

专题 15 基因工程与细胞工程

考情解读

1. 近五年的全国卷高考试题中对于基因工程的考查频度较高，侧重考查操作工具的种类、功能以及操作基本程序的应用等。动物细胞工程技术中的核移植技术及单克隆抗体的制备也有所考查。

2. 题目常借助简洁的文字材料或模式图等考查有关基因工程、动物细胞工程的原理、技术手段等，尤为注重对教材中一些关键词的填充及对结论性语句的准确表述等。

3. 备考时，应从以下四个方面入手复习：

(1) 列表比较法掌握限制酶、DNA 连接酶和载体的作用。

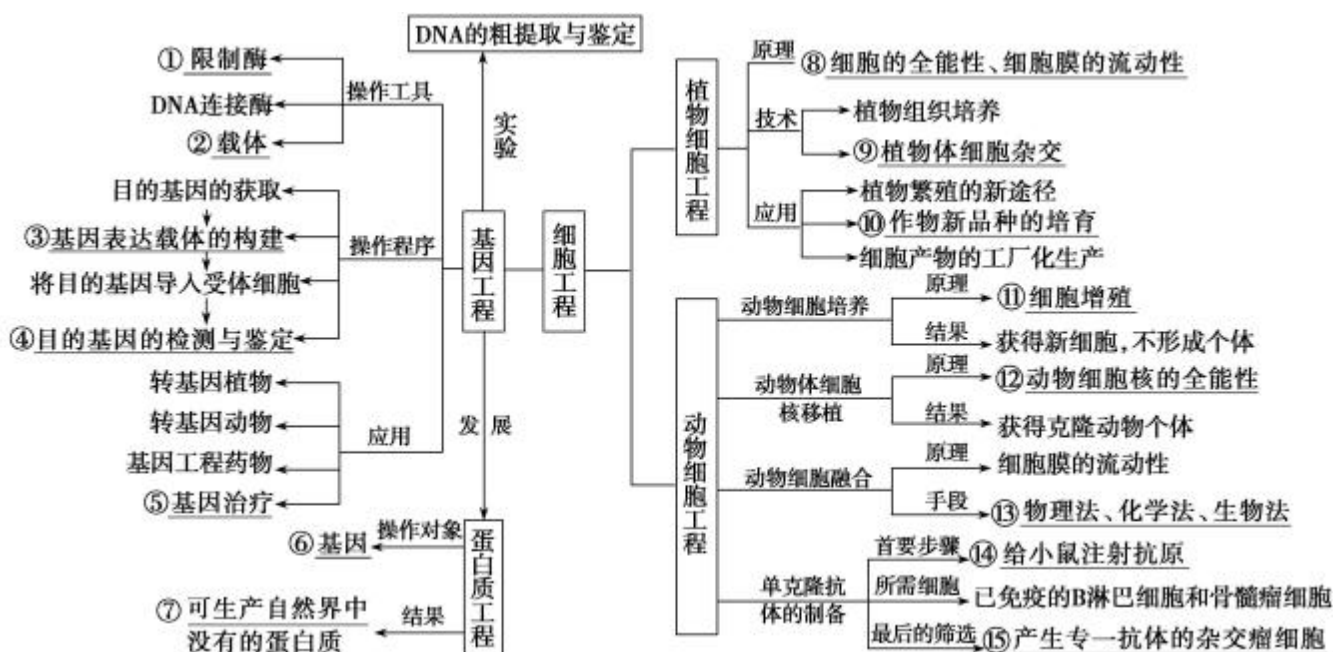
(2) 实例分析法理解基因工程的原理和过程。

(3) 列表比较法理解两个不同，即植物组织培养和动物细胞培养的不同、植物体细胞杂交与动物细胞融合的不同。

(4) 图解法分析并掌握单克隆抗体制备过程。

重点知识梳理

【知识网络】



知识点一、基因工程

1. 基因工程的基本工具

	限制酶	DNA 连接酶	(运)载体
--	-----	---------	-------

作用	切割目的基因和载体	拼接 DNA 片段形成 重组 DNA	携带目的基因进入受体细胞
作用部位	两核苷酸的脱氧核糖与磷酸间形成的磷酸二酯键		-----
作用特点 (条件)	①识别特定的核苷酸序列 ②在特定位点上切割	① <i>E·coli</i> DNA 连接酶只能连接黏性末端 ②T ₄ DNA 连接酶能连接黏性末端和平(口)末端	①能在宿主细胞内稳定存在并大量复制 ②有一个或多个限制酶切割位点 ③具有特殊的标记基因

2. 基因工程的操作步骤

(1) 目的基因的获取:

- ①从基因文库中获取。
- ②利用 PCR 技术扩增。
- ③用化学方法直接人工合成。

(2) 基因表达载体的构建:

- ①基因表达载体的组成: 目的基因+启动子+终止子+标记基因。
- ②基因表达载体的构建方法:



(3)将目的基因导入受体细胞:

	植物细胞	动物细胞	微生物细胞
常用方法	农杆菌转化法、基因枪法、花粉管通道法	显微注射技术	感受态细胞法 (用 Ca ²⁺ 处理)

受体 细胞	受精卵、体细胞	受精卵	原核细胞
----------	---------	-----	------

(4) 目的基因的检测与鉴定:

①目的基因插入检测: DNA 分子杂交。

- ②目的基因转录检测：(核酸)分子杂交。
- ③目的基因翻译检测：抗原—抗体杂交。
- ④个体生物学水平检测：根据目的基因表达出的性状判断。

知识点二、细胞工程

1. 动物细胞培养与植物组织培养的比较

项目	动物细胞培养	植物组织培养
培养前处理	无菌、用胰蛋白酶处理，使组织细胞相互分散开	无菌、离体
培养基成分	葡萄糖、氨基酸、无机盐、促生长因子、微量元素、动物血清等	矿质元素、蔗糖、维生素、植物激素等
培养基状态	液体培养基	固体培养基
项目	动物细胞培养	植物组织培养
过程	动物胚胎或出生不久的幼龄动物的器官或组织→原代培养→传代培养→细胞群	离体的植物器官、组织或细胞——→愈伤组织——→根、芽——→植物体 脱分化 再分化
能否培养成个体	不能	能
应用举例	大规模生产有重要价值的生物制品，如病毒疫苗、干扰素、单克隆抗体等；皮肤移植；检测有毒物质的毒性等	快速繁殖、培育无病毒植株；生产药物；制造人工种子；培育转基因作物等

2. 植物体细胞杂交和动物细胞融合的比较

项目	植物体细胞杂交	动物细胞融合(单克隆抗体的制备)
理论基础(原理)	细胞膜的流动性、细胞的全能性	细胞膜的流动性、细胞增殖

融合前处理	酶解法去除细胞壁(纤维素酶、果胶酶等)	注射特定抗原，免疫小鼠，获取(效应)B淋巴细胞
促融	①物理法：离心、振动、电激等；	①物化法：与植物细胞融合相同；②生物

	②化学法：聚乙二醇(PEG)	法：灭活的仙台病毒
过程	第一步：原生质体的制备；第二步：原生质体的融合；第三步：杂种细胞的筛选与培养；第四步：杂种植株的诱导与鉴定	第一步：正常小鼠免疫处理；第二步：动物细胞融合；第三步：杂交瘤细胞筛选与培养；第四步：单克隆抗体的提纯
用途	①克服远缘杂交不亲和的障碍，大大扩展杂交亲本的组合范围；②克服有性杂交的母系遗传，获得细胞质基因的杂合子，研究细胞质遗传	①制备单克隆抗体；②诊断、治疗疾病，如生物导弹

3. 动物细胞核移植和单克隆抗体

(1)动物细胞核移植：

供体体细胞→细胞培养→体细胞(核)

