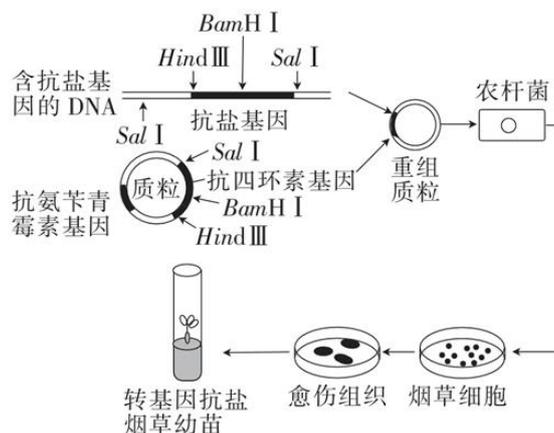


基因工程对点练习【梁睿用】

一、单选题：共有 8 小题，请将唯一正确的选项编号写在答题区域。

1、某质粒上有 Sal I、HindIII、BamH I 三种限制酶切割位点，同时还含有抗四环素基因和抗氨苄青霉素基因，获得此质粒的农杆菌表现出对两种抗生素的抗性。利用此质粒获得转基因抗盐烟草的过程如下图所示。请据图分析，下列叙述错误的是



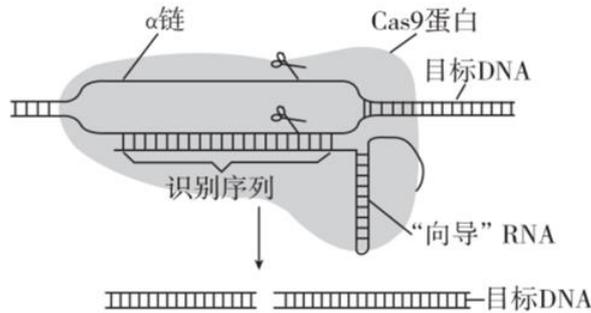
- A. 在构建重组质粒时，选用 HindIII 和 Sal I 两种酶切割目的基因的两端及质粒可防止目的基因和质粒的自我环化
- B. 用分别含有氨苄青霉素和四环素的培养基筛选农杆菌时，发现含有目的基因的农杆菌不能在含四环素的培养基上生长，说明抗四环素基因未起到标记基因的作用
- C. 采用农杆菌转化法是因为农杆菌感染烟草细胞时，其内的重组 Ti 质粒上的 T-DNA 能将目的基因插入烟草细胞的染色体 DNA 上
- D. 利用植物组织培养技术培育转基因抗盐烟草植株，依据的原理是高度分化的植物细胞具有发育成完整植株的能力

2、农杆菌 Ti 质粒上的 T-DNA 可以转移并随机插入被侵染植物的染色体 DNA 中。研究者将下图中被侵染植物的 DNA 片段连接成环，并以此环为模板进行 PCR，扩增出 T-DNA 插入位置两侧的未知序列，以此可确定 T-DNA 插入的具体位置。下列说法错误的是



注：子链从引物的 3' 端开始延伸

- A. PCR 扩增依据的是 DNA 分子双链复制的原理
 - B. 进行 PCR 扩增需要耐高温的 DNA 聚合酶
 - C. 利用图中的引物②③组合可扩增出两侧的未知序列
 - D. 通过与受体细胞的基因组序列比对，可确定 T-DNA 的插入位置
- 3、CRISPR/Cas9 是一种由 RNA 指导的，利用 Cas9 核酸酶对靶向基因进行编辑的技术。CRISPR 本质是基因组 DNA 上的一段特殊序列，它广泛存在于原核生物基因组中，是细菌和古细菌为应对病毒不断攻击而演化来的获得性免疫防御机制，而 Cas9 则是 CRISPR 相关核酸酶。该技术原理是一条单链向导 RNA 引导核酸酶 Cas9 到一个特定的基因位点进行切割。具体过程是通过设计“向导”RNA 中 20 个碱基的识别序列，实现对目标 DNA 上某个特定位置的切割或特定 DNA 片段的添加，如下图所示。下列相关叙述正确的是



- A. Cas9 相当于基因工程中的限制酶，具有识别特定脱氧核苷酸序列并使每一条链中特定部位断开的功能
- B. 若用 Cas9 切开后添加特定的 DNA 片段，需要 DNA 聚合酶和 DNA 连接酶
- C. “向导”RNA 可在解旋酶和 RNA 聚合酶的催化下合成
- D. Cas9 能通过专一性破坏双链 DNA 分子中的磷酸二酯键来切割 DNA 分子

