



1.农杆菌介导的方法是将目的基因与农杆菌的 **Ti 质粒** 结合构建 **基因表达载体**；目的基因能否在番茄中稳定遗传的关键是 **番茄染色体DNA 上是否插入了目的基因**；检测受体细胞中是否存在目的基因可采用 **DNA 分子杂交** 技术。

2.请回答下列有关获取转基因植物的问题：

- (1) 对获取的目的基因可以通过 **PCR** 技术进行扩增。
- (2) 在构建基因表达载体时常用的工具酶是限制酶和 **DNA 连接酶**。若用一种限制酶进行切割，有可能出现目的基因和运载体在酶切后产生的末端发生任意连接，形成 **目的基因与目的基因、运载体与运载体** 和目的基因与运载体 3 种连接体。
- (3) 构建的基因表达载体除含有目的基因外，还必须有 **标记基因、启动子和终止子** 等。
- (4) 将目的基因导入植物细胞常采用的方法是 **农杆菌转化法**，该方法的主要优点是其运载体上含有 **T-DNA** 片段，可将目的基因插入到受体细胞 **染色体的DNA** 上。检测目的基因是否插入成功的方法是 **DNA 分子杂交**，该方法应该用 **放射性同位素标记的目的基因** 为探针。检测目的基因是否翻译成了相应蛋白质，利用的技术是 **抗原-抗体杂交技术**。
- (5) 将导入目的基因的受体细胞培育成转基因植株涉及的细胞工程技术是 **植物组织培养**，该技术的原理是 **植物细胞的全能性**。

3.根据基因工程的有关知识，回答下列问题：

- (1) cDNA 文库属于 **部分** 基因文库，其构建方法是：用某种生物发育的某个时期的 **mRNA** 反转录产生的 cDNA 片段，与 **载体** 连接后储存在一个受体菌群中。与基因组文库相比，cDNA 文库含有的基因数目少，原因是：**cDNA 文库中只含有已表达的基因，而基因组文库中含有生物的全部基因**。
- (2) 切割 DNA 分子的工具是 **限制酶**，它能使每一条链中特定部位的两个核苷酸之间的 **磷酸二酯键** 断开，形成 **黏性末端** 或 **平末端**。
- (3) 基因工程中所使用的 DNA 连接酶有两类。既可以“缝合”黏性末端，又可以“缝合”平末端的是 **T₄DNA 连接酶**。
- (4) 如果受体细胞是大肠杆菌，需要用 **Ca²⁺** 处理细胞，使之成为 **感受态** 细胞，才能吸收 DNA 分子。

4.蛋白质工程的目标是根据人们对蛋白质 **功能** 的特定需求，对蛋白质的 **结构** 进行分子设计。基本途径是：从预期的蛋白质 **功能** 出发→设计预期的 **蛋白质结构**→推测应有的 **氨基酸序列**→找到相对应的 **脱氧核苷酸序列**（基因）。

5.蛋白质工程是指 **以蛋白质分子的结构规律及其生物功能的关系作为基础，通过基因修饰或基因合成，对现有蛋白质进行改造，或制造一种新的蛋白质，以满足人类的生产和生活的需求**。

基因工程在原则上只能生产自然界 **已存在** 的蛋白质，蛋白质工程是在基因工程的基础上，延伸出来的第 **二** 代基因工程，对蛋白质的结构进行设计改造。

6.基因工程的科学史

- (1) 1944 年，艾弗里 (O.Avery) 等人通过不同类型肺炎双球菌的转化实验，不仅证明了生物的遗传物质是 **DNA**，还证明了 **DNA 可以从一种生物个体转移到另一种生物个体**。艾弗里等人的工作可以说是基因工程的先导。
- (2) 1953 年，沃森 (J.D.Watson) 和克里克 (F.Crick) 建立了 **DNA 双螺旋结构** 模型。1958 年，梅塞尔松 (M.Meselson) 和斯塔尔 (F.Stahl) 用实验证明 DNA 的 **半保留复制**。随后不久确立的中心法则，阐明了遗传信息流动的方向，中心法则包括：**DNA 和 RNA** 复制，以及遗传信息在不同分子之间的流动，即 **转录、翻译、逆转录**。
- (3) 1963 年，尼伦伯格 (M.W.Nirenberg) 和马太 (H.Matthaei) 破译编码氨基酸的遗传密码。1966 年，霍拉纳 (H.G.Khorana) 用实验证实了尼伦伯格提出的遗传密码的存在。这些成果不仅使人们认识到，自然界中从微生物到人类共用 **一套遗传密码**，而且为基因的分离和合成等提供了理论依据。
- (4) 1967 年，罗思 (T.F.Roth) 和赫林斯基 (D.R.Helinski) 发现细菌拟核 DNA 之外的质粒有自我复制能力，并可以在细菌细胞间 **转移**，这一发现为基因转移找到了一种 **运载** 工具。
- (5) 1970 年，阿尔伯 (W.Arber)、内森斯 (D.Nathans)、史密斯 (H.C.Smith) 在 **细菌** 中发现了第一个限制性内切酶（简称限制酶）后，相继发现了多种限制酶和连接酶，以及逆转录酶，这些发现为 DNA 的切割、连接以及功能基因的获得创造了条件。
- (6) 自 1965 年，桑格 (F.Sanger) 发明 **氨基酸序列** 分析技术后，1977 年，科学家又发明了 **DNA 序列** 分析的方法，为基因序列图的绘制提供了可能，之后，**DNA 合成仪** 的问世又为引物、探针和小分子量 DNA 基因的获得提供了方便。
- (7) 1972 年伯格 (P.Berg) 首先在体外进行了 DNA 改造的研究，成功地构建了第一个体外 **重组 DNA 分子**。
- (8) 1973 年，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 **体外重组的质粒可进入受体细胞；真核生物基因可在原核细胞中表达，并实现物种之间的基因交流**。
- (9) 1980 年，科学家首次通过 **显微注射** 培育出世界上第一个转基因小鼠。1983 年，科学家又采用 **农杆菌转化法** 培育出世界上第一例转基因烟草。此后，基因工程进入了迅速发展阶段。
- (10) 基因工程问世后，1988 年由穆里斯 (K.Mullis) 发现的 **PCR** 技术，使基因工程技术得到了进一步发展和完善。

1.限制性核酸内切酶是能够识别和切割 DNA 分子内一小段特定的核苷酸序列的酶，早在 1970 年，科学家就从细菌中分离出了这种酶。*EcoR I* 是从大肠杆菌中分离得到的第一种酶。

2.科学家将结核杆菌 *MPT64* 基因导入烟草叶绿体基因组中，成功表达出 *MPT64* 蛋白，为结核病的诊断、治疗及疫苗的开发奠定了基础。请回答下列问题：

(1) 为获取 *MPT64* 基因，可从结核杆菌的细胞中提取对应 mRNA，在逆转录酶的作用下合成 cDNA，获得的 cDNA 与结核杆菌中该基因碱基序列不同（填“相同”或“不同”），原因是：获得的 cDNA 片段只含有基因的编码区，没有非编码区。

(2) 通常采用 PCR 扩增 *MPT64* 基因，前提是要有一段已知 *MPT64* 基因的核苷酸序列，以便根据这一序列合成引物，在操作步骤中需要加热至 90~95℃ 的目的是目的基因 DNA 受热变性解链为单链。

(3) 与传统细胞核基因工程相比，叶绿体转基因更稳定，其遗传方式不遵循（填“遵循”或“不遵循”）孟德尔遗传定律，不会随花粉（填“花粉”或“卵细胞”）传给后代，从而保持了母本的遗传特性。

(4) 原核生物中有许多具有重要价值的外源基因，无需改造和修饰就可在叶绿体中高效表达，原因是叶绿体 DNA 与原核生物 DNA 结构类似。

3.RNA 聚合酶识别和结合的部位，以驱动目的基因转录，该部位称为启动子。为直接检测目的基因是否转录，可从细胞中提取 mRNA 与用放射性同位素标记的目的基因作探针进行分子杂交。

4.利用 PCR 扩增仪大量扩增目的基因的前提是目的基因上要有一段已知的核苷酸序列，以便根据这一序列合成引物，除了该物质和目的基因外，扩增仪中还需加入四种脱氧核苷酸和热稳定 DNA 聚合 (Taq) 酶，并适时调整温度，才能使目的基因数量成指数式增长。

5.若将该目的基因导入某双子叶植物细胞，常采用的方法是农杆菌转化法，其能否在此植物体内稳定遗传的关键是目的基因是否整合到受体细胞的染色体 DNA 上。

6.回答有关基因工程的问题：

(1) 构建基因工程表达载体时，用不同类型的限制酶切割 DNA 后，可能产生黏性末端，也可能产生平末端。若要在限制酶切割目的基因和质粒后使其直接进行连接，则应选择能使二者产生相同（相同，不同）黏性末端的限制酶。

(2) 利用大肠杆菌生产人胰岛素时，构建的表达载体含有人胰岛素基因及其启动子等，其中启动子的作用是RNA 聚合酶识别的位点，驱动 mRNA 的转录。在用表达载体转化大肠杆菌时，常用 Ca^{2+} 处理大肠杆菌，以利于表达载体进入；为了检测胰岛素基因是否转录出了 mRNA，可用标记的胰岛素基因片段作探针与 mRNA 杂交，该杂交技术称为分子杂交技

术。为了检测胰岛素基因转录的 mRNA 是否翻译成胰岛素，常用抗原-抗体杂交技术。

(3) 如果要将某目的基因通过农杆菌转化法导入植物细胞，先要将目的基因插入农杆菌 Ti 质粒的T-DNA中，然后用该农杆菌感染植物细胞，通过 DNA 重组将目的基因插入植物细胞的染色体 DNA上。

7.基因工程的核心步骤是基因表达载体的构建。

8.PCR 扩增过程中，高温变性，低温复性结合引物，中温延伸，延伸阶段的实质是在热稳定 DNA 聚合酶 (Taq) 酶的作用下合成子链。

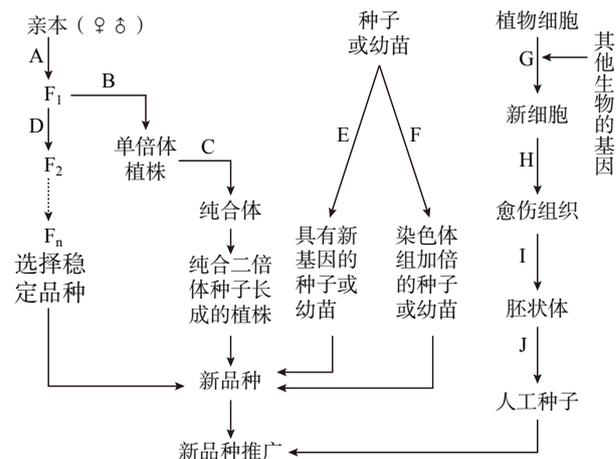
9.单克隆抗体可制作诊断盒，用于准确、快速诊断病毒感染者，这种诊断运用了抗原-抗体杂交技术。

10.T-DNA 的作用是：可携带目的基因，整合并转移到宿主细胞染色体的 DNA 上。

11.基因工程的遗传学原理是基因重组。

12.可以用转基因动物生产药物，科学家将药用蛋白基因与乳腺蛋白基因的启动子等调控组件重组在一起，导入哺乳动物的受精卵中，进而培育出转基因动物，在其进入泌乳期后，通过分泌的乳汁获得所需药品，称之为乳腺生物反应器。

13.下图为六种不同育种方法示意图，据图回答：



(1) 图中 A 至 D 途径的育种方法是杂交育种，此育种方法的原理是基因重组，A → B → C 途径的育种方法是单倍体育种。这两种育种方法相比较，后者的优越性主要体现在明显缩短育种年限。

(2) B 过程常用的方法为花药离体培养。C、F 过程中常采用的药剂是秋水仙素，其作用的原理是在细胞分裂时，抑制纺锤体的形成，使染色体数目加倍。

(3) 通过 E 途径的育种方法是诱变育种，此育种方法的原理是基因突变。

(4) 通过 F 途径获得新品种的育种方法是多倍体育种，此育种方法的原理是染色体(数目)变异。

(5) 欲在较短时间得到较多优良性状的育种方法是诱变育种。

(6) G → H → I → J 的育种方法是基因工程；原理是基因重组，此种育种方法的意义是定向改变生物性状，克服远缘杂交的障碍。



1. 科学家构建含人乳铁蛋白 (hLF) 的基因表达载体, 通过显微注射法将其导入受体细胞而获得转基因牛; 构建上述基因表达载体时用同一种限制酶切割目的基因和运载体的理由是用相同限制酶切割来源不同的DNA后, 可产生相同的黏性末端。
2. 个体水平鉴定抗盐转基因烟草是否培育成功的方法是用一定浓度的盐水浇灌转基因幼苗(或将其移栽到盐碱地中)观察其生长状态。
3. 一个抗虫或抗病的目的基因导入植物细胞后, 是否赋予了植物抗虫或抗病特性, 需要做抗虫或抗病的接种实验, 以确定是否具有抗虫以及抗性的程度。有的基因工程产品需要与天然的功能进行活性比较, 以确定转基因产品的功能活性是否与天然产品相同。
4. 基因工程的四个步骤依次是目的基因的获取、基因表达载体的构建、将目的基因导入受体细胞、目的基因的检测与表达。
5. 质粒是基因工程中最常用的载体, 其化学本质是小型环状DNA, 此外还可用动植物病毒、噬菌体作为载体。
6. 基因工程所用的生物学原理为基因重组, 其操作的核心步骤为基因表达载体的构建, 在操作的过程中没有涉及碱基互补配对的步骤为将目的基因导入受体细胞, 获取目的基因的来源有生物材料和化学方法人工合成。
7. 蛋白质工程是在基因工程的基础上发展起来的, 其基本流程为预期蛋白质功能、设计预期蛋白质结构、推测应有的氨基酸序列、找到对应的脱氧核苷酸序列。
8. PCR 技术大量扩增, 该技术的原理是DNA 双链复制。
9. 生长激素基因可以从供体动物的垂体细胞中提取 mRNA, 在逆转录酶的催化下合成。
10. 利用转基因牛、羊的乳汁提取药物的工艺简单, 应将药用蛋白基因与奶牛乳腺蛋白基因的启动子等调控元件重组在一起, 目的是使药用蛋白基因在奶牛乳腺中特异性表达, 导入性染色体组成为 XX 的受精卵中。如果将药用蛋白基因转移到动物的膀胱上皮细胞中, 利用转基因牛、羊的尿液生产提取药物, 比乳汁提取药物的更大优越性在于不受性别、时间限制。
11. 将目的基因通过基因枪法导入玉米受精卵时, 常用的携带目的基因的金属颗粒是钨粉和金粉。
12. cDNA 文库中获得的目的基因没有内含子, 更易实现不同物种间的基因交流。
13. 水稻具有较强的分蘖能力, 但只有早期的分蘖才是有效分蘖, 才能够成穗。某农科所科技人员欲通过对水稻某种蛋白质的改造, 促进水稻早期分蘖, 使水稻增产。请回答:
 - (1) 科技人员先从“促早蘖”这一功能出发, 预期构建出“促早蘖”蛋白质的结构, 再推测出目的基因对应的脱氧核苷酸序列, 从而人工合成出“促早蘖”基因。
 - (2) 科技人员为获得大量的“促早蘖”基因, 在体外通 PCR 对该基因进行了大量扩增。
- (3) “促早蘖”基因只有插入水稻细胞的染色体DNA中, 才能确保“促早蘖”基因在水稻细胞中得以稳定遗传, 科技人员利用农杆菌转化法, 将“促早蘖”基因插入 Ti 质粒的T-DNA 中, 实现了上述目标。
- (4) 在通过基因工程获得“促早蘖”植株后, 为了确保育种成功, 科研人员不仅要采取 DNA 分子杂交 技术检测“促早蘖”基因是否导入, 还要通过观察“促早蘖”植株早期的分蘖情况从个体水平加以鉴定。
- (5) 水稻是单子叶植物。若受体细胞为单子叶植物体细胞, 一般不可采用农杆菌转化法获得转基因植物体, 理由是单子叶植物受伤处细胞不能分泌酚类物质, 不能吸引农杆菌移向这些细胞。
14. 电影中, “蜘蛛侠”能产生高强度的蜘蛛丝, 现实中的基因工程也创造出了“蜘蛛羊”, 该羊的乳汁中含有蛛丝蛋白, 高强度的蛛丝蛋白可用于许多重要的特种工业领域。请回答:
 - (1) 为保证实验成功, 产生蛛丝蛋白的基因最好从 cDNA (填“基因组”或“cDNA”) 文库中获取。若要获得大量的目的基因片段, 可采用 PCR 技术进行扩增, 扩增过程需使用 热稳定DNA 聚合(Taq) 酶。
 - (2) 在构建含蛛丝蛋白基因表达载体时, 需使用的工具酶有 限制酶和DNA 连接酶, 目的基因应与 羊的乳腺蛋白 基因的启动子等调控组件组合在一起; 构建完成的基因表达载体需通过 显微注射 技术导入羊的 受精卵, 获得重组细胞。
 - (3) 若所得到的“蜘蛛羊”乳汁中没有检测到蛛丝蛋白, 应先采用 DNA 分子杂交 技术检测“蜘蛛羊”乳腺细胞中是否含有 蛛丝蛋白基因(目的基因); 若已确认此步成功, 则应该继续检测是否 转录出了蛛丝蛋白的mRNA。
15. 去年冬季我国北方再次爆发流感, 专家指出接种流感病毒疫苗仍是预防的有效措施。流感病毒为 RNA 病毒, M 基因编码流感病毒表面抗原 (M 蛋白)。请回答下列问题:
 - (1) 由病毒 RNA 通过 逆转录 可获得病毒 DNA, 若要通过 PCR 技术扩增 M 基因, 前提是设计 M 基因对应的 引物。
 - (2) 构建 M 基因表达载体所用的工具酶是 限制酶和DNA 连接酶。若要将 M 基因表达载体导入到大肠杆菌细胞内, 以大量生产疫苗, 通常先用钙离子处理大肠杆菌, 其目的是 使大肠杆菌处于能吸收周围环境DNA 分子的状态(感受态)。检测 M 基因是否转录出 mRNA 的具体方法是使用 放射性标记的M 基因 与提取出的 mRNA 做分子杂交。
 - (3) 新型疫苗——“DNA 疫苗”是将含 M 基因的重组表达载体直接导入人体内, 在人体细胞内通过 M 基因的表达产生 M 蛋白, 刺激机体通过免疫过程产生 抗体和记忆细胞, 以提高机体的免疫能力。



1. 目前，基因工程中使用的限制酶主要是从原核生物中分离纯化获得的，含有某种限制酶的细胞，可以利用限制酶切割外源 DNA，但不破坏细胞自身的 DNA，其原因可能有①细胞自身的DNA 分子没有该限制酶的识别序列；②细菌内相应的识别序列被甲基化修饰。
2. 为使目的基因能够在受体细胞内稳定的存在和表达，需要进行基因表达载体的构建。
3. 与诱变育种方法相比，DNA 重组技术最大的优点是可以定向改造生物性状。
4. 若要以该转基因作物为材料获得脱毒苗，应选用茎尖作为外植体进行组织培养。
5. 外源基因能与受体细胞 DNA 成功重组的原因是两者具有相似的结构和相同的化学组成，这些基因拼接成功后能正常表达的理论基础是几乎所有的生物都共用一套遗传密码子，都遵循中心法则。
6. 标记基因的作用是为了鉴定受体细胞中是否含有目的基因，从而将含有目的基因的细胞筛选出来。
7. 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。
8. 为了有效控制水稻害虫的危害，中国农业科学院和华中农业大学合作，成功地获得了转 Bt 基因（Bt 基因来源于一种细菌，即苏云金芽孢杆菌，该基因的表达产物—毒蛋白具有良好的杀虫效果）的二倍体水稻。请回答下列问题：
 - (1) 若知道 Bt 毒蛋白的氨基酸序列，则可以推测出 Bt 基因的核苷酸序列，但推测出的核苷酸序列并不是唯一的，其原因是决定氨基酸的密码子存在简并性（或决定一种氨基酸的密码子往往不止一种）。在知道 Bt 基因的核苷酸序列之后，再通过化学方法直接人工合成。
 - (2) 获得 Bt 基因后，在体外可以通过 PCR（多聚酶链式） 反应进行扩增，扩增时需以 dNTP 为原料，反应体系中还应加入适量的 Taq（热稳定DNA 聚合酶） 酶。
 - (3) 将 Bt 基因导入水稻细胞中时不宜采用农杆菌转化法，最可能的原因是水稻是单子叶植物，而农杆菌对单子叶植物没有感染能力。在个体水平上检测 Bt 基因在受体植株内是否成功表达，可采用的方法是抗虫接种实验。
 - (4) 若将 Bt 基因成功地整合到二倍体水稻细胞的一条染色体上，则这种水稻能否稳定地遗传？不能。
9. 回答下列有关基因工程的问题：
 - (1) 1967 年，罗恩和赫林斯基发现细菌拟核 DNA 之外的质粒具有自我复制能力，并可以在细菌细胞间转移，这一发现的意义是为基因转移找到了一种运载工具。质粒和拟核 DNA 在结构上的相似之处是均为环状双链DNA 分子。
 - (2) EcoR I 酶来自大肠杆菌却不切割细菌本身的 DNA，可能的原因是细菌本身DNA 不具备EcoR I 酶识别的DNA 序列（或细菌本身含有EcoR I 酶识别的DNA 序列，但被甲基化修饰，答案合理即可）。用 EcoR I 酶处理烟草花叶病毒的核酸，没有发现产物，理由是EcoR I 酶只能识别切割双链DNA 分子，而烟草花叶病毒的核酸是RNA。
 - (3) 将 EcoR I 酶切割后的目的基因片段和质粒用 DNA 连接酶（填“DNA 聚合酶”“DNA 连接酶”或“RNA 聚合酶”）处理后形成重组质粒，成功导入受体细胞后可用分子杂交技术检测目的基因是否发生了转录。为防止 RNA 被降解，在纯化提取产物时，应添加 RNA 酶 的抑制剂。
10. 通过基因工程将某种细胞的抗冻基因转入番茄组织块，可增强番茄植株的抗冻能力。回答下列问题：
 - (1) 在逆转录酶的作用下，能以抗冻基因产生的 mRNA 为模板获得 cDNA 片段。为使抗冻基因在番茄细胞中表达，需要将目的基因插入载体的启动子和终止子之间。
 - (2) 转基因抗冻番茄植株的获得是定向（填“定向”或“不定向”）变异的结果。
 - (3) 质粒作为基因工程的工具，应具备的基本条件有能自我复制、有标记基因、有多个限制酶切割位点；DNA 连接酶是将两条链连接起来的酶，常见的有 E·coli DNA 连接酶 和 T₄ DNA 连接酶，其中只能连接黏性末端的是 E·coli DNA 连接酶。
11. 干扰素可以用于治疗病毒感染和癌症，但在体外保存相当困难。如果将其分子上的一个半胱氨酸变成丝氨酸，那么在 -70℃ 条件下可以保存半年，这需要利用蛋白质工程来完成。请回答下列问题：
 - (1) 天然蛋白质的合成过程是按照中心法则进行的，而蛋白质工程与之相反。蛋白质工程是指以蛋白质分子的结构规律及其与生物功能的关系作为基础，通过基因修饰或基因合成，对现有蛋白质进行改造，或制造新的蛋白质，以满足人类生产和生活的需要。
 - (2) 若将干扰素的一个半胱氨酸变成丝氨酸，推测相应的脱氧核苷酸序列不是（填“是”或“不是”）唯一。可利用 PCR 技术扩增相应基因，该技术的前提是要有一段已知目的基因的核苷酸序列，以便根据这一序列合成引物。
 - (3) 科学家在基因工程和蛋白质工程中常用大肠杆菌作为受体细胞，原因是繁殖快，多为单细胞生物，遗传物质相对较少（答出两点即可）。大肠杆菌常用的转化方法是：首先用 Ca²⁺ 处理后成为感受态细胞，再与重组表达载体溶于缓冲液中完成转化。
 - (4) 干扰素基因是否翻译出蛋白质，可用干扰素抗体（物质）进行抗原抗体杂交检测。



1. 由于原核生物具有一些其他生物没有的特点：繁殖快、多为单细胞、遗传物质相对较少等，因此，早期的基因工程操作都用原核生物作为受体细胞，其中以大肠杆菌应用最为广泛。大肠杆菌细胞最常用的转化方法是：首先用 Ca^{2+} 处理细胞，使细胞处于一种能吸收周围环境中 DNA 分子的生理状态，这种细胞称为感受态细胞。第二步是将重组表达载体 DNA 分子溶于缓冲液中与感受态细胞混合，在一定的温度下促进感受态细胞吸收 DNA 分子，完成转化过程。
2. 胰岛素的发展共经历了三代：第一代胰岛素——动物胰岛素，1921 年科学家首次成功提取到了动物胰岛素，其中猪胰岛素与人的最为接近（仅差 1~4 个氨基酸），被应用于糖尿病治疗，但是副作用很多；第二代胰岛素——人胰岛素，20 世纪 80 年代，人们通过基因工程培育出转基因酵母，表达出高纯度的人胰岛素，但是需在餐前 30 分钟注射、有较高的夜间低血糖风险；第三代胰岛素——胰岛素类似物，20 世纪 90 年代末，在对人胰岛素结构和成分进行深入研究后，对肽链进行修饰，改变胰岛素肽链上某些部位的氨基酸组合等，研制出更适合人体生理需要的胰岛素类似物。回答下列问题：
 - (1) 猪胰岛素和人胰岛素存在差异的根本原因是基因中碱基序列不同。科研人员用人工合成的方法获得胰岛素基因，所用的模板 mRNA 一般取自人的胰岛 B 细胞。
 - (2) 获得目的基因后，必须与运载体结合的原因是使目的基因在受体细胞中稳定存在，通过复制遗传给下一代；使目的基因能够表达和发挥作用（至少答出两点）。
 - (3) 人的胰岛素基因能在酵母菌细胞中正常表达，从分子水平上看，原因是人和酵母菌共用一套密码子，并且两种生物体内转录和翻译的过程或机制相同。
 - (4) 成功制备胰岛素类似物所用的技术是蛋白质工程，该技术中难度最大的步骤是由预期的蛋白质功能出发设计预期的蛋白质结构。
3. 前不久，某生物公司的百白破疫苗检验不符合规定。为生产高效价疫苗和简化计划免疫程序，科学家研制出基因工程乙肝—百白破（rHB—DTP）四联疫苗，经各项检测均符合 rHB—DTP 四联疫苗制检规程的要求。该疫苗的有效成分是乙肝病毒表面抗原、百日咳杆菌、白喉杆菌和破伤风杆菌四种类毒素。请分析回答下列问题：
 - (1) 为获取百日咳杆菌类毒素的基因，可从百日咳杆菌的细胞中提取对应的 mRNA，在逆转录酶的作用下合成双链 cDNA 片段，获得的 cDNA 片段与百日咳杆菌中该基因碱基序列不同（填“相同”或“不同”）。
 - (2) 由于乙肝病毒表面抗原的基因序列比较小，且序列已知，获得目的基因可采用人工化学合成，然后通过 PCR 技术大量扩增，此技术的前提是有一段已知目的基因的核苷酸序列，以便合成引物。
 - (3) 把目的基因导入受体细胞时，科学家采用了改造后的腺病毒作为运载体，请写出你认为科学家选它的理由：能自主复制、有多个限制酶切位点、有标记基因、对宿主细胞无害（写出两点）。
 - (4) 研究发现，如果将白喉杆菌类毒素第 20 位和第 24 位的氨基酸改变为半胱氨酸，免疫效果更好，请写出此种技术的基本流程：从预期蛋白质功能出发→设计预期的蛋白质结构→推测应有的氨基酸序列→找到相对应的脱氧核苷酸序列。
 - (5) 实验证明，一定时间内间隔注射该疫苗 3 次效果更好，其主要原因是体内产生的记忆细胞数最增多，当同种抗原再次侵入人体时，人体发生免疫，其特点是短时间内迅速产生大量的抗体和记忆细胞，免疫预防作用更强。
4. 发光水母体内含有荧光蛋白基因 GFP，若将该基因导入金鱼的体内，获得能产生荧光的观赏鱼，将为水族馆增添亮丽的风景。回答下列问题。
 - (1) 从发光水母体内获得 GFP 基因的 cDNA，该 cDNA 不包含 GFP 基因中的内含子和非编码区。对该 cDNA 进行体外扩增通常采用 PCR 技术，扩增过程除需要热稳定 DNA 聚合（或 Taq）酶、模板、原料外，还需要引物。
 - (2) 基因工程的核心为基因表达载体的构建，其中标记基因的作用是检测受体细胞中是否含有目的基因，从而将含有目的基因的细胞筛选出来。
 - (3) 通常将目的基因导入金鱼的受精卵中，将目的基因导入动物细胞中最有效的方法为显微注射法。若金鱼发出荧光，则说明荧光蛋白基因已经表达。
5. 某竹芋科植物果实中含有一种甜蛋白，其甜度为蔗糖的三千倍，是理想的甜味剂。为了改善黄瓜的品质，科学家采用农杆菌转化法将一种甜蛋白基因成功导入黄瓜细胞，得到了转基因植株。回答下列问题：
 - (1) 为获取甜蛋白基因，可从竹芋科植物的细胞中提取对应 mRNA，在逆转录酶的作用下合成双链 cDNA 片段，获得的 cDNA 片段与竹芋科植物中该基因碱基序列不同（填“相同”或“不同”）。
 - (2) 用农杆菌感染时，应优先选用黄瓜受伤的（填“受伤的”或“完好的”）叶片与含重组质粒的农杆菌共培养，选用这种叶片的理由是叶片伤口处的细胞释放出大量酚类物质，可吸引农杆菌移向这些细胞。
 - (3) 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，称为转化。经测定，甜蛋白基因导入了黄瓜细胞的一条染色体上并成功表达，该转基因植株自交产生的 F_1 代中，具有甜蛋白的植株占总数的 $\frac{3}{4}$ 。
 - (4) 假设某种转基因作物因为受到病毒感染而减产，若要该转基因作物为材料获得脱毒苗，应选用茎尖作为外植体进行组织培养。