↓注入

卵母细胞→减Ⅱ中期去核→无核卵母细胞→重组细胞→

重组胚胎→代孕母牛→生出与供体遗传性状相同的个体。

(2)单克隆抗体：

①单克隆抗体的制备过程：

培养骨髓瘤细胞 | 融合

免疫小鼠→B淋巴细胞 | →多种杂交细胞→在具有筛选作用的培养基上培养→克隆筛选出的杂

交细胞→将不同种杂交细胞分开，并克隆专一抗体，检验阳性细胞→注射到小鼠体内或体外培养→获得单克隆抗体。

②杂交瘤细胞的特点：既能迅速大量繁殖，又能产生专一性抗体。

③单克隆抗体的优点：特异性强、灵敏度高、产量大。

高频考点突击

高频考点一 基因工程

例 1. (2019 全国卷 I ·38) 基因工程中可以通过 PCR 技术扩增目的基因。回答下列问题。

(1) 基因工程中所用的目的基因可以人工合成, 也可以从基因文库中获得。基因文库包括_____和

_____。

(2) 生物体细胞内的DNA复制开始时，解开DNA双链的酶是_____。在体外利用PCR技术扩增目的基因时，使反应体系中的模板DNA解链为单链的条件是_____。上述两个解链过程的共同点是破坏了DNA双链分子中的_____。

(3) 目前在PCR反应中使用 *Taq* 酶而不使用大肠杆菌DNA聚合酶的主要原因是_____。

【举一反三】真核生物基因中通常有内含子，而原核生物基因中没有，原核生物没有真核生物所具有的切除内含子对应的RNA序列的机制。已知在人体中基因A(有内含子)可以表达出某种特定蛋白(简称蛋白A)。回答下列问题：

(1)某同学从人的基因组文库中获得了基因A，以大肠杆菌作为受体细胞却未得到蛋白A，其原因是

_____。

(2)若用家蚕作为表达基因A的受体，在噬菌体和昆虫病毒两种载体中，不选用_____作为载体，其原因是_____。

(3)若要高效地获得蛋白A，可选用大肠杆菌作为受体。因为与家蚕相比，大肠杆菌具有_____ (答出两点即可)等优点。

(4)若要检测基因A是否翻译出蛋白A，可用的检测物质是_____ (填“蛋白A的基因”或“蛋白A的抗体”)。

(5)艾弗里等人的肺炎双球菌转化实验为证明DNA是遗传物质做出了重要贡献，也可以说是基因工程的先导，如果说他们的工作为基因工程理论的建立提供了启示，那么，这一启示是

_____。

【变式探究】为了增加菊花花色类型，研究者从其他植物中克隆出花色基因C(图1)，拟将其与质粒(图2)重组，再借助农杆菌导入菊花中。



图1

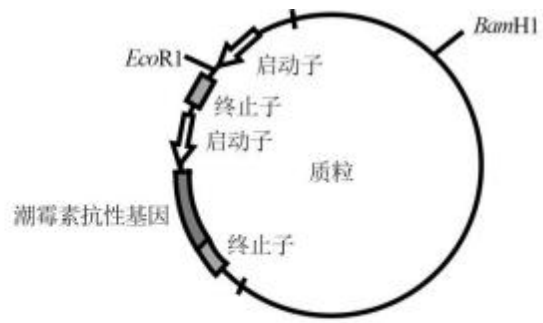


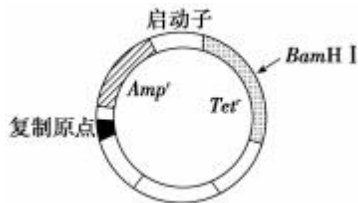
图2

下列操作与实验目的不符的是()

- A. 用限制性核酸内切酶 *EcoRI* 和连接酶构建重组质粒
- B. 用含 C 基因的农杆菌侵染菊花愈伤组织，将 C 基因导入细胞

- C. 在培养基中添加卡那霉素，筛选被转化的菊花细胞
- D. 用分子杂交方法检测 C 基因是否整合到菊花染色体上

【变式探究】某一质粒载体如图所示，外源 DNA 插入到 Amp^r 或 Tet^r 中会导致相应的基因失活(Amp^r 表示氨苄青霉素抗性基因， Tet^r 表示四环素抗性基因)。有人将此质粒载体用 $BamH\ I$ 酶切后，与用 $BamH\ I$ 酶切获得的的目的基因混合，加入 DNA 连接酶进行连接反应，用得到的混合物直接转化大肠杆菌。结果大肠杆菌有的未被转化，有的被转化。被转化的大肠杆菌有三种，分别是含有环状目的基因、含有质粒载体、含有插入了目的基因的重组质粒的大肠杆菌。回答下列问题：

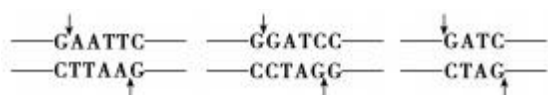


(1)质粒载体作为基因工程的工具，应具备的基本条件有_____ (答出两点即可)，而作为基因表达载体，除满足上述基本条件外，还需具有启动子和终止子。

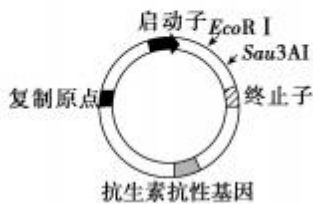
(2)如果用含有氨苄青霉素的培养基进行筛选，在上述四种大肠杆菌细胞中，未被转化的和仅含环状目的基因的细胞是不能区分的，其原因是_____；并且_____和_____的细胞也是不能区分的，其原因是_____。在上述筛选的基础上，若要筛选含有插入了目的基因的重组质粒的大肠杆菌单菌落，还需使用含有_____的固体培养基。

(3)基因工程中，某些噬菌体经改造后可以作为载体，其 DNA 复制所需的原料来自于_____。

【变式探究】图(a)中的三个 DNA 片段上依次表示出了 $EcoR\ I$ 、 $BamH\ I$ 和 $Sau3A\ I$ 三种限制性内切酶的识别序列与切割位点，图(b)为某种表达载体的示意图(载体上的 $EcoR\ I$ 、 $Sau3A\ I$ 的切点是唯一的)。



图(a)



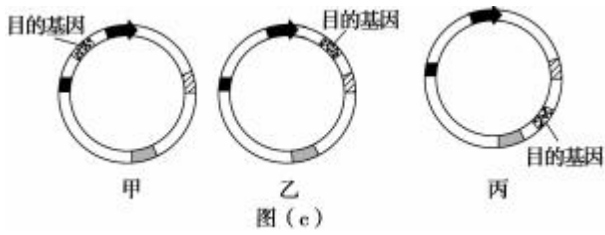
图(b)

根据基因工程的有关知识，回答下列问题：

(1)经 $BamH\ I$ 酶切后得到的目的基因可以与上述表达载体被_____酶切后的产物连接，理由是_____。

(2)若某人利用图(b)所示的表达载体获得了甲、乙、丙三种含有目的基因的重组子，如图(c)所示。这三

种重组子中，不能在宿主细胞中表达目的基因产物的有_____，不能表达的原因是



(3)DNA 连接酶是将两个 DNA 片段连接起来的酶，常见的有_____和_____，其中既能连接黏性末端又能连接平末端的是_____。

【举一反三】HIV 属于逆转录病毒，是艾滋病的病原体。回答下列问题：

(1)用基因工程方法制备 HIV 的某蛋白(目的蛋白)时，可先提取 HIV 中的_____，以其作为模板，在_____的作用下合成_____，获取该目的蛋白的基因，构建重组表达载体，随后导入受体细胞。

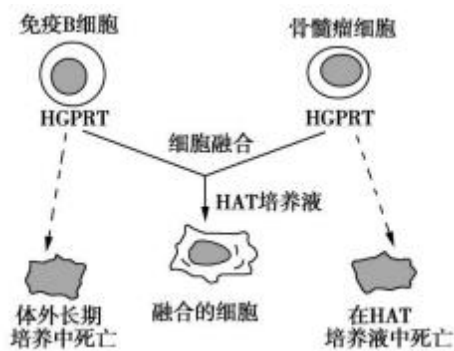
(2)从受体细胞中分离纯化出目的蛋白，该蛋白作为抗原注入机体后，刺激机体产生的可与此蛋白结合的相应分泌蛋白是_____，该分泌蛋白可用于检测受试者血清中的 HIV，检测的原理是_____。