4、胆汁盐水解酶(BSH)对治疗小鼠糖尿病有明显的效果。天然大肠杆菌对外来 DNA 的入侵具有一定的抵抗力。科研人员从实验小鼠的粪便样本中提取出一种遗传上易驯化(对 DNA 入侵抵抗力弱)的大肠杆菌菌株 M，构建 BSH 基因的表达载体(如下图)并导入菌株 M 体内，再将菌株 M 重新导入小鼠肠道。一段时间后，在小鼠的肠道中出现了能持续分泌 BSH 的大肠杆菌，小鼠糖尿病症状得到缓解。下列叙述错误的是

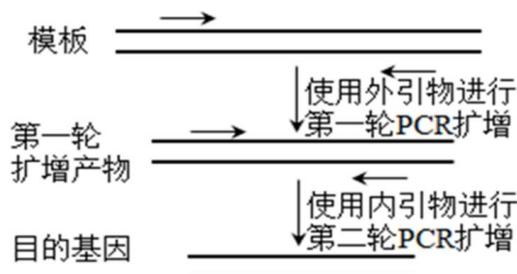


- A. 天然大肠杆菌对外来 DNA 的入侵具有一定抵抗力，可能与细胞内的限制酶有关
- B. 构建基因表达载体时，应该选用限制酶 B 和限制酶 C 切割质粒和目的基因
- C. 转化前常用 Ca^{2+} 处理大肠杆菌，使其处于能吸收外源 DNA 分子的状态
- D. 将转基因菌株 M 导入小鼠肠道后，BSH 基因在其肠道细胞中稳定复制并表达

5、某实验利用 PCR 技术获取目的基因，实验结果显示除目的基因条带(引物与模板完全配对)外，还有 2 条非特异条带(引物和模板不完全配对)。为了减少反应非特异条带的产生，以下措施中有效的是

- A. 增加模板 DNA 的量
- B. 延长热变性的时间
- C. 延长延伸的时间
- D. 提高复性的温度

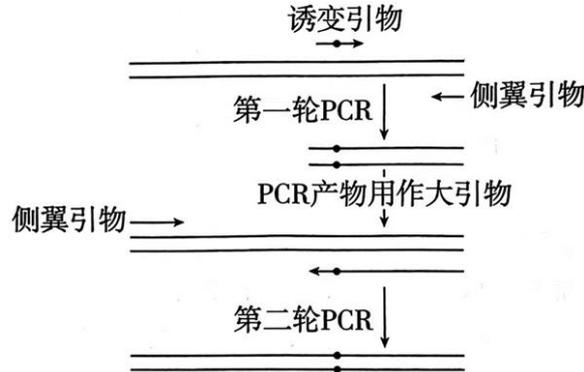
6、减少引物与模板之间的非特异性配对，人们对普通 PCR 技术进行改良，发明了巢式 PCR，原理是利用两套引物进行两轮 PCR 扩增。首先利用第一对引物(外引物)对目的基因所在的 DNA 进行第一轮扩增，第二轮扩增以第一轮扩增产物为模板，利用第二对引物(内引物或巢式引物)结合在第一轮扩增产物内部，经过 15~30 次循环，获得第二轮扩增片段(即目的基因)，最终第二轮扩增片段短于第一轮，基本过程如图所示。下列叙述错误的是



- A. 两对引物的碱基序列不相同，但均应为单链 DNA 片段
- B. 使用外引物至少经过 3 次循环，才能得到图示的第一轮扩增产物

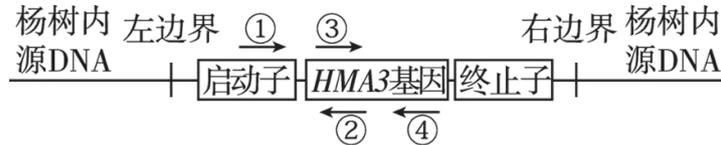
- C. 若第一轮扩增产生错误片段, 则其进入第二轮扩增的概率极低
 D. 普通 PCR 与巢式 PCR 相比, 特异性更强, 错误率更高

