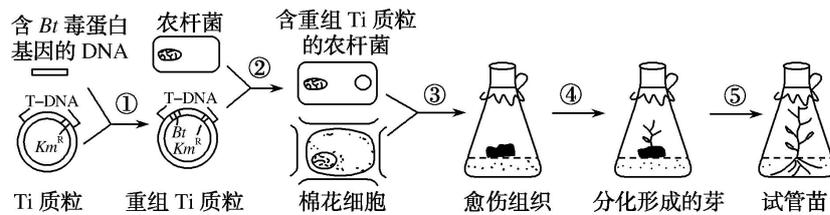


整合训练(十五) 基因工程和细胞工程

全员必做题

1. [2023·湖南衡阳校考三模]转基因抗虫棉的迅速推广普及,有效地控制了棉铃虫的危害。抗虫棉培育过程如下图所示:



注:质粒中“*Bt*”代表“*Bt*毒蛋白基因”,“*Km*”代表“卡那霉素抗性基因”

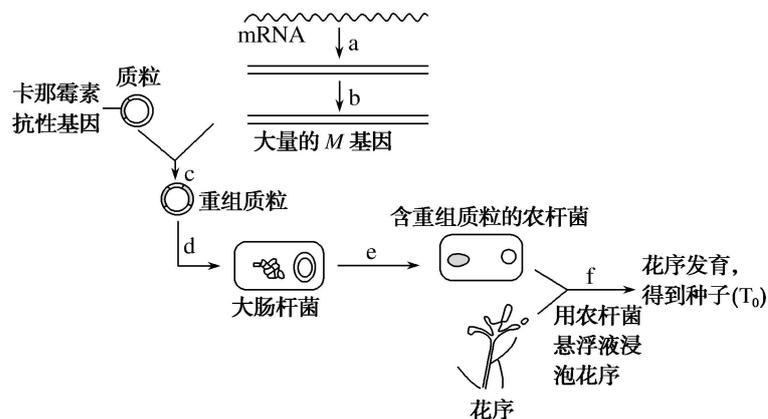
(1) 基因工程中的转化是指_____的过程。种植转基因抗虫棉可以大大减少_____的使用,以减轻环境污染。

(2) 体外快速扩增目的基因,常采用 PCR 技术,该技术的原理为_____。

(3) 卡那霉素抗性基因的作用是_____。

(4) 若要检测转基因棉花细胞中 *Bt* 毒蛋白基因是否转录出了 mRNA,可采用核酸分子杂交技术,用_____作探针;若要鉴定转基因棉花是否被赋予抗虫特性,需要做_____实验。

2. [2023·吉林白山统考一模]为探究 *M* 基因的功能,科研人员将克隆得到的 *M* 基因导入拟南芥植株(自交繁殖),流程如图所示。回答下列问题:



(1) 通过过程 a、b，依次采用_____来获得了大量的 *M* 基因，过程 b 中需先加热至 90~95 °C 然后冷却至 55~60 °C，冷却的目的是_____。

(2) 为获得转基因植物，采用_____法侵染拟南芥的花序，基本过程如下。

①过程 d：将重组质粒导入大肠杆菌，其目的是_____。

②过程 e：将重组质粒导入农杆菌，再将含有重组质粒的农杆菌离心、富集，得到含有 *M* 基因的农杆菌液。

③过程 f：在拟南芥植株产生大量花序时，将其花表面部分在农杆菌悬浮液中浸泡 20~30s，3~4 周后收获转化拟南芥植株的种子 (T_0)。浸泡之前，需先剪去已经长成的角果(这些角果将来可发育成种子)，原因是_____。

④将收获的拟南芥 T_0 种子，播种在含有_____的培养基上，能健康生长的幼苗含有_____。

3. [2023·陕西渭南统考模拟] 下图 1 为生产转基因抗虫棉时使用的质粒，图 2 为生产转基因抗虫棉时所用目的基因侧翼涉及的限制酶的酶切位点。请回答下列问题：