(3)已知某种菌导致的肺炎在健康人群中罕见，但是在艾滋病患者中却多发。引起这种现象的根本原因是 HIV 主要感染和破坏了患者的部分_____细胞，降低了患者免疫系统的防卫功能。

(4)人的免疫系统有_____癌细胞的功能。艾滋病患者由于免疫功能缺陷，易发生恶性肿瘤。

高频考点二 细胞工程

例2、（2019江苏卷·23）下图为杂交瘤细胞制备示意图。骨髓瘤细胞由于缺乏次黄嘌呤磷酸核糖转移酶（HGPRT⁻），在HAT筛选培养液中不能正常合成DNA，无法生长。下列叙述正确的是



- A. 可用灭活的仙台病毒诱导细胞融合
- B. 两两融合的细胞都能在HAT培养液中生长
- C. 杂交瘤细胞需进一步筛选才能用于生产
- D. 细胞膜的流动性是细胞融合的基础

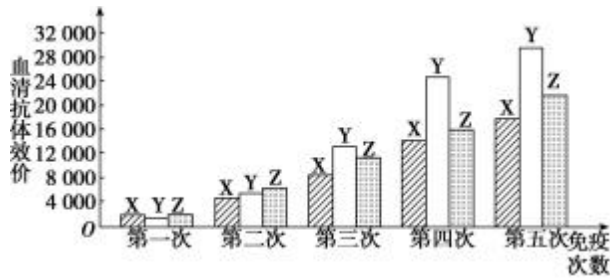
【举一反三】牛雄性胚胎中存在特异性 H-Y 抗原，可在牛早期胚胎培养液中添加 H-Y 单克隆抗体，

筛选胚胎进行移植，以利用乳腺生物反应器进行生物制药。下列相关叙述正确的是()

- A. H-Y 单克隆抗体由骨髓瘤细胞分泌 B. 应选用原肠胚做雌雄鉴别

C. 鉴别后的雄性胚胎可直接做胚胎移植 D. 用 H-Y 抗原免疫母牛可获得相应抗体

【变式探究】某研究者用抗原(A)分别免疫 3 只同种小鼠(X、Y 和 Z)，每只小鼠免疫 5 次，每次免疫一周后测定各小鼠血清抗体的效价(能检测出抗原抗体反应的血清最大稀释倍数)，结果如下图所示。



若要制备杂交瘤细胞，需取免疫后小鼠的 B 淋巴细胞(染色体数目 40 条)，并将该细胞与体外培养的小鼠骨髓瘤细胞(染色体数目 60 条)按一定比例加入试管中，再加入聚乙二醇诱导细胞融合，经筛选培养及抗体检测，得到不断分泌抗 A 抗体的杂交瘤细胞。

回答下列问题：

(1)制备融合所需的 B 淋巴细胞时，所用免疫小鼠的血清抗体效价需达到 16 000 以上，则小鼠最少需要经过_____次免疫后才能有符合要求的。达到要求后的 X、Y、Z 这 3 只免疫小鼠中，最适合用于制备 B 淋巴细胞的是_____小鼠，理由是_____。

(2)细胞融合实验完成后，融合体系中除含有未融合的细胞和杂交瘤细胞外，可能还有_____，
体系中出现多种类型细胞的原因是_____。

(3)杂交瘤细胞中有_____个细胞核，染色体数目最多是_____条。

(4)未融合的 B 淋巴细胞经多次传代培养后都不能存活，原因是_____。

【变式探究】科学家利用植物体细胞杂交技术成功获得了番茄—马铃薯杂种植株，为了便于杂种细胞的筛选和鉴定，科学家利用红色荧光和绿色荧光分别标记番茄和马铃薯的原生质体膜上的蛋白质，其培育过程如图所示：



(1)植物体细胞杂交依据的生物学原理有_____。

(2)过程①常用的酶是_____，细胞融合完成的标志是_____。

(3)植物原生质体融合过程常利用化学试剂_____诱导融合，在鉴定杂种原生质体时可用显微镜观察，根据细胞膜表面荧光的不同可观察到_____种不同的原生质体，当观察到_____时可判断该原生质体是由番茄和马铃薯融合而成的。

(4)过程③和过程④依次为_____，过程④中的培养基常添加的植物激素是_____。

(5)若番茄细胞内含 m 条染色体，马铃薯细胞中含 n 条染色体，则“番茄—马铃薯”细胞在有丝分裂后期含_____条染色体。若杂种细胞培育成的“番茄—马铃薯”植株为四倍体，则此杂种植株的花粉经离体培育得到的植株属于_____植株。

真题感悟

1. (2019江苏卷·16) 下列生物技术操作对遗传物质的改造，不会遗传给子代的是

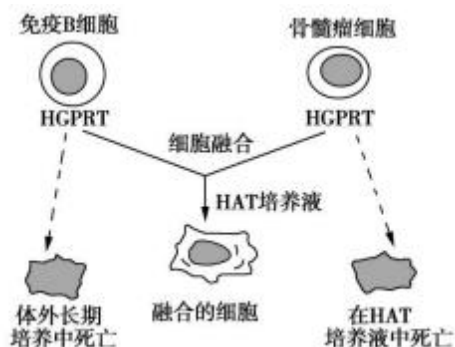
- A. 将胰岛素基因表达质粒转入大肠杆菌，筛选获得基因工程菌
- B. 将花青素代谢基因导入植物体细胞，经组培获得花色变异植株
- C. 将肠乳糖酶基因导入奶牛受精卵，培育出产低乳糖牛乳的奶牛
- D. 将腺苷酸脱氨酶基因转入淋巴细胞后回输患者，进行基因治疗

2. (2019江苏卷·16) 下列生物技术操作对遗传物质的改造，不会遗传给子代的是

- A. 将胰岛素基因表达质粒转入大肠杆菌，筛选获得基因工程菌
- B. 将花青素代谢基因导入植物体细胞，经组培获得花色变异植株
- C. 将肠乳糖酶基因导入奶牛受精卵，培育出产低乳糖牛乳的奶牛
- D. 将腺苷酸脱氨酶基因转入淋巴细胞后回输患者，进行基因治疗

3. (2019江苏卷·23) 下图为杂交瘤细胞制备示意图。骨髓瘤细胞由于缺乏次黄嘌呤磷酸核糖转移酶

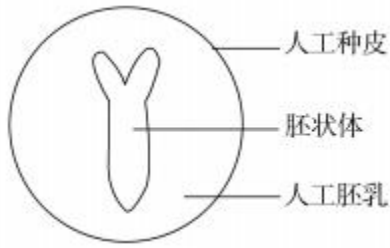
(HGPRT)，在HAT筛选培养液中不能正常合成DNA，无法生长。下列叙述正确的是



- A. 可用灭活的仙台病毒诱导细胞融合
- B. 两两融合的细胞都能在HAT培养液中生长
- C. 杂交瘤细胞需进一步筛选才能用于生产

D. 细胞膜的流动性是细胞融合的基础

4. (2019 全国卷 II·38) 植物组织培养技术在科学研究和生产实践中得到了广泛的应用。回答下列问题。



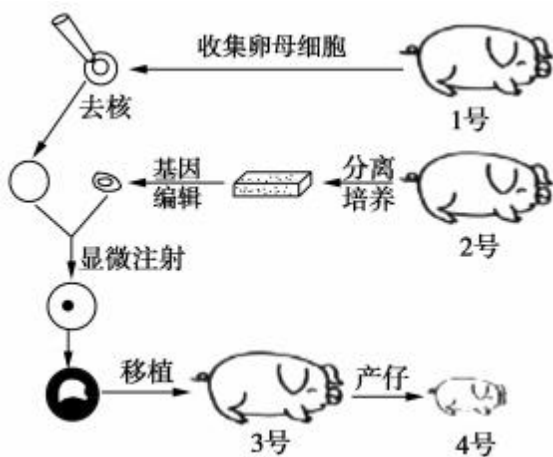
(1) 植物微型繁殖是植物繁殖的一种途径。与常规的种子繁殖方法相比，这种微型繁殖技术的特点有_____（答出2点即可）。

