₁ 自交得 F₂。对个体的 DNA 进行 PCR 检测，产物的电泳结果如图所示，其中①~⑧为部分 F₂ 个体，上部 2 条带是一对等位基因的扩增产物，下部 2 条带是另一对等位基因的扩增产物，这 2 对等位基因位于非同源染色体上。下列叙述错误的是()



A.①②个体均为杂合体，F₂ 中③所占的比例大于⑤

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/408044055116007031>