7、大引物 PCR 定点突变常用来研究蛋白质结构改变导致的功能变化。单核苷酸的定点诱变需进行两轮 PCR 反应即可获得,过程如图所示。下列叙述不正确的



- A. 第一轮 PCR 过程中复性所用的温度与第二轮 PCR 复性的温度不一样
 B. PCR 扩增的定点诱变产物通常需要连接到载体分子上才能表达出相应的性状,该定点诱变产物需具备启动子、终止子等结构才能进行转录和翻译
 C. 第二轮 PCR 所用的引物是第一轮 PCR 的产物 DNA 的两条链
 D. 将某功能蛋白的第 17 位 Cys(UGU)改造成 Ser(UCU),属于蛋白质工程

8、为了对重金属污染的土壤进行生物修复, 研究者将从杨树中克隆的重金属转运蛋白 HMA3 基因与外源高效启动子连接, 导入杨树基因组中(如图)。为检测获得的转基因杨树苗中是否含有导入的 HMA3 基因, 同时避免内源 HMA3 基因的干扰, 在进行 PCR 扩增时, 应选择的引物组合是

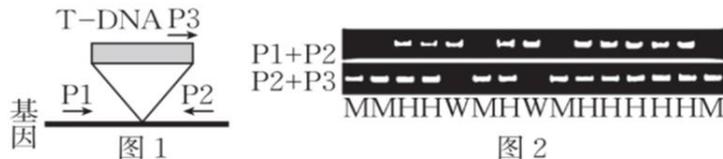


- A. ①+③ B. ①+② C. ③+② D. ③+④

二、多选题：共有 2 小题，请将正确选项的编号写在答题区域。

9、用农杆菌侵染水稻（二倍体）细胞, 获得 1 条染色体上 R 基因被插入 T-DNA 的个体 T₀。T-DNA 插入基因的位置如图 1 所示。T₀ 自交得 T₁, 用 P₁、P₂、P₃ 为引物检测不同 T₁ 个体的基因组成情况, 如图 2 所示。图 1 箭头方向为引物所在子链的延伸方向;R 基因被 T-DNA 插入后,用 P₁、P₂ 为引物无法完成 PCR。

下列叙述错误的是



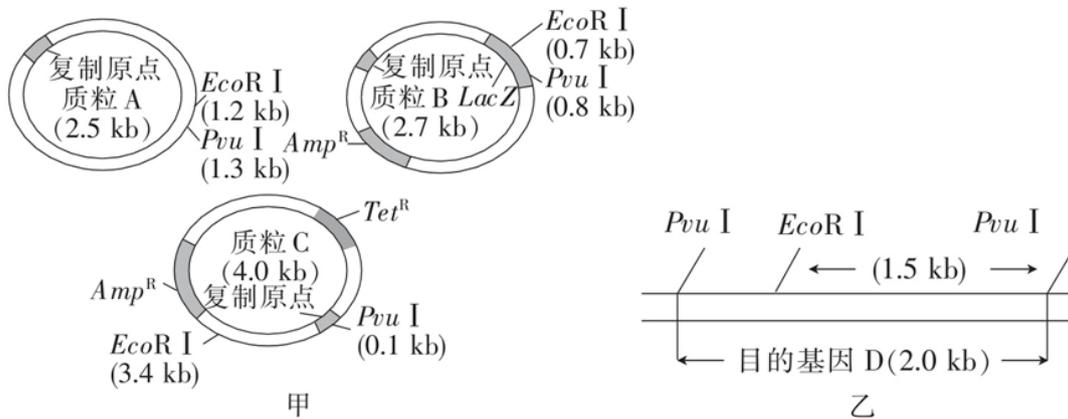
- A. 该实验中所用的引物 P₁、P₂、P₃ 为短双链核酸
 B. R 基因被 T-DNA 插入后导致基因被破坏, 可能无法表达相应蛋白
 C. 用 P₁、P₂ 引物进行 PCR 得到产物的个体均为 R 基因纯合子
 D. 若调查样本量足够大, W、H、M 个体的比例约为 1:2:1

10、热启动 PCR 可提高扩增效率，方法之一是：先将除 *Taq* DNA 聚合酶以外的各成分混合后，加热到 80℃ 以上再混入酶，然后直接从 94℃ 开始 PCR 扩增，下列叙述正确的有

