

# 江苏省仪征中学 2020-2021 学年度第二学期高三生物学科导学单

## 课题 基因工程

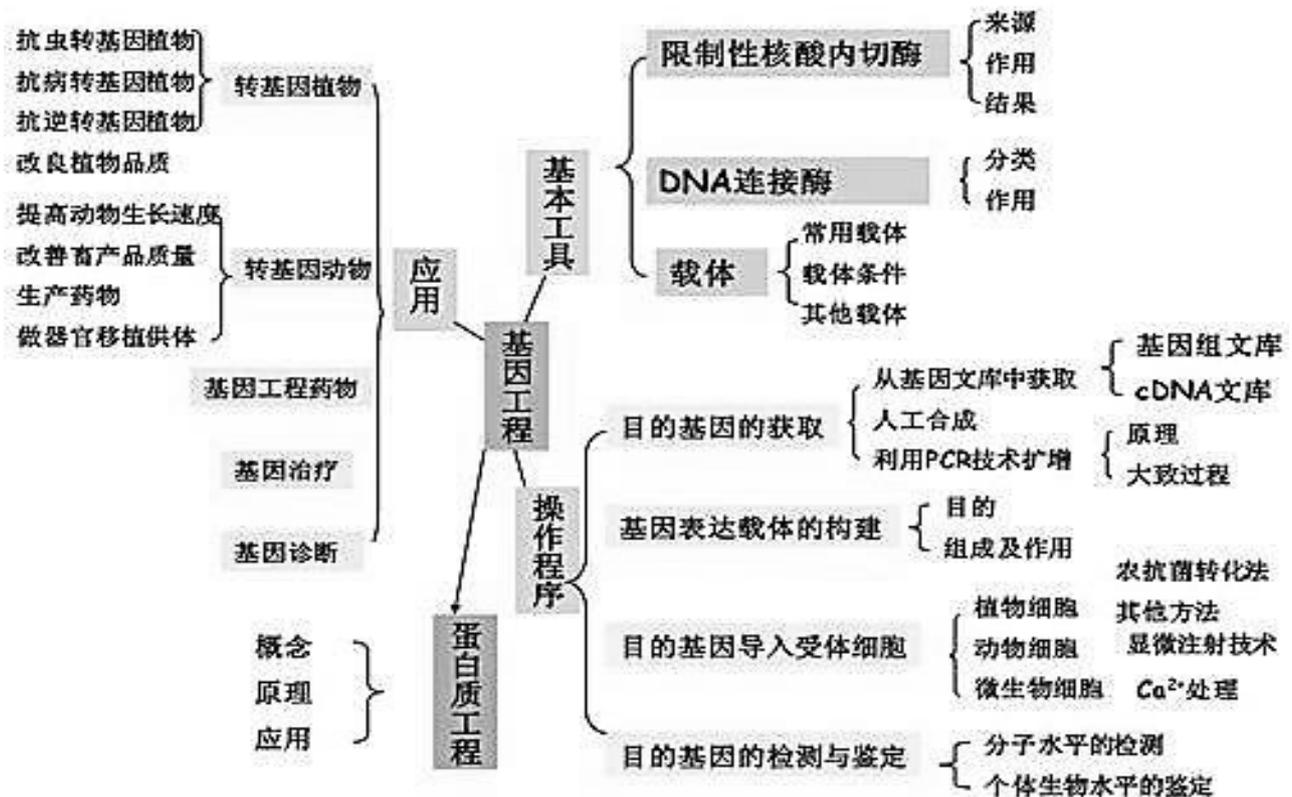
研制人：余荣娟

审核人：苏楠楠

授课时间：2021 年 5 月 20 日

### 【考点】

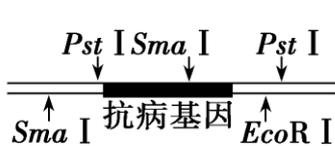
1. 基因工程的操作工具
2. 基因工程的操作程序
3. 蛋白质工程



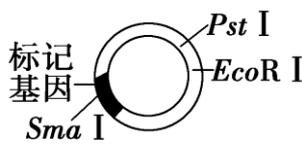
### 【导学】

### 【导思】

1. 限制酶选择技巧



图甲



图乙

①根据目的基因两端的限制酶切割位点确定限制酶的种类

- a. 应选择切割位点位于目的基因\_\_\_\_\_限制酶，如图甲可选择 Pst I。
- b. 不能选择切割位点位于目的基因\_\_\_\_\_限制酶，如图甲不能选择 Sma I。
- c. 为避免\_\_\_\_\_，也可使用不同的限制酶切割目的基因和质粒，如图甲也可选择用 Pst I 和 EcoR I 两种限制酶（但要确保质粒上也有这两种酶的切割位点）。

