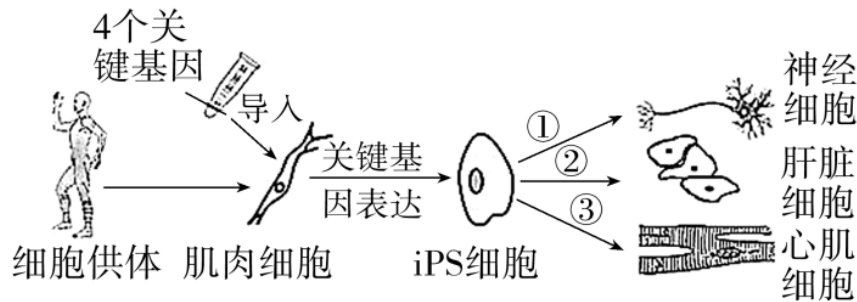


# 黔阳一中综合 PCR 的基因工程问题小题练

练习时间：2024-12-06

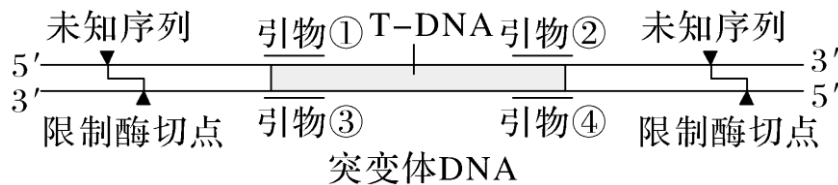
## 一、选择题：每小题给出的四个选项中只有一个符合题目要求。

1. 科学家利用逆转录病毒将 *Oct4* 等 4 个关键基因导入已分化的体细胞中并表达，可使这个细胞成为类似干细胞的诱导多能干细胞(iPS 细胞)。图为该技术在人体细胞中的实验示意图。下列说法正确的是( )



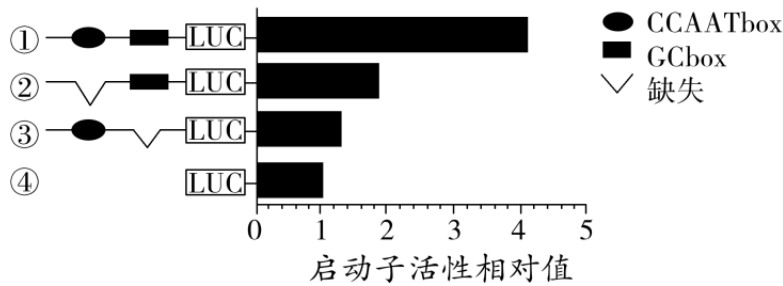
- A. 将肌肉细胞诱导成 iPS 细胞的过程发生了基因重组，且两种细胞的基因有所差别
- B. 将上述转录因子导入肌肉细胞中所需的工具酶有限制酶、DNA 连接酶和运载体
- C. 实验中逆转录病毒作为转录因子的载体，必须通过显微注射法导入肌肉细胞中
- D. 可以利用镰状细胞贫血患者自身体细胞培养的 iPS 细胞治疗自身该疾病

2. 如图所示，在一段未知序列的突变体 DNA 片段中，插入了已知序列的 T-DNA，要想对 T-DNA 两侧的未知序列进行测序，下列做法正确的是( )



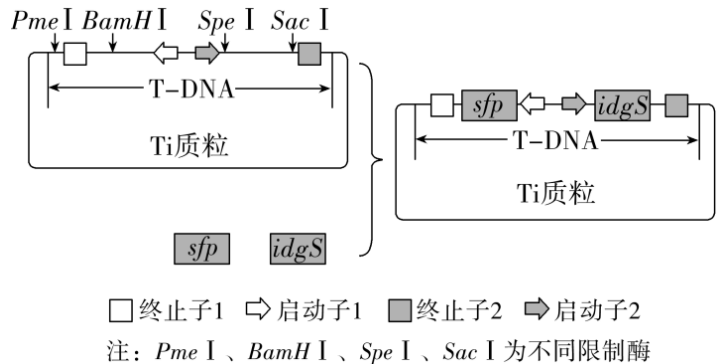
- A. 用引物①和引物④直接进行 PCR 扩增之后再测序
- B. 用引物②和引物③直接进行 PCR 扩增之后再测序
- C. 用 DNA 连接酶连接成环状后，再用引物①④PCR 扩增后测序
- D. 用 DNA 连接酶连接成环状后，再用引物②③PCR 扩增后测序