(2) 通过组织培养技术，可把植物组织细胞培养成胚状体，再通过人工种皮（人工薄膜）包装得到人工种子（如图所示），这种人工种子在适宜条件下可萌发生长。人工种皮具备透气性的作用是_____。人工胚乳能够为胚状体生长提供所需的物质，因此应含有植物激素、_____和_____等几类物质

(3) 用脱毒苗进行繁殖，可以减少作物感染病毒。为了获得脱毒苗，可以选取植物的_____进行组织培养。

(4) 植物组织培养技术与基因工程技术相结合获得转基因植株。将含有目的基因的细胞培养成一个完整植株的基本程序是_____（用流程图表示）。

5. (2019江苏卷·29) 利用基因编辑技术将病毒外壳蛋白基因导入猪细胞中，然后通过核移植技术培育基因编辑猪，可用于生产基因工程疫苗。下图为基因编辑猪培育流程，请回答下列问题：



(1) 对1号猪使用_____处理，使其超数排卵，收集并选取处在_____时期的卵母细胞用于核移植。

(2) 采集2号猪的组织块，用_____处理获得分散的成纤维细胞，放置于37 ℃的CO₂培养箱中培

养，其中CO₂的作用是_____。

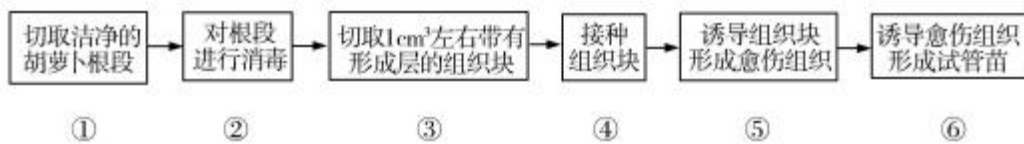
(3) 为获得更多基因编辑猪，可在胚胎移植前对胚胎进行_____。产出的基因编辑猪的性染色体

来自于_____号猪。

(4) 为检测病毒外壳蛋白基因是否被导入4号猪并正常表达, 可采用的方法有_____ (填序号)。

- ①DNA测序
- ②染色体倍性分析
- ③体细胞结构分析
- ④抗原—抗体杂交

6. (2019 全国卷 III·38) 培养胡萝卜根组织可获得试管苗, 获得试管苗的过程如图所示。



回答下列问题。

(1) 利用胡萝卜根段进行组织培养可以形成试管苗。用分化的植物细胞可以培养成完整的植株, 这是因为植物细胞具有_____。

(2) 步骤③切取的组织块中要带有形成层, 原因是_____。

(3) 从步骤⑤到步骤⑥需要更换新的培养基, 其原因是_____。在新的培养基上愈伤组织通过细胞的_____过程, 最终可形成试管苗。

(4) 步骤⑥要进行照光培养, 其作用是_____。

(5) 经组织培养得到的植株, 一般可保持原品种的_____, 这种繁殖方式属于_____繁殖。

7. (2019 江苏卷·33) (8分) 图1是某基因工程中构建重组质粒的过程示意图, 载体质粒 P0 具有四环素抗性基因 (*ter*) 和氨苄青霉素抗性基因 (*amp^r*)。请回答下列问题:

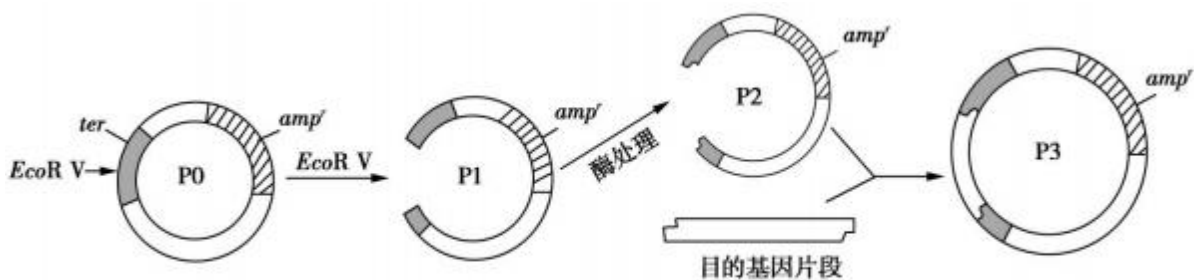


图1



(1) *EcoR V* 酶切位点为 ... CTA ↑ TAG ..., *EcoR V* 酶切出来的线性载体 P1 为_____末端。

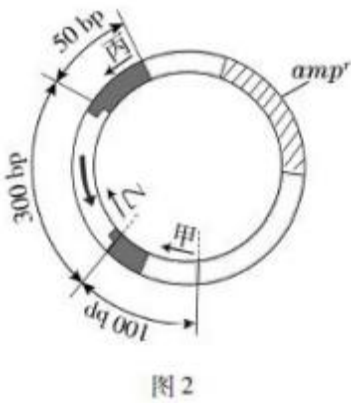
(2) 用 *Taq* DNA 聚合酶进行 PCR 扩增获得的目的基因片段, 其两端各自带有一个腺嘌呤脱氧核苷酸。

载体 P1 用酶处理，在两端各添加了一个碱基为_____的脱氧核苷酸，形成 P2；P2 和目的基因片段在
_____酶作用下，形成重组质粒 P3。

(3) 为筛选出含有重组质粒 P3 的菌落，采用含有不同抗生素的平板进行筛选，得到 A、B、C 三类菌落，其生长情况如下表（“+”代表生长，“-”代表不生长）。根据表中结果判断，应选择的菌落是_____（填表中字母）类，另外两类菌落质粒导入情况分别是_____、_____。

菌落类型平板类	A	B	C
型			
无抗生素	+	+	+
氨苄青霉素	+	+	-
四环素	+	-	-
氨苄青霉素+四环素	+	-	-

(4) 为鉴定筛选出的菌落中是否含有正确插入目的基因的重组质粒，拟设计引物进行 PCR 鉴定。图 2 所示为甲、乙、丙 3 条引物在正确重组质粒中的相应位置，PCR 鉴定时应选择的一对引物是_____。某学生尝试用图中另外一对引物从某一菌落的质粒中扩增出了 400bp 片段，原因是_____。



8. (2019北京卷·31) 光合作用是地球上最重要的化学反应，发生在高等植物、藻类和光合细菌中。

(1) 地球上生命活动所需的能量主要来源于光反应吸收的_____，在碳（暗）反应中，RuBP 羧化酶（R酶）催化CO₂与RuBP（C₅）结合，生成2分子C₃，影响该反应的外部因素，除光照条件外还包括_____（写出两个）；内部因素包括_____（写出两个）。

(2) R酶由8个大亚基蛋白（L）和8个小亚基蛋白（S）组成。高等植物细胞中L由叶绿体基因编码并在叶绿体中合成，S由细胞核基因编码并在_____中由核糖体合成后进入叶绿体，在叶绿体的_____中与L组装成有功能的酶。

(3) 研究发现, 原核生物蓝藻(蓝细菌) R酶的活性高于高等植物, 有人设想通过基因工程技术将蓝藻R酶的S、L基因转入高等植物, 以提高后者的光合作用效率。研究人员将蓝藻S、L基因转入某高等植物(甲)的叶绿体DNA中, 同时去除甲的L基因。转基因植株能够存活并生长。检测结果表明, 转基因植株中的R酶活性高于未转基因的正常植株。

①由上述实验能否得出“转基因植株中有活性的R酶是由蓝藻的S、L组装而成”的推测？请说明理由。

②基于上述实验，下列叙述中能够体现生物统一性的选项包括_____。

- a. 蓝藻与甲都以DNA作为遗传物质
- b. 蓝藻与甲都以R酶催化CO₂的固定
- c. 蓝藻R酶大亚基蛋白可在甲的叶绿体中合成
- d. 在蓝藻与甲的叶肉细胞中R酶组装的位置不同