②根据质粒的特点确定限制酶的种类

- a. 所选限制酶要与切割目的基因的限制酶一致，以确保\_\_\_\_\_。
- b. 质粒作为载体必须具备\_\_\_\_\_等，所以所选择的限制酶尽量不要破坏这些结构，如图乙中限制酶 Sma I 会破坏标记基因；如果所选酶的切割位点不止一个，则切割重组后可能丢失某些片段，若丢失的片段含\_\_\_\_\_，则切割重组后的片段进入受体细胞后不能自主复制。

2. 构建基因表达载体：各元件的作用

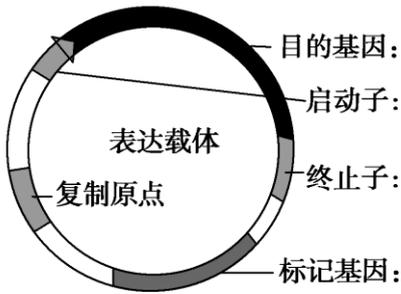


图1 酶切位点图



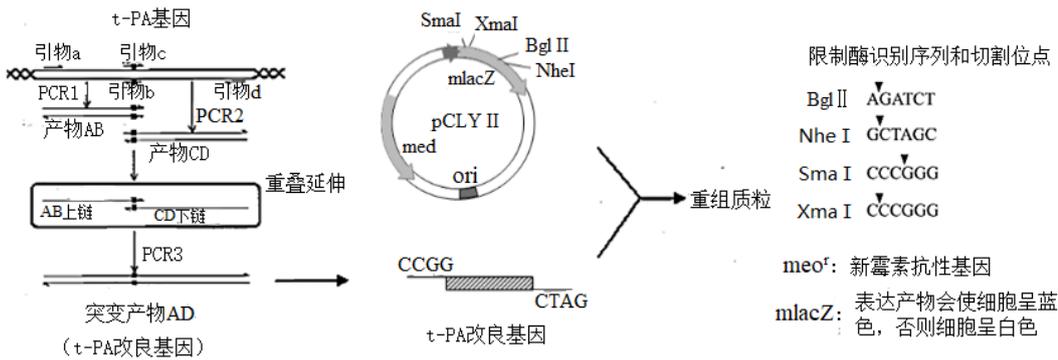
图2 电泳结果示意图

【导练】

1. 用 XhoI 和 SalI 两种限制性核酸内切酶分别处理同一 DNA 片段，酶切位点及酶切产物分离结果如图。以下叙述不正确的是 ( )

- A. 如图中两种酶识别的核苷酸序列不同
- B. 如图中酶切产物可用于构建重组 DNA
- C. 泳道①中是用 SalI 处理得到的酶切产物
- D. 图中被酶切的 DNA 片段是单链 DNA

2. 人体内的 t-PA 蛋白能高效降解血栓，是心梗和脑血栓的急救药，但大剂量使用会诱发颅内出血。如果将 t-PA 蛋白第 84 位的半胱氨酸换成丝氨酸，能显著降低出血副作用。先对天然的 t-PA 基因进行序列改造，然后在大肠杆菌中表达改造后的基因，可得到性能优异的改良 t-PA 蛋白。下图是通过重叠延伸 PCR 技术获取 t-PA 改良基因和利用质粒 pCLY II 构建含 t-PA 改良基因的重组质粒示意图(图中重叠延伸 PCR 过程中，引物 a、b 用来扩增含有突变位点的上游 DNA 序列，引物 c、d 用来扩增含突变位点的下游 DNA 序列)。请回答：



- (1) 生产改良 t-PA 蛋白的技术属于\_\_\_\_\_工程。
- (2) 已知 t-PA 蛋白第 84 位是半胱氨酸，相应的基因模板链(图中 t-PA 基因的上链)。上的碱基序列是 ACA，丝氨酸的密码子是 UCU。重叠延伸 PCR 示意图中的黑点表示突变部位的碱基，引物 b 中该部位的碱基是\_\_\_\_\_，引物 c 该部位的碱基是\_\_\_\_\_。PCR 中需要引物的原因是\_\_\_\_\_。
- (3) 重叠延伸 PCR 中，PCR1 和 PCR2 分别进行，产物混合后再进行 PCR3。PCR1 和 PCR2 需要分别进行的原因是\_\_\_\_\_。
- (4) 构建重组质粒时，选用的限制酶是\_\_\_\_\_。重组质粒中的新霉素抗性基因的作用是\_\_\_\_\_。
- (5) 在加入新霉素的培养基中能正常生长的大肠杆菌并非都是目的菌株，仍需选择呈\_\_\_\_\_色的菌落，进一步培养、检测和鉴定，以选育出能生产改良 t-PA 蛋白的工程菌。

【课后反思】

【课后练习】《世纪金榜》配套练习