- 1.在基因工程中,获取的目的基因主要有两大来源,即人工合成和从生物材料中分离。
- 2.来自不同生物之间的基因能够拼接的原因是具有共同的结构和化学组成。
- 3.如果已知乙肝表面抗原基因表达产物蛋白质的氨基酸序列,可以推测出目的基因的核苷酸序列,但推测出的目的基因核苷酸序列并不是唯一的,其原因是决定氨基酸的密码子具有简并性。
- 4.将携带了目的基因的农杆菌和玉米薄壁组织细胞共培养时,需用酚类化合物对玉米细胞进行处理,这种处理的作用是吸引农杆菌对玉米细胞进行侵染从而完成转化。
- 5.动物基因工程用受精卵作为受体细胞的原因是受精卵分化程度低,全能性高。
- 6.反转录获得的cDNA与从真核生物体内直接提取的目的基因在结构上的区别是无内含子和非编码区。
- 7.烟草具有较高的经济价值,但易遭受病虫害。为获得抗虫的烟草植株,可将抗虫基因导入烟草细胞。请回答下列问题:
- (1)农杆菌的Ti质粒上的T-DNA具有可转移至受体细胞并且能整合到烟草细胞染色体的DNA上的特点。将抗虫基因插入T-DNA上,导入用 Ca^{2+} 处理过的农杆菌,筛选成功后让其侵染能分泌酚类化合物的烟草细胞,在该化合物的诱导下,Ti质粒上的T-DNA依次穿过农杆菌的细胞壁、细胞膜,以及烟草细胞的细胞壁、细胞膜、核膜进入烟草的细胞核中,最后再通过植物组织培养技术获得转基因烟草植株。该技术是否成功还需要进行检测与鉴定,个体水平上的鉴定方法是杀虫接种实验。
- (2)上述方法虽比较经济,但是会存在安全性问题,如将抗虫基因导入到烟草细胞核的染色体DNA上,则抗虫基因会随花粉(填“花粉”或“卵细胞”)扩散传播,容易产生基因污染,故可以通过基因枪法将抗虫基因表达载体打入烟草细胞叶绿体以实现转化。同时还应注意,目的基因需导入植物细胞叶绿体的非基因序列中,目的是避免叶绿体内源(或自身)基因表达异常,影响烟草(叶绿体)的正常生理功能。
- 8.真核生物基因结构与原核生物基因结构不同,真核生物基因的编码区是不连续的,有外显子和内含子之分,转录时内含子对应的RNA序列能通过相应机制切除,而原核生物编码区是连续的,没有这一机制。人体中基因M能表达出M蛋白。请回答下列问题:
- (1)若想运用基因工程,利用大肠杆菌合成M蛋白,应当从cDNA文库(填“人的基因组文库”或“cDNA文库”)中获得基因M,理由是cDNA文库中获得的基因M没有内含子,可在大肠杆菌细胞中表达。
- (2)用大肠杆菌做受体菌,可高效获得蛋白M,因为大肠杆菌具有繁殖快,多为单细胞,遗传物质相对较少(答出两点即可)等特点。

- (3)欲将构建出的基因表达载体导入到大肠杆菌细胞中,可用 Ca^{2+} 处理。
- (4)要检测目的基因M在大肠杆菌细胞是否转录出mRNA,可用的检测物质是蛋白M的基因(填“蛋白M的基因”或“蛋白M的抗体”)。
- (5)大肠杆菌合成的蛋白M还不具有生物活性,还需要后期加工处理,这是因为大肠杆菌是原核生物,没有内质网和高尔基体,不能对蛋白质M进行加工。
- 9.生物技术的发明推动着现代生物科学突飞猛进的发展。回答下列问题:

- (1)赫尔希和蔡斯的噬菌体侵染大肠杆菌实验,让人们认识到细菌等单细胞生物容易受到自然界外源DNA的入侵,然而事实上这类原核生物长期进化而不绝灭,这种现象可能的原因是原核细胞中可能存在某种酶系,能切割外源DNA,使之失效,达到保护自身的目的,同时这也为人们寻找限制酶提供思路,使DNA重组的实现成为可能。
- (2)基因表达载体的构建是基因工程的核心,一个基因表达载体一般由目的基因、启动子、终止子、标记基因等组成。某同学使用霍乱弧菌质粒来构建基因表达载体,用于动物细胞工程,请从载体所需的条件分析,有何不妥?该质粒可能含有毒素基因,对受体细胞有害。
- (3)培育转基因动物常采用显微注射技术将含有目的基因的表达载体导入受精卵中,应用一系列的胚胎工程技术,使其发育成为具有新性状的动物。受体细胞选用受精卵,而不是动物体细胞,其原因是受精卵是全能性细胞,容易实现全能性,体细胞分化程度高恢复全能性十分困难。
- 10.某些糖尿病患者因胰岛B细胞被完全破坏,分泌胰岛素的功能丧失,需要通过注射胰岛素来补充。目前,该类患者对胰岛素的需求量越来越大。回答下列问题:
- (1)在利用基因工程大规模生产胰岛素时,将胰岛素合成基因与质粒重组后导入大肠杆菌进行了表达。以上过程除了证明质粒可以作为载体外,还证明了体外重组的质粒可以进入大肠杆菌;DNA是可以转移的;真核外源基因可以在原核细胞中表达等。
- (2)大肠杆菌常作为基因工程的受体菌,主要原因是大肠杆菌结构简单,遗传物质相对较少,繁殖速度快。基因工程中,不能将胰岛素合成基因直接导入大肠杆菌,其原因是胰岛素合成基因在大肠杆菌细胞中不能稳定遗传和表达。
- (3)检测胰岛素合成基因是否导入受体菌时,常用放射性物质标记的胰岛素合成基因作探针。
- (4)胰岛素合成基因在大肠杆菌细胞内表达时,遗传信息的传递方向是DNA→mRNA→蛋白质。经检测,胰岛素合成基因的表达产物未能达到预期的生物活性,导致这种差异的原因可能是表达产物未经内质网、高尔基体的加工。



1. 获取目的基因的途径有从基因文库中获取、PCR技术扩增、人工合成。
2. 基因工程的核心是基因表达载体的构建，其目的是使目的基因在受体细胞中稳定的存在与表达。
3. 胰岛素基因在大肠杆菌细胞内表达时，表达出的蛋白质不会（填“会”或“不会”）经过内质网加工。表达出的蛋白质也可能被降解，为防止蛋白质被降解，在实验中应选用蛋白酶缺陷型的大肠杆菌作为受体细胞。
4. 鉴定转基因青椒是否获得抗病毒特性，个体生物学水平的鉴定是接种烟草花叶病毒，观察转基因青椒是否染病。
5. PCR技术的基本反应过程：目的基因DNA受热变性后解链为单链，低温条件下，引物与单链相应互补序列结合，然后在聚合酶的作用下进行延伸。PCR过程中第3次循环开始产生目的基因。
6. 用同一种限制酶切割目的基因和运载体，可以得到相同的黏性末端，便于连接，但也会出现目的基因和运载体的自身连接成环和反向连接。为了避免这种现象应该采取的措施是使用两种能产生不同黏性末端的（不同）限制酶对目的基因和运载体分别进行切割。
7. cDNA文库的构建方法是将某种生物发育的某个时期的mRNA反转录产生的多种互补DNA片段，与载体连接后储存在受体菌群中。
8. 基因文库的构建方法是将某种生物体的DNA全部提取出来，选用适当的限制酶，将DNA切成一定范围大小的DNA片段，然后，将这些DNA片段分别于载体连接起来，导入受体菌的群体中储存，每个受体菌含有了一段不同的DNA片段。
9. 若目的基因表达的肽链中氨基酸数目增多，肽链后延，则需对该基因进行改造，这个改造是添加能转录出终止密码子的碱基（脱氧核苷酸）序列。

10. 回答下列基因工程的相关问题：

- (1) 基因工程中，阐明遗传信息流动方向的基础理论是中心法则；自然界中的原核生物容易受到外源DNA的入侵，但依然可以达到保护自身的目的，这为人们寻找限制性核酸内切酶（答基因工程的工具）提供了启示。质粒作为基因工程的载体，应具备的基本条件：能够自我复制、具有标记基因和一个至多个酶切位点。
- (2) 动物和植物中内含子的剪接系统不同，如果要将一个来自动物且含有内含子的目的基因转入植物中进行表达，只能用该基因的cDNA。利用乳腺生物反应器批量生产药物时，需要将药用蛋白基因与乳腺蛋白基因的启动子等调控组件重组在一起，才能最终实现目的基因的表达。
- (3) 基因工程中，某些噬菌体经改造后可以作载体，其DNA复制所需的原料来自于受体细胞。
- (4) 用目的基因的片段作为探针，在基因工程中可以检测目的基因是否插入到染色体DNA中、目的基因是否转录出mRNA。

11. 杂草危害是造成玉米减产的一个重要因素。科学家研究通过导入抗除草剂草丁膦（PPT）的Bar基因来获得转基因玉米植株，玉米植株表现出了不同程度的抗性。如图为含有Bar基因的表达载体部分示意图，请回答下列问题：



- (1) 已知图中的基因表达载体 Intron 序列为内含子序列，它不编码蛋白质，从转录水平解释是因为玉米是真核生物，该基因表达载体转录出的mRNA必须切除内含子序列。由图中推测 CaMV35S 和 Nos 应分别为启动子、终止子。
 - (2) 为了获得大量 Bar 基因，需要用 PCR 技术对其进行扩增，则必须用一段 Bar 基因的核苷酸序列 来合成引物，所用的酶必须具有的特性是热稳定性（耐高温）。
 - (3) 为了将 Bar 基因成功转化，宜选择玉米的愈伤组织（选填“根细胞”“叶肉组织”或“愈伤组织”）作为受体材料，原因是愈伤组织细胞全能性高，更容易诱导分化成完整植株。然后用基因枪法将金属粒子包裹的基因表达载体打入受体细胞中。
 - (4) 如果确定草丁膦（PPT）的临界浓度为 6 mg/mL，设计实验组（转基因组）和正常组，喷洒此浓度的 PPT，可以通过比较相同时间内，两组玉米植株的成活率来鉴定其抗性程度，再经过多次筛选即可获得抗性强的植株。
12. 叶绿体基因工程的步骤类似于细胞核基因工程，与细胞核基因工程相比，其能使外源基因的表达更为高效和安全。近年来，烟草叶绿体基因工程在提高光合效率、抗性和品质等方面取得了研究进展。请答下列问题：
- (1) 将目的基因导入叶绿体基因组时，一般将含有外源基因的质粒包裹在金粉上，通过轰击进入叶绿体中，这种方法称为基因枪法，构建含有外源基因的质粒时，常用的工具酶有限制酶和DNA连接酶。
 - (2) 叶绿体基因组中存在基因区和基因间隔区（DNA中不具有遗传效应的片段），将外源基因导入叶绿体中时应该将外源基因导入基因间隔区（填“基因区”或“基因间隔区”），其原因是避免对叶绿体自身的基因组的表达造成影响。
 - (3) 植物受精过程中，花粉成熟过程类似于精细胞形成精子的过程。与细胞核基因工程相比，叶绿体基因工程由于花粉中通常不含叶绿体，因而能避免花粉扩散引起的基因污染。在实施叶绿体基因工程时可选择诱导型启动子，该启动子只有在特定条件的诱导下才能表达目的基因，则选用诱导型启动子的优点是降低外源基因持续大量表达对作物本身造成的伤害，同时避免外源基因在食用部位表达，解决了食品安全问题。



- 1.蛋白质工程是根据人们的需要对蛋白质的结构进行分子设计,通过基因修饰或基因合成对现有的蛋白质进行改造或制造一种新的蛋白质。
- 2.蛋白质工程中,要对蛋白质结构进行设计改造,必须通过基因修饰或基因合成来完成,而不直接改造蛋白质的原因是基因改造易于操作,且改造后能够遗传。
- 3.在研制膀胱生物反应器时,应使外源基因在小鼠的膀胱上皮细胞中特异表达。
- 4.PCR 扩增目的基因是在 PCR 扩增仪 (仪器) 中完成的。
- 5.进行基因转移到动物细胞时,通常要将外源基因转入受精卵中,原因是受精卵具有全能性,可使外源基因在相应组织细胞表达。
- 6.凝乳酶能够使乳汁中的蛋白质凝聚形成奶酪,主要来源为未断奶的小牛胃粘膜。随着社会发展,传统来源的凝乳酶已不能满足生产需要。研究人员利用 PCR 技术扩增了目的基因,并培育了能合成凝乳酶的转基因酵母菌,从而获得足够的凝乳酶。回答下列问题:
 - (1) 利用 PCR 技术扩增目的基因的前提条件是要有一段已知目的基因的核苷酸序列用来合成引物。PCR 反应体系的主要成分应包含: 扩增缓冲液 (含 ATP 和 Mg^{2+})、4 种脱氧核糖核苷酸、模板 DNA、引物和 Taq 酶 (热稳定性 DNA 聚合酶)。
 - (2) 凝乳酶基因可从构建的凝乳酶基因组文库中获取,也可以从其 cDNA 文库中获取,从前者获取的凝乳酶基因含有 (填“含有”或“不含有”) 启动子。
 - (3) 利用 PCR 技术扩增目的基因后需要构建基因表达载体,其目的是使目的基因在受体细胞中稳定存在并遗传给下一代,同时使目的基因能够表达和发挥作用。
 - (4) 构建基因表达载体过程中需要用限制酶和 DNA 连接酶 (酶) 处理。
 - (5) 分子水平上检测目的基因是否成功导入酵母菌的方法是 DNA 分子杂交。
 - (6) 工业生产中使用酵母菌作为受体,而不选用大肠杆菌的原因是 大肠杆菌不含内质网和高尔基体,不能对蛋白质进行加工和修饰。
- 7.我国云南的科学家团队将海洋发光细菌的发光基因导入到了烟草体细胞中,经过植物组织培养和筛选后,获得了夜间发光的烟草植物。请回答下列问题:
 - (1) 夜间发光烟草的成功培育,说明原核生物的基因可在真核细胞中表达,并实现了物种之间的基因交流。
 - (2) 将发光基因导入烟草体细胞需要构建基因表达载体,其目的是使目的基因在受体细胞中稳定存在并表达。将发光基因载体导入烟草细胞中,常用农杆菌转化法,其中农杆菌的作用是 农杆菌可以感染烟草并将目的基因转移到烟草细胞中。将发光基因导入烟草体细胞后,如果培育成的烟草植株检测到相关蛋白质和出现夜间发光现,则可分别在分子水平

- 和个体水平说明发光基因已成功表达。
- (3) 植物组织培养的核心步骤是脱分化和再分化,整个培养过程需要在无菌和人工控制条件下进行。脱分化是指让已分化的细胞,经过诱导后失去特有的结构和功能而转变成未分化细胞的过程。
- 8.我国科学家利用 Bt 毒蛋白基因转入普通棉花,培育出转基因的抗虫棉,对棉铃虫有较强抗性。回答下列问题:
 - (1) 从苏云金芽孢杆菌中分离出 Bt 毒蛋白基因,构建基因表达载体导入棉花细胞。获得的抗虫棉也能产生相同的 Bt 毒蛋白,从翻译的角度分析,其原理是自然界中的生物共用一套遗传密码(密码子)。
 - (2) 从分子水平检测抗虫棉是否培育成功,可以利用抗原-抗体杂交来检测。若有杂交带出现,说明已形成 Bt 毒蛋白。在该检测方法中,从免疫学角度分析, Bt 毒蛋白属于抗原。
 - (3) 从个体水平鉴定抗虫棉是否培育成功,取一定量长势良好的转基因棉花植株接种适量的棉铃虫作为实验组,对照组如何设置: 取等量长势一致的普通棉花植株接种等量的棉铃虫。在相同且适宜的条件下培养一段时间,观察并统计两组棉花叶片的受损程度。获得的抗虫棉若要扩大生产,可以通过植物组织培养技术进行微型繁殖。
 - (4) 在农业生产中,抗虫棉大面积种植的区域还需配套种植一定量的普通棉花,从进化的角度分析,原因是避免棉铃虫的抗性(抗 Bt 毒蛋白)基因频率增加过快,从而出现抗性。
 - 9.基础理论及技术的发展催生了基因工程。回答下列问题:
 - (1) 1967 年,罗思和赫林斯基发现细菌拟核 DNA 之外的质粒有自我复制能力,并可以在细菌细胞间转移,这一发现为基因转移找到了一种运载工具。科学家在研究细菌时发现质粒上存在抗生素抗性基因,该基因在基因工程中可作为标记基因。
 - (2) 60 年代,科学家在研究时发现,噬菌体感染某些宿主细菌后无法繁殖,进一步研究发现宿主细菌含有能剪切噬菌体 DNA 的限制酶,但该酶并未降解细菌自身 DNA,对此现象的合理解释是细菌内无此酶的识别序列使限制酶不能识别(细菌内相应的识别序列被甲基化修饰)。
 - (3) 1972 年,伯格将 SV40 病毒 DNA 与 λ 噬菌体的 DNA 结合,成功构建了第一个体外重组 DNA 分子。如果说他的工作为基因工程理论的建立提供了启示,那么,这一启示是两种不同生物的 DNA 可以连接到一起并具有生物学功能。
 - (4) 1980 年,科学家首次通过显微注射技术将重组基因导入小鼠的受精卵,培育出第一个转基因小鼠,1983 年科学家又采用农杆菌转化方法将重组基因导入烟草,培育出第一例转基因烟草。此后,基因工程进入了迅速发展阶段。



1. 基因治疗包括体外基因治疗和体内基因治疗。
2. 利用农杆菌可被双子叶植物细胞分泌的酚类化合物吸引, 将其 Ti 质粒上的 T-DNA 转移至受体细胞, 并整合到受体细胞染色体的 DNA 上, 从而获得含有目的基因的植物体细胞, 再经植物组织培养技术得到再生植株。
3. 基因工程的核心步骤是基因表达载体的构建; 操作过程中, 用同一种限制酶切割, 以便产生相同的黏性末端; 但在实际操作过程中, 常选择两种不同限制酶同时切割质粒和含目的基因的 DNA, 这样处理的好处是防止目的基因自连和质粒自连、让目的基因与质粒正确连接。
4. 目的基因在受体细胞内表达的理论基础有: ①遗传信息的传递都遵循中心法则; ②所有生物共用一套遗传密码子。在具体表达过程中, 需要启动子的参与, 其主要功能是RNA 聚合酶结合和识别位点, 驱动 mRNA 的转录。
5. cDNA 文库中的基因不含有 (“含有” 或 “不含有”) 启动子。
6. 特定的化学物质能诱导目的基因表达, 可能与激活目的基因首端的启动子有关。检测目的基因是否翻译成蛋白质用抗原-抗体杂交。而要进行个体生物学水平的鉴定, 则需要将基因工程产品与天然产品的功能进行活性比较以确定其活性。
7. 分子杂交的原理是碱基互补配对。
8. cDNA 与从真核生物体内直接提取的目的基因在结构上的区别是无内含子和非编码区。
9. 蛋白质工程是根据人们的需要对蛋白质的结构进行分子设计, 通过基因修饰或基因合成 (答出 2 点) 对现有的蛋白质进行改造或制造一种新的蛋白质。
10. 玉米作为一种重要的经济作物被广泛用于食品、饲料、工业和新能源产业。科技工作者采用基因工程技术, 成功将抗虫基因导入玉米, 培育出具有抗虫性状的优良品种。请回答下列问题:
 - (1) 已知抗虫基因来自于 cDNA 文库, 在构建基因表达载体时需要 (填 “需要” 或 “不需要”) 在目的基因的首端添加启动子, 原因是 cDNA 文库由 mRNA 反转录而来, 基因中无启动子。
 - (2) 将切伤后的玉米胚芽尖端浸泡在含有酚类物质和抗虫基因的农杆菌菌液中 10 分钟, 插入玉米萌发培养基, 在黑暗条件下培养 3 天即可获得幼苗。对芽尖进行切伤处理的目的是促进伤口部位细胞分泌酚类物质, 吸引农杆菌移向受伤细胞并将 T-DNA 转移并整合到受体细胞染色体 DNA 上。由玉米胚芽尖端组织能够培育出幼苗, 体现了植物细胞具有全能性。
 - (3) 抗虫基因导入玉米后, 能否赋予其抗虫特性, 最终需要进行个体生物学水平的抗虫接种实验。在确认玉米已经获得抗虫性状后, 可通过连续自交方法获得稳定遗传的品种。
 - (4) 转基因抗虫玉米产量比普通玉米产量高出 6%, 除此之外, 转基因玉米还有减少农药的使用, 减轻环境污染的优势。

11. 基因工程是在现代生物学、化学和工程学基础上建立和发展起来的, 并有赖于微生物学理论和技术的发展运用, 现在基因工程在动植物育种等方面有广泛的应用, 请根据已学知识回答下列问题:
 - (1) 科学家将人的生长激素基因与大肠杆菌的 DNA 分子进行重组, 使之在大肠杆菌中稳定存在并成功表达, 这一过程称为转化。
 - (2) 科学家运用基因工程技术将结核杆菌 *MPT64* 基因 (能控制合成 *MPT64* 蛋白) 成功导入胡萝卜细胞, 最终生产出肺结核疫苗。这一技术的原理是基因重组。为获取 *MPT64* 基因, 科学家可从结核杆菌的细胞中提取对应的 mRNA, 在逆转录酶 (反转录酶) 的作用下合成双链 cDNA 片段, 再利用 PCR 技术获得大量 *MPT64* 基因。
 - (3) 为获得耐旱植物, 植物学家将耐旱基因插入 Ti 质粒中, 利用 T-DNA 可转移至受体细胞, 并整合到受体细胞染色体 DNA 上 的特点, 将耐旱基因导入植物的体细胞中, 再经过植物组织培养技术得到再生植株。要确认该耐旱基因是否在再生植株中正确表达, 应使用抗原抗体杂交方法检测此再生植株中该基因的表达产物, 若有杂交带出现, 再在田间试验中检测植株的耐旱性是否得到提高。
 - (4) 基因工程的兴起让某些哺乳动物变成 “批量生产药物的工厂”, 如利用乳腺生物反应器生产 α -抗胰蛋白酶等。科学家将 α -抗胰蛋白酶基因与乳腺蛋白基因启动子等调控组件重组成基因表达载体, 通过显微注射法等方法, 导入哺乳动物的受精卵中, 最终发育成能够从乳汁中获取 α -抗胰蛋白酶转基因动物。
12. 我国云南的科学家团队将海洋发光细菌的发光基因导入到了烟草体细胞中, 经过植物组织培养和筛选后, 获得了夜间发光的烟草植物。请回答下列问题:
 - (1) 夜间发光烟草的成功培育, 说明原核生物的基因可在真核细胞中表达, 并实现了物种之间的基因交流。
 - (2) 将发光基因导入烟草体细胞需要构建基因表达载体, 其目的是使目的基因在受体细胞中稳定存在并且遗传给下一代, 使目的基因能够表达和发挥作用。将发光基因载体导入烟草细胞中, 常用农杆菌转化法, 其中农杆菌的作用是农杆菌可以感染烟草并将目的基因转移到烟草细胞染色体 DNA 上。将发光基因导入烟草体细胞后, 如果培育成的烟草植株检测到相关蛋白质和出现夜间发光现象, 则可分别在分子水平和个体水平说明发光基因已成功表达。
 - (3) 植物组织培养的核心步骤是脱分化和再分化。脱分化是指让已分化的细胞, 经过诱导后失去特有的结构和功能而转变成未分化细胞的过程。

1. 基因工程中需要构建基因表达载体，而不能将目的基因直接导入受体细胞，原因是目的基因不能稳定遗传和表达。
2. 标记基因的作用是鉴别受体细胞中是否含有目的基因，从而将含有目的基因的细胞筛选出来。
3. 质粒常被用作运载体，因为质粒能在宿主细胞内复制并稳定存在；具有多个限制酶切位点，方便剪切；具有标记基因，便于检测和筛选（答2点即可）。
4. 重组Ti质粒载体结构中T-DNA的作用是携带目的基因进入植物细胞并整合到植物细胞中染色体的DNA上。
5. cDNA文库的构建方法是将某种生物发育的某个时期的mRNA反转录产生的多种cDNA，与载体连接后储存在受体菌群中。cDNA的中文名称是互补DNA。
6. 某种链霉菌可产生paim（多肽类化合物），该物质是一种淀粉酶抑制剂，能使害虫不能消化所摄取的淀粉而死亡。研究人员欲从这种链霉菌细胞中提取paim基因，并导入玉米等农作物中，以获取抗虫作物。回答下列问题：
 - (1) 研究人员从这种链霉菌细胞中提取DNA，然后用多种限制酶同时切割DNA获得很多种DNA片段。理论上，paim基因会存在于某一个或几个DNA片段中。因此切割DNA时要用多种限制酶分别切割，而不是只用一种限制酶切割，用多种限制酶同时切割的原因是既可获得含paim基因的DNA片段，又能避免破坏paim基因的结构完整性（或“可能一些限制酶的酶切位点位于基因内部”，合理即可）。
 - (2) 研究人员将上述DNA片段与质粒结合，与DNA片段结合的质粒需用同一种限制酶切割，其目的是为了获得相同的黏性末端。常见的连接DNA片段与相应质粒片段的酶有E·coli DNA连接酶和T₄ DNA连接酶两类。
 - (3) 将上述过程得到的重组质粒导入大肠杆菌实现转化，常见的操作方法是钙离子处理细胞，再将重组质粒与受体细胞混合。基因工程中常用微生物作为受体细胞，其优点是繁殖快、多为单细胞、遗传物质相对较少。
 - (4) 检测转基因大肠杆菌中是否产生了paim的检测方法是抗原—抗体杂交。我们将储存有paim基因的大肠杆菌菌群称为链霉菌的cDNA文库。
7. 基因治疗的途径之一是从患者体内获得某种细胞，在体外将目的基因导入后，经筛选和扩大培养再重新输入患者体内。回答下列问题：
 - (1) 目的基因在PCR扩增仪（设备）中扩增时，应加入的原料有dNTP（dCTP、dATP、dGTP、dTTP）或四种游离的脱氧核苷酸。
 - (2) 目的基因转移进入受体细胞前应构建基因表达载体，其目的是使目的基因在受体细胞中稳定存在，并且可以遗传给下一代，同时，使目的基因能够表达和发挥作用。
 - (3) 为检测目的基因在受体细胞中是否转录，可用放射性同位素标记的目的基因作探针，与从受体细胞

- 中提取的mRNA杂交，若显示出杂交带，说明目的基因已转录。
- (4) 体外培养患者细胞时，应按细胞所需营养物质的种类和数量配制培养基，并保证被培养的细胞处于无菌、无毒的环境，同时为细胞提供适宜的温度、pH和气体等条件；还要定期更换培养液，避免细胞代谢产物积累对细胞自身造成危害。
8. 我国科学家利用Bt毒蛋白基因转入普通棉花，培育出转基因的抗虫棉，对棉铃虫有较强抗性。回答下列问题：
- (1) 从苏云金芽孢杆菌中分离出Bt毒蛋白基因，构建基因表达载体导入棉花细胞。获得的抗虫棉也能产生相同的Bt毒蛋白，从翻译的角度分析，其原理是自然界中的生物共用一套遗传密码（密码子）。
 - (2) 从分子水平检测抗虫棉是否培育成功，可以利用抗原—抗体杂交来检测，若有杂交带出现，说明已形成Bt毒蛋白。在该检测方法中，Bt毒蛋白属于抗原。
 - (3) 从个体水平鉴定抗虫棉是否培育成功，取一定量长势良好的转基因棉花植株接种适量的棉铃虫作为实验组，对照组如何设置：取等量长势一致的普通棉花植株接种等量的棉铃虫。在相同且适宜的条件下培养一段时间，观察并统计两组棉花叶片的受损程度。获得的抗虫棉若要扩大生产，可以通过植物组织培养技术进行微型繁殖。
 - (4) 在农业生产中，抗虫棉大面积种植的区域还需配套种植一定量的普通棉花，从进化的角度分析，原因是避免棉铃虫的抗性（抗Bt毒蛋白）基因频率增加过快。
9. 基础理论及技术的发展催生了基因工程。回答下列问题：
- (1) 1967年，罗思和赫林斯基发现细菌拟核DNA之外的质粒有自我复制能力，并可以在细菌细胞间转移，这一发现为基因转移找到了一种运载工具。科学家在研究细菌时发现质粒上存在抗生素抗性基因，该基因在基因工程中可作为标记基因。
 - (2) 60年代，科学家在研究时发现，噬菌体感染某些宿主细菌后无法繁殖，进一步研究发现宿主细菌含有能剪切噬菌体DNA的限制性核酸内切酶，但该酶并未降解细菌自身DNA，对此现象的合理解释是细菌内无此酶的识别序列使限制酶不能识别（细菌内相应的识别序列被甲基化修饰）。
 - (3) 1972年，伯格将SV40病毒DNA与λ噬菌体的DNA结合，成功构建了第一个体外重组DNA分子。如果说他的工作为基因工程理论的建立提供了启示，那么，这一启示是两种不同生物的DNA可以连接到一起并具有生物学功能。
 - (4) 1980年，科学家首次通过显微注射技术将重组基因导入小鼠的受精卵，培育出第一个转基因小鼠，1983年科学家又采用农杆菌转化方法将重组基因导入烟草，培育出第一例转基因烟草。此后，基因工程进入了迅速发展阶段。