- A. *Taq* 酶最适催化温度范围为 50~60℃
- B. 与常规 PCR 相比，热启动 PCR 可减少反应起始时引物错配形成的产物
- C. 两条子链的合成一定都是从 5' 端向 3' 端延伸
- D. PCR 产物 DNA 碱基序列的特异性体现了 *Taq* 酶的特异性

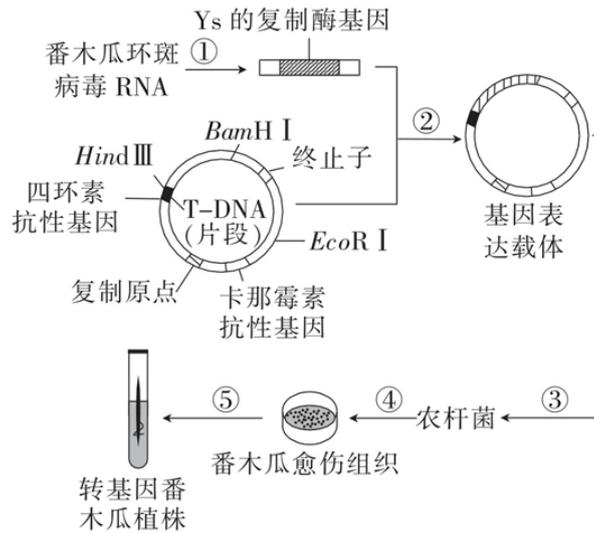
三、简答题：共有 2 小题，请按各小题要求作答。

11、下图为 A、B、C 三种质粒和一个含目的基因 D 的 DNA 片段示意图。图中 Amp^R 为氨苄青霉素抗性基因，Tet^R 为四环素抗性基因，LacZ 为蓝色显色基因，其表达产物可以将无色化合物 X-gal 转化成蓝色物质，使大肠杆菌的菌落呈蓝色，否则菌落为白色。EcoR I、Pvu I 为两种限制酶，质粒上限制酶后的括号内的数字表示限制酶切割位点与复制原点的距离。请回答：



- (1) 利用 PCR 技术对一个目的基因扩增 n 次，需要_____对引物，耐高温的 DNA 聚合酶能从引物的_____端开始连接脱氧核苷酸，从而获得大量目的基因 D。
 - (2) 据图分析，质粒 A、C 不能作为目的基因 D 的载体，理由分别是_____。
- 将目的基因 D 与质粒 B 进行重组，应该选用限制酶_____和 DNA 连接酶。
- (3) 在基因工程的操作过程中，需要检查目的基因 D 是否重组到质粒中，使用 EcoR I 处理重组质粒，完全酶切后，进行电泳检测。若电泳图谱中出现长度为 1.6kb 和 3.1kb，或者_____kb 和_____kb 的片段，则可判断质粒 B 已与目的基因 D 重组成功。
 - (4) 利用自身不含 LacZ 基因且对抗生素敏感的大肠杆菌作为受体细胞，要在已转化的含重组质粒、已转化的含空质粒的受体细胞和未转化成功的细胞中，筛选出已转化的含重组质粒的受体细胞，方法是在含有_____的培养基上培养，形成白色菌落的为导入重组质粒的受体细胞。

12、番木瓜很容易感染番木瓜环斑病毒（英文缩写为 PRSV），该病毒是生产番木瓜的限制因素。我国科研人员利用农杆菌转化法，将番木瓜环斑病毒株系 Ys 的复制酶基因转入番木瓜，成功培育出转基因番木瓜“华农一号”。其大致流程如图所示。回答下列问题：



- (1) 过程①称为_____；选用 Ti 质粒作为载体，是因为_____。为使 Ys 的复制酶基因定向插入 Ti 质粒上，需在 Ys 的复制酶基因两端分别添加限制酶_____的酶切位点。
- (2) 过程③将重组质粒转入农杆菌之前，需先用_____处理农杆菌，使其处于一种能吸收周围环境中 DNA 分子的生理状态；为筛选出含重组质粒的农杆菌，应将转化的农杆菌培养在含卡那霉素的培养基上。过程⑤运用的生物技术利用的生物学原理是_____。
- (3) 若要从个体生物学水平鉴定培育的转基因番木瓜植株是否具有抗番木瓜环斑病毒的特性，应进行的操作是_____。
- (4) 番木瓜是直接供人们食用的转基因水果，一直以来也是转基因安全性争议的焦点之一。对于转基因食品的安全性，公众主要担心的是_____。