9. (2019 全国卷 I ·38) 基因工程中可以通过 PCR 技术扩增目的基因。回答下列问题。

(1) 基因工程中所用的目的基因可以人工合成，也可以从基因文库中获得。基因文库包括_____和_____。

(2) 生物体细胞内的DNA复制开始时，解开DNA双链的酶是_____。在体外利用PCR技术扩增目的基因时，使反应体系中的模板DNA解链为单链的条件是_____。上述两个解链过程的共同点是破坏了DNA双链分子中的_____。

(3) 目前在 PCR 反应中使用 *Taq* 酶而不使用大肠杆菌 DNA 聚合酶的主要原因是_____。

1. (2018·全国卷 II) 某种荧光蛋白(GFP)在紫外光或蓝光激发下会发出绿色荧光，这一特性可用于检测细胞中的基因表达。某科研团队将某种病毒的外壳蛋白(L1)基因连接在 GFP 基因的 5'末端获得了 L1-GFP 融合基因(简称为甲)，并将其插入质粒 P0，构建了真核表达载体 P1，其部分结构和酶切位点的示意图如下，

图中 E1~E4 四种限制酶产生的黏性末端各不相同。



回答下列问题：

(1)据图推断，该团队在将甲插入质粒 P0 时，使用了两种限制酶，这两种酶是_____，使用这两种酶进行酶切是为了保证_____，也是为了保证_____。

(2)将 P1 转入体外培养的牛皮肤细胞后，若在该细胞中观察到了绿色荧光，则说明 L1 基因在牛的皮肤细胞中完成了_____和_____过程。

(3)为了获得含有甲的牛，该团队需要做的工作包括：将能够产生绿色荧光的细胞的_____移入牛的

_____中，体外培养，胚胎移植等。

(4)为了检测甲是否存在于克隆牛的不同组织细胞中，某同学用 PCR 方法进行鉴定，在鉴定时应分别以该牛不同组织细胞中的 _____(填“mRNA”“总 RNA”或“核 DNA”)作为 PCR 模板。

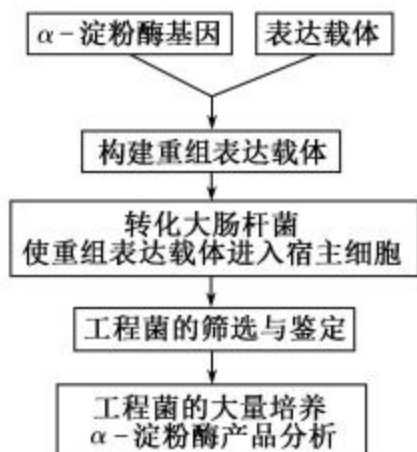
2. (2018·全国卷 I)回答下列问题:

(1)博耶(H. Boyer)和科恩(S. Cohen)将非洲爪蟾核糖体蛋白基因与质粒重组后导入大肠杆菌细胞中进行了表达。该研究除证明了质粒可以作为载体外,还证明了_____。(答出两点即可)。

(2)体外重组的质粒可通过 Ca^{2+} 参与的_____方法导入大肠杆菌细胞;而体外重组的噬菌体 DNA 通常需与_____组装成完整噬菌体后,才能通过侵染的方法将重组的噬菌体 DNA 导入宿主细胞。在细菌、心肌细胞、叶肉细胞中,可作为重组噬菌体宿主细胞的是_____。

(3)真核生物基因(目的基因)在大肠杆菌细胞内表达时,表达出的蛋白质可能会被降解。为防止蛋白质被降解,在实验中应选用_____的大肠杆菌作为受体细胞,在蛋白质纯化的过程中应添加_____的抑制剂。

3. (2018·江苏高考)为生产具有特定性能的 α -淀粉酶,研究人员从某种海洋细菌中克隆了 α -淀粉酶基因(1656 个碱基对),利用基因工程大量制备 α -淀粉酶,实验流程如图。请回答下列问题:



(1)利用 PCR 技术扩增 α -淀粉酶基因前,需先获得细菌的_____。

(2)为了便于扩增的 DNA 片段与表达载体连接,需在引物的_____端加上限制性酶切位点,且常在两条引物上设计加入不同的限制性酶切位点,主要目的是_____。

(3)进行扩增时,反应的温度和时间需根据具体情况进行设定,下列选项中_____的设定与引物有关,_____的设定与扩增片段的长度有关。(填序号)

①变性温度 ②退火温度 ③延伸温度 ④变性时间

⑤退火时间 ⑥延伸时间

(4)如图表示筛选获得的工程菌中编码 α -淀粉酶的mRNA 的部分碱基序列:

5' — AUGCCAUCAACAAAUACUAACACU U..... — 3'

图中虚线框内mRNA 片段包含_____个密码子，如虚线框后的序列未知，预测虚线框后的第一个密码子最多有_____种。

(5)获得工程菌表达的 α -淀粉酶后，为探究影响酶活性的因素，以浓度为 1%的可溶性淀粉为底物测定酶活性，结果如表所示：

缓冲液	50/(mmol/L) Na ₂ HPO ₄ —KH ₂ PO ₄				50/(mmol/L) Tris—HCl				50/(mmol/L) Gly—NaOH				
	pH	6.0	6.5	7.0	7.5	7.5	8.0	8.5	9.0	9.0	9.5	10.0	10.5
酶相对活性/%		25.4	40.2	49.8	63.2	70.1	95.5	99.5	85.3	68.1	63.7	41.5	20.8

根据上述实验结果，初步判断该 α -淀粉酶活性最高的条件为_____。

1. (2017 年江苏卷，11)牛雄性胚胎中存在特异性 H-Y 抗原，可在牛早期胚胎培养液中添加 H-Y 单克隆抗体，筛选胚胎进行移植，以利用乳腺生物反应器进行生物制药。下列相关叙述正确的是()

- A. H-Y 单克隆抗体由骨髓瘤细胞分泌 B. 应选用原肠胚做雌雄鉴别
C. 鉴别后的雄性胚胎可直接做胚胎移植 D. 用 H-Y 抗原免疫母牛可获得相应抗体

2. (2017 年新课标 II 卷，38)几丁质是许多真菌细胞壁的重要成分，几丁质酶可催化几丁质水解。通过基因工程将几丁质酶基因转入植物体内，可增强其抗真菌病的能力。回答下列问题：

(1) 在进行基因工程操作时，若要从植物体中提取几丁质酶的 mRNA，常选用嫩叶而不选用老叶作为实验材料，原因是_____。提取 RNA 时，提取液中需添加 RNA 酶抑制剂，其目的是_____。

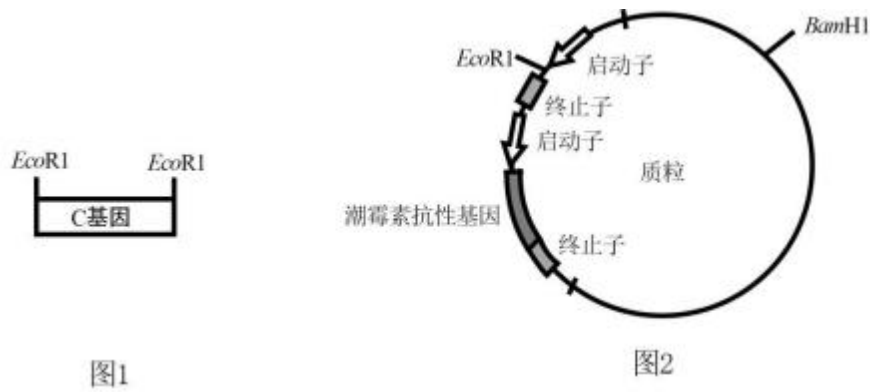
(2) 以 mRNA 为材料可以获得 cDNA，其原理是_____。

(3) 若要使目的基因在受体细胞中表达，需要通过质粒载体而不能直接将目的基因导入受体细胞，原因是_____（答出两点即可）。

(4) 当几丁质酶基因和质粒载体连接时，DNA 连接酶催化形成的化学键是_____。

(5) 若获得的转基因植株（几丁质酶基因已经整合到植物的基因组中）抗真菌病的能力没有提高，根据中心法则分析，其可能的原因是_____。

3. (2017年北京卷, 5) 为了增加菊花花色类型, 研究者从其他植物中克隆出花色基因 C (图 1), 拟将其与质粒 (图 2) 重组, 再借助农杆菌导入菊花中。