- 1.蛋白质工程中,要对蛋白质结构进行设计改造,必须通过基因修饰或基因合成来完成,而不直接改造蛋白质的原因是改造基因易于操作且改造后能够遗传。
- 2.杂种细胞形成的标志是形成新的细胞壁。
- 3.将胰岛素基因导入受体细胞时,常选择酵母菌作为受体。与大肠杆菌相比,酵母菌具有的优势是具有内质网、高尔基体等细胞器,可生产出具有生物活性的人胰岛素。
- 4.基因工程没有(“有”或“没有”)产生前所未有的新蛋白质?原因是基因工程不会产生新基因,因而不会产生新性状。
- 5.PCR的原理是DNA双链复制。
- 6.DNA疫苗是预防性生物制品,与传统疫苗相比其具备的优点有DNA疫苗作用时间长、更安全、结构简单、更容易保存。
- 7.蛋白质工程的技术流程是从预期蛋白质功能出发→设计预期的蛋白质结构→推测应有的氨基酸序列→找到对应的脱氧核苷酸序列。
- 8.细菌体内限制酶不剪切该细菌本身的DNA,这是在长期的进化中形成了一套完善的防御机制,但能对外源DNA进行降解,有利于防止外源DNA(遗传物质)的入侵。事实上,上述细菌仍允许部分异源DNA进入体内,其意义是有利于生物变异和进化。
- 9.培育转基因抗逆新品种时最好要将目的基因插入到植物细胞染色体的DNA上,理由是:使目的基因的遗传特性得以稳定维持和表达。
- 10.利用PCR技术扩增基因时,至少经过3次循环才能获得目的基因。
- 11.基因工程又称为DNA重组(基因拼接)技术。
- 12.将目的基因导入植物细胞时,会对植物进行切伤处理,其目的是促进伤口部位细胞分泌酚类物质,吸引农杆菌移向受伤细胞并将T-DNA转移并整合到受体细胞染色体DNA上。
- 13.如果要将某目的基因通过农杆菌转化法导入植物细胞,先要将目的基因插入农杆菌Ti质粒的T-DNA中,然后用该农杆菌感染植物细胞,通过DNA重组将目的基因插入植物细胞的染色体DNA上。
- 14.大豆是一种双子叶植物,20世纪80年代美国一家公司从矮牵牛植株体内提取出了抗除草剂草甘膦的EPsPs基因,并将该基因导入大豆植株体内,成功培养出了能抵抗除草剂草甘膦的大豆新品种。请回答下列问题:
 - (1)将获得的EPsPs基因在体外进行扩增需要采用PCR技术,该技术的原理是双链DNA复制。
 - (2)将EPsPs基因导入大豆植株细胞之前需要构建基因表达载体,这一过程中需要使用限制性核酸内切酶和DNA连接酶,其中使用后者的目的是形成磷酸二酯键将目的基因和运载体结合起来形成重组DNA。
 - (3)将目的基因导入大豆植株细胞内常用的方法是农杆菌转化法,该方法需要首先将目的基因插入到Ti质粒的T-DNA上,目的是利用T-DNA的可转移的特点将目的基因插入植物细胞的染色体上。
- (4)检测大豆植株是否获得了抗除草剂草甘膦性状的较简单的方法是用一定浓度的草甘膦喷洒大豆植株,观察植株的生长情况。
- 15.溶菌酶具有抗菌、消炎、抗病毒等作用。T₄溶菌酶在温度较高时易失去活性,科学家对编码T₄溶菌酶的基因进行改造,使其表达的T₄溶菌酶的第3位的异亮氨酸变为半胱氨酸,在该半胱氨酸与第97位的半胱氨酸之间形成了一个二硫键,提高了T₄溶菌酶的耐热性。请根据所学知识回答下列问题:
 - (1)科研人员通过蛋白质工程(填具体生物工程技术名称)来设计改变酶的构象。该工程是指以分子生物学相关理论为基础,通过基因修饰或基因合成,对现有蛋白质进行改造,或制造一种新蛋白质的技术。
 - (2)在该研究中,引起T₄溶菌酶空间结构改变的原因是组成该酶肽链的氨基酸序列发生了改变。
 - (3)若将改造后的T₄溶菌酶基因导入奶牛成纤维细胞的细胞核中时,需要用到的工具酶有限制酶和DNA连接酶,将目的基因导入奶牛受体细胞常用的方法是显微注射法。
 - (4)要使该基因只在奶牛的乳腺细胞中选择性表达,构建基因表达载体的过程中要在目的基因前接上T₄溶菌酶基因的启动子。
- 16.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,原因是嫩叶组织细胞易破碎。提取RNA时,提取液中需添加RNA酶抑制剂,其目的是防止RNA降解。
 - (2)以mRNA为材料可以获得cDNA,其原理是在逆转录酶的作用下,以mRNA为模板按照碱基互补配对的原则可以合成cDNA。
 - (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,原因是目的基因无复制原点;目的基因无表达所需启动子(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磷酸二酯键。
 - (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,其可能的原因是目的基因的转录或翻译异常。

- 基因工程中除质粒外，λ噬菌体衍生物和动植物病毒也可作为运载体。
- 若用重组质粒转化大肠杆菌，一般情况下，不能直接用未处理的大肠杆菌作为受体细胞，原因是未处理的大肠杆菌吸收质粒（外源DNA）的能力极弱。
- 应该将目的基因导入质粒的启动子与终止子之间。
- 抗旱基因已经导入烟草细胞，但未检测出抗旱基因转录出的 mRNA，从构建基因表达载体的角度推测，最可能的原因是基因表达载体上的目的基因首端未加入启动子。
- 2017年12月20日澳大利亚—新西兰食品标准局批准国际水稻研究所转基因水稻 GR2E 用于食品生产。该转基因水稻富含 β-胡萝卜素。回答下列问题：

- 通过 β-胡萝卜素 mRNA 可以获得 β-胡萝卜素基因，其原理是在逆转录酶的作用下，以β-胡萝卜素mRNA为模板按照碱基互补配对的原则可以合成β-胡萝卜素基因。
- 将 β-胡萝卜素基因和完整质粒载体连接时，需要使用限制酶、DNA连接酶。不能直接将 β-胡萝卜素基因导入受体细胞，原因是与质粒载体相比，β-胡萝卜素基因无复制原点，也无基因表达所需的启动子（或启动子和终止子）。
- 利用农杆菌转化法将目的基因导入受体细胞时，最好将含重组质粒的农杆菌与水稻受伤的（填“受伤的”或“完好的”）茎尖共同培养，选用这种茎尖的理由是茎尖伤口处的细胞释放出大量酚类物质，可吸引农杆菌移向这些细胞。
- 用该转基因水稻与非转基因水稻杂交，发现子代中富含 β-胡萝卜素个体数与不富含 β-胡萝卜素个体数之比为 1:1，则说明 β-胡萝卜素基因已经整合到核基因组（填“线粒体基因组”“叶绿体基因组”或“核基因组”）中。

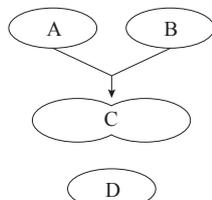
6. 植物组织培养的条件：

- 细胞离体和适宜的外界条件（如适宜温度、适时的光照、pH 和无菌环境等）
- 一定的营养（无机、有机成分）和植物激素（生长素和细胞分裂素）。

7. 植物的组织培养是利用植物细胞具有全能性原理。

8. 植物组织培养的过程：外植体 $\xrightarrow{\text{脱分化}}$ 愈伤组织 $\xrightarrow{\text{再分化}}$ 胚状体 \rightarrow 新植株

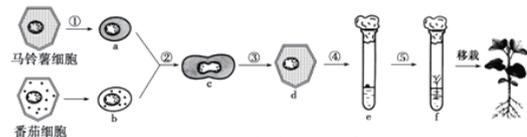
9. 下图为细胞融合的简略过程示意图，请据图完成问题：



- 若 A、B 是植物细胞，在细胞融合之前已用酶处理去掉了细胞壁，所用的酶可能是纤维素酶和果胶酶，由此生成的 A 和 B 称为原生质体；A、B 到细胞 C

的过程中，常用的物理方法有离心、振动、电激。融合完成的标志是杂种细胞产生新的细胞壁。

- 若 A、B 是动物细胞，一般取自幼龄动物的器官、组织，然后用胰蛋白酶使其分散开来；A、B 到 C 的过程中，常用的不用于植物细胞工程的方法是用灭活的病毒诱导细胞融合。对融合得到的 D 进行大规模培养时需要提供的气体环境为95%的空气加5%的CO₂，其中 CO₂ 的作用是维持培养液的pH。此外，培养液还应进行无菌处理，通常还要在培养液中添加一定量的抗生素，以防培养过程中的污染。
 - 若 A 为骨髓瘤细胞，B 为已免疫的 B 淋巴细胞，那么 D 称为杂交瘤细胞，这种细胞既能大量繁殖，又能产生特异性的抗体。
 - 从 A、B 到细胞 C 的过程中，可形成3种类型的细胞（仅考虑两个细胞间的融合）。若该过程用于单克隆抗体的制备，应筛选出符合要求的 D，方法是用特定的选择性培养基培养，为了大规模的生产单克隆抗体，还需对 D 进行第二次筛选，第二次筛选的目的是筛选出能分泌特定抗体的杂交瘤细胞。筛选出该类细胞后还需进行克隆化培养和抗体检测经多次筛选可获得数量足够的能分泌所需抗体的细胞。
- #### 10. 科学家利用番茄 (2N) 和马铃薯 (4N) 利用如图技术得到“番茄-马铃薯”植株。请回答下列问题：



- 获得 a、b 所选用的酶为纤维素酶和果胶酶，c 和 d 的名称依次是（正在融合的）原生质体、杂种细胞。
 - 图示技术名称是植物体细胞杂交技术；由 d 培育成植株的过程运用的技术手段是植物组织培养，其依据的原理是植物细胞全能性。
 - 过程②称为原生质体融合，所用的化学诱导剂一般是PEG（聚乙二醇），③过程成功的标志是杂种细胞再生出细胞壁。
 - 过程④是脱分化，⑤过程增殖的方式为有丝分裂，诱导 f 中植株生根过程中培养基中生长素与细胞分裂素的比值较④过程高（高/低）；最终获得的“番茄-马铃薯”属于六倍体植株。
- #### 11. 植物组织培养技术还用于脱毒苗的培育：一般选取茎尖作为外植体，依据是病毒极少，甚至无病毒。
- #### 12. 培育杂种植株（植物体细胞杂交）的意义是克服远缘杂交不亲和的障碍。

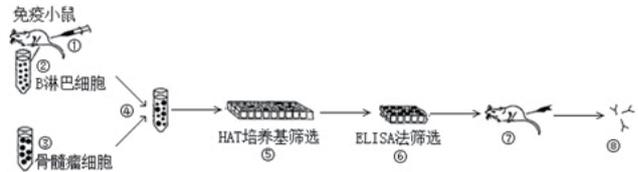


- 1.动物细胞培养是指从动物机体中取出相关的组织，将它分散成单个细胞，然后，放在适宜的培养基中，让这些细胞生长和增殖。
- 2.将动物组织分散为单个细胞，可以使用胰蛋白酶或胶原蛋白酶，但是注意消化的时间，否则会对细胞有损伤作用。
- 3.动物细胞培养液为合成培养基，但该培养基中往往要加入一些血清、血浆等天然成分。动物细胞培养所需气体主要有O₂和CO₂，CO₂的主要作用是维持培养液的pH。
- 4.当细胞悬液放入培养瓶内，置于适宜环境中培养，悬液中分散的细胞很快就贴附在瓶壁上，称为细胞贴壁。培养贴附性细胞时，细胞要能够贴附于底物上才能生长增殖，这就要求培养瓶或培养皿的内表面光滑、无毒，易于贴附。
- 5.在动物细胞培养过程中，当贴壁细胞分裂生长到细胞表面相互接触时，细胞会停止分裂增殖，这种现象称为细胞的接触抑制。要使贴壁的细胞从瓶壁上分离下来，需要用酶处理，可用的酶是胰蛋白酶。分瓶后继续培养，让细胞继续增殖，这样的培养过程通常被称为传代培养。
- 6.传代培养的细胞一般传至10代后就不易传下去了。一般来说，细胞在传至10~50代左右时，增殖会逐渐缓慢，以至于完全停止，这时部分细胞的细胞核型可能发生改变。当继续传代培养时，少部分细胞会克服细胞寿命的自然极限，获得不死性，这些细胞已经发生了突变，正在朝着等同于癌细胞的方向发展。目前使用的或冷冻保存的正常细胞通常为10代以内，以保持细胞正常的二倍体核型。
- 7.原代培养是指将动物组织消化后的初次培养。
- 8.若要将培养的细胞诱导分化成特定的T淋巴细胞，应将细胞增殖代数控制在10代以内，原因是保持细胞正常的二倍体核型。
- 9.随着细胞传代次数的增多，绝大部分细胞分裂停止，但极少数细胞可以连续增殖，该种细胞细胞膜表面蛋白质(糖蛋白)的量减少，甲胎蛋白和癌胚抗原增多。
- 10.植物体细胞杂交育种方法与传统杂交育种方法相比，优点是克服了不同生物远缘杂交不亲和的障碍。
- 11.在进行植物体细胞杂交时，需先去壁并获得有活力的原生质体。诱导原生质体融合时常使用的诱导剂是聚乙二醇，诱导剂的作用是促进细胞融合，提高细胞(原生质体)的融合率(答出两点)，融合后的原生质体会再生出细胞壁，新的细胞壁的产生与细胞内高尔基体(细胞器)有关。
- 12.制备原生质体需要配制酶解反应液，内含纤维素酶、渗透压稳定剂等。在反应液中，纤维素酶的作用是去除细胞壁，加入渗透压稳定剂的理由是维持原生质体的正常形态，防止其破裂。
- 13.在原生质体融合处理阶段，融合体系中除含异种融合的原生质体外，可能还有同种融合、未融合等原生质体的存在，体系中出现多种类型原生质体的原因是细胞融合是随机的且融合率达不到100%。
- 14.脱分化是指已分化的细胞失去特有的结构和功能而转变成未分化细胞的过程。
- 15.愈伤组织是具有分生能力的薄壁细胞。
- 16.从育种的角度分析，植物组织培养与有性繁殖相比，优势主要有保持优良品种的遗传特性；高效快速地实现种苗的大量繁殖。
- 17.制备抗人绒毛膜促性腺激素的单克隆抗体过程中，需要用特定的选择培养基筛选出杂交瘤细胞，该细胞的特点是既能迅速大量繁殖，又能产生专一(特异性)抗体，对杂交瘤细胞还需进行克隆化培养，并用人绒毛膜促性腺激素对其进行专一抗体检测，经多次筛选获得足够数量的所需细胞进行体内或体外培养。
- 18.外植体是指离体的组织、器官和细胞。
- 19.胚状体是指在组织培养过程中，在植物组织块或愈伤组织上产生的一种与正常受精卵发育形成的胚有类似的结构和发育过程的结构。
- 20.在体细胞诱变育种的过程中，可以对植物的愈伤组织进行化学或物理的诱变处理，促使其发生突变，再通过诱导分化形成植株。从这些植株中筛选出高抗、高产、优质的突变体，培育成新品种。化学诱变一般是利用一些化学诱导剂进行处理，常见的有甲基磺酸乙酯(EMS)和叠氮化钠(SA)等。物理诱变一般采用电离辐射处理，其主要包括γ射线、β射线、中子等。
- 21.动物细胞培养过程中，进行传代培养时用胰蛋白酶分散细胞，说明细胞间的物质主要是蛋白质。改用胃蛋白酶为什么不可行，原因是：多数细胞培养的适宜pH为7.2~7.4，在此环境中胃蛋白酶没有活性。
- 22.动物细胞培养的条件是：无菌、无毒的环境；营养物质；适宜的温度和pH；气体环境。
- 23.通常在动物细胞培养液中添加一定量的抗生素，目的是防止培养过程中的污染。此外，应定期更换培养液，目的是以便清除代谢产物，防止细胞代谢产物积累对细胞自身造成危害。
- 24.细胞体外培养所需营养物质与体内基本相同，需要有糖、氨基酸、促生长因子、无机盐、微量元素等。
- 25.合成培养基是指根据细胞所需营养物质的种类和数量配制而成的培养基。
- 26.在合成培养基中，通常需要加入血清、血浆等一些天然成分，因为血清、血浆中含有目前人们未知但细胞生长增殖所需的营养物质。
- 27.哺乳动物细胞培养的温度多在36.5±0.5°C为宜；多数细胞生存的适宜pH为7.2~7.4。
- 28.动物细胞培养需要气体主要有O₂和CO₂，O₂是细胞代谢所必需，CO₂的主要作用是维持培养液的pH。进行细胞培养时，通常采用培养皿或松盖培养瓶，将其置于含95%空气加5%CO₂的混合气体的培养箱中进行培养。
- 29.高度分化的植物组织仍保持着全能性，但动物细胞的全能性会随着动物细胞分化程度的提高而逐渐受到限制，分化潜能逐渐变弱。

- 1.一般将受精卵作为目的基因的受体细胞，原因是受精卵全能性更高，容易培养成完整的动物。
- 2.动物核移植是指将动物的一个细胞的细胞核，移入一个已经去掉细胞核的卵母细胞中，使其重组并发育成一个新的胚胎，这个新的胚胎最终发育为动物个体。用核移植的方法得到的动物称为克隆动物。
- 3.哺乳动物核移植可以分为胚胎细胞核移植和体细胞核移植。而动物体细胞核移植的难度明显高于胚胎细胞核移植，原因是动物胚胎细胞分化程度低，发挥其全能性相对容易，而动物体细胞分化程度高，发挥其全能性十分困难。
- 4.在体细胞的细胞核移植到受体卵母细胞之前，必须先去掉受体卵母细胞的细胞核，原因是为使核移植的胚胎或动物的细胞核遗传物质全部来自有重要利用价值的个体提供的体细胞。
- 5.用于核移植的供体细胞一般选用传代10代以内的细胞，原因是10代以内的细胞能保持正常的二倍体核型。
- 6.核移植方法生产的克隆动物，否（是/否）对体细胞供体动物100%的复制，原因是克隆动物绝大部分DNA来自于供体细胞核，但少部分质DNA来自受体卵母细胞，质DNA对克隆动物的性状有影响；其次生物的性状还受环境的影响。
- 7.请回答下列与克隆技术有关的问题：
 - (1) 动物体细胞核移植的难度明显高于胚胎细胞核移植，其原因是动物体细胞分化程度高，不容易恢复全能性。
 - (2) 从卵巢中吸取的卵母细胞，一般要培养到减数第二次分裂中期(或M II中期)阶段才能用于实验，实验中要用微型吸管吸出第一极体与卵母细胞的细胞核。
 - (3) 将供体细胞注入去核卵母细胞后，用物理或化学方法激活受体细胞，通过电刺激使两细胞融合，供体核进入受体卵母细胞，构建重组胚胎。
 - (4) 当胚胎发育到桑椹胚或囊胚阶段时，将胚胎移入受体（代孕）动物体内。
 - (5) 我国政府禁止生殖性克隆人，但不反对治疗性克隆，即不反对通过克隆技术诱导产生胚胎干细胞以用于医学研究和治疗。
- 8.制备单克隆抗体的过程中选用B淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合形成杂交瘤细胞的原因是：B淋巴细胞能产生特异性抗体，但不能无限增殖，骨髓瘤细胞能无限增殖，但不能产生抗体，将他们融合成为杂交瘤细胞，就会兼有两个亲本细胞的特性。
- 9.杂交瘤细胞的特性是既能不断增殖，又能产生某种特异性的抗体。
- 10.杂交瘤细胞的抗体检测和克隆化培养：融合后的细胞经过选择性培养基培养后，能存活的细胞就是杂交瘤细胞。但是这些杂交瘤细胞并非都是能分泌所需抗体的细胞，通常用“有限稀释法”来选择。将杂交瘤细胞稀

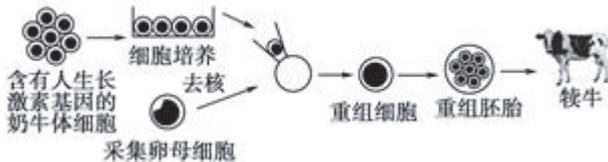
释，用多孔细胞培养板培养，使每孔细胞不超过1个，通过培养让其增殖。然后用抗原检测各孔上清液中细胞分泌的抗体（常用酶联免疫吸附试验法），那些上清液可与特定抗原结合的培养孔为阳性孔。阳性孔中的细胞还不能保证是来自单个细胞，挑选阳性孔的细胞继续进行有限稀释，一般需进行3~4次，直至确信每个孔中增殖的细胞为单克隆细胞。该过程即为杂交瘤细胞的克隆化培养。

- 11.破伤风是人畜共患的一种创伤性、中毒性疾病，破伤风类毒素单克隆抗体可以为破伤风的快速检测及治疗带来光明。如图是我国科学工作者进行的破伤风类毒素单克隆抗体的制备过程示意图，请据图回答：



- (1) 单克隆抗体与常规的血清抗体相比，最大的优越性是特异性强，灵敏度高，可以大量制备。
- (2) 由图可看出，单克隆抗体制备过程运用了动物细胞培养和动物细胞融合等技术手段，前一过程是制备单克隆抗体的基础，且需置于含95%空气加5%CO₂的混合气体的培养箱中进行培养，其中CO₂的作用是维持培养液的pH。
- (3) 他们将破伤风杆菌毒素注入小鼠体内，使小鼠产生免疫反应，然后从小鼠的脾脏中获取B淋巴细胞。淋巴细胞是由动物体骨髓中的造血干细胞分化、发育而来的。
- (4) 经过程①诱导操作后，免疫小鼠获得的每种B淋巴细胞能产生1种抗破伤风类毒素抗体。
- (5) 过程⑤可筛选出杂交瘤细胞，根据培养基的用途分类，HAT培养基属于选择性培养基。在该培养基上，未融合的亲本细胞和融合的具有同种核的细胞都会死亡，从而筛选得到杂交瘤细胞。选出的杂交瘤细胞既具备骨髓瘤细胞的迅速在体外大量增殖特点，又具备淋巴细胞的分泌专一抗体特点。
- (6) 过程⑥进行了克隆化培养和抗体检测，从而筛选出能产生特定抗体的杂交瘤细胞，具体做法是：将杂交瘤细胞多倍稀释，接种在多孔的细胞培养板上，使每孔细胞不超过1个，通过培养让其增殖，然后通过ELISA法（又称酶联免疫吸附试验法）检测各孔上清液中细胞分泌的抗体，可与特定抗原结合的培养孔为阳性孔。如果阳性孔中的细胞还不能保证是来自单个细胞，应将该阳性孔中的细胞适当稀释，重复3~4次，直至确信每个孔中增殖的细胞为单克隆细胞。
- (7) 如果把抗癌细胞的单克隆抗体跟化学药物相结合，制成生物导弹，注入体内，借助单克隆抗体的导向作用，将药物定向带到癌细胞所在位置，在原位杀死癌细胞。

- 1.从动物体内获得体细胞后,对其进行的初次培养称为原代培养,培养的细胞在贴壁成长至充链满培养皿底时停止分裂,这种现象称为接触抑制。
- 2.重组囊胚通过胚胎移植技术移入白鼠子宫内继续发育,暂不移入的胚胎可使用冷冻(或低温)方法保存。
- 3.小鼠胚胎干细胞(ES)可由囊胚的内细胞团细胞分离培养获得,iPS与ES细胞同样具有发育全能性,有望在对人类iPS细胞进行定向诱导分化后用于疾病的细胞治疗。
- 4.科学家通过转基因技术获得了含有人生长激素基因的奶牛,如果要加速转基因奶牛的繁育,可以对此转基因奶牛进行克隆(如下图所示)。请结合图示回答下列问题:



- (1)在进行细胞培养时,要对取自转基因奶牛的组织细胞进行分离,形成单个细胞,这个过程中需要利用胰蛋白(或胶原蛋白)酶处理。
 - (2)形成重组细胞时应选用M II中期的卵母细胞,并去掉其细胞核的原因是使克隆出的动物个体的遗传物质几乎全部来自供体细胞(或避免卵细胞中的遗传物质对后代造成干扰)。
 - (3)如果重组细胞为贴附性细胞,则在进行原代培养时,还会表现出接触抑制等特点。传代培养过程中,培养10代以内的细胞保持正常的二倍体核型。
 - (4)图中犍牛并非是对体细胞核供体母牛性状100%的复制,其原因主要有生物的性状受细胞核基因和细胞质基因共同控制、生物的性状受环境因素的影响。
 - (5)上图中所示的生物技术整体被称为核移植(或体细胞核移植),其包括的具体生物技术有动物细胞培养、胚胎移植等。转基因奶牛的克隆成功,说明了动物体细胞的细胞核具有全能性。
- 5.单克隆抗体与常规的血清抗体相比最大的优点是特异性强、灵敏度高、能大量制备。
 - 6.回答下列有关动物细胞培养的问题。
 - (1)在动物细胞培养过程中,当贴壁细胞分裂生长到细胞表面相互接触时,细胞会停止分裂增殖,这种现象称为细胞的接触抑制。此时,瓶壁上形成单层细胞,要使贴壁的细胞从瓶壁上分离下来,需要用胰蛋白酶处理。
 - (2)在动物细胞培养时,在培养基中通常还需要加入适量的血清、血浆等一些天然成分,细胞培养应在含5%CO₂的恒温培养箱中进行,CO₂的作用是维持培养液的pH。
 - (3)随着细胞传代次数的增多,绝大多数细胞停止分裂,进而出现衰老甚至死亡的现象;但极少数细胞可连续增殖,其中有些细胞会因遗传物质发生改变而变成不死性细胞,该种细胞的黏着性降低,细胞

膜表面糖蛋白的量减少。

- (4)在细胞培养过程中,通常在冷冻(或超低温、液氮)条件下保存细胞。因为在这种条件下,细胞中酶的活性降低,细胞的新陈代谢速率下降。
- 7.回答下列问题:
 - (1)基因工程的核心步骤是基因表达载体的构建。
 - (2)PCR扩增过程中,延伸阶段的实质是在热稳定DNA聚合酶(或Taq酶)酶的作用下,合成子链。
 - (3)将目的基因导入大肠杆菌细胞中,常用Ca²⁺处理细胞,使细胞处于感受态。
 - (4)单克隆抗体可制作诊断盒,用于准确、快速诊断H7N9病毒感染者,这种诊断运用了抗原—抗体杂交技术。
 - (5)受精卵在体外培养时,培养液中除了加水、无机盐、维生素、葡萄糖、氨基酸等分泌的营养成分外,往往需要特别加入血清,同时在含5%CO₂的无菌、恒温培养箱中进行培养。
 - (6)在胚胎移植前,通过胚胎分割技术可获得较多胚胎。在胚胎移植过程中,供体、受体动物选择好后,要用激素进行同期发情处理,使供、受体的生理状态相同。
 - (7)动物细胞融合技术常用的诱导因素有PEG、电激、和灭活的病毒,培养液中共有3种类型的融合细胞(只考虑两两融合)。
 - 8.2017年11月27日世界上首个体细胞克隆猴“中中”诞生,12月5日第二个克隆猴“华华”诞生,该成果标志中国率先开启了以体细胞克隆猴作为实验动物模型的新时代,实现了我国在非人灵长类研究领域由国际“并跑”到“领跑”的转变。据此回答问题。
 - (1)“中中”和“华华”的诞生,体现出动物细胞的细胞核具有全能性,克隆技术在繁殖类型上属无性繁殖;非人灵长类克隆技术实践日益成熟对人类治疗性克隆具有重要意义,但我国政府一再重申不赞成、不允许、不支持、不接受任何生殖性克隆人的实验。
 - (2)相对于植物克隆而言,动物尤其是高等动物的克隆比较困难,原因是细胞难以脱分化,体细胞核内虽然有全套基因,但大部分基因在分化后就不再表达,很难被激活,因而在克隆过程中需要使用去核的卵母细胞,原因是卵母细胞质中含有激活体细胞核全能性的物质。
 - (3)在干细胞研究领域,科学家裴端卿的团队用人的尿液在小鼠体内培育出了人再生牙齿,目前他们已经能够将尿液中提取的多能干细胞与滋养细胞共同培养,或在培养液中加入分化诱导因子,如牛黄酸、丁酰环腺苷酸等物质可进一步使之变成血液细胞、骨细胞、皮肤细胞、肝细胞以及神经细胞等多种组织细胞。



1. 胚胎工程是指对动物的早期胚胎或配子所进行的各种显微操作和处理技术, 如体外受精、胚胎移植、胚胎分割、胚胎干细胞培养等技术。
2. 在胚胎移植操作中, 应该对供体和受体的母畜进行同期发情处理, 目的是使供体和受体(的生殖器官) 处于相同的生理状态, 使胚胎在移植前后所处的生理环境保持一致。进行胚胎移植的优势是可以充分发挥雌性优良个体(或优良母畜)的繁殖潜力。
3. ES 或 EK 细胞来源于早期胚胎或原始性腺, 在功能上具有发育的全能性。体外培养时, ES 细胞可以增殖而不发生分化, 可对其进行冷冻保存, 也可进行遗传改造。
4. 请回答有关受精作用的问题:
 - (1) 在自然条件下, 受精是在雌性的输卵管内完成的。
 - (2) 刚刚排出的精子, 不能立即与卵子受精, 必须在雌性动物生殖道中发生相应的生理变化后, 才能获得受精能力, 这一生理现象称为精子获能。
 - (3) 动物排出的卵子成熟程度不同, 它们都要在输卵管内进一步成熟, 当达到MI 中期时, 才具备与精子受精的能力。
 - (4) 哺乳动物的受精过程主要包括: 精子穿越放射冠和透明带, 进入卵细胞膜, 原核形成和融合过程。
 - (5) 获能后的精子与卵子相遇时, 首先发生顶体反应, 是其中的酶释放出来, 精子所释放的顶体酶可直接溶解卵丘细胞间的物质, 形成精子穿越放射冠的通路。
 - (6) 精子与透明带接触, 顶体酶将透明带溶出一条孔道, 精子借自身运动穿越透明带, 并接触卵细胞膜。在精子触及卵细胞膜的瞬间, 会产生阻止后来的精子进入透明带的生理反应, 这个反应称做透明带反应, 它是防止多精入卵的第一道屏障。
 - (7) 精子入卵后, 卵细胞膜会立即发生一种生理反应, 拒绝其他精子再进入卵内, 这种生理反应称为卵细胞膜反应。这是防止多精入卵的第二道屏障。
5. 精子入卵后, 尾部脱离, 原有的核膜破裂, 形成一个新的核膜, 最后形成一个比原来精子核还大的核, 叫做雄原核。与此同时, 精子入卵后被激活的卵子完成MI, 排出第二极体后, 形成雌原核。
6. 回答下列有关胚胎工程的相关问题;
 - (1) 1890 年, 英国剑桥大学的生物学家将纯种的安哥拉兔的两个 4 细胞胚胎移入一只纯种的比利时兔的输卵管内, 成功地得到两只纯种的安哥拉子兔。这个实验首次证实了同种动物的胚胎在异体动物体内发育的可能性。
 - (2) 哺乳动物卵子发生过程中, 减数第二次分裂是在精子和卵子结合过程中完成的, 哺乳动物卵子和精子在发生上的重要区别是卵泡的形成和在卵巢内储备, 是在出生前完成的。在实施体外受精时, 获能的精子与培养成熟的卵子, 通常都可以在获能溶液或专用的受精溶液中完成受精作用, 在体外受精

