

游带有调控该基因表达的 Poly(A), 重组后 Poly(A) 随 II 片段转移到另一个重组 DNA 上, Cre 基因可能因缺少 Poly(A) 无法表达。

(3) 当两个 LoxP 位点同向时(方式 1), Cre 酶切割后会切除

两个位点之间的目的基因, 实现目的基因敲除。当两个 LoxP 位点反向时(方式 2), 由于 DNA 双链反向平行, 目的基因被切下后翻转 180°, 形成的黏性末端相同, 两端的末端仍然可以互补配对, 因此会翻转后重新连接回原位置。

## 素养提升集训 2——生物工程综合

### 刷难关

**1. A 【解析】**选取小黑麦茎尖作为外植体进行植物组织培养, 由于茎尖分生区病毒极少甚至无病毒, 可制备脱毒苗, 但脱毒苗仅自身不含病毒, 不具备抵抗病毒侵染的特性, **A 符合题意**; 基因工程可定向改造生物的遗传性状, 将抗病毒基因导入小黑麦受体细胞后, 经植物组织培养和筛选可获得抗病毒植株, 方法可行, **B 不符合题意**; 植物体细胞杂交可打破生殖隔离, 将小黑麦与近缘抗病毒禾本科植物的体细胞融合后, 培育得到的杂种植株可同时具备双亲的遗传特性, 可能获得抗病毒能力, 方法可行, **C 不符合题意**; 蛋白质工程可通过定点突变改造相关基因, 进而改造对应蛋白质的结构和功能, 可使小黑麦获得抗病毒特性, 理论上可行, **D 不符合题意**。

**2. D 【解析】**转化是指目的基因进入受体细胞内, 并且在受体细胞内维持稳定和表达的过程, 图示过程使用了农杆菌转化法, **A 正确**; I 中筛选含目的基因的农杆菌, 需使用固体培养基, III 为植物组织培养的再分化过程, 也需要使用固体培养基,

→ **关键点:** 一般将受体菌通过稀释涂布平板法接种到选择培养基上, 根据菌落特征进行筛选

**B 正确**; DNA 分子杂交法可用于含目的基因的农杆菌的筛选, **C 正确**; SAMS 基因具有提高抗逆性的作用, 获得的转基因水稻幼苗不一定都具有抗盐碱的能力, 还需要将转基因水稻置于盐碱环境中进行鉴定, **D 错误**。

→ **关键点:** 转基因生物是否具有相应的性状, 还需要进行个体生物学水平的鉴定

**3. C 【解析】**若受体菌本身含相应的抗性基因, 则受体菌无论是否导入外源质粒, 在含氨苄青霉素、四环素的培养基中都会正常生长, 标记基因无法发挥作用, 故受体菌本身不应含氨苄青霉素抗性基因和四环素抗性基因, **A 正确**; 质粒 A 含氨苄青霉素抗性基因和四环素抗性基因, 重组质粒只含氨苄青霉素抗性基因, 若受体菌在含氨苄青霉素的培养基中正常生长, 则受体菌中可能含质粒 A 或重组质粒, 如菌落 1、2、3、4、5, 若受体菌能在含四环素的培养基中正常生长, 则受体菌含质粒 A, 如菌落 2、3、4, 因此可知抗生素甲为氨苄青霉素, 抗生素乙为四环素, 菌落 1、5 中细菌含重组质粒, **B、D 正确**, **C 错误**。

**4. AC 【解析】**扩增目的基因采用 PCR 技术, 该过程利用耐高温的(或热稳定的)DNA 聚合酶从引物 a、b 的 3'端进行子链合成, **A 正确**; 应将含目的基因的重组质粒导入绵羊的受精卵, 获得转基因绵羊, 要保证目的基因在绵羊乳腺细胞中特异性表达, 需要将目的基因与绵羊乳腺特异性表达的基因的启动子等调控元件重组, 使目的基因仅在乳腺细胞中启动转录, **B 错误**; 基因工程技术的核心工作是构建基因表达载体, 需要用到限制酶和 DNA 连接酶, **C 正确**; 将目的基因导入植物细胞常用农杆菌转化法, 显微注射法常用于将目的基因导入动物的受精卵, **D 错误**。

**5. A 【解析】**嵌合抗体的生产需要先对控制抗体合成的基因进行改造, 再通过基因表达得到嵌合抗体, 无法直接拼接不同抗体的蛋白质片段来获得功能正常的嵌合抗体, **A 错误**; 蛋白质工程是通过改造或合成基因, 对现有蛋白质进行改造或制造新蛋白质的技术, 本题通过改造基因生产人—鼠嵌合抗体, 属于蛋白质工程范畴, **B 正确**; 进行基因改造时, 需要用限制酶和 DNA 连接酶对相关片段进行切割和连接, **C 正确**; 人抗体的恒定区属于人体自身的物质, 不会被人体免疫系统攻击, 将鼠源抗体的恒定区替换为人抗体的恒定区后, 可避免人体对鼠源抗体产生免疫排斥反应, **D 正确**。