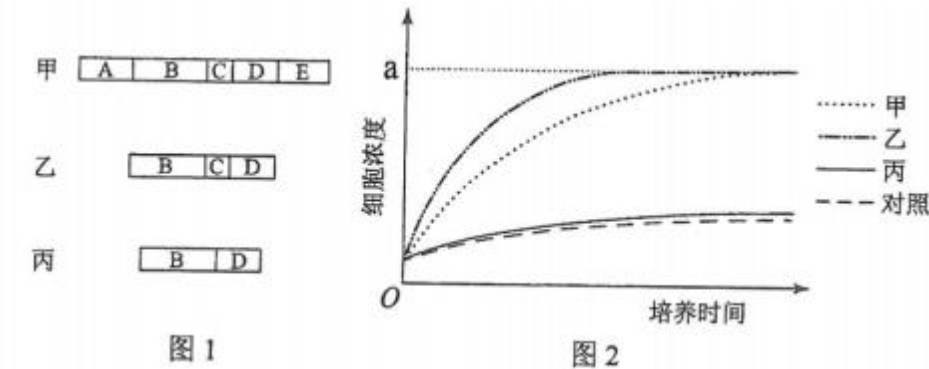


下列操作与实验目的不符的是()

- A. 用限制性核酸内切酶 EcoRI 和连接酶构建重组质粒
- B. 用含 C 基因的农杆菌侵染菊花愈伤组织，将 C 基因导入细胞
- C. 在培养基中添加卡那霉素，筛选被转化的菊花细胞
- D. 用分子杂交方法检测 C 基因是否整合到菊花染色体上

4. (2017 年新课标 III 卷，38) 编码蛋白甲的 DNA 序列 (序列甲) 由 A、B、C、D、E 五个片段组成，

编码蛋白乙和丙的序列由序列甲的部分片段组成，如图 1 所示。



回答下列问题：

(1) 现要通过基因工程的方法获得蛋白乙，若在启动子的下游直接接上编码蛋白乙的 DNA 序列 (TTCGCTTCT...CAGGAAGGA)，则所构建的表达载体转入宿主细胞后不能翻译出蛋白乙，原因是

_____。

(2) 某同学在用 PCR 技术获取 DNA 片段 B 或 D 的过程中，在 PCR 反应体系中加入了 DNA 聚合酶、引物等，还加入了序列甲作为_____，加入了_____作为合成 DNA 的原料。

(3) 现通过基因工程方法获得了甲、乙、丙三种蛋白，要鉴定这三种蛋白是否具有刺激 T 淋巴细胞增殖的作用，某同学做了如下实验：将一定量的含 T 淋巴细胞的培养液平均分成四组，其中三组分别加入等

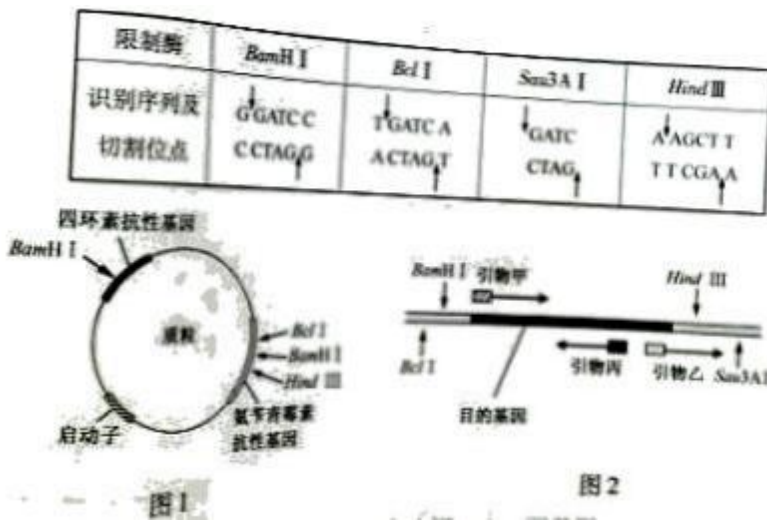
量的蛋白甲、乙、丙，另一组作为对照，培养并定期检测 T 淋巴细胞浓度，结果如图 2。

①由图 2 可知，当细胞浓度达到 a 时，添加蛋白乙的培养液中 T 淋巴细胞浓度不再增加，此时若要使

T 淋巴细胞继续增殖，可采用的方法是_____。细胞培养过程中，培养箱中通常要维持一定的 CO₂ 浓度，CO₂ 的作用是_____。

②仅根据图、图 2 可知，上述甲、乙、丙三种蛋白中，若缺少_____（填“A”“B”“C”“D”或“E”）片段所编码的肽段，则会降低其刺激 T 淋巴细胞增殖的效果。

1. (2016 江苏卷.33) (9 分) 下表是几种限制酶识别序列及其切割位点，图 1、图 2 中标注了相关限制酶的酶切位点，其中切割位点相同的酶不重复标注。请回答下列问题：



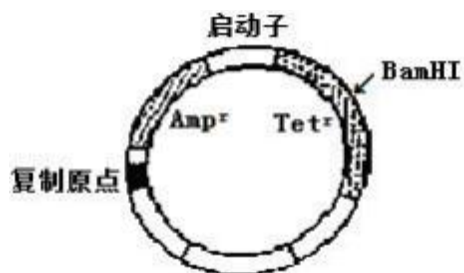
(1) 用图中质粒和目的基因构建重组质粒，应选用_____两种限制酶切割，酶切后的载体和目的基因片段，通过_____酶作用后获得重组质粒。为了扩增重组质粒，需将其转入处于_____态的大肠杆菌。

(2) 为了筛选出转入了重组质粒的大肠杆菌，应在筛选平板培养基中添加_____，平板上长出的菌落，常用 PCR 鉴定，所用的引物组成为图 2 中_____。

(3) 若 *Bam*H I 酶切的 DNA 末端与 *Bcl* I 酶切的 DNA 末端连接，连接部位的 6 个碱基对序列为_____，对于该部位，这两种酶_____（填“都能”、“都不能”或“只有一种能”）切开。

(4) 若用 *Sau*3A I 切图 1 质粒最多可能获得_____种大小不同的 DNA 片段。

2. (2016 课标 1 卷.40) 某一质粒载体如图所示，外源 DNA 插入到 Amp^r 或 Tet^r 中会导致相应的基因失活（Amp^r 表示氨苄青霉素抗性基因，Tet^r 表示四环素抗性基因）。有人将此质粒载体用 *Bam*HI 酶切后，与用 *Bam*HI 酶切获得的目的基因混合，加入 DNA 连接酶进行连接反应，用得到的混合物直接转化大肠杆菌，结果大肠杆菌有的未被转化，有的被转化。被转化的大肠杆菌有三种，分别是含有环状目的基因、含有质粒载体、含有插入了目的基因的重组质粒的大肠杆菌。回答下列问题：



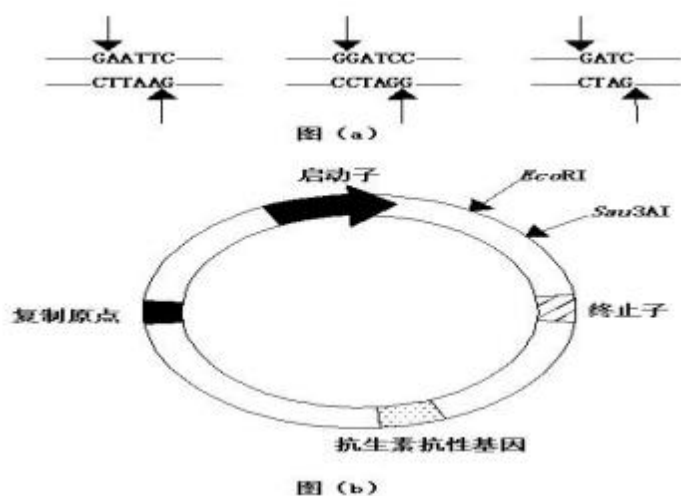
(1) 质粒载体作为基因工程的工具，应具备的基本条件有_____（答出两点即可）。