后, 应将受精卵移入发育培养液中继续培养, 以检查受精状况和受精卵的发育能力。

- (3) 胚胎移植需收集胚胎, 收集胚胎时冲卵的生理学基础是早期胚胎形成后处于游离状态, 未与母体子宫建立联系。胚胎分割时用分割针取样的滋养层的用途是做 DNA 分析性别鉴定。
 - (4) ES 细胞是研究细胞分化的理想材料, ES 细胞在饲养层细胞上, 或在添加抑制因子的培养液中, 能够维持不分化的状态。
7. 请回答下列有关胚胎工程和基因工程方面的问题:
- (1) 目前, 科学家通过细胞核移植实验, 培育出多种哺乳动物新类型。在哺乳动物的核移植实验中, 一般通过电脉冲(填物理方法) 将受体细胞激活, 使其进行细胞分裂并发育, 当胚胎发育到桑椹胚或囊胚阶段时, 将胚胎植入另一雌性(代孕)动物体内。若需长时间保存胚胎细胞, 通常可在冷冻(或“超低温”“液氮”)条件下保存, 因为在这种条件下, 细胞中酶的活性降低, 细胞的代谢速率降低; 而与一般的繁育良种动物方式相比较, 胚胎移植的优势是充分发挥雌性优良个体的繁殖潜力。
 - (2) 在“试管牛”的培育过程中, 要使精子和卵母细胞在体外成功结合, 需要对精子进行获能处理。另外, 培养的卵母细胞需要发育至MI 中期(减数第二次分裂中期), 该时期在显微镜下可观察到次级卵母细胞和第一极体。
 - (3) 若要使获得的转基因牛分泌的乳汁中含有人干扰素, 需构建目的基因表达载体。目前常用的措施是将该基因表达载体导入牛的受精卵(填“受精卵”或“乳腺细胞”), 导入方法是显微注射法。
8. 2018 年 11 月, 来自中国深圳的科学家宣布, 一对名为露露和娜娜的基因编辑婴儿于 11 月在中国健康诞生。这对双胞胎在的一个 CCR5 基因(HIV 病毒入侵机体细胞的主要辅助受体之一), 经过修改, 使她们出生后即能天然抵抗艾滋病。这是世界首例免疫艾滋病的基因编辑婴儿。
- (1) 自然条件下, 受精是在雌性动物的输卵管内完成的。
 - (2) 双胞胎的妈妈通过常规的试管婴儿技术受孕, 涉及的胚胎工程技术主要有体外受精、胚胎移植和早期胚胎培养等。
 - (3) 科学家首先要向妈妈注射促性腺激素, 已获得足够数量的卵子, 受精前并对志愿者爸爸的精子进行获能处理。
 - (4) 早期胚胎发育的过程大致为: 受精卵→桑椹胚→囊胚→原肠胚, 囊胚中的滋养层细胞将发育成胎膜和胎盘。
 - (5) 中国对涉及试管婴儿的态度是:禁止生殖性克隆, 不反对治疗性克隆。



1. 精子和卵子在发生上的重要区别是哺乳动物卵泡的形成和在卵巢内的储备是在胎儿时期完成的。
2. 胚胎工程的最后一道工序是胚胎移植。
3. 胚胎工程是指对动物早期胚胎或配子所进行的各种显微操作和处理技术，如体外受精、胚胎移植、胚胎分割、胚胎干细胞培养等技术。
4. 合子形成后即在输卵管内进行有丝分裂，开始发育。胚胎发育的早期有一段时间是在透明带内进行的，其显著特点是胚胎的总体积不增加或略有缩小。导致透明带破裂，胚胎从中伸展出来的过程叫做孵化。
5. 防止多个精子与卵子受精的生理机制包括透明带反应、卵细胞膜反应。
6. 胚胎工程中，移植的胚胎在受体体内存活的生理基础是受体子宫对外来的胚胎基本不发生排斥反应。
7. 为了降低克隆难度，核移植的供体细胞最好取胚胎干细胞（填“胚胎干细胞”或“体细胞”），原因是胚胎干细胞的分化程度低，全能性高。
8. 试管动物与克隆动物的区别是试管动物是有性生殖，克隆动物是无性生殖。
9. 胚胎移植时多采用多胚胎移植，因此需要促性腺激素用激素处理促进母亲排出更多的卵子。胚胎发育的卵裂期在透明带内进行。
10. 对胚胎进行分割时，要特别注意将内细胞团均等分割，否则会影响分割后的胚胎恢复和进一步发育。
11. 判断卵子是否受精的重要标志是在卵细胞膜和透明带的间隙可以观察到两个极体。
12. 为了某些需要，需对胚胎的性别进行鉴定。目前最有效最准确的方法是 SRY-PCR 法，操作的基本程序是：从被测的囊胚中取出几个滋养层细胞，提取 DNA；然后用位于Y 染色体上的性别决定基因（即 SRY 基因）的一段碱基作引物，以滋养层细胞的 DNA 模板进行 PCR 扩增；最后与 SRY 特异性探针出现阳性反应者，胚胎为男性。
13. 设计试管婴儿、克隆人等都是引起人们广泛争论的问题。我国不反对治疗性克隆，即可利用人体细胞核移植等技术治疗人类疾病，在去除卵母细胞的细胞核时，可用微型吸管把位于卵细胞膜和透明带之间的第一极体一并吸出。
14. 一般来说，生态工程的主要任务是对已破坏的生态系统进行修复，对造成环境污染和破坏的生产方式进行改善，并提高生态系统的生产力。
15. 请回答有关胚胎发育的问题：
 - (1) 合子形成后即在输卵管内进行有丝分裂，开始发育。
 - (2) 胚胎发育的早期有一段时间是在透明带内进行的，这一时期称为卵裂期。其特点是细胞分裂方式为有丝分裂，细胞的数量增加（增加 / 减少），整个胚胎的总体积不增加（增加 / 不增加），每个细胞中的有机物减少（增加 / 减少），胚胎的总核酸含量增加（增加 / 减少）。
16. 近日，荷兰科研人员利用小鼠胚胎干细胞，在培养皿中造出了类似于早期胚胎的结构——“类胚胎”。请回答下列相关问题：
 - (1) 胚胎干细胞在形态上具有体积小、细胞核大、核仁明显的特点，其可以取自囊胚的内细胞团细胞，也可取自原始的性腺细胞。
 - (2) 取出的胚胎干细胞进行克隆化培养，其原理是细胞增殖（有丝分裂），培养液中的营养除正常的有机和无机营养外，还需加入血浆和血清等一些天然成分。
 - (3) 培养干细胞过程中会出现接触抑制现象，而癌细胞不会出现该现象。为防止代谢产物积累，需及时更换培养液。
 - (4) 若获得的“类胚胎”就是早期胚胎，得到的这些胚胎一般进行胚胎移植或冷冻处理。
17. 哺乳动物胚胎干细胞（简称或细胞）的成功分离和培养是胚胎工程中的重大成就之一，在基础生物学、畜牧学和医学上都具有十分重要的应用价值。请回答下列有关问题：
 - (1) 哺乳动物的胚胎干细胞，是从早期胚胎或原始性腺中分离出来的一类细胞，在功能上具有发育的全能性，在分化诱导因子因子的作用下，可使其分化为心脏组织等不同类型的组织细胞。
 - (2) 在体外对胚胎干细胞进行的初次培养称为原代培养。培养过程中，当贴壁细胞分裂生长到细胞表面相互接触时，细胞会停止分裂增殖，这种现象称为细胞的接触抑制。若要继续培养，需要对贴满瓶壁的细胞用胰蛋白酶或胶原蛋白酶等处理，通常还要在培养液中添加一定量的抗生素，以防培养过程的污染。
 - (3) 哺乳动物细胞体外培养的适宜温度是36.5±0.5℃，适宜 pH 是7.2—7.4。



1. 排卵是指卵子从卵泡中排出的过程，排出的卵子一般发育到减数第二次分裂中期（填时期）才能和获能的精子结合。
2. 孵化指的是胚胎从透明带中伸展出来。
3. 胚胎移植的实质是早期胚胎在相同生理环境条件下空间位置的转移。
4. 常选用卵母细胞作为核移植受体细胞的原因是含有促使细胞核表达全能性物质；体积大、易操作，营养丰富。
5. 正常情况下，哺乳动物的受精过程主要包括：精子穿越放射冠和透明带，进入卵细胞膜，原核形成和融合。
6. 哺乳动物的体外受精主要包括卵母细胞的采集、精子的获取和受精等几个主要步骤。
7. 在体外受精前，要对精子进行获能处理。通常采用的体外获能方法有培养法和化学诱导法。
8. 精子和卵子在体外受精以后，应将受精卵移入发育培养液中继续培养。
9. 刚排出的卵不是（填“是”或“不是”）成熟的卵子。在母体的子宫内不能得到受精卵的原因是受精发生在输卵管中，完成受精后即进行有丝分裂。
10. 通过手术进行过程胚胎移植操作，应从子宫角（部位）将早期胚胎注入子宫，可提高胚胎的着床率。
11. 体细胞核移植的难度明显高于胚胎细胞核移植，其原因是体细胞分化程度高，不容易恢复全能性。
12. 试管婴儿技术主要用到了胚胎工程中的体外受精技术和胚胎移植技术，同时还用到了细胞工程中的动物细胞培养技术。
13. 试管婴儿技术给众多因身体原因而不能自然受孕的家庭带来了福音。培育试管婴儿首要做的是体外受精和早期胚胎的培养。回答下列问题：
 - (1) 输卵管阻塞患者并不能正常生育的原因是精子卵子不能完成受精作用。
 - (2) 一般需对做试管婴儿的女性注射促性腺激素，使其排出更多的卵子。
 - (3) 获能的精子和培育成熟的卵子，一般情况下，可以在获能溶液或专用的受精溶液中完成受精作用。
 - (4) 当获能的精子与卵子相遇时，首先发生顶体反应，引起相关酶的释放该酶能溶解卵丘细胞之间的物质。受精时防止多精入卵的生理反应有透明带反应和卵细胞膜反应。
 - (5) 培育早期胚胎时，需用的培养液成分比较复杂，除了一些无机盐和有机盐类外，还需要添加维生素、激素、氨基酸、核苷酸等营养成分，以及血清等物质。人的体外受精胚胎，即试管胚胎，可在8~16个细胞阶段移植。
 - (6) 用某染料鉴定胚胎细胞是否为活细胞时，发现活的胚胎细胞不能被染色，其原因是活细胞的细胞膜对物质的吸收具有选择透过性。
14. 2017年10月，中国科学院动物研究所干细胞与生殖生物学国家重点实验室的科学家们，利用 CRISPR—Cas9 基

因编辑技术创造出了 12 只健康猪，其体脂肪比普通猪低约 24%。低脂肪的动物有一个基因能通过燃烧脂肪控制体温，创造出的低脂肪猪将能节省养殖户的大量保温费用，减少寒冷冬季造成的损失。请回答下列问题：

- (1) 科学家将小鼠调节体温的基因 UPC1 成功地编辑到缺乏调节体温基因的猪体内。猪所产生的变异属于基因重组。
 - (2) 为了能获得更多的猪卵（母）细胞，在取卵（母）细胞前，通常需要注射促性腺激素来促进排卵。注射的该物质是由猪的垂体（器官）分泌的。
 - (3) 判断卵细胞在体外是否受精的标志是在卵细胞膜和透明带的间隙是否可以观察到两个极体。
 - (4) 在获得的早期胚胎移植到胚胎受体前，需要对胚胎受体进行同期发情处理。对暂时不移植的早期胚胎，可采用冷冻法进行保存。
 - (5) 胚胎移植的实质是早期胚胎在相同生理环境下空间位置的转移。
 - (6) 创造出 12 只健康猪的过程，运用到的胚胎工程技术有体外受精、早期胚胎培养、胚胎移植（答两种即可）。
15. 回答下列问题：
- (1) 人体组织内的 A 物质是一种重要的药用蛋白质，可以通过基因工程从母羊的乳汁中获得。获取 A 基因和载体用同种限制酶切割后，通过 DNA 连接酶连接，以构建重组表达载体。将其导入母羊受精卵常用的方法是显微注射法。检测目的基因是否插入到受体细胞 DNA 上，可采取DNA 分子杂交技术。
 - (2) 在胚胎工程的应用中，为获取更多的卵（母）细胞，要对供体动物注射促性腺激素，使其超数排卵。从良种的雄性个体采集的精子需要获能后才能进行受精作用。体外受精可以在获能溶液或者专用受精溶液中完成受精。
 - (3) 一般当早期胚胎发育到桑椹胚或囊胚阶段时，将胚胎移入受体（代孕）个体子宫内断续发育。移植后的胚胎在受体子宫内存活，其生理基础是受体子宫对外来胚胎不发生排斥反应。
 - (4) 蛋白质工程是以蛋白质分子的空间结构规律及其与生物功能的关系作为基础，通过基因修释或基因合成，对现有蛋白质进行改造，或制造一种新的蛋白质，以满足人类的生产和生活需求。
 - (5) 我国西北土地沙化和盐渍化非常严重，原因有多种，其中一个主要原因是超载放牧导致草地退化。试分析上述事实主要违背了生态工程的协调与平衡原理。

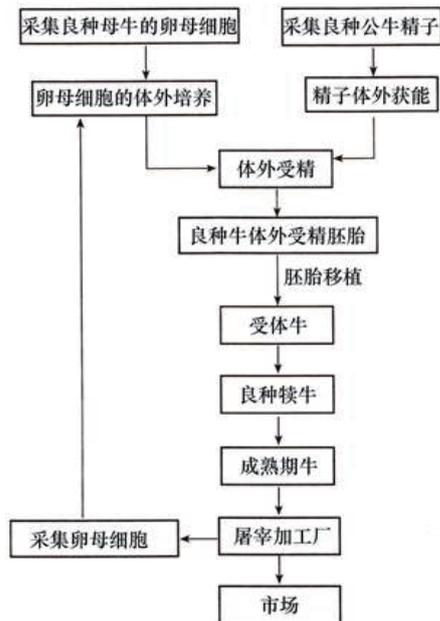
1. 重组 Ti 质粒载体结构中 T-DNA 的作用是携带目的基因进入受体细胞并整合到受体细胞中染色体DNA上。
2. 将供体细胞注入去核的卵母细胞后，一般通过电脉冲（填物理方法）激活受体细胞，使其完成细胞分裂和发育进程。
3. 一般来说，生态工程的主要任务是对已被破坏的生态环境进行修复，对造成环境污染和破坏的生产方式进行改善，并提高生态系统的生产力。与传统的工程相比具有少消耗、多效益、可持续等特点。
4. 请回答有关受精作用的问题：
 - (1) 在自然条件下，受精是在雌性的输卵管内完成的。
 - (2) 刚刚排出的精子，不能立即与卵子受精，必须在雌性动物生殖道中发生相应的生理变化后，才能获得受精能力，这一生理现象称为精子获能。
 - (3) 动物排出的卵子成熟程度不同，它们都要在输卵管内进一步成熟，当达到MII 中期时，才具备与精子受精的能力。
 - (4) 哺乳动物的受精过程主要包括：精子穿越放射冠和透明带，进入卵细胞膜，原核形成和融合过程。
 - (5) 获能后的精子与卵子相遇时，首先发生顶体反应，是其中的酶释放出来，精子所释放的顶体酶可直接溶解卵丘细胞间的物质，形成精子穿越放射冠的通路。
 - (6) 精子与透明带接触，顶体酶将透明带溶出一条孔道，精子借自身运动穿越透明带，并接触卵细胞膜。在精子触及卵细胞膜的瞬间，会产生阻止后来的精子进入透明带的生理反应，这个反应称做透明带反应，它是防止多精入卵的第一道屏障。
 - (7) 精子入卵后，卵细胞膜会立即发生一种生理反应，拒绝其他精子再进入卵内，这种生理反应称为卵细胞膜反应。这是防止多精入卵的第二道屏障。
 - (8) 精子入卵后，尾部脱离，原有的核膜破裂，形成一个新的核膜，最后形成一个比原来精子核还大的核，叫做雄原核。与此同时，精子入卵后被激活的卵子完成MII，排出第二极体后，形成雌原核。
5. 一对名为露露和娜娜的“基因编辑婴儿”的诞生引发了国内巨大的争议，“基因编辑婴儿”指通过基因编辑技术修改人体胚胎、精子或卵细胞的细胞核中的 DNA 后生下的婴儿。这对双胞胎的 CCR5 基因经过了修改，是世界首例免疫艾滋病的“基因编辑婴儿”。请回答下列相关问题：
 - (1) 露露与娜娜实质是试管婴儿，获能的精子和成熟的卵子，一般情况下可以在获能溶液(或专用的受精溶液)（填物质）中完成受精，然后放入早期胚胎培养液中培养，该培养液除添加一些无机盐和有机盐类外，还需添加维生素、激素、氨基酸、核苷酸等营养成分，以及血清等物质。
 - (2) 这对胚胎培养至桑椹胚或囊胚期便可移植到母体中，而她们能够在母体中正常发育的生理基础是供体胚胎可与受体子宫建立正常的生理和组织联系，且

供体胚胎的遗传特性不受任何影响。若科学家想在早期胚胎时就知道露露的性别，可通过做DNA分析来实现。

- (3) 据报道，科学家当时获得了多个这样的胚胎，其余胚胎的处理方式最可能为冷冻保存。
- (4) 请从 DNA 角度分析“基因治疗”与“基因编辑婴儿”的区别：“基因治疗”需要导入外源正常的基因，而“基因编辑婴儿”则直接修改相应的基因，无须导入相应正常的外源基因。
6. 请根据所学知识，回答下列问题：
 - (1) 启动子的作用是RNA 聚合酶结合的位点，驱动基因转录产生 mRNA。
 - (2) 若在“胰岛素羊”（已知重组 DNA 已进入细胞）乳汁中检测到胰岛素，其乳腺细胞分泌的胰岛素与转基因“胰岛素细菌”产生的胰岛素相比所具有的优点转基因“胰岛素羊”乳腺细胞有内质网与高尔基体加工相关蛋白质，分泌的胰岛素有生物学活性，转基因“胰岛素细菌”产生的胰岛素无生物学活性，需要再加工。
 - (3) 体外受精时，精子首先要进行获能处理，通常采用的体外获能方法有培养法和化学诱导法两种。
 - (4) 构建重组细胞后，经培养形成胚胎干细胞，胚胎干细胞在饲养层上或者在添加抑制因子的培养液中能维持不分化状态。在培养液中加入分化诱导因子，就可以诱导胚胎干细胞向不同类型的组织细胞分化，使其形成特定的器官。
 - (5) 体外基因治疗与一般的异体移植相比最大的优点的没有排斥反应。
7. 请回答胚胎工程方面的问题：
 - (1) 应用胚胎工程技术可以培育出“试管牛”。试管牛的培育需经过体外受精、早期胚胎培养、胚胎移植以及在母体中发育和产出等过程。
 - (2) 在“试管牛”的培育过程中，要使精子和卵母细胞在体外成功结合，需要对精子进行获能处理。另外，培养的卵母细胞需要发育至减数第二次分裂的中期，该时期在显微镜下可观察到次级卵母细胞和第一极体。
 - (3) 通常奶牛每次排出一枚卵母细胞，利用促性腺激素处理可使其一次排出多枚卵母细胞，从而获得多枚胚胎。再通过胚胎移植及胚胎分割可大大提升供体的繁育能力。进行胚胎分割时，一般采用发育良好、形态正常的桑椹胚或囊胚。对胚胎进行分割时，要特别注意将内细胞团均等分割，否则会影响分割后的胚胎恢复和进一步发育。
 - (4) 胚胎干细胞可以分化为成年动物体内任何一种组织细胞，因此具有极高的应用价值。通常胚胎干细胞可以从早期胚胎或原始性腺中分离得到。



- 体外培养“万能细胞”需要配制营养液，通常要在合成培养基中添加动物血清（血浆）等一些天然成分。当贴壁细胞分裂生长到表面相互接触时，细胞就停止分裂增殖这种现象叫接触抑制。通常将多孔的中空薄壁小玻璃珠放入培养瓶中，目的是扩大细胞（贴壁）生长的附着面积，防止细胞过早出现接触抑制现象，增加培养的细胞数量，也有利于空气交换。
- “DNA 探针”是指用放射性同位素标记的含目的基因的 DNA 单链。
- 将外源基因导入小鼠受精卵后，外源基因会随机插入到小鼠受精卵 DNA 中。这种受精卵有的可发育成转基因小鼠，有的却死亡。请分析：因外源基因的插入导致受精卵死亡的最可能原因外源基因的插入使受精卵中生命活动必需的某些基因不能正常表达。
- 生态工程所遵循的基本原理：物质循环再生原理、物种多样性原理、协调与平衡原理、整体性原理、系统学和工程学原理。
- 请根据下图，回答有关体外受精和早期胚胎发育的问题：



- 试管动物技术是指通过人工操作使精子和卵子在体外条件下成熟和受精，并通过培养发育成早期胚胎后，再经胚胎移植产生后代的技术。
- 对于实验动物，采集卵母细胞的方法，即用促性腺激素进行处理，使其超数排卵，然后从输卵管中冲取卵子，能（能 / 不能）直接与获能的精子在体外受精。
- 对于大型家畜或大型动物，采用卵母细胞的方法是从屠宰场母畜的卵巢中采集卵母细胞，也可以借助超声波探测仪、内窥镜或腹腔镜等工具从活体动物的卵巢中吸取卵母细胞。采集的卵母细胞需要在体外培养到MII 中期才能与获能的精子受精。
- 收集精子的方法有假阴道法、手握法和电刺激法等。其中假阴道法是采用仿生学的方法，使用假台畜时，要训

练被采集动物爬跨台畜；手握法不需要任何设备，适用于体型较小，易于控制的家畜；电刺激法是将动物麻醉后，用特制的电极伸入动物的直肠，刺激相应的神经，引起射精。

- 在体外受精前，要对精子进行获能处理。对于小鼠、家兔和猪等动物的精子，一般采用培养法，即将取自附睾的精子，放入人工配置的获能液中培养一段时间；对于牛、羊等家畜的精子采用化学法，即将精子放入一定浓度的肝素或钙离子载体A23187中诱导精子获能。
- 获能的精子和培养成熟的卵子，一般情况下都可以在获能溶液或专用的受精溶液中共同培养一段时间，完成受精过程。
- 精子与卵子体外受精后，应将受精卵移入发育培养液中继续培养，该溶液的成分有无机盐、有机盐、氨基酸、核苷酸、维生素、激素，以及动物血清等物质。
- 当胚胎发育到适宜的阶段时，可将胚胎向受体移植，或冷冻保存。不同动物胚胎移植的时间不同，例如，牛、羊一般要培养到桑椹胚或囊胚阶段才能移植，人的体外胚胎可以在8~16 个细胞阶段移植。

6.请回答下列有关胚胎分割的问题：

- 胚胎分割是指采用机械方法将早期胚胎切割成 2 等份、4 等份、8 等份等，经移植获得同卵双胞胎或同卵多胞胎的技术。来自同一胚胎的后代具有相同的遗传物质，可以看做动物的无性繁殖或克隆。
- 所需要的主要仪器设备为实体显微镜和显微操作仪。
- 胚胎分割时应选择发育良好，形态正常的桑椹胚或囊胚。
- 对囊胚阶段的胚胎分割时要将内细胞团均等分割，否则会影响分割后胚胎的恢复和进一步发育。还可取囊胚阶段的滋养层细胞做 DNA 分析性别鉴定。

高中生物实验知识点

观察类实验

1. 观察 DNA 和 RNA 在细胞中的分布

(1) 目的：初步掌握观察 DNA、RNA 分布的方法

(2) 原理：

① **甲基绿** 和 **吡罗红** 两种染色剂对 DNA、RNA 的亲合力不同

② **甲基绿** 使 DNA 呈 **绿色**，**吡罗红** 使 RNA 呈 **红色**

③ 盐酸的作用有两点，分别是：

a. **改变细胞膜通透性，加速染色剂进入细胞**；

b. **使 DNA 与蛋白质分离，DNA 与染色剂结合**。

(3) 步骤：制片→**水解**→冲洗（**缓水流**）→染色。

(4) 观察：

① 低倍镜：选择 **染色均匀，色泽浅** 的区域。

② 高倍镜：调节观察

(5) 结论：DNA 主要分布于 **细胞核** 中，RNA 主要分布于 **细胞质** 中。

2. 用高倍镜观察叶绿体和线粒体

(1) 目的：观察叶绿体和线粒体的 **形态及分布**。

(2) 原理：**健那绿** 将 **活** 细胞中的线粒体染成 **蓝绿色**，而细胞质接近无色

(3) 步骤：

① 叶绿体：直接使用 **藓类** 叶片（或取菠菜叶略带些 **叶肉细胞** 的下表皮），清水。

② 线粒体：口腔上皮细胞，**健那绿** 染液（用 **生理盐水** 溶液溶解），材料也可使用紫色洋葱鳞片叶的 **内** 表皮。

3. 观察根尖细胞有丝分裂

(1) 目的：制作洋葱根尖细胞有丝分裂装片，观察有丝分裂过程，识别有丝分裂的不同时期，比较细胞周期不同时期的时间长短。

(2) 原理：

① 有丝分裂常见于根尖、芽尖等 **分生区** 细胞。

② 染色体容易被 **碱性** 染料着色。

(3) 步骤

① 培养洋葱至根长 5cm，剪取根尖 **2~3mm**（长度）。

② 解离：**盐酸** 和 **酒精**（1：1）混合，目的是 **使组织中的细胞相互分离**。

③ 漂洗：用 **清水**，目的是 **防止解离过度**。

④ 染色：使用 **龙胆紫** 或 **醋酸洋红** 等 **碱性** 染料使染色体着色。

⑤ 制片：用镊子尖把根尖弄碎，再压片。

⑥ 观察：找到 **分生区** 细胞，细胞特点：细胞呈 **正方形**，**排列紧密**。

探究实验类

1. 探究植物细胞的吸水和失水（观察质壁分离）

(1) 提出问题：植物细胞在什么情况下会失水？

(2) 作出假设：**原生质层** 相当于一层半透膜。

(3) 设计实验：将植物细胞先后浸在蔗糖溶液和清水中，

观察其大小的变化。

(4) 进行实验：全程使用 **低倍** 镜，观察洋葱鳞片叶外表皮细胞中紫色中央液泡大小及 **原生质层** 位置。

注意：选材可以使用绿色植物的叶肉细胞吗？**可以使用叶肉细胞，叶绿体不会干扰实验现象**。

(5) 分析结果，得出结论：**原生质层** 相当于一层半透膜。

(6) 表达与交流

进一步探究：植物细胞会由于过多吸水而涨破吗？**不会，植物细胞有细胞壁**。

2. 探究影响酶活性的条件

(1) 设计实验：探究温度对酶活性的影响

① 自变量：**温度**。

② 底物和酶：**淀粉** 和 **淀粉酶**。

注意：将底物和酶一定分开保温后混合。

③ 检测结果试剂：**碘液**。

(2) 探究 pH 对酶活性的影响：

① 自变量：**pH**。

② 底物和酶：**H₂O₂** 和 **肝脏研磨液**。

③ 检测结果：**气泡产生速率**。

3. 探究酵母菌细胞呼吸的方式

(1) 配置酵母菌培养液：酵母菌、**葡萄糖**。

(2) 对比实验：

① 有氧呼吸装置：空气→**NaOH**（去除空气中二氧化碳）→酵母菌培养液→澄清石灰水（或 **溴麝香草酚蓝水溶液**）。

② 无氧呼吸装置：酵母菌培养液→澄清石灰水（或同上）。

(3) 实验结果：

① 有氧呼吸产生 CO₂ 多，澄清石灰水浑浊程度 **大**（或 **溴麝香草酚蓝水溶液变成黄色的时间短**）

② 无氧呼吸产物还有 **酒精**，可用 **酸性重铬酸钾溶液** 检测，颜色变化为：**橙色变成灰绿色**。

4. 探究环境因素对光合作用强度的影响

(1) 自变量：光照强度：通过改变台灯与实验装置的 **距离**。

(2) 用注射器抽出小圆形叶片内的气体，清水中，叶片将 **沉底**（上浮/沉底）。

(3) 三只烧杯中分别倒入 20mL 富含 **CO₂** 的清水（或使用 **NaHCO₃**）

(4) 因变量：观察单位时间内小圆形叶片 **上浮的数量**。

5. 探究自然选择对种群基因频率变化的影响

(1) 探究在自然选择过程中，直接选择的是个体的基因型还是表现型？**表现型**。

(2) 计算多年桦尺蠖种群基因型频率和基因频率。（进化的实质是：**种群基因频率的变化**。

(3) 基因型频率 = **该基因型个体数 / 该种群个体总数**。

6. 探究生长素类似物促进插条生根的最适浓度

(1) 预实验：避免由于设计不周盲目开展实验而造成 **人力物力财力的浪费**。

(2) 生长素类似物: NAA, 2,4-D, IPA, IBA, 生根粉等

(3) 处理方法:

①浸泡法: 生长素类似物浓度低, 处理时间: 几小时至一天, 环境条件: 遮阴或空气湿度较高。

②沾蘸法: 生长素类似物浓度高, 处理时间: 蘸一下(约5s)。

7. 探究调查某双子叶植物种群密度(样方法)

(1) 单子叶植物多为丛生或蔓生, 双子叶植物容易辨别个体数目。

(2) 样方大小: 一般为 $1m^2$ 的正方形为宜。

(3) 取样方法 五点取样法 和 等距取样法, 取样要求: 随机取样。

8. 探究培养液中酵母菌种群数量的变化(血细胞计数板)

(1) 不能对培养液中酵母菌 逐个计数 计数, 采用 抽样检测法 对微生物计数。

(2) 注意事项:

①先盖盖玻片, 吸取培养液滴在盖玻片边缘, 待培养液 自行渗入 后, 多余培养液用滤纸吸去。

②稍待片刻, 待酵母菌细胞 全部沉降到计数室底部, 显微镜观察个数

9. 探究土壤中小动物丰富度

(1) 调查方法: 取样器取样法。

(2) 统计方法: 记名计算法 和 目测估计法, 前者适用于个体较大、种群数量有限。

(3) 步骤:

①制作取样器: 5cm 易拉罐, 容积 100mL。

②取样: 拨开落叶, 留下 表层土, 旋转按入, 花铲铲出。

③采集: 诱虫器。利用土壤小动物的生活习性: 趋暗 趋湿避高温。

④收集: 70% 酒精: 做标本, 保持小动物形态。

⑤ 湿润的棉花: 模拟土壤环境。

⑥观察: 实体镜 或普通显微镜 4~5 倍目镜。

10. 探究土壤微生物的分解作用

(1) 落叶是在土壤微生物的作用下腐烂的吗?

