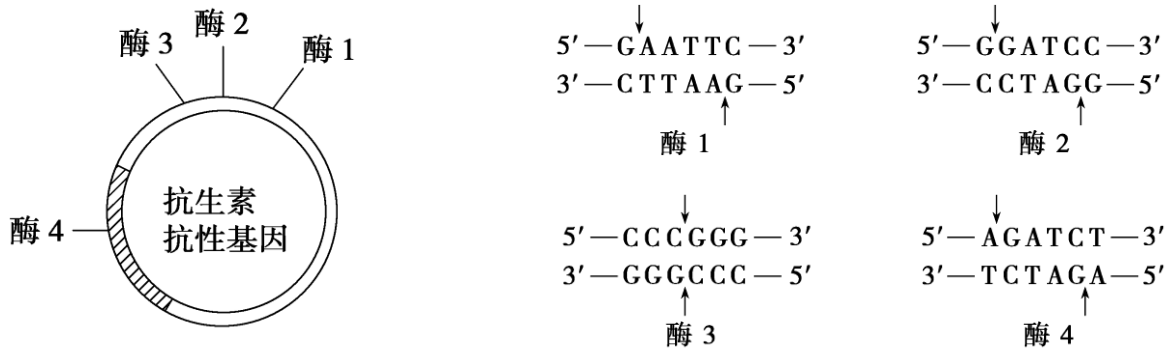


# 基因工程强化练

1. 以菜花为材料提取 DNA 时，需将材料进行研磨，研磨液的成分常含有 SDS(蛋白质变性剂)、EDTA(DNA 酶抑制剂，稳定 DNA 活性)、Tris(缓冲剂)。下列有关叙述错误的是( )

- A. 若选择鸡血细胞为材料，则省去了研磨过程
- B. SDS 可以使蛋白质变性，便于 DNA 与蛋白质分离
- C. EDTA 可以防止 DNA 水解成核糖核苷酸
- D. Tris 可以调节溶液中的 pH

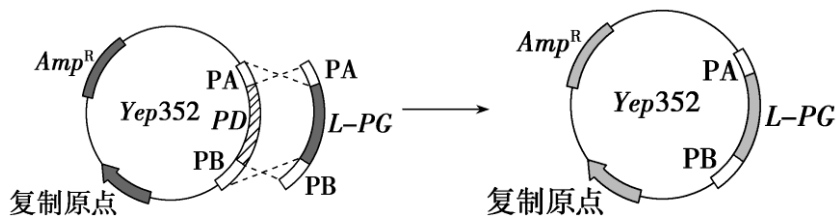
2. (2023 新课标卷)某同学拟用限制酶(酶 1、酶 2、酶 3 和酶 4)、DNA 连接酶为工具，将目的基因(两端含相应限制酶的识别序列和切割位点)和质粒进行切割、连接，以构建重组表达载体。限制酶的切割位点如图所示。



下列重组表达载体构建方案合理且效率最高的是( )

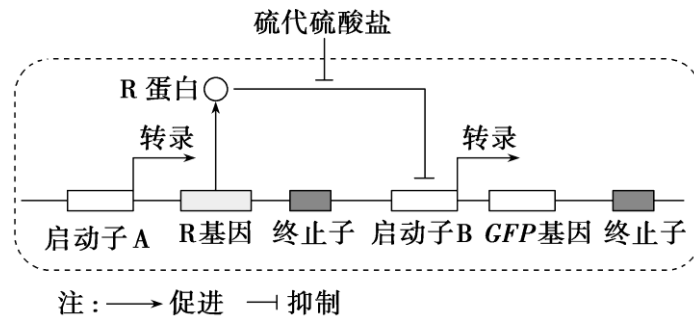
- A. 质粒和目的基因都用酶 3 切割，用 *E.coli* DNA 连接酶连接
- B. 质粒用酶 3 切割、目的基因用酶 1 切割，用 T4 DNA 连接酶连接
- C. 质粒和目的基因都用酶 1 和酶 2 切割，用 T4 DNA 连接酶连接
- D. 质粒和目的基因都用酶 2 和酶 4 切割，用 *E.coli* DNA 连接酶连接

3. 乳酸乙酯是白酒中重要的呈香物质，由乳酸脱氢酶催化产生，影响白酒品质和风格。科研人员将酿酒酵母质粒上的丙酮酸脱氢酶基因(PD)替换为植物乳杆菌中的乳酸脱氢酶基因(L-PG)，可获得乳酸乙酯高产菌株，该过程如图所示。下列说法不正确的是( )