而作为基因表达载体，除满足上述基本条件外，还需具有启动子和终止子。

(2) 如果用含有氨苄青霉素的培养基进行筛选，在上述四种大肠杆菌细胞中，未被转化的和仅含有环状目的基因的细胞是不能区分的，其原因是_____；并且_____和_____的细胞也是不能区分的，其原因是_____。在上述筛选的基础上，若要筛选含有插入了目的基因的重组质粒的大肠杆菌的单菌落，还需使用含有是_____的固体培养基。

(3) 基因工程中，某些噬菌体经改造后可以作为载体，其 DNA 复制所需的原料来自于_____

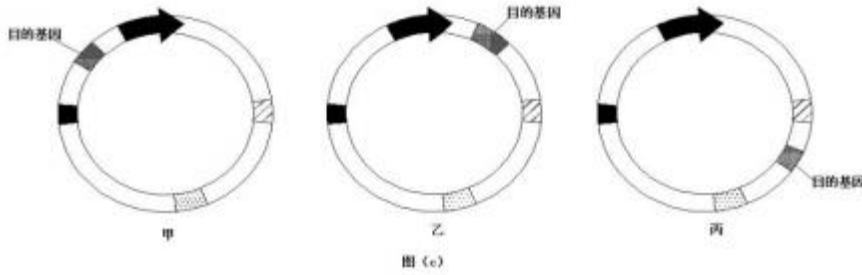
3. (2016 新课标III卷.40) 图 (a) 中的三个 DNA 片段上依次表示出了 EcoR I、BamH I 和 Sau3A I 三种限制性内切酶的识别序列与切割位点，图 (b) 为某种表达载体示意图 (载体上的 EcoR I、Sau3A I 的切点是唯一的)。



根据基因工程的有关知识，回答下列问题：

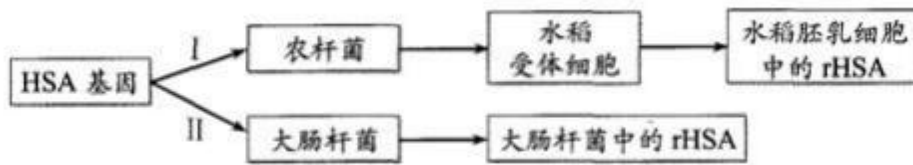
(1) 经 BamH I 酶切割得到的目的基因可以与上述表达载体被_____酶切后的产物连接，理由是_____。

(2) 若某人利用图 (b) 所示的表达载体获得了甲、乙、丙三种含有目的基因的重组子，如图 (c) 所示。这三种重组子中，不能在宿主细胞中表达目的基因产物的有_____，不能表达的原因是_____。

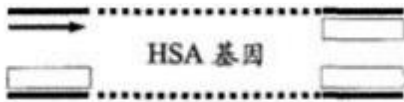


(3) DNA 连接酶是将两个 DNA 片段连接起来的酶，常见的有_____和_____，其中既能连接黏性末端又能连接平末端的是_____。

4. (2016 天津卷.7) (12 分)人血清白蛋白(HSA) 具有重要的医用价值，只能从血浆中制备。下图是以基因工程技术获取重组 HSA (rHSA) 的两条途径。



(1) 获取 HSA 基因，首先需采集人的血液，提取_____合成总 cDNA，然后以 cDNA 为模板，采用 PCR 技术扩增 HSA 基因。下图中箭头表示一条引物结合模板的位置及扩增方向，请用箭头在方框内标出另一条引物的位置及扩增方向。



(2) 启动子通常具有物种及组织特异性，构建在水稻胚乳细胞内特异表达rHSA 的载体，需要选择的启动子是_____ (填写字母，单选)。

- A.人血细胞启动子 B.水稻胚乳细胞启动子 C.大肠杆菌启动子 D.农杆菌启动子

(3) 利用农杆菌转化水稻受体细胞的过程中，需添加酚类物质，其目的是_____。

(4) 人体合成的初始 HSA 多肽，需要经过膜系统加工形成正确的空间结构才能有活性。与途径 II 相

比，选择途径 I 获取 rHSA 的优势是_____。

(5) 为证明rHSA 具有医用价值，须确认rHSA 与_____的生物学功能一致。

6. (2016 海南卷.31) 基因工程又称为 DNA 重组技术，回答相关问题：

(1) 在基因工程中，获取目的基因主要有两大途径，即_____和从_____中分离。

(2) 利用某植物的成熟叶片为材料，同时构建cDNA 文库和基因组文库，两个文库相比，cDNA 文库

中含有的基因数目比基因组文库中的少，其原因是_____。

(3) 在基因表达载体中，启动子是_____聚合酶识别并结合的部位。若采用原核生物作为基因表达载

体的受体细胞，最常用的原核生物是_____。

(4) 将目的基因通过基因枪法导入植物细胞时，常用的携带目的基因的金属颗粒有_____和_____颗粒。

7. (2016 上海卷.九) 回答下列有关遗传信息传递与表达的问题。

在图 27 所示的质粒 pZHZ11 (总长为 3.6kb, 1kb=1000 对碱基) 中, *lacZ* 基因编码 β -半乳糖苷酶, 后者催化生成的化合物能将白色的大肠杆菌染成蓝色。

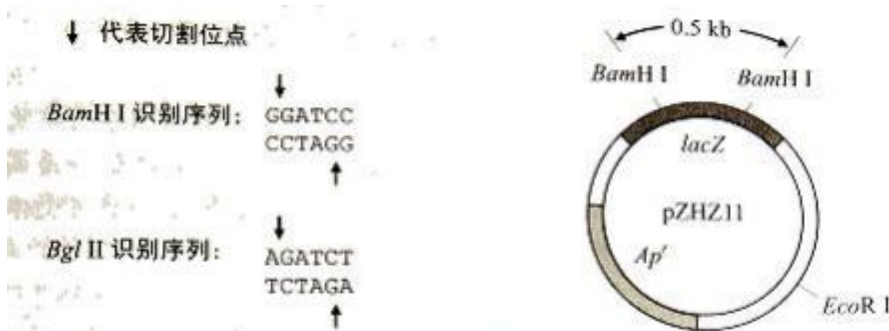


图 27

68.若先用限制酶 *Bam*HI 切开 pZHZ11, 然后灭活 *Bam*HI 酶, 再加 DNA 连接酶进行连接, 最后将连接物导入足够数量的大肠杆菌细胞中, 则含 3.1kb 质粒的细胞颜色为; 含 3.6kb 质粒的细胞颜色为。

69.若将两端分别用限制酶 *Bam*HI 和 *Bgl*II 切开的单个目的基因片段置换 pZHZ11 中 0.5kb 的 *Bam*HI 酶切片段, 形成 4.9kb 的重组质粒, 则目的基因长度为 kb。

70.上述 4.9kb 的重组质粒有两种形式, 若用 *Bam*HI 和 *Eco*RI 联合酶切其中一种, 只能获得 1.7kb 和 3.2kb 两种 DNA 片段; 那么联合酶切同等长度的另一种重组质粒, 则可获得 kb 和 kb 两种 DNA 片段。

71.若将人的染色体 DNA 片段先导入大肠杆菌细胞中克隆并鉴定目的基因, 然后再将获得的的目的基因转入植物细胞中表达, 最后将产物的药物蛋白注入小鼠体内观察其生物功能是否发挥, 那么上述过程属于。

- A.人类基因工程 B.动物基因工程 C.植物基因工程 D.微生物基因工程

专题 15 基因工程与细胞工程

考情解读

1. 近五年的全国卷高考试题中对于基因工程的考查频度较高，侧重考查操作工具的种类、功能以及操作基本程序的应用等。动物细胞工程技术中的核移植技术及单克隆抗体的制备也有所考查。