①自变量控制:

实验组: 灭菌土壤。处理方法: 60°C 恒温 1h。

对照组: 不做处理。

②分别将等量分解程度相同落叶埋入土壤

(2) 探究土壤中微生物对淀粉的分解作用

①等量淀粉糊, 分别加 土壤浸出液 和 等量蒸馏水, 标 A、B 组。

②放置 7 天后, 各取每组分两组, 编号 A₁、A₂、B₁、B₂。

③A₁、B₁ 中加碘液, A₂、B₂ 中加 斐林试剂, 观察溶液颜色变化。

一、调查类

1. 调查人群中的遗传病

(1) 最好选择调查群体中发病率 较高 的 单基因 遗传病。

(2) 调查某遗传病遗传方式: 在 患者家系 中调查。

(3) 调查某遗传病发病率: 在 人群 中调查, 要求 群体足够大、随机取样。

(4) 某遗传病发病率 = 某种遗传病的患病人数 / 某种遗传病的被调查人数 × 100%。

2. 调查体温的日变化规律

(1) 完成家庭成员一日内体温变化调查表, 不超过 1°C。

(2) 体温变化与当地实际体温日变化情况、变化趋势 相同, 温差 小。

经典实验

1. 光合作用探究历程

(1) 1771 年英国·普利斯特利: 植物可以更新空气。

(2) 1779 年荷兰·英格豪斯: 普利斯特利的实验只在 下 成功, 植物体只有 光照、绿叶 更新空气

(3) 1845 年德国·梅耶: 植物光合作用时, 把 光能 转化为 化学能 储存起来。

(4) 1869 年德国·萨克斯: 证明光合作用产物除了氧气, 还有 淀粉。

① 暗 处理叶片, 目的是消耗 消耗掉叶片中的营养物质。

② 自变量控制: 叶片 一半曝光, 另一半遮光。

③ 因变量控制: 用 碘蒸气 处理叶片。

(5) 1880 年德国·恩格尔曼: 水绵(单细胞绿藻, 低等植物) 和 好氧细菌 作材料, 用 极细的光束照射 的光束和完全暴露在光下对照实验, 证明光合作用场所是 叶绿体。

(6) 1941 年美国·鲁宾和卡门: 证明光合作用释放的氧气来自于 H₂O, 实验方法 同位素标记法。

(7) 1947 年美国·卡尔文: 探明 CO₂ 中的 C 在光合作用中转化成有机碳的途径, 实验方法 同位素标记法。

2. DNA 是主要的遗传物质(总结)

(1) 1928 年格里菲斯: 肺炎双球菌的体内转化实验: 结论: 加热杀死的 S 型细菌中, 必然含有某种“转化因子”。

(2) 1944 年艾弗里: 肺炎双球菌的体内转化实验: 实验思路: 将 DNA 与蛋白质分开, 单独观察其作用, 结论: DNA 是遗传物质, 蛋白质不是遗传物质。

(3) 1952 年赫尔希和蔡斯: 肺炎双球菌转化实验: 实验思路: 将 DNA 与蛋白质分开, 单独观察其作用, 研究方法: 同位素标记法, 结论: DNA 是遗传物质。

(4) 烟草花叶病毒实验证明: RNA 是遗传物质。

(5) 总结: 因为绝大多数生物的遗传物质是 DNA, 所以说 DNA 是主要的遗传物质。

3. 植物生长素的发现

(1) 19 世纪末达尔文: 向光性产生是由于胚芽鞘 尖端 受 单侧光 照射, 产生某种影响。

(2) 1910 年鲍森·詹森: 这种影响可以透过 琼脂片 传递给下部。

(3) 1914 年拜耳: 胚芽鞘弯曲生长, 是由于这种影响在

其下部分布不均匀造成的。

- (4) 1928 年温特：证明胚芽鞘弯曲生长是一种化学物质引起的，并起名为生长素。
- (5) 1931 年科学家从人的尿液中分离出生长素，成分是吲哚乙酸。

三、颜色反应

- (1) 还原糖 + 斐林试剂试剂，条件水浴加热，颜色蓝色变成砖红色。
- (2) 脂肪 + 苏丹 III/IV试剂，颜色橘黄色/红色，若用显微镜观察，染色后需要 50% 酒精洗去浮色。
- (3) 蛋白质 + 双缩脲试剂，颜色由蓝色变成紫色。
- (4) 淀粉 + 碘液，颜色蓝色。
- (5) 检测细胞死活：台盼蓝+ 待测材料：死细胞蓝色，活细胞不着色。
- (6) 线粒体 + 健那绿，颜色蓝绿色。
- (7) CO₂ + 溴麝香草酚蓝水溶液，颜色由蓝变绿再变黄。
- (8) 酒精 + 酸性重铬酸钾，颜色变为灰绿色。
- (9) 染色体 + 碱性染料 (龙胆紫、醋酸洋红、改良苯酚品红染液)。
- (10) 亚硝酸盐：在酸性条件下，亚硝酸盐与对氨基苯磺酸发生重氮化反应，与 N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成玫瑰红色染料。（检测方法：比色法）
- (11) 纤维素 + 刚果红形成红色复合物。

四、同位素标记法：

1. 分泌蛋白的合成与运输

- (1) 豚鼠胰腺腺泡上皮细胞中注射 ³H 标记的氨基酸。
- (2) 分泌过程：有核糖体的内质网→高尔基体→囊泡→细胞膜。

2. 证明光合作用释放的 O₂ 来自于水。用 ¹⁸O 分别标记 H₂O 和 CO₂，对比实验。

3. 卡尔文循环：用 ¹⁴C 标记，供给小球藻（单细胞绿藻，低等植物）进行光合作用。

4. 赫尔希和蔡斯

- (1) 用 ³²P 和 ³⁵S 分别标记噬菌体的 DNA 和 蛋白质。
- (2) 标记噬菌体共分两步：首先在分别含有 ³⁵S 和 ³²P 的培养基中培养大肠杆菌；再用上述大肠杆菌培养噬菌体。
- (3) 搅拌的目的使吸附在细菌上的噬菌体与细菌分离。
- (4) 离心的目的使上清液中析出重量较轻的 T₂ 噬菌体颗粒、离心管的沉淀物中留下被感染的大肠杆菌。

五、荧光标记法

1. 证明细胞膜具有流动性

绿色荧光染料标记小鼠细胞膜的蛋白质分子，红色荧光染料标记人细胞膜的蛋白质分子，将人、鼠细胞融合，37℃培养 40min，荧光均匀分布。

2. 细胞衰老学说—端粒学说

染色体为红色，黄色荧光显示染色体两端的端粒。

3. 基因定位在染色体上

用特定的分子与染色体上某一基因结合，这个分子又能

被荧光标记的物质识别，通过荧光显示，基因在染色体上呈线性排列。

六、其他实验

1. 绿叶中色素的提取和分离

- (1) 原理：提取原理：色素溶解在有机溶剂无水乙醇中。
分离原理：各种色素在层析液中溶解度不同，溶解度高的随层析液在滤纸条上扩散得快于是将不同色素分离开来。
- (2) 试剂：
SiO₂：有助于研磨得充分。
CaCO₃：防止色素被破坏。
无水乙醇：溶解色素，利于色素的提取。
- (3) 色素在滤纸上位置及颜色：胡萝卜素：橙黄色、叶黄素黄色、叶绿素 a：蓝绿色、叶绿素 b：黄绿色。

2. 低温诱导染色体数目的变化

- (1) 原理：低温处理植物分生区细胞，能够抑制纺锤体形成，使染色体数目加倍。
- (2) 试剂：
(3) 卡诺氏液：作用：固定细胞形态；使用后用 95% 酒精漂洗卡诺氏液，洗 2 次。
改良的苯酚品红染液：作用：使染色体着色。
- (4) 流程：洋葱生根→生根后将整个装置（活）放入 4℃ 冰箱诱导 36h →剪取根尖→卡诺氏液→漂洗→解离→漂洗→染色→制片→先低倍镜观察，再高倍镜观察。

3. 体验制备细胞膜的方法

- (1) 选材：哺乳动物成熟的红细胞，原因：没有细胞核和众多细胞器。
- (2) 红细胞稀释液：血液加适量的生理盐水。
- (3) 高倍镜下观察，盖玻片一侧滴一滴蒸馏水，同时在另一侧用吸水纸小心吸引。上述操作均在载物台上进行，并持续观察细胞的变化：细胞凹陷消失，体积增大，很快细胞破裂，内容物流出。
- (4) 若上述实验在试管中进行，细胞破裂后，需要用什么方法获得较纯净的细胞膜？离心。

高频概念总结

- 必需氨基酸**: 人体细胞不能合成的, 必需从外界环境直接获取的氨基酸。
- 酶**: 是活细胞产生的具有催化作用的有机物。
- 酶活力**: 酶对化学反应的催化效率。
- 细胞呼吸**: 指有机物在细胞内经过一系列的氧化分解, 生成二氧化碳或其他产物, 释放出能量并生成 ATP 的过程。
- 活化能**: 分子从常态转变为容易发生化学反应的活跃状态所需要的能量。
- 细胞周期**: 指连续分裂的细胞从一次分裂完成时开始, 到下一次分裂完成时为止时经历的过程。
- 有丝分裂的意义**: 将亲代细胞的染色体经过复制, 精确的平均分配到两个子细胞中。在亲代和子代之间保持了遗传性状的稳定性。
- 细胞分化**: 在个体发育过程中, 由一个或一种细胞增殖产生的后代, 在形态、结构和功能上发生稳定性差异的过程。
- 细胞凋亡**: 由基因决定的细胞自动结束生命的过程。
- 干细胞**: 动物和人体内具有分裂和分化能力的细胞。
- 细胞的全能性**: 指已经分化的细胞, 仍然具有发育成完整个体的潜能。
- 原癌基因作用**: 调节细胞周期, 控制细胞生长和分裂进程。
- 抑癌基因作用**: 阻止细胞不正常的增殖。
- 减数分裂**: 指进行有性生殖的生物, 在产生成熟生殖细胞时进行的染色体数目减半的细胞分裂。
- 基因**: 具有遗传效应的 DNA 片段
- 同源染色体**: 形态大小一般相同, 一条来自父方, 一条来自母方的两条染色体。
- 联会**: 同源染色体两两配对的现象。
- 四分体**: 联会后的含有四条染色单体的同源染色体。
- 受精作用**: 指卵细胞和精子相互识别、融合成为受精卵的过程。
- 多倍体**: 由受精卵发育而来, 体细胞内含有三个或三个以上染色体组的个体。
- 单倍体**: 体细胞中含有本物种配子染色体数目的个体。
- 染色体组**: 形态和功能各不相同, 但又相互协调, 共同控制生物体生长、发育、遗传和变异的一组非同源染色体。
- 密码子**: mRNA 上, 决定一个氨基酸的三个相邻碱基。
- 基因突变**: 由于 DNA 分子中发生碱基对的替换、增添或缺失, 而引起基因结构的改变。
- 基因重组**: 指在生物体进行有性生殖的过程中, 控制不同性状的基因的重新组合。
- 基因工程**: 把一种生物的某种基因提取出来, 加以修饰改造, 然后放到另一种生物的细胞里, 从而定向地改造生物的遗传性状。
- 质粒**: 指拟核以外能够自主复制的很小的环状 DNA 分子。
- 物种**: 自然状态下相互交配并且产生可育后代的一群生物。
- 基因库**: 一个种群中全部个体所含有的全部基因。
- 隔离**: 不同种群间的个体, 在自然条件下基因不能自由交流的现象。
- 共同进化**: 不同物种之间、生物与无机环境之间在相互影响中不断进化和发展。
- 内环境**: 由细胞外液构成的细胞直接生活的液体环境
- 稳态**: 正常机体通过调节作用, 使各个器官、系统协调活动, 共同维持内环境的成分和理化性质相对稳定的状态。
- 反射**: 在中枢神经系统的参与下, 动物体或人体对内外环境变化做出的规律性应答。
- 兴奋**: 动物体或人体内的某些组织 (如神经组织) 或细胞受到外界的刺激后, 由相对静止状态变为显著活跃状态的过程。
- 植物激素**: 由植物体内产生, 能从产生部位运送到作用部位, 对植物的生长发育有显著影响的微量有机物, 统称为植物激素。
- 植物生长调节剂**: 人工合成的对植物的生长发育具有调节作用的化学物质。
- 种群**: 生活在一定自然区域中的同种生物的全部个体。
- 种群密度**: 在单位空间 (面积或体积) 内某种群的个体数量。
- 年龄组成**: 种群中各个年龄期的个体数目比例。
- 环境容纳量**: 指在环境条件不受破坏的情况下, 一定空间中所能维持的种群最大数量。
- 群落**: 同一时间内聚集在一定区域中各种生物种群的集合。
- 演替**: 随着时间的推移, 一个群落被另一个群落代替的过程。
- 初生演替**: 在一个从来没有被植被覆盖的地方, 或者是原来存在过植被, 但被彻底消灭了的地方发生的演替。
- 次生演替**: 在原有植被虽已不存在, 但原有土壤条件基本保留, 甚至还保留了植物的种子或其他繁殖体的地方发生的演替。
- 生态系统**: 由生物群落与它的无机环境直接相互作用而形成的统一整体。
- 能量流动**: 生态系统中的能量的输入、传递、转化和散失的过程。
- 物质循环**: 组成生物体的元素不断进行的从无机环境到生物群落, 又从生物群落到无机环境的循环过程。
- 生态系统的稳定性**: 生态系统所具有的保持或恢复自身结构和功能相对稳定的能力。
- 反馈调节**: 指在一个系统中, 系统本身的工作效果, 反过来又作为信息调节该系统的工作的调节方式。



1.农杆菌介导的方法是将目的基因与农杆菌的_____结合构建_____；目的基因能否在番茄中稳定遗传的关键是_____；检测受体细胞中是否存在目的基因可采用_____技术。

2.请回答下列有关获取转基因植物的问题：

- (1) 对获取的目的基因可以通过_____技术进行扩增。
- (2) 在构建基因表达载体时常用的工具酶是限制酶和_____。若用一种限制酶进行切割，有可能出现目的基因和运载体在酶切后产生的末端发生任意连接，形成_____、_____和目的基因与运载体3种连接体。
- (3) 构建的基因表达载体除含有目的基因外，还必须有_____、_____和_____等。
- (4) 将目的基因导入植物细胞常采用的方法是_____，该方法的主要优点是其运载体上含有_____片段，可将目的基因插入到受体细胞_____上。检测目的基因是否插入成功的方法是_____，该方法应该用_____为探针。检测目的基因是否翻译成了相应蛋白质，利用的技术是_____。
- (5) 将导入目的基因的受体细胞培育成转基因植株涉及的细胞工程技术是_____，该技术的原理是_____。

3.根据基因工程的有关知识，回答下列问题：

- (1) cDNA 文库属于_____基因文库，其构建方法是：用某种生物发育的某个时期的_____反转录产生的cDNA 片段，与_____连接后储存在一个受体菌群中。与基因组文库相比，cDNA 文库含有的基因数目少，原因是：_____。
- (2) 切割 DNA 分子的工具是_____，它能使每一条链中特定部位的两个核苷酸之间的_____断开，形成_____末端或_____末端。
- (3) 基因工程中所使用的 DNA 连接酶有两类。既可以“缝合”黏性末端，又可以“缝合”平末端的是_____酶。
- (4) 如果受体细胞是大肠杆菌，需要用_____处理细胞，使之成为_____细胞，才能吸收 DNA 分子。

4.蛋白质工程的目标是根据人们对蛋白质_____的特定需求，对蛋白质的_____进行分子设计。基本途径是：从预期的蛋白质_____出发→设计预期的_____→推测应有的_____→找到相对应的_____（基因）。

5.蛋白质工程是指_____

_____。

基因工程在原则上只能生产自然界_____蛋白质，蛋白质工程是在基因工程的基础上，延伸出来的第_____代基因工程，对蛋白质的结构进行设计改造。

6.基因工程的科学史

- (1) 1944 年，艾弗里 (O.Avery) 等人通过不同类型肺炎双球菌的转化实验，不仅证明了生物的遗传物质是_____，还证明了_____。艾弗里等人的工作可以说是基因工程的先导。
- (2) 1953 年，沃森 (J.D.Watson) 和克里克 (F.Crick) 建立了_____模型。1958 年，梅塞尔松 (M.Meselson) 和斯塔尔 (F.Stahl) 用实验证明 DNA 的_____复制。随后不久确立的中心法则，阐明了遗传信息流动的方向，中心法则包括：_____复制，以及遗传信息在不同分子之间的流动，即_____。
- (3) 1963 年，尼伦伯格 (M.W.Nirenberg) 和马太 (H.Matthaei) 破译编码氨基酸的遗传密码。1966 年，霍拉纳 (H.G.Khorana) 用实验证实了尼伦伯格提出的遗传密码的存在。这些成果不仅使人们认识到，自然界中从微生物到人类共用_____，而且为基因的分离和合成等提供了理论依据。
- (4) 1967 年，罗思 (T.F.Roth) 和赫林斯基 (D.R.Helinski) 发现细菌拟核 DNA 之外的质粒有自我复制能力，并可以在细菌细胞间_____，这一发现为基因转移找到了一种_____工具。
- (5) 1970 年，阿尔伯 (W.Arber)、内森斯 (D.Nathans)、史密斯 (H.C.Smith) 在_____中发现了第一个限制性内切酶（简称限制酶）后，相继发现了多种限制酶和连接酶，以及逆转录酶，这些发现为 DNA 的切割、连接以及功能基因的获得创造了条件。
- (6) 自 1965 年，桑格 (F.Sanger) 发明_____分析技术后，1977 年，科学家又发明了_____分析的方法，为基因序列图的绘制提供了可能，之后，_____的问世又为引物、探针和小分子量 DNA 基因的获得提供了方便。
- (7) 1972 年伯格 (P.Berg) 首先在体外进行了 DNA 改造的研究，成功地构建了第一个体外_____。
- (8) 1973 年，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_____。
- (9) 1980 年，科学家首次通过_____培育出世界上第一个转基因小鼠。1983 年，科学家又采用_____法培育出世界上第一例转基因烟草。此后，基因工程进入了迅速发展阶段。
- (10) 基因工程问世后，1988 年由穆里斯 (K.Mullis) 发现的_____技术，使基因工程技术得到了进一步发展和完善。



1.限制性核酸内切酶是能够识别和切割 DNA 分子内一小段 _____ 的酶，早在 1970 年，科学家就从 _____ 中分离出了这种酶。EcoR I 是从 _____ 中分离得到的第 _____ 种酶。

2.科学家将结核杆菌 MPT64 基因导入烟草叶绿体基因组中，成功表达出 MPT64 蛋白，为结核病的诊断、治疗及疫苗的开发奠定了基础。请回答下列问题：

(1) 为获取 MPT64 基因，可从结核杆菌的细胞中提取对应 mRNA，在 _____ 酶的作用下合成 cDNA，获得的 cDNA 与结核杆菌中该基因碱基序列 _____ (填“相同”或“不同”)，原因是：_____。

(2) 通常采用 _____ 扩增 MPT64 基因，前提是要有一段已知 MPT64 基因的 _____，以便根据这一序列合成 _____，在操作步骤中需要加热至 90~95℃ 的目的是 _____。

(3) 与传统细胞核基因工程相比，叶绿体转基因更稳定，其遗传方式 _____ (填“遵循”或“不遵循”)孟德尔遗传定律，不会随 _____ (填“花粉”或“卵细胞”)传给后代，从而保持了母本的遗传特性。

(4) 原核生物中有许多具有重要价值的外源基因，无需改造和修饰就可在叶绿体中高效表达，原因是 _____。

3.RNA 聚合酶识别和结合的部位，以驱动目的基因转录，该部位称为 _____。为直接检测目的基因是否转录，可从细胞中提取 _____ 与用 _____ 标记的目的基因作探针进行分子杂交。

4.利用 _____ 仪大量扩增目的基因的前提是目的基因上要有一段已知的核苷酸序列，以便根据这一序列合成 _____，除了该物质和目的基因外，扩增仪中还需加入四种 _____ 和 _____ 酶，并适时调整温度，才能使目的基因数量成指数式增长。

5.若将该目的基因导入某双子叶植物细胞，常采用的方法是 _____，其能否在此植物体内稳定遗传的关键是 _____。

6.回答有关基因工程的问题：

(1) 构建基因工程表达载体时，用不同类型的限制酶切割 DNA 后，可能产生 _____ 末端，也可能产生平末端。若要在限制酶切割目的基因和质粒后使其直接进行连接，则应选择能使二者产生 _____ (相同，不同)黏性末端的限制酶。

(2) 利用大肠杆菌生产人胰岛素时，构建的表达载体含有人胰岛素基因及其启动子等，其中启动子的作用是 _____。在用表达载体转化大肠杆菌时，常用 _____ 处理大肠杆菌，以利于表达载体进入；为了检测胰岛素基因是否转录出了 mRNA，可用标记的 _____ 基因片段作探针与 mRNA 杂交，该杂交技术称为 _____ 技

术。为了检测胰岛素基因转录的 mRNA 是否翻译成 _____，常用抗原-抗体杂交技术。

(3) 如果要将某目的基因通过农杆菌转化法导入植物细胞，先要将目的基因插入农杆菌 Ti 质粒的 _____ 中，然后用该农杆菌感染植物细胞，通过 DNA 重组将目的基因插入植物细胞的 _____ 上。

7.基因工程的核心步骤是 _____。

8.PCR 扩增过程中，高温变性，低温复性结合 _____，中温延伸，延伸阶段的实质是在 _____ 酶的作用下合成子链。

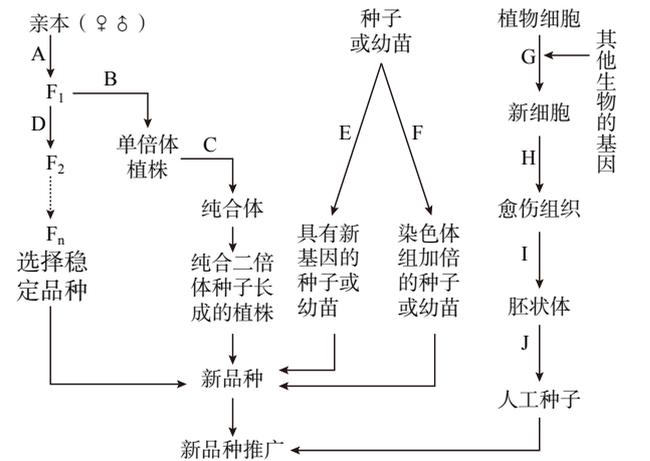
9.单克隆抗体可制作诊断盒，用于准确、快速诊断病毒感染者，这种诊断运用了 _____ 杂交技术。

10.T-DNA 的作用是：_____。

11.基因工程的遗传学原理是 _____。

12.可以用转基因动物生产药物，科学家将药用蛋白基因与 _____ 等调控组件重组在一起，导入哺乳动物的受精卵中，进而培育出转基因动物，在其进入泌乳期后，通过分泌的乳汁获得所需药品，称之为 _____。

13.下图为六种不同育种方法示意图，据图回答：



(1) 图中 A 至 D 途径的育种方法是 _____，此育种方法的原理是 _____，A → B → C 途径的育种方法是 _____。这两种育种方法相比较，后者的优越性主要体现在 _____。

(2) B 过程常用的方法为 _____。C、F 过程中常采用的药剂是 _____，其作用的原理是 _____。

(3) 通过 E 途径的育种方法是 _____，此育种方法的原理是 _____。

(4) 通过 F 途径获得新品种的育种方法是 _____，此育种方法的原理是 _____。

(5) 欲在较短时间内得到较多优良性状的育种方法是 _____。

(6) G → H → I → J 的育种方法是 _____；原理是 _____，此种育种方法的意义是 _____。



1. 科学家构建含人乳铁蛋白 (hLF) 的基因表达载体, 通过_____将其导入受体细胞而获得转基因牛; 构建上述基因表达载体时用同一种限制酶切割目的基因和运载体的理由是_____。
2. 个体水平鉴定抗盐转基因烟草是否培育成功的方法是_____。
3. 一个抗虫或抗病的目的基因导入植物细胞后, 是否赋予了植物抗虫或抗病特性, 需要做_____实验, 以确定是否具有抗虫以及抗性的程度。有的基因工程产品需要与天然的功能进行_____比较, 以确定转基因产品的功能活性是否与天然产品相同。
4. 基因工程的四个步骤依次是_____。
5. 质粒是基因工程中最常用的载体, 其化学本质是_____, 此外还可用_____作为载体。
6. 基因工程所用的生物学原理为_____, 其操作的核心步骤为_____, 在操作的过程中没有涉及碱基互补配对的步骤为_____, 获取目的基因的来源有_____和_____。
7. 蛋白质工程是在基因工程的基础上发展起来的, 其基本流程为_____, _____、_____, _____、找到对应的脱氧核苷酸序列。
8. PCR 技术大量扩增, 该技术的原理是_____。
9. 生长激素基因可以从供体动物的_____细胞中提取 mRNA, 在_____酶的催化下合成。
10. 利用转基因牛、羊的乳汁提取药物的工艺简单, 应将药用蛋白基因与奶牛乳腺蛋白基因的启动子等调控元件重组在一起, 目的是_____, 导入性染色体组成为_____的受精卵中。如果将药用蛋白基因转移到动物的膀胱上皮细胞中, 利用转基因牛、羊的尿液生产提取药物, 比乳汁提取药物的更大优越性在于_____。
11. 将目的基因通过基因枪法导入玉米受精卵时, 常用的携带目的基因的金属颗粒是_____。
12. cDNA 文库中获得的目的基因没有_____, 更易实现不同物种间的基因交流。
13. 水稻具有较强的分蘖能力, 但只有早期的分蘖才是有效分蘖, 才能够成穗。莱农科所科技人员欲通过对水稻某种蛋白质的改造, 促进水稻早期分蘖, 使水稻增产。请回答:
 - (1) 科技人员先从“促早蘖”这一功能出发, 预期构建出“促早蘖”_____的结构, 再推测出目的基因对应的_____序列, 从而_____出“促早蘖”基因。
 - (2) 科技人员为获得大量的“促早蘖”基因, 在体外通_____对该基因进行了大量扩增。
- (3) “促早蘖”基因只有插入水稻细胞的_____中, 才能确保“促早蘖”基因在水稻细胞中得以稳定遗传, 科技人员利用农杆菌转化法, 将“促早蘖”基因插入_____中, 实现了上述目标。
- (4) 在通过基因工程获得“促早蘖”植株后, 为了确保育种成功, 科研人员不仅要采取_____技术检测“促早蘖”基因是否导入, 还要通过_____从个体水平加以鉴定。
- (5) 水稻是单子叶植物。若受体细胞为单子叶植物体细胞, 一般不可采用农杆菌转化法获得转基因植物体, 理由是_____。
14. 电影中, “蜘蛛侠”能产生高强度的蜘蛛丝, 现实中的基因工程也创造出了“蜘蛛羊”, 该羊的乳汁中含有蛛丝蛋白, 高强度的蛛丝蛋白可用于许多重要的特种工业领域。请回答:
 - (1) 为保证实验成功, 产生蛛丝蛋白的基因最好从_____ (填“基因组”或“cDNA”) 文库中获取。若要获得大量的目的基因片段, 可采用_____技术进行扩增, 扩增过程需使用_____酶。
 - (2) 在构建含蛛丝蛋白基因表达载体时, 需使用的工具酶有_____, 目的基因应与_____基因的启动子等调控组件组合在一起; 构建完成的基因表达载体需通过_____技术导入羊的_____, 获得重组细胞。
 - (3) 若所得到的“蜘蛛羊”乳汁中没有检测到蛛丝蛋白, 应先采用_____技术检测“蜘蛛羊”乳腺细胞中是否含有_____; 若已确认此步成功, 则应该继续检测是否_____。
15. 去年冬季我国北方再次爆发流感, 专家指出接种流感病毒疫苗仍是预防的有效措施。流感病毒为 RNA 病毒, M 基因编码流感病毒表面抗原 (M 蛋白)。请回答下列问题:
 - (1) 由病毒 RNA 通过_____可获得病毒 DNA, 若要通过 PCR 技术扩增 M 基因, 前提是设计 M 基因对应的_____。
 - (2) 构建 M 基因表达载体所用的工具酶是_____, _____。若要将 M 基因表达载体导入到大肠杆菌细胞内, 以大量生产疫苗, 通常先用钙离子处理大肠杆菌, 其目的是_____。检测 M 基因是否转录出 mRNA 的具体方法是使用_____与提取出的_____做分子杂交。
 - (3) 新型疫苗——“DNA 疫苗”是将含 M 基因的重组表达载体直接导入人体内, 在人体细胞内通过 M 基因的表达产生_____, 刺激机体通过免疫过程产生_____, 以提高机体的免疫能力。



1. 目前, 基因工程中使用的限制酶主要是从_____生物中分离纯化获得的, 含有某种限制酶的细胞, 可以利用限制酶切割外源 DNA, 但不破坏细胞自身的 DNA, 其原因可能有①_____ ; ②_____。
2. 为使目的基因能够在受体细胞内稳定的存在和表达, 需要进行_____的构建。
3. 与诱变育种方法相比, DNA 重组技术最大的优点是可以_____。
4. 若要以该转基因作物为材料获得脱毒苗, 应选用_____作为外植体进行组织培养。
5. 外源基因能与受体细胞 DNA 成功重组的原因是_____, 这些基因拼接成功后能正常表达的理论基础是_____。
6. 标记基因的作用是_____。
7. 转化是指_____。
8. 为了有效控制水稻害虫的危害, 中国农业科学院和华中农业大学合作, 成功地获得了转 Bt 基因 (Bt 基因来源于一种细菌, 即苏云金芽孢杆菌, 该基因的表达产物—毒蛋白具有良好的杀虫效果) 的二倍体水稻。请回答下列问题:
 - (1) 若知道 Bt 毒蛋白的氨基酸序列, 则可以推测出 Bt 基因的核苷酸序列, 但推测出的核苷酸序列并不是唯一的, 其原因是_____。在知道 Bt 基因的核苷酸序列之后, 再通过_____方法直接人工合成。
 - (2) 获得 Bt 基因后, 在体外可以通过_____反应进行扩增, 扩增时需以_____为原料, 反应体系中还应加入适量的_____酶。
 - (3) 将 Bt 基因导入水稻细胞中时不宜采用农杆菌转化法, 最可能的原因是_____。在个体水平上检测 Bt 基因在受体植株内是否成功表达, 可采用的方法是_____。
 - (4) 若将 Bt 基因成功地整合到二倍体水稻细胞的一条染色体上, 则这种水稻能否稳定地遗传? _____。
9. 回答下列有关基因工程的问题:
 - (1) 1967 年, 罗恩和赫林斯基发现细菌拟核 DNA 之外的质粒具有自我复制能力, 并可以在细菌细胞间转移, 这一发现的意义是_____。质粒和拟核 DNA 在结构上的相似之处是_____。
 - (2) *EcoR* I 酶来自大肠杆菌却不切割细菌本身的 DNA, 可能的原因是_____。