**6. (1) 提供原料和能量 激活 DNA 聚合酶 启动子和终止子**  
(2) 琼脂糖凝胶电泳 单位时间水解的果胶量 敲除  
(3) 营养供给充分、适宜温度 上清液 果胶甲酯酶溶解度低 酶的空间结构不会被破坏

**【解析】**(1) dNTP 是脱氧核苷三磷酸, 可以为 PCR 提供原料和能量, 缓冲液中加入  $Mg^{2+}$  的目的是激活 DNA 聚合酶。基因表达必须有启动子和终止子, 且目的基因必须插入启动子和终止子之间才能进行表达。

(2) 琼脂糖凝胶电泳可以检测 DNA, 通过与标准 DNA 对照, 判断是否存在对应的 DNA。获得转果胶甲酯酶基因的黑曲霉后, 通过抗原—抗体杂交技术或检测单位量的转基因黑曲霉单位时间水解的果胶量, 判断高产果胶甲酯酶黑曲霉工程菌是否构建成功。因黑曲霉自身某种蛋白质的物理和化学

性质与果胶酶相似,造成提取产物纯度不高,可以将该蛋白对应的基因敲除,使得该蛋白无法合成,从而获得高纯度的果胶甲酯酶。

(3) 发酵过程需保持营养供给充分、适宜温度、适宜 pH、充足的氧气等条件,保证发酵过程不受杂菌污染和菌体能正常生长。发酵结束后将发酵液进行离心处理后,果胶甲酯酶存在于上清液中,故取上清液进行果胶甲酯酶的分离和纯化工作。从获得“有活性的果胶甲酯酶沉淀物”可知,果胶甲酯酶在一定浓度的硫酸铵中溶解度低且该条件下酶的空间结构不会被破坏。

7. (1) CRISPR/Cas9 对不同个体的 DNA 特定位置进行切割,被切割的 DNA 修复时修复结果不同,最终导致的基因突变不同

(2) M II (或减数分裂 II 中)

(3) 降低组蛋白的甲基化程度,有利于与细胞分裂和分化相关基因的表达

(4) 遗传背景一致

【解析】(1) CRISPR/Cas9 对不同个体的 DNA 特定位置进行切割,被切割的 DNA 修复时修复结果不同,最终导致的基因突变不同,所以不同个体表现出不同程度的节律紊乱症状。

关键点: 被切割的 DNA 修复时会发生基因突变,基因突变具有不定向性

(2) M II 期卵母细胞才具备受精能力,且细胞质中含有激发细胞核全能性表达的物质和营养条件,因此实验中采集的卵母细胞通常在体外培养至 M II 期。

(3) 组蛋白去甲基化酶 Kdm4d 的 mRNA 经翻译产生组蛋白去甲基化酶,可以降低组蛋白的甲基化程度,有利于与细胞分裂和分化相关基因的表达。

(4) 第二代基因敲除猴是由 A6 的成纤维细胞进行克隆获得的,因此它们的基因组成相同。与第一代 BMALI 基因敲除猴模型相比,第二代猕猴模型用于研究生物节律紊乱及相关药物研发的优势是遗传背景一致。

8. (1) 终止子 复制原点 标记基因 BamH I

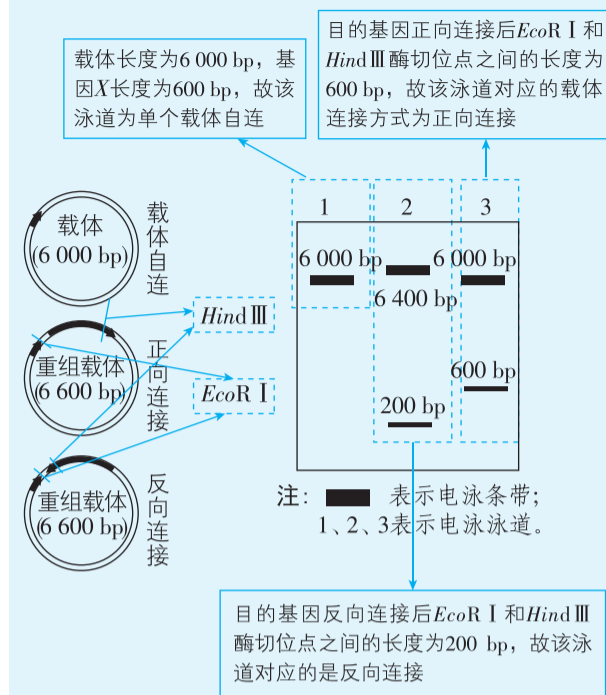
(2) 反向连接

(3) 细胞贴壁

(4) 分子杂交 传代

(5) 乳腺中特异表达的基因的启动子 乳腺生物反应器

### 题图解读



【解析】(1) 基因表达载体通常含有目的基因、启动子、终止子、复制原点、标记基因等结构。根据题意和图示分析可知, 由于 X 基因两边都有 BamH I 限制酶识别序列, 载体也含有该限制酶识别序列, 所以构建含 X 基因的表达载体时, 应选择图 1 中的 BamH I 限制酶进行酶切。

(2) 见题图解读。

(3) 进行动物细胞培养时, 需要用胰蛋白酶等将从动物体内取出的组织块分散成单个细胞。在适宜环境中培养, 细胞悬液中的细胞很快贴附在瓶壁上, 称为细胞贴壁。

(4) 将正向连接的重组载体导入神经干细胞后, 可用分子杂交技术检测基因 X 是否转录出 mRNA。当培养的神经干细胞达到一定密度时, 需要换瓶, 然后进行传代培养以得到更多数量的细胞, 用于神经干细胞移植治疗实验。

(5) 利用基因工程技术, 可以让哺乳动物批量生产药物。科学家将药用蛋白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, 通过显微注射的方法导入哺乳动物的受精卵中, 由这个受精卵发育成的转基因动物在进入泌乳期后, 可以通过分泌乳汁来生产所需要的药物, 这称为乳腺生物反应器。