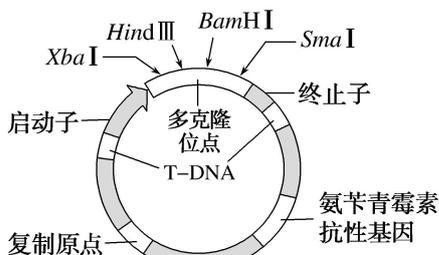


图1

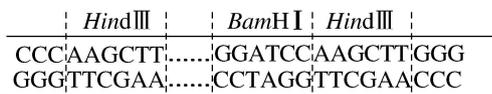


图2

(1) 为了高效地构建基因表达载体，最好选用_____ (填限制酶名称) 同时切割质粒和目的基因。

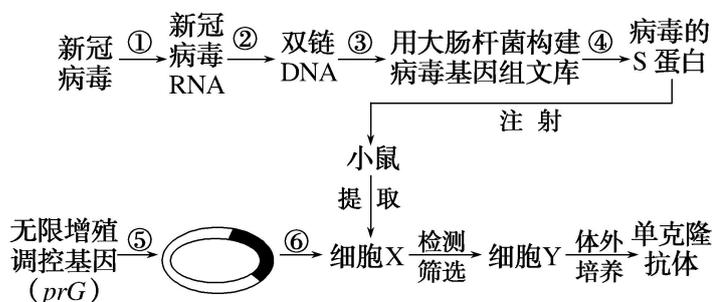
(2) 为了筛选出基因表达载体，需要将_____酶处理后的溶液与大肠杆菌混合在一起进行培养。为了促使大肠杆菌吸收外源 DNA，需要用_____处理大肠杆菌使其处于感受

态。随后再将大肠杆菌涂布在含_____的培养基中培养。

(3) 图示质粒在设计时插入了 T-DNA 序列, 并且将启动子、多克隆位点和终止子序列插入到 T-DNA 中(注: 插入不会破坏 T-DNA 的作用), T-DNA 的作用是_____, 启动子的作用是_____。

(4) 将目的基因导入植物细胞中常用_____法, 若要在个体水平上鉴定目的基因是否在棉花植株体内表达, 需要进行的操作是: _____。

4. [2023·青海海东市模拟预测] 研究发现, 新冠病毒外壳中的 S 蛋白是关键抗原, 可利用其制备单克隆抗体, 制备流程如下图。请回答有关问题:



(1) 单克隆抗体技术是建立在_____技术和_____技术的基础之上的。

(2) ③和⑤过程, 需要用到的工具酶是_____。

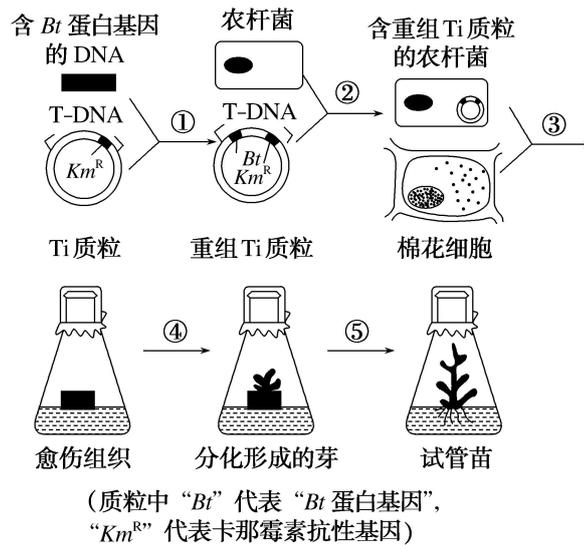
(3) 体外培养细胞 Y 时, 首先应保证其处于_____的环境, 其次还要适宜的温度、pH、营养和气体环境, 这里的气体环境是指_____。

(4) *prG* 能激发细胞不断分裂, 通过基因工程导入 *prG* 可制备单克隆抗体。受体细胞 X 是_____, 细胞 Y 具有_____的特点。

(5) 单克隆抗体可用于诊断人体是否携带新冠病毒, 其诊断原理是_____。

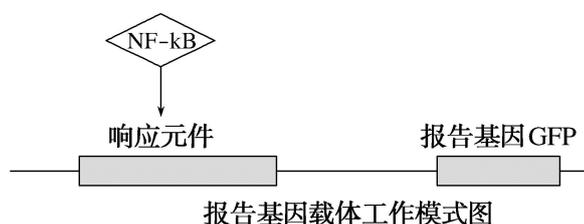
重点选做题

5. [2023·青海海东统考三模] 我国抗虫棉研究居国际领先水平, 具体操作是将苏云金杆菌的 *Bt* 蛋白基因导入棉花细胞中, 可获得抗棉铃虫的转基因棉花, 其操作过程如下图所示。回答下列问题:



- (1) 苏云金杆菌的 *Bt* 蛋白基因能够导入棉花细胞中并且能够表达，原因是_____。
- (2) 过程②的操作方法是_____，该方法利用了 T-DNA_____的特点。
- (3) 为了使目的基因的 DNA 片段更方便与 Ti 质粒连接，通常需要利用两种限制酶切割 *Bt* 蛋白基因和 Ti 质粒，主要目的是_____。
- (4) 过程②中，应优先选用棉花受伤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_____。
- (5) 导入了含重组 Ti 质粒的农杆菌的棉花细胞经过程③_____形成愈伤组织，该过程需要添加的植物激素是_____，③~⑤过程需要适当提供光照的是_____。

6. [2023·河南校联考模拟]细胞中 NF- κ B 蛋白的活性水平与肿瘤的发生发展密切相关。为了高效地筛选出以 NF- κ B 为靶点的抗肿瘤药物，利用基因工程构建 NF- κ B 的报告基因载体。具体原理为把已确定的 NF- κ B 基因的调控序列(响应元件)正确地剪切到报告基因 GFP(其表达产物荧光蛋白可被实时检测)上，使报告基因能与 NF- κ B 基因同步表达，其工作模式见下图。回答下列问题：



(1) 构建 pGL6-NF-kB-GFP 报告基因质粒时, 首先以 pcDNA3.1-Flag-GFP 质粒为模板, 利用 PCR 技术扩增 GFP 基因, 能否准确扩增出 GFP 基因的关键是_____ ; 升温至 72 °C 时 PCR 反应体系中完成的变化主要是_____。

(2) 用 *Bam*H I 和 *Hind*III 限制性核酸内切酶(二者切割后的黏性末端不同)对上述 PCR 产物及 pGL6-NF-kB-Luc 质粒进行双酶切, 该方法的优点是_____。然后还需要使用_____, 才能得到 pGL6-NF-kB-GFP 报告基因质粒。

(3) 将 pGL6-NF-kB-GFP 报告基因质粒导入肿瘤细胞常用的方法是_____ ; 体外培养肿瘤细胞的培养基除细胞所需的营养物质外, 还需加入_____ ; 再放入气体具体组成成分为_____的培养箱中进行培养。

(4) 将转染成功的肿瘤细胞置于含待检测抗肿瘤药物的培养基中培养一段时间, 并通过特定方法检测细胞中 GFP 蛋白表达量的变化, 以显示 NF-kB 的活性水平。若药物抗肿瘤效果显著, 可观测到的现象为_____。

7. [2023 · 四川遂宁统考模拟预测]腺病毒载体因其转导效率高、宿主细胞范围广以及可以感染不同时期的细胞等优点成为应用最广泛的活病毒载体之一, 腺病毒是双链 DNA 病毒, 其基因组中的 E1 区含有腺病毒复制的必需基因。回答下列问题:

(1) 利用腺病毒为载体生产疫苗时, 一般将完整的抗原基因插入到缺失 E1 区的腺病毒中, 该过程中用到的工具酶有_____ ; 抗原基因表达时启动子的功能是_____ ; 该种载体的优点是_____。

(2) 培养腺病毒需要以人胚胎肾细胞 293 (HEK293 细胞) 为宿主细胞, 该细胞具有转染效率高, 易于培养等特点。培养 HEK293 细胞的培养基中除营养物质外还需要加入_____等天然成分, 且气体环境应设置为_____。

(3) 我国研发的重组新冠病毒疫苗以改造后的人 5 型腺病毒为载体, 构建携带抗原基因—S 蛋白基因的重组病毒, 重组病毒转染改造后的 HEK293 细胞, 扩大培养宿主细胞后经纯化

可获得悬浮液，再与辅料配制成肌肉注射剂，注射后可使接种者获得对新冠病毒的免疫能力，上述流程中扩大培养宿主细胞的目的是_____；接种者可获得对新冠病毒的免疫能力的原因是_____。