- A. 可借助序列数据库等查询 L-PG 基因的序列和功能
- B. 可以利用 PCR 技术筛选导入了 L-PG 基因的受体细胞
- C. 酵母菌 PD 基因被替换为 L-PG 基因的过程中发生了基因重组
- D. 电泳鉴定 L-PG 基因时，当观察到核酸染料迁移至凝胶边缘时，停止电泳

4. (2023 山东青岛三模)炎症性肠病(IBD)是一种易导致结肠癌的慢性疾病,患者肠道内会产生硫代硫酸盐。科研人员以小鼠为研究对象,建立了如图所示的炎症性肠病检测模型, *GFP* 基因是绿色荧光蛋白基因。

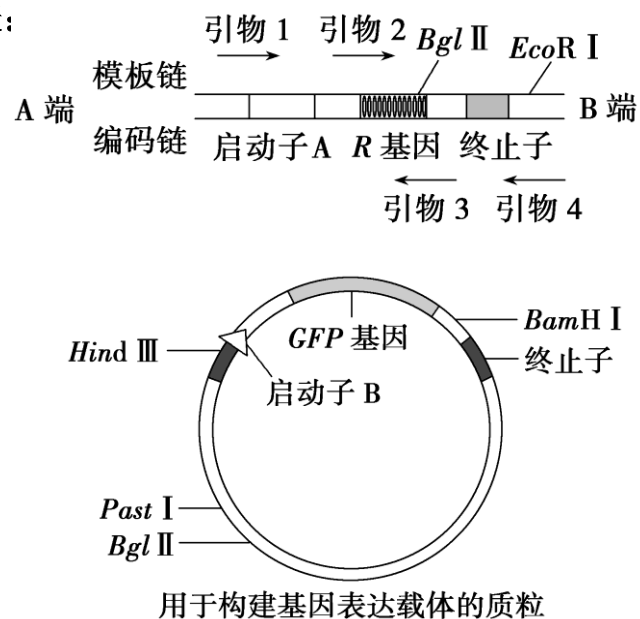


(1)据图分析,可以通过检测荧光强弱来判定小鼠肠道内硫代硫酸盐的浓度,其原因是\_\_\_\_\_。

(2)研究者利用基因工程技术构建含硫代硫酸盐检测传感器的大肠杆菌工程菌,通过 PCR 扩增 *R* 基因时应该选择的引物是\_\_\_\_\_,在 A、B 两端引物的 5'端需添加的限制酶识别序列为\_\_\_\_\_和\_\_\_\_\_。

限制酶识别序列和酶切位点如表:

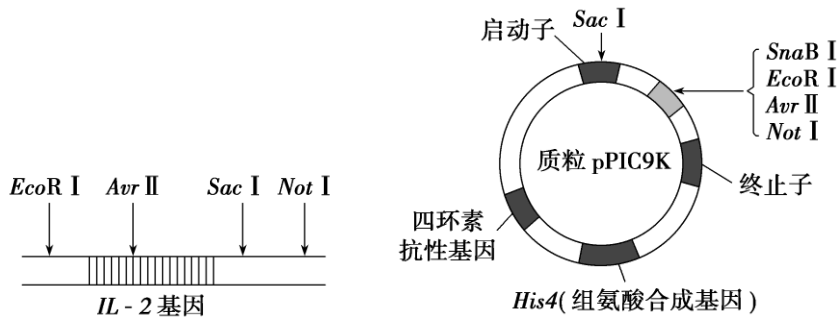
限制酶	识别序列 (5'→3')
<i>Hind</i> III	A ↓ AGCTT
<i>Bam</i> H I	G ↓ GATCC
<i>Past</i> I	C ↓ TGCAG
<i>Eco</i> R I	G ↓ AATTC
<i>Bgl</i> II	A ↓ GATCT



(3)研究发现患者肠道内硫代硫酸盐的生成量与疾病严重程度呈正相关。为简化疾病诊断和精确用药,科研人员开发了智能工程菌。科研人员将抗炎蛋白基因与硫代硫酸盐特异性诱导激活的启动子 P 连接,构建出如图所示表达载体(部分片段),导入用\_\_\_\_\_处理的大肠杆菌细胞内,选用启动子 P 的优点是\_\_\_\_\_。