3. T-2 毒素是一种常见的霉菌毒素，可通过污染饲料引起畜禽中毒。*CYP3A* 是猪体内降解 T-2 毒素的关键酶，T-2 毒素可诱导其表达水平升高。CCAATbox 和 GCbox 是 *CYP3A* 基因启动子的两个调控序列。研究者将不同调控序列分别和 *CYP3A* 基因启动子及 *LUC* 基因(荧光素酶基因)连接构建表达载体，导入猪肝细胞，在培养基中加入 T-2 毒素，24 h 后计算启动子活性相对值，结果如图所示。下列叙述正确的是( )



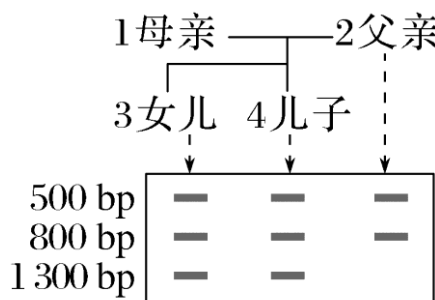
- A. ④为对照组，把仅含 *LUC* 基因的表达载体导入细胞
- B. 与④组相比，①组中加入 T-2 毒素的含量大大增加
- C. 可通过检测荧光素酶的活性来计算启动子活性相对值
- D. 调控序列的缺失使 T-2 毒素不能诱导 *CYP3A* 基因表达

4. 自然界中很少出现蓝色的花，天然蓝色花产生的主要原因是花瓣细胞液泡中花青素在碱性条件下显蓝色。我国科学家利用链霉菌的靛蓝合成酶基因(*idgS*)及其激活基因(*sfp*)构建基因表达载体(如下图所示)，通过农杆菌转化法导入白玫瑰中，在细胞质基质中形成稳定显色的靛蓝。下列相关叙述错误的是( )



- A. 上述获得蓝色玫瑰的方案中无需转入能调控液泡 pH 的基因
- B. 将 *sfp* 基因插入 Ti 质粒时使用的限制酶是 *PmeI*和 *BamHI*
- C. *sfp* 和 *idgS* 基因具有各自的启动子，表达是相互独立进行的
- D. 农杆菌可将 Ti 质粒上的 TDNA 整合到白玫瑰染色体 DNA 上

5. 恶性高热是一种潜在致命性单基因遗传病，患者一般无症状，但当接触麻醉剂后，会诱发患者出现高热等症状，死亡率极高。某家庭的母亲和女儿皆患有恶性高热，母亲因该病去世，女儿经及时抢救而康复。科研人员对该家庭成员进行了基因检测。控制该性状的某一基因可在限制酶的作用下切割成两条不同长度的 DNA 片段，用凝胶电泳法分离后可显示出不同的带谱如图所示(控制该性状的基因为完全显性，且不位于 X、Y 染色体的同源区段)。下列说法错误的是( )



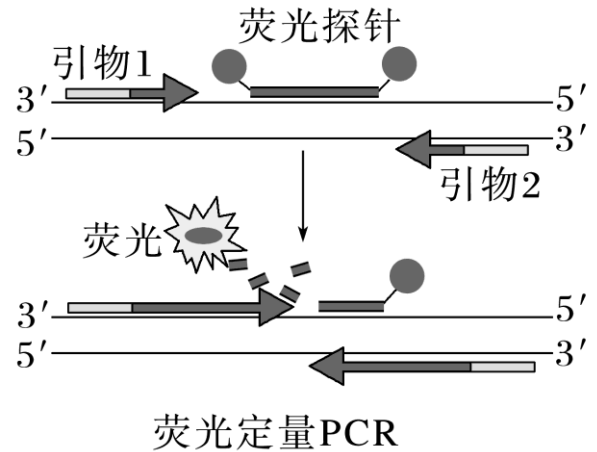
- A. 该遗传病属于常染色体显性遗传病
- B. 结合 3、4 可推断 2 号不患病的概率是 100%

C.该致病基因是由正常基因碱基的替换形成的

D.4号与无麻醉剂接触史的女子结婚，后代能出现的基因型最多有3种

6.荧光定量PCR技术可定量检测样本中DNA含量，用于病毒检测。其原理是在PCR反应体系中加入引物的同时，加入与某条模板链互补的荧光探针。

当耐高温的DNA聚合酶催化子链延伸至探针处会水解探针，使荧光监测系统接收到荧光信号，即每扩增一次，就有一个荧光分子生成(如图)。通过实时检测荧光信号强度，可得Ct值(荧光信号达到设定阈值时所经历的循环次数)。下列相关叙述错误的是( )