8. [2023·河北九师联盟一模]受到放射性污染的核废水一旦排放入海，将对全球生态环境造成重大影响。某小组从耐辐射奇球菌中克隆出抗胁迫调节基因(ppr I 基因)，研究转 ppr I 基因油菜对放射性污染物 ^{133}Cs (铯)的吸收能力，结果如下表。回答下列各题：

^{133}Cs 浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	非转基因		转基因	
	地上部分含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	根系含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	地上部分含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	根系含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
0.5	1.39	1.73	1.24	2.11
1.0	2.79	4.42	2.37	4.59
5.0	6.30	6.37	4.58	9.69
10	8.77	10.02	7.55	12.54

(1)与细胞中 DNA 复制不同的是，利用 PCR 技术扩增 ppr I 基因时无需添加解旋酶，而是通过_____的方式使模板 DNA 解旋为单链。

(2)通常采用_____ (酶)将 ppr I 基因与 Ti 质粒构建成基因表达载体。为检测目的基因是否插入受体细胞的染色体 DNA 上，可采用_____技术，以_____为探针进行杂交。利用分子杂交技术检测发现，某些受体植物细胞中的 ppr I 基因无法转录，其原因最可能是_____。

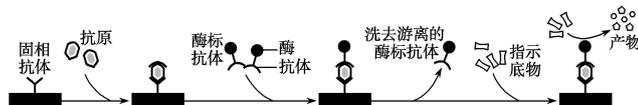
(3)由表可知，对 ^{133}Cs 污染的土壤进行生物修复时，应优先选择转 ppr I 基因油菜，其原因在于_____。在后续处理中，应加强对转基因油菜_____ (填“地上部分”或“根系”)的处理，这是因为_____。

9. [2023·福建省泉州市一模]糖类抗原 19-9(CA19-9)是一种糖蛋白,可作为肿瘤标志物。CA19-9 在正常人血清中含量较低,而在胰腺癌患者血清中含量较高。制备出抗 CA19-9 单克隆抗体,可用于定量检测该抗原含量。

(1)科研人员以 CA19-9 作为抗原获得免疫小鼠,取小鼠的脾脏细胞与_____细胞经灭活的仙台病毒诱导融合。该过程的原理是仙台病毒表面的糖蛋白和一些酶能够与细胞膜上的糖蛋白发生作用,使细胞相互凝聚,细胞膜上的_____分子重新排布,细胞膜打开,细胞发生融合。

(2)用特定的选择培养基筛选融合细胞,得到杂交瘤细胞。将得到的细胞接种到多孔培养板上,进行_____检测,经多次筛选获得足够数量的能分泌_____的杂交瘤细胞。

(3)医学上常用双抗体夹心法定量检测 CA19-9 抗原,该检测方法的基本原理如图:



①为实现定量检测的目的,固相抗体和 CA19-9 抗原的结合部位应与酶标抗体和 CA19-9 抗原的结合部位_____ (填“相同”或“不同”)。

②该检测方法中,酶标抗体的作用是_____ (写出 2 点即可)。

10. [2023·吉林长春三模]单纯疱疹病毒 I 型(HSV-1)可引起口唇炎。利用现代生物技术制备出抗 HSV-1 的单克隆抗体可快速检测 HSV-1。请回答下列问题:

(1)在制备抗 HSV-1 的单克隆抗体的过程中要用到_____技术和动物细胞融合技术。

(2)制备此单克隆抗体过程中,给小鼠注射一种纯化的 HSV-1 蛋白相当于_____,使小鼠体内发生体液免疫,产生分泌相应抗体的 B 淋巴细胞。将该 B 淋巴细胞与小鼠的骨髓瘤细胞融合,融合体系中除含有未融合的细胞和杂交瘤细胞外,可能还有 B 淋巴细胞相互融合

形成的细胞、骨髓瘤细胞相互融合形成的细胞，体系中出现多种类型细胞的原因是_____。融合后的细胞再用特定选择培养基进行培养，最终可获得_____的杂交瘤细胞。

(3) 若要大量制备抗该蛋白的单克隆抗体，还需对选择性培养后的杂交瘤细胞进行_____培养和抗体检测，最后将该杂交瘤细胞在体外条件下大规模培养或注射到小鼠的腹腔内使其增殖，从培养液或小鼠_____中提取大量的单克隆抗体。

(4) 通过上述方法得到的单克隆抗体可准确地识别 HSV-1 蛋白，其原因是该抗体具有_____等特性。