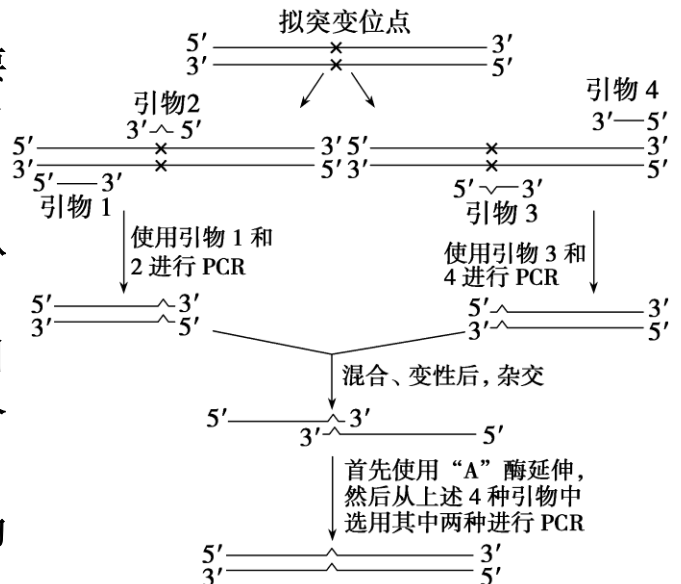
5. 白细胞介素 2(IL-2)参与移植排斥反应,是免疫调节因子,对机体的免疫应答和抗病毒感染等有重要作用。科研人员将含 *IL-2* 基因的 DNA 片段和质粒 pPIC9K(部分结构如图所示)构建成重组质粒,并导入酵母菌 GS115(组氨酸缺陷菌株)中,筛选到了能分泌 IL 2 的工程菌株。下列叙述错误的是( )



- A. 组氨酸合成基因可作为标记基因筛选导入重组质粒的酵母菌细胞
- B. 构建重组质粒时可选用 *Avr II* 和 *Not I* 切割目的基因和 pPIC9K 质粒
- C. 重组质粒导入酵母菌 GS115 前, 需要先用  $Ca^{2+}$  处理酵母菌 GS115 细胞
- D. 抑制 *IL-2* 基因的表达可在一定程度上减轻机体器官移植后的免疫排斥反应

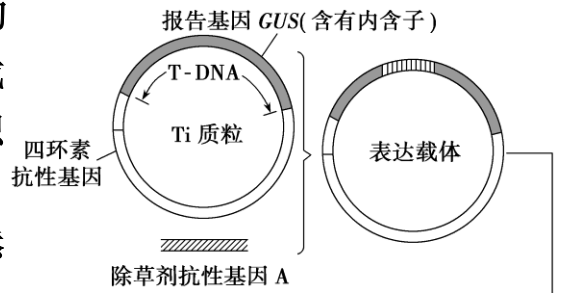
6. 基因定点突变的目的是通过定向地改变基因内一个或少数几个碱基来改变多肽链上一个或几个氨基酸。该技术是蛋白质工程的重要技术。如图为利用 PCR 技术进行定点突变的流程, 相关叙述错误的是( )

- A. 由于基因控制蛋白质的合成, 因此要对蛋白质的结构进行设计改造, 最终还必须通过改造或合成基因来完成
- B. 酶 A 应为耐高温的 DNA 聚合酶, 从 4 种引物中应该选择引物 1 和 4 进行 PCR
- C. 可以将引物 1、引物 2、引物 3 和引物 4 置于同一个反应系统中同时进行第一个阶段的反应, 进而缩短实验时间
- D. 利用图示流程技术可以将两个不同的基因拼接到一起



- 7. (多选) 红细胞生成素(EPO)是人体内促进红细胞生成的一种糖蛋白, 可用于治疗肾衰性贫血等疾病。由于天然 EPO 来源极为有限, 某科研团队采用基因工程培育转基因羊作为乳腺生物反应器, 使其能合成 EPO。下列有关叙述正确的是( )
  - A. 构建表达载体时需将 *EPO* 基因插入乳腺蛋白基因启动子的下游
  - B. 一般情况下, 该转基因羊中的 *EPO* 基因只在羊的乳腺细胞中表达
  - C. 用显微注射技术将含 *EPO* 基因的表达载体导入羊的乳腺细胞中可合成并提取 EPO
  - D. 用 PCR 扩增人 *EPO* 基因时, 需要一段已知的 *EPO* 基因核苷酸序列
8. (2023 天津模拟预测) 抗除草剂转基因作物的推广可有效减轻除草劳动强度、提高农业生产效率。图 1 为抗除草剂转基因玉米的技术流程。