- _____。用 *EcoR* I 酶处理烟草花叶病毒的核酸, 没有发现产物, 理由是_____。
- (3) 将 *EcoR* I 酶切割后的目的基因片段和质粒用_____ (填“DNA 聚合酶”“DNA 连接酶”或“RNA 聚合酶”) 处理后形成重组质粒, 成功导入受体细胞后可用_____技术检测目的基因是否发生了转录。为防止 RNA 被降解, 在纯化提取产物时, 应添加_____的抑制剂。
10. 通过基因工程将某种细胞的抗冻基因转入番茄组织块, 可增强番茄植株的抗冻能力。回答下列问题:
 - (1) 在_____酶的作用下, 能以抗冻基因产生的 mRNA 为模板获得 cDNA 片段。为使抗冻基因在番茄细胞中表达, 需要将目的基因插入载体的_____和_____之间。
 - (2) 转基因抗冻番茄植株的获得是_____ (填“定向”或“不定向”) 变异的结果。
 - (3) 质粒作为基因工程的工具, 应具备的基本条件有_____ ; DNA 连接酶是将两条链连接起来的酶, 常见的有_____和_____, 其中只能连接黏性末端的是_____。
11. 干扰素可以用于治疗病毒感染和癌症, 但在体外保存相当困难。如果将其分子上的一个半胱氨酸变成丝氨酸, 那么在 -70°C 条件下可以保存半年, 这需要利用蛋白质工程来完成。请回答下列问题:
 - (1) 天然蛋白质的合成过程是按照_____进行的, 而蛋白质工程与之相反。蛋白质工程是指以蛋白质分子的结构规律及其与生物功能的关系作为基础, 通过_____, 对现有蛋白质进行改造, 或制造新的蛋白质, 以满足人类生产和生活的需要。
 - (2) 若将干扰素的一个半胱氨酸变成丝氨酸, 推测相应的脱氧核苷酸序列_____ (填“是”或“不是”) 唯一。可利用 PCR 技术扩增相应基因, 该技术的前提是要有一段_____, 以便根据这一序列合成引物。
 - (3) 科学家在基因工程和蛋白质工程中常用大肠杆菌作为受体细胞, 原因是_____ (答出两点即可)。大肠杆菌常用的转化方法是: 首先用_____处理后成为_____细胞, 再与重组表达载体溶于_____中完成转化。
 - (4) 干扰素基因是否翻译出蛋白质, 可用_____ (物质) 进行抗原抗体杂交检测。



1. 在基因工程中, 获取的目的基因主要有两大来源, 即 _____ 和 _____ 中分离。
2. 来自不同生物之间的基因能够拼接的原因是 _____。
3. 如果已知乙肝表面抗原基因表达产物蛋白质的氨基酸序列, 可以推测出目的基因的核苷酸序列, 但推测出的目的基因核苷酸序列并不是唯一的, 其原因是 _____。
4. 将携带了目的基因的农杆菌和玉米薄壁组织细胞共培养时, 需用酚类化合物对玉米细胞进行处理, 这种处理的作用是 _____。
5. 动物基因工程用受精卵作为受体细胞的原因是 _____。
6. 反转录获得的 cDNA 与从真核生物体内直接提取的目的基因在结构上的区别是 _____。
7. 烟草具有较高的经济价值, 但易遭受病虫害。为获得抗虫的烟草植株, 可将抗虫基因导入烟草细胞。请回答下列问题:
 - (1) 农杆菌的 Ti 质粒上的 T-DNA 具有 _____ 的特点。将抗虫基因插入 T-DNA 上, 导入用 _____ 处理过的农杆菌, 筛选成功后让其侵染能分泌 _____ 化合物的烟草细胞, 在该化合物的诱导下, Ti 质粒上的 T-DNA 依次穿过农杆菌的细胞壁、细胞膜, 以及烟草细胞的 _____、细胞膜、核膜进入烟草的细胞核中, 最后再通过 _____ 技术获得转基因烟草植株。该技术是否成功还需要进行检测与鉴定, 个体水平上的鉴定方法是 _____。
 - (2) 上述方法虽比较经济, 但是会存在安全性问题, 如将抗虫基因导入到烟草细胞核的染色体 DNA 上, 则抗虫基因会随 _____ (填“花粉”或“卵细胞”) 扩散传播, 容易产生基因污染, 故可以通过基因枪法将 _____ 打入烟草细胞叶绿体以实现转化。同时还应注意, 目的基因需导入植物细胞叶绿体的非基因序列中, 目的是 _____。
8. 真核生物基因结构与原核生物基因结构不同, 真核生物基因的编码区是不连续的, 有外显子和内含子之分, 转录时内含子对应的 RNA 序列能通过相应机制切除, 而原核生物编码区是连续的, 没有这一机制。人体中基因 M 能表达出 M 蛋白。请回答下列问题:
 - (1) 若想运用基因工程, 利用大肠杆菌合成 M 蛋白, 应当从 _____ (填“人的基因组文库”或“cDNA 文库”) 中获得基因 M, 理由是 _____。
 - (2) 用大肠杆菌做受体菌, 可高效获得蛋白 M, 因为大肠杆菌具有 _____ (答出两点即可) 等特点。

- (3) 欲将构建出的基因表达载体导入到大肠杆菌细胞中, 可用 _____ 处理。
 - (4) 要检测目的基因 M 在大肠杆菌细胞是否转录出 mRNA, 可用的检测物质是 _____ (填“蛋白 M 的基因”或“蛋白 M 的抗体”)。
 - (5) 大肠杆菌合成的蛋白 M 还不具有生物活性, 还需要后期加工处理, 这是因为 _____。
9. 生物技术的发明推动着现代生物科学突飞猛进的发展。回答下列问题:
- (1) 赫尔希和蔡斯的噬菌体侵染大肠杆菌实验, 让人们认识到细菌等单细胞生物容易受到自然界外源 DNA 的入侵, 然而事实上这类原核生物长期进化而不绝灭, 这种现象可能的原因是 _____, 同时这也为人们寻找 _____ 提供思路, 使 DNA 重组的实现成为可能。
 - (2) 基因表达载体的构建是基因工程的核心, 一个基因表达载体一般由 _____ 等组成。某同学使用霍乱弧菌质粒来构建基因表达载体, 用于动物细胞工程, 请从载体所需的条件分析, 有何不妥? _____。
 - (3) 培育转基因动物常采用 _____ 技术将含有目的基因的表达载体导入受精卵中, 应用一系列的胚胎工程技术, 使其发育成为具有新性状的动物。受体细胞选用受精卵, 而不是动物体细胞, 其原因是 _____。
10. 某些糖尿病患者因胰岛 B 细胞被完全破坏, 分泌胰岛素的功能丧失, 需要通过注射胰岛素来补充。目前, 该类患者对胰岛素的需求量越来越大。回答下列问题:
- (1) 在利用基因工程大规模生产胰岛素时, 将胰岛素合成基因与质粒重组后导入大肠杆菌进行了表达。以上过程除了证明质粒可以作为载体外, 还证明了 _____ 等。
 - (2) 大肠杆菌常作为基因工程的受体菌, 主要原因是 _____。基因工程中, 不能将胰岛素合成基因直接导入大肠杆菌, 其原因是 _____。
 - (3) 检测胰岛素合成基因是否导入受体菌时, 常用 _____ 作探针。
 - (4) 胰岛素合成基因在大肠杆菌细胞内表达时, 遗传信息的传递方向是 _____。经检测, 胰岛素合成基因的表达产物未能达到预期的生物活性, 导致这种差异的原因可能是表达产物未经 _____ 的加工。



- 获取目的基因的途径有_____、_____、_____。
- 基因工程的核心是基因表达载体的构建，其目的是_____。
- 胰岛素基因在大肠杆菌细胞内表达时，表达出的蛋白质_____（填“会”或“不会”）经过内质网加工。表达出的蛋白质也可能被降解，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。
- 鉴定转基因青椒是否获得抗病毒特性，个体生物学水平的鉴定是_____。
- PCR 技术的基本反应过程：目的基因 DNA 受热_____后解链为单链，低温条件下，_____与单链相应互补序列结合，然后在聚合酶的作用下进行_____。PCR 过程中第_____次循环开始产生目的基因。
- 用同一种限制酶切割目的基因和运载体，可以得到相同的黏性末端，便于连接，但也会出现目的基因和运载体的自身连接成环和反向连接。为了避免这种现象应该采取的措施是_____。
- cDNA 文库的构建方法是_____。
- 基因文库的构建方法是_____。
- 若目的基因表达的肽链中氨基酸数目增多，肽链后延，则需对该基因进行改造，这个改造是_____。
- 回答下列基因工程的相关问题：
 - 基因工程中，阐明遗传信息流动方向的基础理论是_____；自然界中的原核生物容易受到外源 DNA 的入侵，但依然可以达到保护自身的目的，这为人们寻找_____（答基因工程的工具）提供了启示。质粒作为基因工程的载体，应具备的基本条件：_____。
 - 动物和植物中内含子的剪接系统不同，如果要将一个来自动物且含有内含子的目的基因转入植物中进行表达，只能用该基因的_____。利用乳腺生物反应器批量生产药物时，需要将药用蛋白基因与_____等调控组件重组在一起，才能最终实现目的基因的表达。
 - 基因工程中，某些噬菌体经改造后可以作载体，其 DNA 复制所需的原料来自于_____。
 - 用目的基因的片段作为探针，在基因工程中可以检测_____。

11. 杂草危害是造成玉米减产的一个重要因素。科学家研究通过导入抗除草剂草丁膦 (PPT) 的 Bar 基因来获得转基因玉米植株，玉米植株表现出了不同程度的抗性。如图为含有 Bar 基因的表达载体部分示意图，请回答下列问题：



- 已知图中的基因表达载体 Intron 序列为内含子序列，它不编码蛋白质，从转录水平解释是因为_____。由图中推测 CaMV35S 和 Nos 应分别为_____。
 - 为了获得大量 Bar 基因，需要用 PCR 技术对其进行扩增，则必须用一段_____来合成引物，所用的酶必须具有的特性是_____。
 - 为了将 Bar 基因成功转化，宜选择玉米的_____（选填“根细胞”“叶肉组织”或“愈伤组织”）作为受体材料，原因是_____。然后用_____法将金属粒子包裹的基因表达载体打入受体细胞中。
 - 如果确定草丁膦 (PPT) 的临界浓度为 6 mg/mL，设计实验组（转基因组）和正常组，喷洒此浓度的 PPT，可以通过比较_____来鉴定其抗性程度，再经过多次筛选即可获得抗性强的植株。
12. 叶绿体基因工程的步骤类似于细胞核基因工程，与细胞核基因工程相比，其能使外源基因的表达更为高效和安全。近年来，烟草叶绿体基因工程在提高光合效率、抗性和品质等方面取得了研究进展。请答下列问题：
- 将目的基因导入叶绿体基因组时，一般将含有外源基因的质粒包裹在金粉上，通过轰击进入叶绿体中，这种方法称为_____，构建含有外源基因的质粒时，常用的工具酶有_____。
 - 叶绿体基因组中存在基因区和基因间隔区 (DNA 中不具有遗传效应的片段)，将外源基因导入叶绿体中时应该将外源基因导入_____（填“基因区”或“基因间隔区”），其原因是_____。
 - 植物受精过程中，花粉成熟过程类似于精细胞形成精子的过程。与细胞核基因工程相比，叶绿体基因工程由于_____，因而能避免花粉扩散引起的基因污染。在实施叶绿体基因工程时可选择诱导型启动子，该启动子只有在特定条件的诱导下才能表达目的基因，则选用诱导型启动子的优点是_____，同时避免外源基因在食用部位表达，解决了食品安全问题。



1. 蛋白质工程是根据人们的需要对蛋白质的结构进行分子设计, 通过_____对现有的蛋白质进行改造或制造一种新的蛋白质。
2. 蛋白质工程中, 要对蛋白质结构进行设计改造, 必须通过基因修饰或基因合成来完成, 而不直接改造蛋白质的原因是_____。
3. 在研制膀胱生物反应器时, 应使外源基因在小鼠的_____细胞中特异表达。
4. PCR 扩增目的基因是在_____ (仪器) 中完成的。
5. 进行基因转移到动物细胞时, 通常要将外源基因转入_____中, 原因是_____。
6. 凝乳酶能够使乳汁中的蛋白质凝聚形成奶酪, 主要来源为未断奶的小牛胃粘膜。随着社会发展, 传统来源的凝乳酶已不能满足生产需要。研究人员利用 PCR 技术扩增了目的基因, 并培育了能合成凝乳酶的转基因酵母菌, 从而获得足够的凝乳酶。回答下列问题:
 - (1) 利用 PCR 技术扩增目的基因的前提条件是要有_____用来合成引物。PCR 反应体系的主要成分应包含: 扩增缓冲液 (含 ATP 和 Mg^{2+})、4 种脱氧核糖核苷酸、模板 DNA、引物和_____。
 - (2) 凝乳酶基因可从构建的凝乳酶基因组文库中获取, 也可以从其 cDNA 文库中获取, 从前者获取的凝乳酶基因_____ (填“含有”或“不含有”) 启动子。
 - (3) 利用 PCR 技术扩增目的基因后需要构建基因表达载体, 其目的是_____。
 - (4) 构建基因表达载体过程中需要用_____ (酶) 处理。
 - (5) 分子水平上检测目的基因是否成功导入酵母菌的方法是_____。
 - (6) 工业生产中使用酵母菌作为受体, 而不选用大肠杆菌的原因是_____。
7. 我国云南的科学家团队将海洋发光细菌的发光基因导入到了烟草体细胞中, 经过植物组织培养和筛选后, 获得了夜间发光的烟草植物。请回答下列问题:
 - (1) 夜间发光烟草的成功培育, 说明_____, 并实现了物种之间的基因交流。
 - (2) 将发光基因导入烟草体细胞需要构建基因表达载体, 其目的是_____。将发光基因载体导入烟草细胞中, 常用农杆菌转化法, 其中农杆菌的作用是_____。将发光基因导入烟草体细胞后, 如果培育成的烟草植株_____, 则可分别在分子水平

- 和个体水平说明发光基因已成功表达。
- (3) 植物组织培养的核心步骤是脱分化和_____, 整个培养过程需要在_____和人工控制条件下进行。脱分化是指_____。
 8. 我国科学家利用 Bt 毒蛋白基因转入普通棉花, 培育出转基因的抗虫棉, 对棉铃虫有较强抗性。回答下列问题:
 - (1) 从苏云金芽孢杆菌中分离出 Bt 毒蛋白基因, 构建_____导入棉花细胞。获得的抗虫棉也能产生相同的 Bt 毒蛋白, 从翻译的角度分析, 其原理是_____。
 - (2) 从分子水平检测抗虫棉是否培育成功, 可以利用_____杂交来检测。若有_____出现, 说明已形成 Bt 毒蛋白。在该检测方法中, 从免疫学角度分析, Bt 毒蛋白属于_____。
 - (3) 从个体水平鉴定抗虫棉是否培育成功, 取一定量长势良好的转基因棉花植株接种适量的棉铃虫作为实验组, 对照组如何设置:_____。在相同且适宜的条件下培养一段时间, 观察并统计两组棉花叶片的受损程度。获得的抗虫棉若要扩大生产, 可以通过_____技术进行微型繁殖。
 - (4) 在农业生产中, 抗虫棉大面积种植的区域还需配套种植一定量的普通棉花, 从进化的角度分析, 原因是_____。
 9. 基础理论及技术的发展催生了基因工程。回答下列问题:
 - (1) 1967 年, 罗思和赫林斯基发现细菌拟核 DNA 之外的质粒有自我复制能力, 并可以在细菌细胞间转移, 这一发现为基因转移找到了一种_____。科学家在研究细菌时发现质粒上存在抗生素抗性基因, 该基因在基因工程中可作为_____。
 - (2) 60 年代, 科学家在研究时发现, 噬菌体感染某些宿主细菌后无法繁殖, 进一步研究发现宿主细菌含有能剪切噬菌体 DNA 的_____酶, 但该酶并未降解细菌自身 DNA, 对此现象的合理解释是_____。
 - (3) 1972 年, 伯格将 SV40 病毒 DNA 与 λ 噬菌体的 DNA 结合, 成功构建了第一个体外重组 DNA 分子。如果说他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_____。
 - (4) 1980 年, 科学家首次通过_____技术将重组基因导入小鼠的受精卵, 培育出第一个转基因小鼠, 1983 年科学家又采用_____方法将重组基因导入烟草, 培育出第一例转基因烟草。此后, 基因工程进入了迅速发展阶段。



1. 基因治疗包括_____。
2. 利用农杆菌可被双子叶植物细胞分泌的_____化合物吸引, 将其_____转移至受体细胞, 并整合到受体细胞染色体的 DNA 上, 从而获得含有目的基因的植物体细胞, 再经_____技术得到再生植株。
3. 基因工程的核心步骤是_____; 操作过程中, 用_____切割, 以便产生相同的黏性末端; 但在实际操作过程中, 常选择两种不同限制酶同时切割质粒和含目的基因的 DNA, 这样处理的好处是_____。
4. 目的基因在受体细胞内表达的理论基础有: ①_____; ②_____。在具体表达过程中, 需要启动子的参与, 其主要功能是_____。
5. cDNA 文库中的基因_____ (“含有” 或 “不含有”) 启动子。
6. 特定的化学物质能诱导目的基因表达, 可能与激活目的基因首端的_____有关。检测目的基因是否翻译成蛋白质用_____杂交。而要进行个体生物学水平的鉴定, 则需要将基因工程产品与_____进行活性比较以确定其活性。
7. 分子杂交的原理是_____。
8. cDNA 与从真核生物体内直接提取的目的基因在结构上的区别是_____。
9. 蛋白质工程是根据人们的需要对蛋白质的结构进行分子设计, 通过_____ (答出 2 点) 对现有的蛋白质进行改造或制造一种新的蛋白质。
10. 玉米作为一种重要的经济作物被广泛用于食品、饲料、工业和新能源产业。科技工作者采用基因工程技术, 成功将抗虫基因导入玉米, 培育出具有抗虫性状的优良品种。请回答下列问题:
 - (1) 已知抗虫基因来自于 cDNA 文库, 在构建基因表达载体时_(填“需要”或“不需要”)_在目的基因的首端添加启动子, 原因是_____。
 - (2) 将切伤后的玉米胚芽尖端浸泡在含有酚类物质和抗虫基因的农杆菌菌液中 10 分钟, 插入玉米萌发培养基, 在黑暗条件下培养 3 天即可获得幼苗。对芽尖进行切伤处理的目的是_____。由玉米胚芽尖端组织能够培育出幼苗, 体现了植物细胞具有_____。
 - (3) 抗虫基因导入玉米后, 能否赋予其抗虫特性, 最终需要进行个体生物学水平的_____实验。在确认玉米已经获得抗虫性状后, 可通过_____方法获得稳定遗传的品种。
 - (4) 转基因抗虫玉米产量比普通玉米产量高出 6%, 除此之外, 转基因玉米还有_____的优势。

11. 基因工程是在现代生物学、化学和工程学基础上建立和发展起来的, 并有赖于微生物学理论和技术的发展运用, 现在基因工程在动植物育种等方面有广泛的应用, 请根据已学知识回答下列问题:

- (1) 科学家将人的生长激素基因与大肠杆菌的 DNA 分子进行重组, 使之在大肠杆菌中稳定存在并成功表达, 这一过程称为_____。
 - (2) 科学家运用基因工程技术将结核杆菌 *MPT64* 基因 (能控制合成 *MPT64* 蛋白) 成功导入胡萝卜细胞, 最终生产出肺结核疫苗。这一技术的原理是_____。为获取 *MPT64* 基因, 科学家可从结核杆菌的细胞中提取对应的 mRNA, 在_____的作用下合成双链 cDNA 片段, 再利用_____技术获得大量 *MPT64* 基因。
 - (3) 为获得耐旱植物, 植物学家将耐旱基因插入 Ti 质粒中, 利用 T-DNA _____的特点, 将耐旱基因导入植物的体细胞中, 再经过_____技术得到再生植株。要确认该耐旱基因是否在再生植株中正确表达, 应使用_____方法检测此再生植株中该基因的表达产物, 若有_____出现, 再在田间试验中检测植株的耐旱性是否得到提高。
 - (4) 基因工程的兴起让某些哺乳动物变成“批量生产药物的工厂”, 如利用乳腺生物反应器生产 α -抗胰蛋白酶等。科学家将 α -抗胰蛋白酶基因与_____等调控组件重组组成基因表达载体, 通过_____等方法, 导入哺乳动物的_____中, 最终发育成能够从乳汁中获取 α -抗胰蛋白酶转基因动物。
12. 我国云南的科学家团队将海洋发光细菌的发光基因导入到了烟草体细胞中, 经过植物组织培养和筛选后, 获得了夜间发光的烟草植物。请回答下列问题:
- (1) 夜间发光烟草的成功培育, 说明_____, 并实现了物种之间的基因交流。
 - (2) 将发光基因导入烟草体细胞需要构建基因表达载体, 其目的是_____。将发光基因载体导入烟草细胞中, 常用农杆菌转化法, 其中农杆菌的作用是_____。将发光基因导入烟草体细胞后, 如果培育成的烟草植株_____, 则可分别在分子水平和个体水平说明发光基因已成功表达。
 - (3) 植物组织培养的核心步骤是脱分化和_____。脱分化是指_____。



1. 基因工程中需要构建基因表达载体, 而不能将目的基因直接导入受体细胞, 原因是_____。
2. 标记基因的作用是_____。
3. 质粒常被用作运载体, 因为质粒_____。
_____ (答 2 点即可)。
4. 重组 Ti 质粒载体结构中 T-DNA 的作用是_____。
5. cDNA 文库的构建方法是_____。
_____。 cDNA 的中文名称是_____。
6. 某种链霉菌可产生 *paim* (多肽类化合物), 该物质是一种淀粉酶抑制剂, 能使害虫不能消化所摄取的淀粉而死亡。研究人员欲从这种链霉菌细胞中提取 *paim* 基因, 并导入玉米等农作物中, 以获取抗虫作物。回答下列问题:
 - (1) 研究人员从这种链霉菌细胞中提取 DNA, 然后用多种限制酶同时切割 DNA 获得很多种 DNA 片段。理论上, *paim* 基因会存在于某一个或几个 DNA 片段中。因此切割 DNA 时要用多种限制酶分别切割, 而不是只用一种限制酶切割, 用多种限制酶同时切割的原因是_____。
_____。
 - (2) 研究人员将上述 DNA 片段与质粒结合, 与 DNA 片段结合的质粒需用同一种限制酶切割, 其目的是_____。常见的连接 DNA 片段与相应质粒片段的酶有_____两类。
 - (3) 将上述过程得到的重组质粒导入大肠杆菌实现转化, 常见的操作方法是_____。基因工程中常用微生物作为受体细胞, 其优点是_____。
 - (4) 检测转基因大肠杆菌中是否产生了 *paim* 的检测方法是_____。我们将储存有 *paim* 基因的大肠杆菌菌群称为链霉菌的_____文库。
7. 基因治疗的途径之一是从患者体内获得某种细胞, 在体外将目的基因导入后, 经筛选和扩大培养再重新输入患者体内。回答下列问题:
 - (1) 目的基因在_____ (设备) 中扩增时, 应加入的原料有_____。
 - (2) 目的基因转移进入受体细胞前应构建基因表达载体, 其目的是_____。
_____。
 - (3) 为检测目的基因在受体细胞中是否转录, 可用_____作探针, 与从受体细胞

- 中提取的 mRNA 杂交, 若显示出_____, 说明目的基因已转录。
- (4) 体外培养患者细胞时, 应按细胞所需营养物质的_____配制培养基, 并保证被培养的细胞处于_____的环境, 同时为细胞提供适宜的温度、pH 和气体等条件; 还要定期更换培养液, 避免_____。
8. 我国科学家利用 Bt 毒蛋白基因转入普通棉花, 培育出转基因的抗虫棉, 对棉铃虫有较强抗性。回答下列问题:
 - (1) 从苏云金芽孢杆菌中分离出 Bt 毒蛋白基因, 构建_____导入棉花细胞。获得的抗虫棉也能产生相同的 Bt 毒蛋白, 从翻译的角度分析, 其原理是_____。
 - (2) 从分子水平检测抗虫棉是否培育成功, 可以利用抗原-抗体杂交来检测, 若有_____出现, 说明已形成 Bt 毒蛋白。在该检测方法中, Bt 毒蛋白属于_____。
 - (3) 从个体水平鉴定抗虫棉是否培育成功, 取一定量长势良好的转基因棉花植株接种适量的棉铃虫作为实验组, 对照组如何设置: _____。
_____。在相同且适宜的条件下培养一段时间, 观察并统计两组棉花叶片的受损程度。获得的抗虫棉若要扩大生产, 可以通过_____技术进行微型繁殖。
 - (4) 在农业生产中, 抗虫棉大面积种植的区域还需配套种植一定量的普通棉花, 从进化的角度分析, 原因是_____。
9. 基础理论及技术的发展催生了基因工程。回答下列问题:
 - (1) 1967 年, 罗思和赫林斯基发现细菌拟核 DNA 之外的质粒有自我复制能力, 并可以在细菌细胞间转移, 这一发现为基因转移找到了一种_____。科学家在研究细菌时发现质粒上存在抗生素抗性基因, 该基因在基因工程中可作为_____。
 - (2) 60 年代, 科学家在研究时发现, 噬菌体感染某些宿主细菌后无法繁殖, 进一步研究发现宿主细菌含有能剪切噬菌体 DNA 的_____酶, 但该酶并未降解细菌自身 DNA, 对此现象的合理解释是_____。
_____。
 - (3) 1972 年, 伯格将 SV40 病毒 DNA 与 λ 噬菌体的 DNA 结合, 成功构建了第一个体外重组 DNA 分子。如果说他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_____。
 - (4) 1980 年, 科学家首次通过_____技术将重组基因导入小鼠的受精卵, 培育出第一个转基因小鼠, 1983 年科学家又采用_____方法将重组基因导入烟草, 培育出第一例转基因烟草。此后, 基因工程进入了迅速发展阶段。



1. 蛋白质工程中, 要对蛋白质结构进行设计改造, 必须通过基因修饰或基因合成来完成, 而不直接改造蛋白质的原因是_____。
2. 杂种细胞形成的标志是_____。
3. 将胰岛素基因导入受体细胞时, 常选择酵母菌作为受体。与大肠杆菌相比, 酵母菌具有的优势是_____。
4. 基因工程____ (“有” 或 “没有”) 产生前所未有的新蛋白质? 原因是_____。
5. PCR 的原理是_____。
6. DNA 疫苗是预防性生物制品, 与传统疫苗相比其具备的优点有_____。
7. 蛋白质工程的技术流程是_____。
8. 细菌体内限制酶不剪切该细菌本身的 DNA, 这是在长期的进化中形成了一套完善的_____, 但能对外源 DNA 进行降解, 有利于_____。事实上, 上述细菌仍允许部分异源 DNA 进入体内, 其意义是_____。
9. 培育转基因抗逆新品种时最好要将目的基因插入到植物细胞染色体的 DNA 上, 理由是: _____。
10. 利用 PCR 技术扩增基因时, 至少经过_ 次循环才能获得目的基因。
11. 基因工程又称为_____技术。
12. 将目的基因导入植物细胞时, 会对植物进行切伤处理, 其目的是_____。
13. 如果要将某目的基因通过农杆菌转化法导入植物细胞, 先要将目的基因插入农杆菌 Ti 质粒的_____中, 然后用该农杆菌感染植物细胞, 通过 DNA 重组将目的基因插入植物细胞的_____上。
14. 大豆是一种双子叶植物, 20 世纪 80 年代美国一家公司从矮牵牛植株体内提取出了抗除草剂草甘膦的 EPsPs 基因, 并将该基因导入大豆植株体内, 成功培养出了能抵抗除草剂草甘膦的大豆新品种。请回答下列问题:
 - (1) 将获得的 EPsPs 基因在体外进行扩增需要采用_____技术, 该技术的原理是_____。
 - (2) 将 EPsPs 基因导入大豆植株细胞之前需要构建基因表达载体, 这一过程中需要使用限制性核酸内切酶和_____酶, 其中使用后者的目的是_____。
 - (3) 将目的基因导入大豆植株细胞内常用的方法是农杆菌转化法, 该方法需要首先将目的基因插入到 Ti 质

粒的_____上, 目的是_____。

- (4) 检测大豆植株是否获得了抗除草剂草甘膦性状的较简单的方法是_____。
15. 溶菌酶具有抗菌、消炎、抗病毒等作用。T₄ 溶菌酶在温度较高时易失去活性, 科学家对编码 T₄ 溶菌酶的基因进行改造, 使其表达的 T₄ 溶菌酶的第 3 位的异亮氨酸变为半胱氨酸, 在该半胱氨酸与第 97 位的半胱氨酸之间形成了一个二硫键, 提高了 T₄ 溶菌酶的耐热性。请根据所学知识回答下列问题:
 - (1) 科研人员通过_____ (填具体生物工程技术名称) 来设计改变酶的构象。该工程是指以分子生物学相关理论为基础, 通过_____或_____, 对_____进行改造, 或制造一种新蛋白质的技术。
 - (2) 在该研究中, 引起 T₄ 溶菌酶空间结构改变的原因是组成该酶肽链的_____序列发生了改变。
 - (3) 若将改造后的 T₄ 溶菌酶基因导入奶牛成纤维细胞的细胞核中时, 需要用到的工具酶有_____, 将目的基因导入奶牛受体细胞常用的方法是_____。
 - (4) 要使该基因只在奶牛的乳腺细胞中选择性表达, 构建基因表达载体的过程中要在目的基因前接上_____。
16. 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_____。