A. PCR每个循环包括变性、复性(引物和模板结合)、延伸3个阶段

B. 耐高温的DNA聚合酶在该反应中的作用是形成磷酸二酯键

C. 最终监测的荧光强度与起始时反应管内样本DNA的含量呈正相关

D. Ct值越大表示被检测样本中病毒数目越多，患者危险性更高

## 二、选择题：每小题给出的四个选项中有一个或多个符合题目要求。

7. 研究人员用图1中质粒和图2中含目的基因的片段构建重组质粒(图中标注了相关限制酶切割位点)，将重组质粒导入大肠杆菌后进行筛选及PCR鉴定。下列叙述正确的是( )

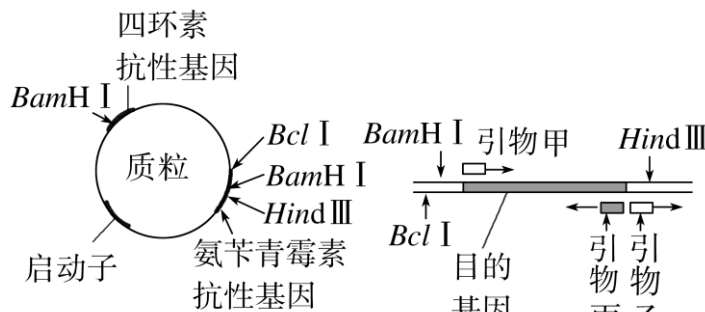


图1

图2

A. 构建重组质粒的过程应选用BamHI和HindIII两种限制酶

B. 使用DNA连接酶将酶切后的质粒和目的基因片段进行重组

C. 能在添加四环素的培养基上生存一定是含有重组质粒的大肠杆菌

D. 利用PCR鉴定含目的基因的大肠杆菌时应选用引物甲和引物丙

8. 猪瘟疫病毒能与猪细胞膜上的LamR受体蛋白结合，进而侵入细胞引起猪瘟。利用基因编辑技术改变LamR受体蛋白基因，使LamR受体蛋白不能与猪瘟疫病毒正常结合，但不影响其生理功能，从而培育出抗猪瘟疫病毒猪。基因编辑的原理是由一条人为设计的单链向导RNA(sgRNA)引导Cas9蛋白到特定的DNA位点进行切割，从而完成对目的基因的编辑。下列叙述正确的是( )

A. 培育抗猪瘟疫病毒猪，一般选择受精卵作为基因编辑的受体细胞，这样获得的个体的所有细胞都无

法被猪瘟病毒感染

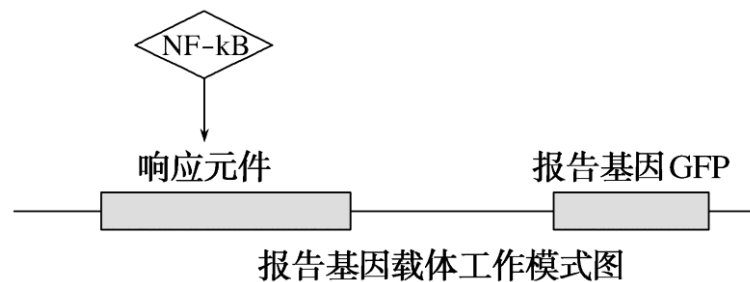
B. Cas9 蛋白的功能是准确识别 DNA 特定序列并进行切割

C. 改造后的受体细胞经培养发育到桑葚胚或囊胚时，可将其进行冷冻保存或胚胎移植

D. 通过基因编辑技术改造前后的两种 *LamR* 基因是等位基因

### 三、非选择题

9. 细胞中 NFkB 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 NFkB 为靶点的抗肿瘤药物，利用基因工程构建 NFkB 的报告基因载体。具体原理为把已确定的 NFkB 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 NFkB 基因同步表达，其工作模式见下图。回答下列问题：



(1)构建 pGL6NFkB GFP 报告基因质粒时，首先以 pcDNA3.1FlagGFP 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 pGL6NFkB GFP 报告基因质粒。

(3)将 pGL6NFkB 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 NFkB 的活性水平。若药物抗肿瘤效果显著，可观测到的现象为\_\_\_\_\_。