2. 题目常借助简洁的文字材料或模式图等考查有关基因工程、动物细胞工程的原理、技术手段等，尤为注重对教材中一些关键词的填充及对结论性语句的准确表述等。

3. 备考时，应从以下四个方面入手复习：

(1) 列表比较法掌握限制酶、DNA 连接酶和载体的作用。

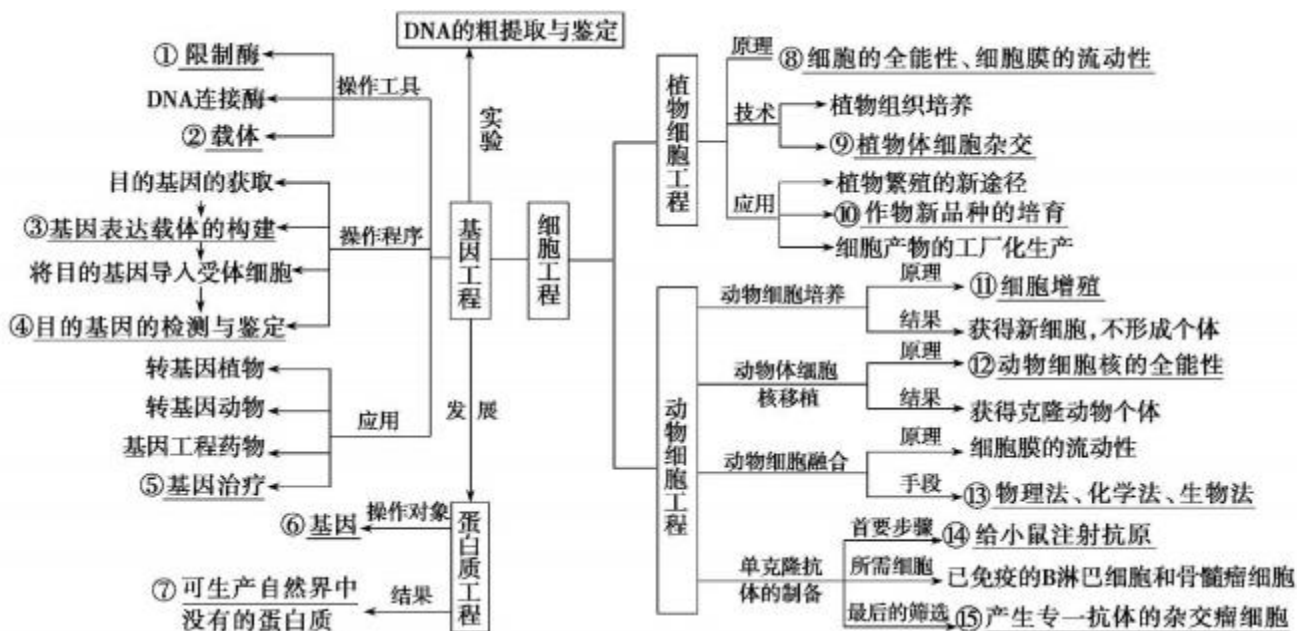
(2) 实例分析法理解基因工程的原理和过程。

(3) 列表比较法理解两个不同，即植物组织培养和动物细胞培养的不同、植物体细胞杂交与动物细胞融合的不同。

(4) 图解法分析并掌握单克隆抗体制备过程。

重点知识梳理

【知识网络】



知识点一、基因工程

1. 基因工程的基本工具

	限制酶	DNA 连接酶	(运)载体
--	-----	---------	-------

作用	切割目的基因和载体	拼接 DNA 片段形成 重组 DNA	携带目的基因进入受体细胞
作用部位	两核苷酸的脱氧核糖与磷酸间形成的磷酸二酯键		-----
作用特点 (条件)	①识别特定的核苷酸序列 ②在特定位点上切割	① <i>E·coli</i> DNA 连接酶只能连接黏性末端 ②T ₄ DNA 连接酶能连接黏性末端和平(口)末端	①能在宿主细胞内稳定存在并大量复制 ②有一个或多个限制酶切割位点 ③具有特殊的标记基因

2. 基因工程的操作步骤

(1) 目的基因的获取:

- ①从基因文库中获取。
- ②利用 PCR 技术扩增。
- ③用化学方法直接人工合成。

(2) 基因表达载体的构建:

- ①基因表达载体的组成: 目的基因+启动子+终止子+标记基因。
- ②基因表达载体的构建方法:



(3)将目的基因导入受体细胞:

	植物细胞	动物细胞	微生物细胞
常用方法	农杆菌转化法、基因枪法、花粉管通道法	显微注射技术	感受态细胞法 (用 Ca ²⁺ 处理)

受体 细胞	受精卵、体细胞	受精卵	原核细胞
----------	---------	-----	------

(4) 目的基因的检测与鉴定:

①目的基因插入检测: DNA 分子杂交。

- ②目的基因转录检测：(核酸)分子杂交。
- ③目的基因翻译检测：抗原—抗体杂交。
- ④个体生物学水平检测：根据目的基因表达出的性状判断。

知识点二、细胞工程

1. 动物细胞培养与植物组织培养的比较

项目	动物细胞培养	植物组织培养
培养前处理	无菌、用胰蛋白酶处理，使组织细胞相互分散开	无菌、离体
培养基成分	葡萄糖、氨基酸、无机盐、促生长因子、微量元素、动物血清等	矿质元素、蔗糖、维生素、植物激素等
培养基状态	液体培养基	固体培养基
项目	动物细胞培养	植物组织培养
过程	动物胚胎或出生不久的幼龄动物的器官或组织→原代培养→传代培养→细胞群	离体的植物器官、组织或细胞——→愈伤组织——→根、芽——→植物体 脱分化 再分化
能否培养成个体	不能	能
应用举例	大规模生产有重要价值的生物制品，如病毒疫苗、干扰素、单克隆抗体等；皮肤移植；检测有毒物质的毒性等	快速繁殖、培育无病毒植株；生产药物；制造人工种子；培育转基因作物等

2. 植物体细胞杂交和动物细胞融合的比较

项目	植物体细胞杂交	动物细胞融合(单克隆抗体的制备)
理论基础(原理)	细胞膜的流动性、细胞的全能性	细胞膜的流动性、细胞增殖

融合前处理	酶解法去除细胞壁(纤维素酶、果胶酶等)	注射特定抗原，免疫小鼠，获取(效应)B淋巴细胞
促融	①物理法：离心、振动、电激等；	①物化法：与植物细胞融合相同；②生物

	②化学法：聚乙二醇(PEG)	法：灭活的仙台病毒
过程	第一步：原生质体的制备；第二步：原生质体的融合；第三步：杂种细胞的筛选与培养；第四步：杂种植株的诱导与鉴定	第一步：正常小鼠免疫处理；第二步：动物细胞融合；第三步：杂交瘤细胞筛选与培养；第四步：单克隆抗体的提纯
用途	①克服远缘杂交不亲和的障碍，大大扩展杂交亲本的组合范围；②克服有性杂交的母系遗传，获得细胞质基因的杂合子，研究细胞质遗传	①制备单克隆抗体；②诊断、治疗疾病，如生物导弹

3. 动物细胞核移植和单克隆抗体

(1)动物细胞核移植：

供体体细胞→细胞培养→体细胞(核)

↓注入

卵母细胞→减Ⅱ中期去核→无核卵母细胞→重组细胞→

重组胚胎→代孕母牛→生出与供体遗传性状相同的个体。

(2)单克隆抗体：

①单克隆抗体的制备过程：

培养骨髓瘤细胞 | 融合

免疫小鼠→B淋巴细胞 | ———→多种杂交细胞→在具有筛选作用的培养基上培养→克隆筛选出的杂

交细胞→将不同种杂交细胞分开，并克隆专一抗体，检验阳性细胞→注射到小鼠体内或体外培养→获得单克隆抗体。

②杂交瘤细胞的特点：既能迅速大量繁殖，又能产生专一性抗体。

③单克隆抗体的优点：特异性强、灵敏度高、产量大。

高频者点突破

高频考点一 基因工程

例 1. (2019 全国卷 I ·38) 基因工程中可以通过 PCR 技术扩增目的基因。回答下列问题。

(1) 基因工程中所用的目的基因可以人工合成, 也可以从基因文库中获得。基因文库包括_____和

_____。

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/487112165143006160>