1. 基因工程中除质粒外，_____和_____也可作为运载体。
2. 若用重组质粒转化大肠杆菌，一般情况下，不能直接用未处理的大肠杆菌作为受体细胞，原因是_____。
3. 应该将目的基因导入质粒的_____与终止子之间。
4. 抗旱基因已经导入烟草细胞，但未检测出抗旱基因转录出的 mRNA，从构建基因表达载体的角度推测，最可能的原因是_____。
5. 2017 年 12 月 20 日澳大利亚—新西兰食品标准局批准国际水稻研究所转基因水稻 GR2E 用于食品生产。该转基因水稻富含 β -胡萝卜素。回答下列问题：

- (1) 通过 β -胡萝卜素 mRNA 可以获得 β -胡萝卜素基因，其原理是_____。
- (2) 将 β -胡萝卜素基因和完整质粒载体连接时，需要使用_____酶。不能直接将 β -胡萝卜素基因导入受体细胞，原因是与质粒载体相比， β -胡萝卜素基因无复制原点，也无基因表达所需的_____。
- (3) 利用农杆菌转化法将目的基因导入受体细胞时，最好将含重组质粒的农杆菌与水稻_____（填“受伤的”或“完好的”）茎尖共同培养，选用这种茎尖的理由是_____。
- (4) 用该转基因水稻与非转基因水稻杂交，发现子代中富含 β -胡萝卜素个体数与不富含 β -胡萝卜素个体数之比为 1:1，则说明 β -胡萝卜素基因已经整合到_____（填“线粒体基因组”“叶绿体基因组”或“核基因组”）中。

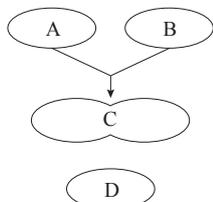
6. 植物组织培养的条件：

- (1) 细胞_____和适宜的外界条件（如适宜温度、适时的光照、pH 和_____环境等）
- (2) 一定的营养（无机、有机成分）和_____（_____和_____）。

7. 植物的组织培养是利用植物细胞具有_____原理。

8. 植物组织培养的过程：外植体 $\xrightarrow{\text{脱分化}}$ 愈伤组织 $\xrightarrow{\text{再分化}}$ 胚状体 \rightarrow 新植株

9. 下图为细胞融合的简略过程示意图，请据图完成问题：

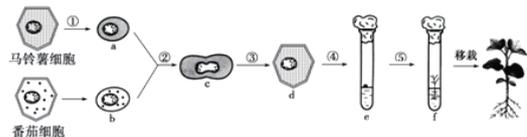


- (1) 若 A、B 是植物细胞，在细胞融合之前已用酶处理去掉了细胞壁，所用的酶可能是_____，由此生成的 A 和 B 称为_____；A、B 到细胞 C

的过程中，常用的物理方法有离心、振动、电激。融合完成的标志是_____。

- (2) 若 A、B 是动物细胞，一般取自幼龄动物的器官、组织，然后用_____使其分散开来；A、B 到 C 的过程中，常用的不用于植物细胞工程的方法是用_____诱导细胞融合。对融合得到的 D 进行大规模培养时需要提供的气体环境为_____，其中 CO_2 的作用是_____。此外，培养液还应进行无菌处理，通常还要在培养液中添加一定量的抗生素，以防_____。
- (3) 若 A 为骨髓瘤细胞，B 为已免疫的 B 淋巴细胞，那么 D 称为_____，这种细胞既能大量繁殖，又能产生_____。
- (4) 从 A、B 到细胞 C 的过程中，可形成_____种类型的细胞（仅考虑两个细胞间的融合）。若该过程用于单克隆抗体的制备，应筛选出符合要求的 D，方法是用特定的_____培养基培养，为了大规模的生产单克隆抗体，还需对 D 进行第二次筛选，第二次筛选的目的是_____。筛选出该类细胞后还需进行_____和_____经多次筛选可获得数量足够的能分泌所需抗体的细胞。

10. 科学家利用番茄 (2N) 和马铃薯 (4N) 利用如图技术得到“番茄-马铃薯”植株。请回答下列问题：



- (1) 获得 a、b 所选用的酶为_____，c 和 d 的名称依次是_____、_____。
- (2) 图示技术名称是_____；由 d 培育成植株的过程运用的技术手段是_____，其依据的原理是_____。
- (3) 过程②称为_____，所用的化学诱导剂一般是_____，③过程成功的标志是_____。
- (4) 过程④是_____，⑤过程增殖的方式为_____，诱导 f 中植株生根过程中培养基中生长素与细胞分裂素的比值较④过程_____（高/低）；最终获得的“番茄-马铃薯”属于_____倍体植株。

11. 植物组织培养技术还用于脱毒苗的培育：一般选取_____作为外植体，依据是_____。

12. 培育杂种植株（植物体细胞杂交）的意义是_____。



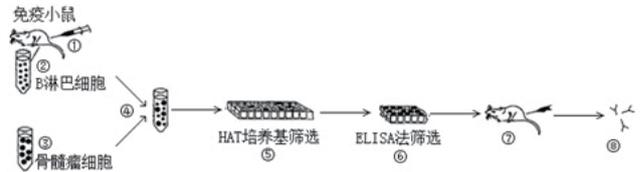
1. 动物细胞培养是指从动物机体中取出相关的组织，将它分散成单个细胞，然后，放在适宜的培养基中，让这些细胞_____和_____。
2. 将动物组织分散为单个细胞，可以使用_____酶，但是注意消化的_____，否则会对细胞有_____。
3. 动物细胞培养液为合成培养基，但该培养基中往往要加入一些_____等天然成分。动物细胞培养所需气体主要有 O_2 和 CO_2 ， CO_2 的主要作用是_____。
4. 当细胞悬液放入培养瓶内，置于适宜环境中培养，悬液中分散的细胞很快就贴附在瓶壁上，称为_____。培养贴附性细胞时，细胞要能够贴附于底物上才能生长增殖，这就要求培养瓶或培养皿的内表面_____。
5. 在动物细胞培养过程中，当贴壁细胞分裂生长到_____时，细胞会停止_____，这种现象称为细胞的_____。要使贴壁的细胞从瓶壁上分离下来，需要用酶处理，可用的酶是_____。分瓶后继续培养，让细胞继续增殖，这样的培养过程通常被称为_____。
6. 传代培养的细胞一般传至__代后就不易传下去了。一般来说，细胞在传至__代左右时，增殖会逐渐缓慢，以至于完全停止，这时部分细胞的细胞_____可能发生改变。当继续传代培养时，少部分细胞会克服细胞寿命的自然极限，获得_____，这些细胞已经发生了突变，正在朝着等同于癌细胞的方向发展。目前使用的或冷冻保存的正常细胞通常为__代以内，以_____。
7. 原代培养是指_____。
8. 若要将培养的细胞诱导分化成特定的 T 淋巴细胞，应将细胞增殖代数控制在 10 代以内，原因是_____。
9. 随着细胞传代次数的增多，绝大部分细胞分裂停止，但极少数细胞可以连续增殖，该种细胞细胞膜表面蛋白质（糖蛋白）的量_____，甲胎蛋白和癌胚抗原_____。
10. 植物体细胞杂交育种方法与传统杂交育种方法相比，优点是_____。
11. 在进行植物体细胞杂交时，需先去壁并获得有活力的原生质体。诱导原生质体融合时常使用的诱导剂是_____，诱导剂的作用是_____（答出两点），融合后的原生质体会再生出细胞壁，新的细胞壁的产生与细胞内_____（细胞器）有关。
12. 制备原生质体需要配制酶解反应液，内含纤维素酶、渗透压稳定剂等。在反应液中，纤维素酶的作用是_____，加入渗透压稳定剂的理由是_____。
13. 在原生质体融合处理阶段，融合体系中除含异种融合的原生质体外，可能还有_____等原生质体的存在，体系中出现多种类型原生质体的原因是_____。
14. 脱分化是指_____。
15. 愈伤组织是_____。
16. 从育种的角度分析，植物组织培养与有性繁殖相比，优势主要有_____。
17. 制备抗人绒毛膜促性腺激素的单克隆抗体过程中，需要用特定的_____培养基筛选出杂交瘤细胞，该细胞的特点是_____，对杂交瘤细胞还需进行_____培养，并用_____对其进行专一抗体检测，经多次筛选获得足够数量的所需细胞进行体内或体外培养。
18. 外植体是指_____。
19. 胚状体是指_____。
20. 在体细胞诱变育种的过程中，可以对植物的_____进行化学或物理的诱变处理，促使其发生突变，再通过_____形成植株。从这些植株中筛选出高抗、高产、优质的突变体，培育成新品种。化学诱变一般是利用一些_____进行处理，常见的有甲基磺酸乙酯（EMS）和叠氮化钠（SA）等。物理诱变一般采用_____处理，其主要包括 γ 射线、 β 射线、中子等。
21. 动物细胞培养过程中，进行传代培养时用_____酶分散细胞，说明细胞间的物质主要是_____。改用胃蛋白酶为什么不可行，原因是：_____。
22. 动物细胞培养的条件是：_____。
23. 通常在动物细胞培养液中添加一定量的_____，目的是_____。此外，应定期_____，目的是_____。
24. 细胞体外培养所需营养物质与_____基本相同，需要有_____等。
25. 合成培养基是_____。
26. 在合成培养基中，通常需要加入血清、血浆等一些天然成分，因为_____。
27. 哺乳动物细胞培养的温度多在_____ $^{\circ}C$ 为宜；多数细胞生存的适宜 pH 为_____。
28. 动物细胞培养需要气体主要有_____， O_2 是_____， CO_2 的主要作用是_____。进行细胞培养时，通常采用培养皿或松盖培养瓶，将其置于含_____的混合气体的培养箱中进行培养。
29. 高度分化的植物组织仍保持着全能性，但动物细胞的全能性会随着动物细胞分化程度的_____而逐渐受到限制，分化潜能逐渐变_____。



1. 一般将受精卵作为目的基因的受体细胞，原因是_____。
2. 动物核移植是指_____。用核移植的方法得到的动物称为_____动物。
3. 哺乳动物核移植可以分为_____核移植和_____核移植。而动物体细胞核移植的难度明显高于胚胎细胞核移植，原因是_____。
4. 在体细胞的细胞核移植到受体卵母细胞之前，必须先去掉受体卵母细胞的细胞核，原因是_____。
5. 用于核移植的供体细胞一般选用传代 10 代以内的细胞，原因是_____。
6. 核移植方法生产的克隆动物，___（是 / 否）对体细胞供体动物 100% 的复制，原因是_____。
7. 请回答下列与克隆技术有关的问题：
 - (1) 动物体细胞核移植的难度明显高于胚胎细胞核移植，其原因是_____。
 - (2) 从卵巢中吸取的卵母细胞，一般要培养到_____阶段才能用于实验，实验中要用_____吸出_____与卵母细胞的_____。
 - (3) 将供体细胞注入去核卵母细胞后，用_____方法激活受体细胞，通过_____使两细胞融合，供体核进入受体卵母细胞，构建重组胚胎。
 - (4) 当胚胎发育到_____阶段时，将胚胎移入受体（代孕）动物体内。
 - (5) 我国政府禁止生殖性克隆人，但不反对_____，即不反对通过克隆技术诱导产生_____细胞以用于医学研究和治疗。
8. 制备单克隆抗体的过程中选用 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合形成杂交瘤细胞的原因是：_____。
9. 杂交瘤细胞的特性是_____。
10. 杂交瘤细胞的_____和_____：融合后的细胞经过_____培养基培养后，能存活的细胞就是_____细胞。但是这些杂交瘤细胞并非都是能分泌所需抗体的细胞，通常用“有限稀释法”来选择。将杂交瘤细胞稀

释，用多孔细胞培养板培养，使每孔细胞不超过_个，通过培养让其增殖。然后用___检测各孔上清液中细胞分泌的___（常用酶联免疫吸附试验法），那些上清液可与特定___结合的培养孔为阳性孔。阳性孔中的细胞还不能保证是来自单个细胞，挑选阳性孔的细胞继续进行有限稀释，一般需进行 3~4 次，直至确信每个孔中增殖的细胞为单克隆细胞。该过程即为杂交瘤细胞的克隆化培养。

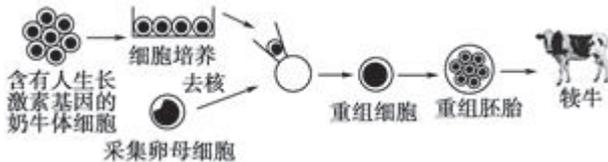
11. 破伤风是人畜共患的一种创伤性、中毒性疾病，破伤风类毒素单克隆抗体可以为破伤风的快速检测及治疗带来光明。如图是我国科学工作者进行的破伤风类毒素单克隆抗体的制备过程示意图，请据图回答：



- (1) 单克隆抗体与常规的血清抗体相比，最大的优越性是_____。
- (2) 由图可看出，单克隆抗体制备过程运用了_____和_____等技术手段，前一过程是制备单克隆抗体的基础，且需置于_____²的混合气体的培养箱中进行培养，其中 CO₂ 的作用是_____。
- (3) 他们将破伤风杆菌毒素注入小鼠体内，使小鼠产生免疫反应，然后从小鼠的_____中获取 B 淋巴细胞。淋巴细胞是由动物体骨髓中的_____细胞分化、发育而来的。
- (4) 经过程①诱导操作后，免疫小鼠获得的每种 B 淋巴细胞能产生_种抗破伤风类毒素抗体。
- (5) 过程⑤可筛选出杂交瘤细胞，根据培养基的用途分类，HAT 培养基属于_____培养基。在该培养基上，未融合的亲本细胞和_____的细胞都会死亡，从而筛选得到杂交瘤细胞。选出的杂交瘤细胞既具备骨髓瘤细胞的迅速_____特点，又具备淋巴细胞的_____特点。
- (6) 过程⑥进行了_____和_____，从而筛选出_____的杂交瘤细胞，具体做法是：将杂交瘤细胞多倍稀释，接种在多孔的细胞培养板上，使每孔细胞不超过_个，通过培养让其增殖，然后通过 ELISA 法（又称酶联免疫吸附试验法）检测各孔上清液中细胞分泌的抗体，可与特定抗原结合的培养孔为阳性孔。如果阳性孔中的细胞还不能保证是来自单个细胞，应将该阳性孔中的细胞_____，重复 3~4 次，直至确信每个孔中增殖的细胞为单克隆细胞。
- (7) 如果把抗癌细胞的单克隆抗体跟化学药物相结合，制成_____，注入体内，借助单克隆抗体的导向作用，将药物定向带到癌细胞所在位置，在原位杀死癌细胞。



- 1.从动物体内获得体细胞后,对其进行的初次培养称为_____,培养的细胞在贴壁成长至充链满培养皿底时停止分裂,这种现象称为_____。
- 2.重组囊胚通过_____技术移入白鼠子宫内继续发育,暂不移入的胚胎可使用_____方法保存。
- 3.小鼠胚胎干细胞(ES)可由囊胚的_____分离培养获得,iPS与ES细胞同样具有发育全能性,有望在对人类iPS细胞进行定向_____后用于疾病的细胞治疗。
- 4.科学家通过转基因技术获得了含有人生长激素基因的奶牛,如果要加速转基因奶牛的繁育,可以对此转基因奶牛进行克隆(如下图所示)。请结合图示回答下列问题:



- (1) 在进行细胞培养时,要对取自转基因奶牛的组织细胞进行分离,形成单个细胞,这个过程中需要利用_____酶处理。
 - (2) 形成重组细胞时应选用_____期的卵母细胞,并去掉其细胞核的原因是_____。
 - (3) 如果重组细胞为贴附性细胞,则在进行原代培养时,还会表现出_____等特点。传代培养过程中,培养_____代以内的细胞保持正常的二倍体核型。
 - (4) 图中犊牛并非是对体细胞核供体母牛性状100%的复制,其原因主要有_____。
 - (5) 上图中所示的生物技术整体被称为_____,其包括的具体生物技术有_____、_____等。转基因奶牛的克隆成功,说明了动物_____具有全能性。
- 5.单克隆抗体与常规的血清抗体相比最大的优点是_____。

- 6.回答下列有关动物细胞培养的问题。
- (1) 在动物细胞培养过程中,当贴壁细胞分裂生长到细胞表面_____时,细胞会停止分裂增殖,这种现象称为细胞的_____。此时,瓶壁上形成单层细胞,要使贴壁的细胞从瓶壁上分离下来,需要用_____处理。
 - (2) 在动物细胞培养时,在培养基中通常还需要加入适量的_____等一些天然成分,细胞培养应在含5%CO₂的恒温培养箱中进行,CO₂的作用是_____。
 - (3) 随着细胞传代次数的增多,绝大多数细胞停止分裂,进而出现衰老甚至死亡的现象;但极少数细胞可连续增殖,其中有些细胞会因_____发生改变而变成不死性细胞,该种细胞的黏着性_____,细胞

膜表面糖蛋白的量_____。

(4) 在细胞培养过程中,通常在_____条件下保存细胞。因为在这种条件下,细胞中_____降低,细胞的新陈代谢速率下降。

- 7.回答下列问题:
- (1) 基因工程的核心步骤是_____。
 - (2) PCR扩增过程中,延伸阶段的实质是在_____酶的作用下,合成子链。
 - (3) 将目的基因导入大肠杆菌细胞中,常用_____处理细胞,使细胞处于感受态。
 - (4) 单克隆抗体可制作诊断盒,用于准确、快速诊断H7N9病毒感染者,这种诊断运用了_____杂交技术。
 - (5) 受精卵在体外培养时,培养液中除了加水、无机盐、维生素、葡萄糖、氨基酸等分泌的营养成分外,往往需要特别加入_____,同时在含5%_____的无菌、恒温培养箱中进行培养。
 - (6) 在胚胎移植前,通过_____技术可获得较多胚胎。在胚胎移植过程中,供体、受体动物选择好后,要用激素进行_____处理,使供、受体的生理状态相同。
 - (7) 动物细胞融合技术常用的诱导因素有PEG、电激、和_____,培养液中共有_____种类型的融合细胞(只考虑两两融合)。

8.2017年11月27日世界上首个体细胞克隆猴“中中”诞生,12月5日第二个克隆猴“华华”诞生,该成果标志中国率先开启了以体细胞克隆猴作为实验动物模型的新时代,实现了我国在非人灵长类研究领域由国际“并跑”到“领跑”的转变。据此回答问题。

- (1) “中中”和“华华”的诞生,体现出动物细胞的_____具有全能性,克隆技术在繁殖类型上属_____;非人灵长类克隆技术实践日益成熟对人类治疗性克隆具有重要意义,但我国政府一再重申_____、_____、_____、不接受任何生殖性克隆人的实验。
- (2) 相对于植物克隆而言,动物尤其是高等动物的克隆比较困难,原因是_____。因而在克隆过程中需要使用_____,原因是_____。
- (3) 在干细胞研究领域,科学家裴端卿的团队用人的尿液在小鼠体内培育出了人再生牙齿,目前他们已经能够将尿液中提取的多能干细胞与滋养细胞共同培养,或在培养液中加入_____,如_____等物质可进一步使之变成血液细胞、骨细胞、皮肤细胞、肝细胞以及神经细胞等多种组织细胞。



1. 胚胎工程是指对动物的_____或_____所进行的各种显微操作和处理技术, 如_____、_____、_____、_____等技术。

2. 在胚胎移植操作中, 应该对供体和受体的母畜进行_____处理, 目的是使供体和受体(的生殖器官)_____, 使胚胎在移植前后所处的生理环境保持一致。进行胚胎移植的优势是_____。

3. ES 或 EK 细胞来源于早期胚胎或_____, 在功能上具有发育的全能性。体外培养时, ES 细胞可以_____, 可对其进行冷冻保存, 也可进行遗传改造。

4. 请回答有关受精作用的问题:

- (1) 在自然条件下, 受精是在雌性的_____内完成的。
- (2) 刚刚排出的精子, 不能立即与卵子受精, 必须在雌性动物_____中发生相应的生理变化后, 才能获得受精能力, 这一生理现象称为_____。
- (3) 动物排出的卵子成熟程度不同, 它们都要在_____内进一步成熟, 当达到_____时, 才具备与精子受精的能力。
- (4) 哺乳动物的受精过程主要包括: 精子穿越_____和_____, 进入_____, _____形成和融合过程。
- (5) 获能后的精子与卵子相遇时, 首先发生_____反应, 是其中的酶释放出来, 精子所释放的_____可直接溶解_____, 形成精子穿越_____的通路。
- (6) 精子与_____接触, _____将_____溶出一条孔道, 精子借自身运动穿越_____, 并接触_____。在精子触及_____的瞬间, 会产生阻止后来的精子进入_____的生理反应, 这个反应称做_____, 它是防止多精入卵的第一道屏障。
- (7) 精子入卵后, _____会立即发生一种生理反应, 拒绝其他精子再进入卵内, 这种生理反应称为_____反应。这是防止多精入卵的第二道屏障。

5. 精子入卵后, 尾部脱离, 原有的核膜破裂, 形成一个新的核膜, 最后形成一个比原来精子核还大的核, 叫做_____。与此同时, 精子入卵后被激活的卵子完成_____, 排出_____后, 形成_____。

6. 回答下列有关胚胎工程的相关问题;

- (1) 1890 年, 英国剑桥大学的生物学家将纯种的安哥拉兔的两个 4 细胞胚胎移入一只纯种的比利时兔的输卵管内, 成功地得到两只纯种的安哥拉子兔。这个实验首次证实了_____的可能性。
- (2) 哺乳动物卵子发生过程中, 减数第二次分裂是在_____过程中完成的, 哺乳动物卵子和精子在发生上的重要区别是_____。在实施体外受精时, 获能的精子与培养成熟的卵子, 通常都可以在_____中完成受精作用, 在体外受精

后, 应将受精卵移入发育培养液中继续培养, 以检查_____。

(3) 胚胎移植需收集胚胎, 收集胚胎时冲卵的生理学基础是_____。

胚胎分割时用分割针取样的滋养层的用途是_____。

(4) ES 细胞是研究细胞分化的理想材料, ES 细胞在饲养层细胞上, 或在_____的培养液中, 能够维持不分化的状态。

7. 请回答下列有关胚胎工程和基因工程方面的问题:

- (1) 目前, 科学家通过细胞核移植实验, 培育出多种哺乳动物新类型。在哺乳动物的核移植实验中, 一般通过_____ (填物理方法) 将受体细胞激活, 使其进行细胞分裂并发育, 当胚胎发育到_____阶段时, 将胚胎植入另一雌性(代孕)动物体内。若需长时间保存胚胎细胞, 通常可在_____条件下保存, 因为在这种条件下, 细胞中_____的活性降低, 细胞的代谢速率降低; 而与一般的繁育良种动物方式相比较, 胚胎移植的优势是_____。
- (2) 在“试管牛”的培育过程中, 要使精子和卵母细胞在体外成功结合, 需要对精子进行获能处理。另外, 培养的卵母细胞需要发育至_____, 该时期在显微镜下可观察到次级卵母细胞和第一极体。
- (3) 若要使获得的转基因牛分泌的乳汁中含有人干扰素, 需构建目的基因表达载体。目前常用的措施是将该基因表达载体导入牛的_____ (填“受精卵”或“乳腺细胞”), 导入方法是_____。

8. 2018 年 11 月, 来自中国深圳的科学家宣布, 一对名为露露和娜娜的基因编辑婴儿于 11 月在中国健康诞生。这对双胞胎在的一个 CCR5 基因 (HIV 病毒入侵机体细胞的主要辅助受体之一), 经过修改, 使她们出生后即能天然抵抗艾滋病。这是世界首例免疫艾滋病的基因编辑婴儿。

- (1) 自然条件下, 受精是在雌性动物的_____内完成的。
- (2) 双胞胎的妈妈通过常规的试管婴儿技术受孕, 涉及的胚胎工程技术主要有_____、_____和早期胚胎培养等。
- (3) 科学家首先要向妈妈注射_____, 已获得足够数量的卵子, 受精前并对志愿者爸爸的精子进行_____处理。
- (4) 早期胚胎发育的过程大致为: 受精卵→_____→囊胚→原肠胚, 囊胚中的_____细胞将发育成胎膜和胎盘。
- (5) 中国对涉及试管婴儿的态度是: _____生殖性克隆, 不反对治疗性克隆。



1. 精子和卵子在发生上的重要区别是_____。
2. 胚胎工程的最后一道工序是_____。
3. 胚胎工程是指对动物_____所进行的各种显微操作和处理技术，如体外受精、_____、胚胎分割、胚胎干细胞培养等技术。
4. 合子形成后即是在输卵管内进行_____分裂，开始发育。胚胎发育的早期有一段时间是在透明带内进行的，其显著特点是胚胎的总体积_____。导致透明带破裂，胚胎从中伸展出来的过程叫做_____。
5. 防止多个精子与卵子受精的生理机制包括_____、_____。
6. 胚胎工程中，移植的胚胎在受体体内存活的生理基础是_____。
7. 为了降低克隆难度，核移植的供体细胞最好取_____（填“胚胎干细胞”或“体细胞”），原因是_____。
8. 试管动物与克隆动物的区别是_____。
9. 胚胎移植时多采用多胚胎移植，因此需要_____用激素处理促进母亲排出更多的卵子。胚胎发育的卵裂期在_____内进行。
10. 对胚胎进行分割时，要特别注意将内细胞团均等分割，否则会影响_____。
11. 判断卵子是否受精的重要标志是_____。
12. 为了某些需要，需对胚胎的性别进行鉴定。目前最有效最准确的方法是 SRY-PCR 法，操作的基本程序是：从被测的囊胚中取出几个_____细胞，提取 DNA；然后用位于_____染色体上的性别决定基因（即 SRY 基因）的一段碱基作_____，以_____模板进行 PCR 扩增；最后与 SRY 特异性探针出现阳性反应者，胚胎为_____性。
13. 设计试管婴儿、克隆人等都是引起人们广泛争论的问题。我国不反对_____克隆，即可利用人体细胞核移植等技术治疗人类疾病，在去除卵母细胞的细胞核时，可用微型吸管把位于_____和_____之间的第一极体一并吸出。
14. 一般来说，生态工程的主要任务是_____，对造成环境污染和破坏的生产方式进行改善，并提高生态系统的生产力。
15. 请回答有关胚胎发育的问题：
 - (1) 合子形成后即是在_____内进行有丝分裂，开始发育。
 - (2) 胚胎发育的早期有一段时间是在_____内进行的，这一时期称为_____期。其特点是细胞分裂方式为_____分裂，细胞的数量_____（增加/减少），整个胚胎的总体积_____（增加/不增加），每个细胞中的有机物_____（增加/减少），胚胎的总核酸含量_____

- _____（增加/减少）。
 - (3) 当胚胎细胞数目达到 32 个左右时，胚胎形成致密的细胞团，形似_____，叫做_____。实验证实，这个阶段前的每一个细胞都具有_____的潜能，属于_____细胞。
 - (4) 胚胎进一步发育，细胞开始分化，聚集在胚胎的一端，个体大的细胞，称为_____，即_____（英文缩写），将来发育成_____。
 - (5) 沿透明带内壁扩展和排列的、个体较小的细胞，称为_____，它们将来发育成动物的_____。
 - (6) 胚胎进一步发育，胚胎内部出现了液体的囊腔，称为_____，这个时期的胚胎叫做_____。胚胎进一步扩大，会导致_____破裂，胚胎从其中伸展出来，这一过程叫做_____。
 - (7) 胚胎进一步发育，_____的细胞发育成外胚层，_____的细胞发育成内胚层，在外胚层之间形成_____，这个时期的胚胎称为_____，内胚层包围的囊腔称为_____，此时的胚胎还有一个_____腔。
16. 近日，荷兰科研人员利用小鼠胚胎干细胞，在培养皿中造出了类似于早期胚胎的结构——“类胚胎”。请回答下列相关问题：
- (1) 胚胎干细胞在形态上具有_____的特点，其可以取自囊胚的_____细胞，也可取自_____。
 - (2) 取出的胚胎干细胞进行克隆化培养，其原理是_____，培养液中的营养除正常的有机和无机营养外，还需加入_____等一些天然成分。
 - (3) 培养干细胞过程中会出现_____现象，而癌细胞不会出现该现象。为防止代谢产物积累，需_____。
 - (4) 若获得的“类胚胎”就是早期胚胎，得到的这些胚胎一般进行_____处理。
17. 哺乳动物胚胎干细胞（简称或细胞）的成功分离和培养是胚胎工程中的重大成就之一，在基础生物学、畜牧学和医学上都具有十分重要的应用价值。请回答下列有关问题：
- (1) 哺乳动物的胚胎干细胞，是从_____中分离出来的一类细胞，在功能上具有_____，在_____因子的作用下，可使其分化为心脏组织等不同类型的组织细胞。
 - (2) 在体外对胚胎干细胞进行的初次培养称为_____。培养过程中，当贴壁细胞分裂生长到细胞表面相互接触时，细胞会停止分裂增殖，这种现象称为细胞的_____。若要继续培养，需要对贴满瓶壁的细胞用_____等处理，通常还要在培养液中添加一定量的_____，以防培养过程的污染。
 - (3) 哺乳动物细胞体外培养的适宜温度是_____℃，适宜 pH 是_____。