(1)构建含除草剂抗性基因的表达载体,传统的方法是目的基因通过限制酶和\_\_\_\_\_酶与载体进行重组。载体上目的基因插入位点的限制酶识别序列\_\_\_\_\_(填“能”或“不能”)出现在目的基因内部,可通过\_\_\_\_\_技术在目的基因两侧添加相应限制酶识别序列,以便构建表达载体。



(2)为了减少限制酶识别序列的影响,科研人员研发了新的 DNA 重组方法:无缝克隆技术(图 2),其中 In Fusion 酶可以将任何具有相同 15 bp 末端序列的线性 DNA 分子进行连接,类似同源重组。

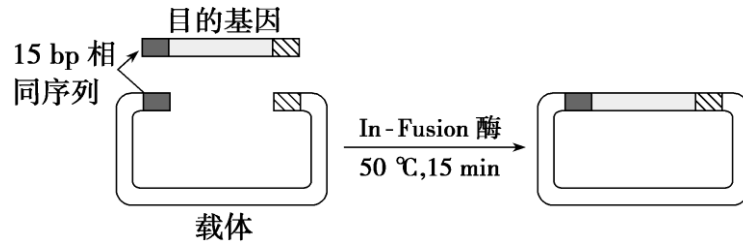
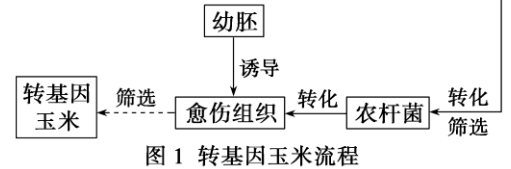


图 2

①科研人员希望应用以上方法构建含有 A 和 GUS 基因的重组 DNA 分子,首先获得了 3 种 DNA 分子如图 3,然后混合进行 In Fusion 反应。

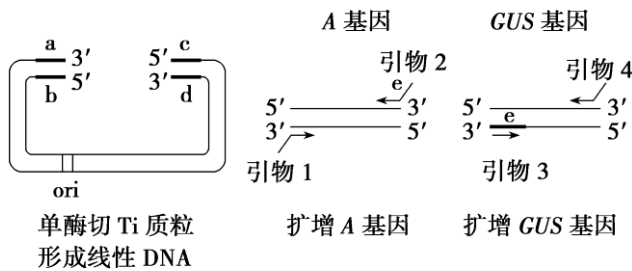


图 3 利用 In-Fusion 技术构建含 A 和 GUS 的表达载体

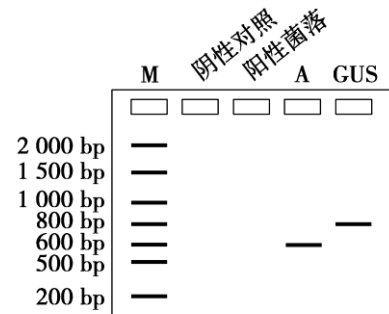


图 4 目标融合基因检测

如果引物 2 上额外添加的片段对应 GUS 基因中加粗的 e 片段,那么引物 1 和引物 4 上额外增加的片段分别对应载体中的片段\_\_\_\_\_。完成重组反应后,将重组表达载体加入经过\_\_\_\_\_处理的农杆菌中。

②为筛选成功转入重组 DNA 分子的菌落,可以选取引物\_\_\_\_\_扩增目的基因并电泳检测。请在图 4 中画出阳性菌落的电泳结果。

(3)农杆菌转化愈伤组织时,用含\_\_\_\_\_的选择培养基筛选转化的愈伤组织。转化过程中,愈伤组织表面常残留农杆菌,导致未转化愈伤组织(假阳性)也可能在选择培养基上生长。已知报告基因 GUS 表达产物能催化无色物质 K 呈现蓝色,则排除假阳性的原理是:报告基因 GUS 在\_\_\_\_\_细胞中表达,而在农杆菌中不表达,因此用无色物质 K 处理上述能正常生长的愈伤组织,假阳性的农杆菌\_\_\_\_\_(填“出现”或“不出现”)蓝色。