1. 排卵是指卵子从____中排出的过程,排出的卵子一般发育到____(填时期)才能和获能的精子结合。
2. 孵化指的是_____。
3. 胚胎移植的实质是_____。
4. 常选用卵母细胞作为核移植受体细胞的原因是_____。
5. 正常情况下,哺乳动物的受精过程主要包括:_____,进入卵细胞膜,原核形成和融合。
6. 哺乳动物的体外受精主要包括_____,_____等几个主要步骤。
7. 在体外受精前,要对精子进行获能处理。通常采用的体外获能方法有培养法和_____。
8. 精子和卵子在体外受精以后,应将受精卵移入_____中继续培养。
9. 刚排出的卵____(填“是”或“不是”)成熟的卵子。在母体的子宫内不能得到受精卵的原因是_____。
10. 通过手术进行过程胚胎移植操作,应从_____(部位)将早期胚胎注入子宫,可提高胚胎的着床率。
11. 体细胞核移植的难度明显高于胚胎细胞核移植,其原因是_____。
12. 试管婴儿技术主要用到了胚胎工程中的_____技术和_____技术,同时还用到了细胞工程中的_____技术。
13. 试管婴儿技术给众多因身体原因而不能自然受孕的家庭带来了福音。培育试管婴儿首要做的是体外受精和早期胚胎的培养。回答下列问题:
 - (1) 输卵管阻塞患者并不能正常生育的原因是_____。
 - (2) 一般需对做试管婴儿的女性注射_____激素,使其排出更多的卵子。
 - (3) 获能的精子和培育成熟的卵子,一般情况下,可以在_____或_____中完成受精作用。
 - (4) 当获能的精子与卵子相遇时,首先发生_____反应,引起相关酶的释放该酶能溶解_____之间的物质。受精时防止多精入卵的生理反应有_____。
 - (5) 培育早期胚胎时,需用的培养液成分比较复杂,除了一些无机盐和有机盐类外,还需要添加维生素、激素、氨基酸、核苷酸等营养成分,以及血清等物质。人的体外受精胚胎,即试管胚胎,可在_____个细胞阶段移植。
 - (6) 用某染料鉴定胚胎细胞是否为活细胞时,发现活的胚胎细胞不能被染色,其原因是_____。
14. 2017年10月,中国科学院动物研究所干细胞与生殖生物学国家重点实验室的科学家们,利用CRISPR—Cas9基

因编辑技术创造出了12只健康猪,其体脂肪比普通猪低约24%。低脂肪的动物有一个基因能通过燃烧脂肪控制体温,创造出的低脂肪猪将能节省养殖户的大量保温费用,减少寒冷冬季造成的损失。请回答下列问题:

- (1) 科学家将小鼠调节体温的基因UPC1成功地编辑到缺乏调节体温基因的猪体内。猪所产生的变异属于_____。
- (2) 为了能获得更多的猪卵(母)细胞,在取卵(母)细胞前,通常需要注射_____来促进排卵。注射的该物质是由猪的_____(器官)分泌的。
- (3) 判断卵细胞在体外是否受精的标志是_____。
- (4) 在获得的早期胚胎移植到胚胎受体前,需要对胚胎受体进行_____处理。对暂时不移植的早期胚胎,可采用_____法进行保存。
- (5) 胚胎移植的实质是_____。
- (6) 创造出12只健康猪的过程,运用到的胚胎工程技术有_____(答两种即可)。

15. 回答下列问题:

- (1) 人体组织内的A物质是一种重要的药用蛋白质,可以通过基因工程从母羊的乳汁中获得。获取A基因和载体用_____切割后,通过DNA连接酶连接,以构建重组表达载体。将其导入母羊受精卵常用的方法是_____。检测目的基因是否插入到受体细胞DNA上,可采取_____技术。
- (2) 在胚胎工程的应用中,为获取更多的卵(母)细胞,要对供体动物注射_____,使其超数排卵。从良种的雄性个体采集的精子需要_____后才能进行受精作用。体外受精可以在_____或者专用受精溶液中完成受精。
- (3) 一般当早期胚胎发育到_____阶段时,将胚胎移入受体(代孕)个体子宫内断续发育。移植后的胚胎在受体子宫内存活,其生理基础是_____。
- (4) 蛋白质工程是以蛋白质分子的空间结构规律及其与生物功能的关系作为基础,通过_____,对现有蛋白质进行改造,或制造一种新的蛋白质,以满足人类的生产和生活需求。
- (5) 我国西北土地沙化和盐渍化非常严重,原因有多种,其中一个主要原因是超载放牧导致草地退化。试分析上述事实主要违背了生态工程的_____原理。

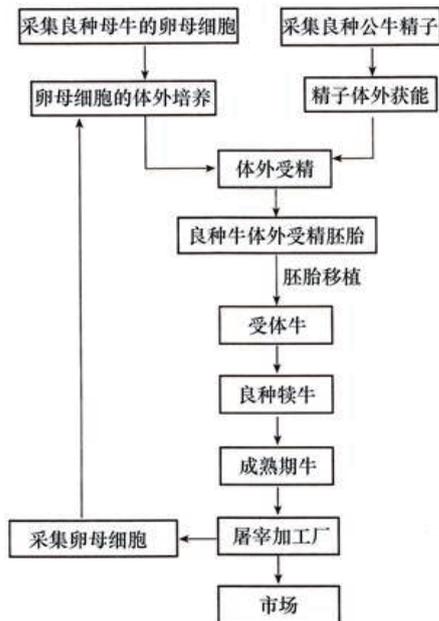


1. 重组 Ti 质粒载体结构中 T-DNA 的作用是_____。
2. 将供体细胞注入去核的卵母细胞后，一般通过_____ (填物理方法) 激活受体细胞, 使其完成细胞分裂和发育进程。
3. 一般来说, 生态工程的主要任务是对_____ 生态环境进行修复, 对造成环境污染和破坏的生产方式进行改善, 并提高生态系统的生产力。与传统的工程相比具有少消耗、多效益、_____ 等特点。
4. 请回答有关受精作用的问题:
 - (1) 在自然条件下, 受精是在雌性的_____ 内完成的。
 - (2) 刚刚排出的精子, 不能立即与卵子受精, 必须在雌性动物_____ 中发生相应的生理变化后, 才能获得受精能力, 这一生理现象称为_____。
 - (3) 动物排出的卵子成熟程度不同, 它们都要在_____ 内进一步成熟, 当达到_____ 时, 才具备与精子受精的能力。
 - (4) 哺乳动物的受精过程主要包括: 精子穿越_____ 和_____ , 进入_____ , _____ 形成和融合过程。
 - (5) 获能后的精子与卵子相遇时, 首先发生_____ 反应, 是其中的酶释放出来, 精子所释放的_____ 可直接溶解_____ , 形成精子穿越_____ 的通路。
 - (6) 精子与_____ 接触, _____ 将_____ 溶出一条孔道, 精子借自身运动穿越_____ , 并接触_____ 。在精子触及_____ 的瞬间, 会产生阻止后来的精子进入_____ 的生理反应, 这个反应称做_____ , 它是防止多精入卵的第一道屏障。
 - (7) 精子入卵后, _____ 会立即发生一种生理反应, 拒绝其他精子再进入卵内, 这种生理反应称为_____ 反应。这是防止多精入卵的第二道屏障。
 - (8) 精子入卵后, 尾部脱离, 原有的核膜破裂, 形成一个新的核膜, 最后形成一个比原来精子核还大的核, 叫做_____。与此同时, 精子入卵后被激活的卵子完成_____ , 排出_____ 后, 形成_____。
5. 一对名为露露和娜娜的“基因编辑婴儿”的诞生引发了国内巨大的争议, “基因编辑婴儿”指通过基因编辑技术修改人体胚胎、精子或卵细胞的细胞核中的 DNA 后生下的婴儿。这对双胞胎的 CCR5 基因经过了修改, 是世界首例免疫艾滋病的“基因编辑婴儿”。请回答下列相关问题:
 - (1) 露露与娜娜实质是试管婴儿, 获能的精子和成熟的卵子, 一般情况下可以在_____ (填物质) 中完成受精, 然后放入早期胚胎培养液中培养, 该培养液除添加一些无机盐和有机盐类外, 还需添加_____、激素、氨基酸、核苷酸等营养成分, 以及_____ 等物质。
 - (2) 这对胚胎培养至_____ 期便可移植到母体中, 而她们能够在母体中正常发育的生理基础是_____。

- _____。若科学家想在早期胚胎时就知道露露的性别, 可通过_____ 来实现。
 - (3) 据报道, 科学家当时获得了多个这样的胚胎, 其余胚胎的处理方式最可能为_____。
 - (4) 请从 DNA 角度分析“基因治疗”与“基因编辑婴儿”的区别: _____。
6. 请根据所学知识, 回答下列问题。
 - (1) 启动子的作用是_____。
 - (2) 若在“胰岛素羊”(已知重组 DNA 已进放细胞) 乳汁中检测到胰岛素, 其乳腺细胞分泌的胰岛素与转基因“胰岛素细菌”产生的胰岛素相比所具有的优点_____。
 - (3) 体外受精时, 精子首先要进行获能处理, 通常采用的体外获能方法有_____ 和_____ 两种。
 - (4) 构建重组细胞后, 经培养形成胚胎干细胞, 胚胎干细胞在_____ 上或者在添加抑制因子的培养液中能维持不分化状态。在培养液中加入_____ , 就可以诱导胚胎干细胞向不同类型的组织细胞分化, 使其形成特定的器官。
 - (5) 体外基因治疗与一般的异体移植相比最大的优点的_____。
 7. 请回答胚胎工程方面的问题:
 - (1) 应用胚胎工程技术可以培育出“试管牛”。试管牛的培育需经过体外受精、_____、_____ 以及在母体中发育和产出等过程。
 - (2) 在“试管牛”的培育过程中, 要使精子和卵母细胞在体外成功结合, 需要对精子进行_____ 处理。另外, 培养的卵母细胞需要发育至_____ 期, 该时期在显微镜下可观察到次级卵母细胞和_____。
 - (3) 通常奶牛每次排出一枚卵母细胞, 利用_____ 激素处理可使其一次排出多枚卵母细胞, 从而获得多枚胚胎。再通过胚胎移植及胚胎分割可大大提升供体的繁育能力。进行胚胎分割时, 一般采用发育良好、形态正常的_____。对胚胎进行分割时, 要特别注意将_____ 均等分割, 否则会影响分割后的胚胎恢复和进一步发育。
 - (4) 胚胎干细胞可以分化为成年动物体内任何一种组织细胞, 因此具有极高的应用价值。通常胚胎干细胞可以从_____ 或_____ 中分离得到。



- 体外培养“万能细胞”需要配制营养液，通常要在合成培养基中添加_____等一些天然成分。当贴壁细胞分裂生长到表面相互接触时，细胞就停止分裂增殖这种现象叫_____。通常将多孔的中空薄壁小玻璃珠放入培养瓶中，目的是_____。
- “DNA 探针”是指用_____。
- 将外源基因导入小鼠受精卵后，外源基因会随机插入到小鼠受精卵 DNA 中。这种受精卵有的可发育成转基因小鼠，有的却死亡。请分析：因外源基因的插入导致受精卵死亡的最可能原因_____。
- 生态工程所遵循的基本原理：_____。
- 请根据下图，回答有关体外受精和早期胚胎发育的问题：



- 试管动物技术是指通过人工操作使_____在体外条件下成熟和_____,并通过培养发育成_____后,再经_____产生后代的技术。
- 对于实验动物,采集卵母细胞的方法,即用_____进行处理,使其_____,然后从_____中冲取卵子,_____(能/不能)直接与获能的精子在体外受精。
- 对于大型家畜或大型动物,采用卵母细胞的方法是从屠宰场母畜的_____中采集卵母细胞,也可以借助_____,_____或_____等工具从活体动物的_____中吸取卵母细胞。采集的卵母细胞需要在体外培养到_____才能与获能的精子受精。
- 收集精子的方法有_____,_____和_____等。其中_____是采用仿生学的方法,使用假台畜时,要训

练被采集动物_____;_____不需要任何设备,适用于体型较_____,易于控制的家畜;_____是将动物_____后,用特制的电极伸入动物的直肠,刺激相应的神经,引起射精。

- 在体外受精前,要对精子进行_____处理。对于_____,_____和猪等动物的精子,一般采用_____法,即将取自附睾的精子,放入人工配置的_____中培养一段时间;对于_____等家畜的精子采用_____法,即将精子放入_____或_____中诱导精子获能。
- 获能的精子和培养成熟的卵子,一般情况下都可以在_____或_____中共同培养一段时间,完成受精过程。
- 精子与卵子体外受精后,应将受精卵移入_____中继续培养,该溶液的成分有无机盐、有机盐、氨基酸、核苷酸、_____,_____,以及动物_____等物质。
- 当胚胎发育到适宜的阶段时,可将胚胎向受体移植,或_____。不同动物胚胎移植的时间不同,例如,牛、羊一般要培养到_____或_____阶段才能移植,人的体外胚胎可以在_____阶段移植。

6.请回答下列有关胚胎分割的问题:

- 胚胎分割是指采用_____方法将_____切割成2等份、4等份、8等份等,经移植获得_____或_____的技术。来自同一胚胎的后代具有_____的遗传物质,可以看做动物的_____或_____。
- 所需要的主要仪器设备为_____和_____。
- 胚胎分割时应选择发育良好,形态正常的_____或_____。
- 对囊胚阶段的胚胎分割时要将_____均等分割,否则会影响分割后胚胎的恢复和进一步发育。还可取囊胚阶段的_____细胞做DNA分析性别鉴定。

高中生物实验知识点

观察类实验

1. 观察 DNA 和 RNA 在细胞中的分布

(1) 目的：初步掌握观察 DNA、RNA 分布的方法

(2) 原理：

① _____ 和 _____ 两种染色剂对 DNA、RNA 的亲合力不同

② _____ 使 DNA 呈 _____ 色，_____ 使 RNA 呈 _____ 色

③ 盐酸的作用有两点，分别是：

a. _____ ；

b. _____ 。

(3) 步骤：制片→_____→冲洗（_____流）→染色。

(4) 观察：

① 低倍镜：选择 _____ 的区域。

② 高倍镜：调节观察

(5) 结论：DNA 主要分布于 _____ 中，RNA 主要分布于 _____ 中。

2. 用高倍镜观察叶绿体和线粒体

(1) 目的：观察叶绿体和线粒体的 _____。

(2) 原理：_____ 将 _____ 细胞中的线粒体染成 _____ 色，而细胞质接近无色

(3) 步骤：

① 叶绿体：直接使用 _____ 叶片（或取菠菜叶略带些 _____ 的下表皮），清水。

② 线粒体：口腔上皮细胞，健那绿染液（用 _____ 溶液溶解），材料也可使用紫色洋葱鳞片叶的 _____ 表皮。

3. 观察根尖细胞有丝分裂

(1) 目的：制作洋葱根尖细胞有丝分裂装片，观察有丝分裂过程，识别有丝分裂的不同时期，比较细胞周期不同时期的时间长短。

(2) 原理：

① 有丝分裂常见于根尖、芽尖等 _____ 区细胞。

② 染色体容易被 _____ 染料着色。

(3) 步骤

① 培养洋葱至根长 5cm，剪取根尖 _____（长度）。

② 解离：_____ 和 _____（1：1）混合，目的是 _____。

③ _____：用 _____，目的是 _____。

④ _____：使用 _____ 或 _____ 等 _____ 性染料使染色体着色。

⑤ 制片：用镊子尖把根尖弄碎，再压片。

⑥ 观察：找到 _____ 区细胞，细胞特点：细胞呈 _____。

探究实验类

1. 探究植物细胞的吸水和失水（观察质壁分离）

(1) 提出问题：植物细胞在什么情况下会失水？

(2) 作出假设：_____ 相当于一层半透膜。

(3) 设计实验：将植物细胞先后浸在蔗糖溶液和清水中，

观察其大小的变化。

(4) 进行实验：全程使用 _____ 镜，观察洋葱鳞片叶外表皮细胞中紫色中央液泡大小及 _____ 位置。

注意：选材可以使用绿色植物的叶肉细胞吗？ _____。

(5) 分析结果，得出结论：_____ 相当于一层半透膜。

(6) 表达与交流

进一步探究：植物细胞会由于过多吸水而涨破吗？ _____。

2. 探究影响酶活性的条件

(1) 设计实验：探究温度对酶活性的影响

① 自变量：_____。

② 底物和酶：_____ 和 _____。

注意：将底物和酶一定分开保温后混合。

③ 检测结果试剂：_____。

(2) 探究 pH 对酶活性的影响：

① 自变量：_____。

② 底物和酶：_____ 和 _____。

③ 检测结果：_____。

3. 探究酵母菌细胞呼吸的方式

(1) 配置酵母菌培养液：酵母菌、_____。

(2) 对比实验：

① 有氧呼吸装置：空气→ _____ →酵母菌培养液→澄清石灰水（或 _____）。

② 无氧呼吸装置：酵母菌培养液→澄清石灰水（或同上）。

(3) 实验结果：

① 有氧呼吸产生 CO_2 多，澄清石灰水浑浊程度 _____（或 _____）。

② 无氧呼吸产物还有 _____，可用 _____ 检测，颜色变化为：_____。

4. 探究环境因素对光合作用强度的影响

(1) 自变量：光照强度：通过改变台灯与实验装置的 _____。

(2) 用注射器抽出小圆形叶片内的气体，清水中，叶片将 _____（上浮 / 沉底）。

(3) 三只烧杯中分别倒入 20mL 富含 _____ 的清水（或使用 _____）。

(4) 因变量：观察单位时间内小圆形叶片 _____。

5. 探究自然选择对种群基因频率变化的影响

(1) 探究在自然选择过程中，直接选择的是个体的基因型还是表现型？ _____。

(2) 计算多年桦尺蠖种群基因型频率和基因频率。（进化的实质是：_____）。

(3) 基因型频率 = _____ / _____。

6. 探究生长素类似物促进插条生根的最适浓度

(1) 预实验：避免由于设计不周盲目开展实验而造成 _____。



(2) 生长素类似物: NAA, 2,4-D, IPA, IBA, 生根粉等

(3) 处理方法:

①浸泡法: 生长素类似物浓度__, 处理时间: _____, 环境条件: _____。

②沾蘸法: 生长素类似物浓度__, 处理时间: _____。

7. 探究调查某双子叶植物种群密度(样方法)

(1) _____植物多为丛生或蔓生, _____植物容易辨别个体数目。

(2) 样方大小: 一般为____的正方形为宜。

(3) 取样方法_____和_____, 取样要求: _____。

8. 探究培养液中酵母菌种群数量的变化(血细胞计数板)

(1) 不能对培养液中酵母菌_____计数, 采用_____法对微生物计数。

(2) 注意事项:

①先盖盖玻片, 吸取培养液滴在盖玻片边缘, 待培养液_____后, 多余培养液用滤纸吸去。

②稍待片刻, 待酵母菌细胞_____, 显微镜观察个数

9. 探究土壤中小动物丰富度

(1) 调查方法: _____。

(2) 统计方法: _____和_____, 前者适用于个体较大、种群数量有限。

(3) 步骤:

①制作取样器: 5cm 易拉罐, 容积 100mL。

②取样: 拨开落叶, _____表层土, 旋转按入, 花铲铲出。

③采集: 诱虫器。利用土壤小动物的生活习性: _____。

④收集: _____: 做标本, 保持小动物形态。

⑤_____ : 模拟土壤环境。

⑥观察: _____或普通显微镜 4~5 倍目镜。

10. 探究土壤微生物的分解作用

(1) 落叶是在土壤微生物的作用下腐烂的吗?

①自变量控制:

实验组: _____。 处理方法: _____。

对照组: _____。

②分别将等量分解程度相同落叶埋入土壤

(2) 探究土壤中微生物对淀粉的分解作用

①等量淀粉糊, 分别加_____和_____, 标 A、B 组。

②放置 7 天后, 各取每组分两组, 编号 A₁、A₂、B₁、B₂。

③A₁、B₁ 中加碘液, A₂、B₂ 中加_____, 观察溶液颜色变化。

一、调查类

1. 调查人群中的遗传病

(1) 最好选择调查群体中发病率____的____遗传病。

(2) 调查某遗传病遗传方式: 在_____中调查。

(3) 调查某遗传病发病率: 在_____中调查, 要求_____、_____。

(4) 某遗传病发病率 = _____。

2. 调查体温的日变化规律

(1) 完成家庭成员一日内体温变化调查表, 不超过____℃。

(2) 体温变化与当地实际体温日变化情况、变化趋势____, 温差_____。

经典实验

1. 光合作用探究历程

(1) 1771 年英国·普利斯特利: _____。

(2) 1779 年荷兰·英格豪斯: 普利斯特利的实验只在下成功, 植物体只有_____更新空气

(3) 1845 年德国·梅耶: 植物光合作用时, 把____能转化为____能储存起来。

(4) 1869 年德国·萨克斯: 证明光合作用产物除了氧气, 还有_____。

①_____处理叶片, 目的是消耗_____。

②自变量控制: 叶片_____。

③因变量控制: 用_____处理叶片。

(5) 1880 年德国·恩格尔曼: 水绵(单细胞绿藻, _____植物)和_____作材料, 用_____的光束和完全暴露在光下对照实验, 证明光合作用场所是_____。

(6) 1941 年美国·鲁宾和卡门: 证明光合作用释放的氧气来自于____, 实验方法_____。

(7) 1947 年美国·卡尔文: 探明 CO₂ 中的 C 在光合作用中转化成有机碳的途径, 实验方法_____。

2. DNA 是主要的遗传物质(总结)

(1) 1928 年格里菲斯: 肺炎双球菌的体内转化实验: 结论: _____。

(2) 1944 年艾弗里: 肺炎双球菌的体内转化实验: 实验思路: _____, 结论: _____。

(3) 1952 年赫尔希和蔡斯: 肺炎双球菌转化实验: 实验思路: _____, 研究方法: _____, 结论: _____。

(4) 烟草花叶病毒实验证明: _____是遗传物质。

(5) 总结: 因为绝大多数生物的遗传物质是____, 所以说 DNA 是主要的遗传物质。

3. 植物生长素的发现

(1) 19 世纪末达尔文: 向光性产生是由于胚芽鞘_____受_____光照射, 产生某种影响。

(2) 1910 年鲍森·詹森: 这种影响可以透过_____传递给下部。

(3) 1914 年拜耳: 胚芽鞘弯曲生长, 是由于这种影响在



其下部_____造成的。

- (4) 1928年温特：证明胚芽鞘弯曲生长是_____引起的，并起名为_____。
- (5) 1931年科学家从_____中分离出生长素，成分是_____。

三、颜色反应

- (1) 还原糖 + _____ 试剂，条件 _____，颜色蓝色变成_____。
- (2) 脂肪 + _____ 试剂，颜色 _____，若用显微镜观察，染色后需要 _____ 洗去浮色。
- (3) 蛋白质 + _____ 试剂，颜色由 _____ 变成_____。
- (4) 淀粉 + _____，颜色_____。
- (5) 检测细胞死活：_____ + 待测材料：死细胞 _____，活细胞_____。
- (6) 线粒体 + _____，颜色_____。
- (7) CO₂ + _____，颜色_____。
- (8) 酒精 + _____，颜色变为 _____ 色。
- (9) 染色体 + _____ 染料（ _____、 _____、 _____）。
- (10) 亚硝酸盐：在 _____ 条件下， _____ 与 _____ 发生 _____，与 N-1-萘基乙二胺盐酸盐结合形成 _____ 色染料。（检测方法： _____ 法）
- (11) 纤维素 + _____ 形成 _____。

四、同位素标记法：

1. 分泌蛋白的合成与运输

- (1) 豚鼠胰腺腺泡上皮细胞中注射 ³H 标记的 _____。
- (2) 分泌过程：有核糖体的 _____ → _____ → 囊泡箭头 _____。

2. 证明光合作用释放的 O₂ 来自于水。用 ¹⁸O 分别标记 H₂O 和 CO₂，对比实验。

3. 卡尔文循环：用 _____ 标记，供给小球藻（单细胞绿藻， _____ 植物）进行光合作用。

4. 赫尔希和蔡斯

- (1) 用 _____ 和 _____ 分别标记噬菌体的 _____ 和 _____。
- (2) 标记噬菌体共分两步： _____
_____。
- (3) 搅拌的目的 _____。
- (4) 离心的目的 _____。

五、荧光标记法

1. 证明细胞膜具有流动性

绿色 _____ 染料标记小鼠细胞膜的 _____，红色荧光染料标记人细胞膜的 _____，将人、鼠细胞融合，37℃培养 40min，荧光 _____。

2. 细胞衰老学说— _____ 学说

染色体为红色，黄色荧光显示染色体 _____ 端的端粒。

3. 基因定位在染色体上

用特定的分子与染色体上某一基因结合，这个分子又能

被 _____ 标记的物质识别，通过荧光显示，基因在染色体上呈 _____。

六、其他实验

1. 绿叶中色素的提取和分离

- (1) 原理：提取原理： _____。
分离原理： _____。
- (2) 试剂：
SiO₂： _____。
CaCO₃： _____。
无水乙醇： _____。
- (3) 色素在滤纸上位置及颜色：胡萝卜素： _____、叶黄素 _____、叶绿素 a： _____、叶绿素 b： _____。

2. 低温诱导染色体数目的变化

- (1) 原理：低温处理植物分生区细胞，能够 _____。
- (2) 试剂：
- (3) 卡诺氏液：作用： _____；使用后用 _____ 漂洗卡诺氏液，洗 _____ 次。
_____；作用：使染色体着色。
- (4) 流程：洋葱生根 → 生根后将整个装置（活）放入 4℃ 冰箱诱导 36h → 剪取根尖 → 卡诺氏液 → 漂洗 → _____ → _____ → _____ → 先低倍镜观察，再高倍镜观察。

3. 体验制备细胞膜的方法

- (1) 选材： _____，原因： _____。
- (2) 红细胞稀释液：血液加适量的 _____。
- (3) 高倍镜下观察，盖玻片一侧滴一滴蒸馏水，同时在另一侧用吸水纸小心吸引。上述操作均在 _____ 上进行，并持续观察细胞的变化：细胞凹陷 _____，体积 _____，很快细胞 _____，内容物流出。
- (4) 若上述实验在试管中进行，细胞破裂后，需要用 _____ 方法获得较纯净的细胞膜？ _____。

高频概念总结

- 必需氨基酸**: 人体细胞不能合成的, 必需从外界环境直接获取的氨基酸。
- 酶**: 是活细胞产生的具有催化作用的有机物。
- 酶活力**: 酶对化学反应的催化效率。
- 细胞呼吸**: 指有机物在细胞内经过一系列的氧化分解, 生成二氧化碳或其他产物, 释放出能量并生成 ATP 的过程。
- 活化能**: 分子从常态转变为容易发生化学反应的活跃状态所需要的能量。
- 细胞周期**: 指连续分裂的细胞从一次分裂完成时开始, 到下一次分裂完成时为止时经历的过程。
- 有丝分裂的意义**: 将亲代细胞的染色体经过复制, 精确的平均分配到两个子细胞中。在亲代和子代之间保持了遗传性状的稳定性。
- 细胞分化**: 在个体发育过程中, 由一个或一种细胞增殖产生的后代, 在形态、结构和功能上发生稳定性差异的过程。
- 细胞凋亡**: 由基因决定的细胞自动结束生命的过程。
- 干细胞**: 动物和人体内具有分裂和分化能力的细胞。
- 细胞的全能性**: 指已经分化的细胞, 仍然具有发育成完整个体的潜能。
- 原癌基因作用**: 调节细胞周期, 控制细胞生长和分裂进程。
- 抑癌基因作用**: 阻止细胞不正常的增殖。
- 减数分裂**: 指进行有性生殖的生物, 在产生成熟生殖细胞时进行的染色体数目减半的细胞分裂。
- 基因**: 具有遗传效应的 DNA 片段
- 同源染色体**: 形态大小一般相同, 一条来自父方, 一条来自母方的两条染色体。
- 联会**: 同源染色体两两配对的现象。
- 四分体**: 联会后的含有四条染色单体的同源染色体。
- 受精作用**: 指卵细胞和精子相互识别、融合成为受精卵的过程。
- 多倍体**: 由受精卵发育而来, 体细胞内含有三个或三个以上染色体组的个体。
- 单倍体**: 体细胞中含有本物种配子染色体数目的个体。
- 染色体组**: 形态和功能各不相同, 但又相互协调, 共同控制生物体生长、发育、遗传和变异的一组非同源染色体。
- 密码子**: mRNA 上, 决定一个氨基酸的三个相邻碱基。
- 基因突变**: 由于 DNA 分子中发生碱基对的替换、增添或缺失, 而引起基因结构的改变。
- 基因重组**: 指在生物体进行有性生殖的过程中, 控制不同性状的基因的重新组合。
- 基因工程**: 把一种生物的某种基因提取出来, 加以修饰改造, 然后放到另一种生物的细胞里, 从而定向地改造生物的遗传性状。
- 质粒**: 指拟核以外能够自主复制的很小的环状 DNA 分子。
- 物种**: 自然状态下相互交配并且产生可育后代的一群生物。
- 基因库**: 一个种群中全部个体所含有的全部基因。
- 隔离**: 不同种群间的个体, 在自然条件下基因不能自由交流的现象。
- 共同进化**: 不同物种之间、生物与无机环境之间在相互影响中不断进化和发展。
- 内环境**: 由细胞外液构成的细胞直接生活的液体环境
- 稳态**: 正常机体通过调节作用, 使各个器官、系统协调活动, 共同维持内环境的成分和理化性质相对稳定的状态。
- 反射**: 在中枢神经系统的参与下, 动物体或人体对内外环境变化做出的规律性应答。
- 兴奋**: 动物体或人体内的某些组织 (如神经组织) 或细胞受到外界的刺激后, 由相对静止状态变为显著活跃状态的过程。
- 植物激素**: 由植物体内产生, 能从产生部位运送到作用部位, 对植物的生长发育有显著影响的微量有机物, 统称为植物激素。
- 植物生长调节剂**: 人工合成的对植物的生长发育具有调节作用的化学物质。
- 种群**: 生活在一定自然区域中的同种生物的全部个体。
- 种群密度**: 在单位空间 (面积或体积) 内某种群的个体数量。
- 年龄组成**: 种群中各个年龄期的个体数目比例。
- 环境容纳量**: 指在环境条件不受破坏的情况下, 一定空间中所能维持的种群最大数量。
- 群落**: 同一时间内聚集在一定区域中各种生物种群的集合。
- 演替**: 随着时间的推移, 一个群落被另一个群落代替的过程。
- 初生演替**: 在一个从来没有被植被覆盖的地方, 或者是原来存在过植被, 但被彻底消灭了的地方发生的演替。
- 次生演替**: 在原有植被虽已不存在, 但原有土壤条件基本保留, 甚至还保留了植物的种子或其他繁殖体的地方发生的演替。
- 生态系统**: 由生物群落与它的无机环境直接相互作用而形成的统一整体。
- 能量流动**: 生态系统中的能量的输入、传递、转化和散失的过程。
- 物质循环**: 组成生物体的元素不断进行的从无机环境到生物群落, 又从生物群落到无机环境的循环过程。
- 生态系统的稳定性**: 生态系统所具有的保持或恢复自身结构和功能相对稳定的能力。
- 反馈调节**: 指在一个系统中, 系统本身的工作效果, 反过来又作为信息调节该系统的工作的调节方式。