

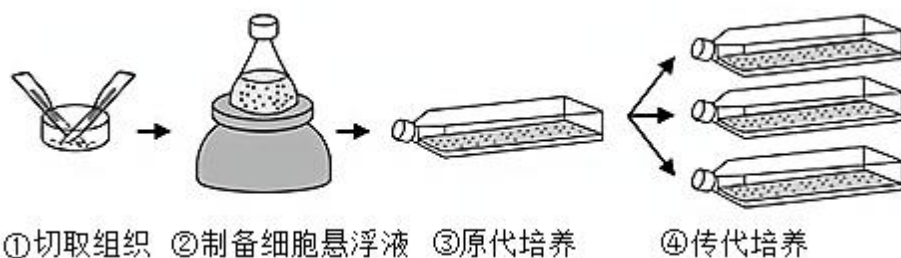
专题 14 生物技术与工程

一、单选题

(2021 年山东卷) 1. 粗提取 DNA 时, 向鸡血细胞液中加入一定量的蒸馏水并搅拌, 过滤后所得滤液进行下列处理后再进行过滤, 在得到的滤液中加入特定试剂后容易提取出 DNA 相对含量较高的白色丝状物的处理方式是 ()

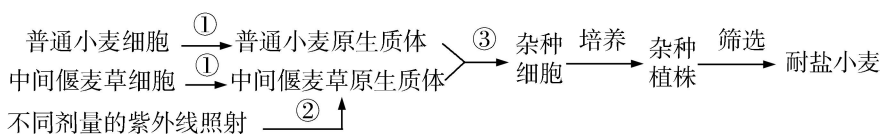
- A. 加入适量的木瓜蛋白酶
- B. 37~40℃ 的水浴箱中保温 10~15 分钟
- C. 加入与滤液体积相等的、体积分数为 95% 的冷却的酒精
- D. 加入 NaCl 调节浓度至 2mol/L→过滤→调节滤液中 NaCl 浓度至 0.14mol/L

(2021 年 1 月浙江卷) 2. 下图为动物成纤维细胞的培养过程示意图。下列叙述正确的是 ()



- A. 步骤①的操作不需要在无菌环境中进行
- B. 步骤②中用盐酸溶解细胞间物质使细胞分离
- C. 步骤③到④的分瓶操作前常用胰蛋白酶处理
- D. 步骤④培养过程中不会发生细胞转化

3. (2020 年山东省高考生物试卷(新高考)·13) 两种远缘植物的细胞融合后会导致一方的染色体被排出。若其中一个细胞的染色体在融合前由于某种原因断裂, 形成的染色体片段在细胞融合后可能不会被全部排出, 未排出的染色体片段可以整合到另一个细胞的染色体上而留存在杂种细胞中。依据该原理, 将普通小麦与耐盐性强的中间偃麦草进行体细胞杂交获得了耐盐小麦新品种, 过程如下图所示。下列说法错误的是 ()



- A. 过程①需使用纤维素酶和果胶酶处理细胞
- B. 过程②的目的是使中间偃麦草的染色体断裂

C. 过程③中常用灭活的病毒诱导原生质体融合

D. 耐盐小麦的染色体上整合了中间偃麦草的染色体片段

4. (2020 年山东省高考生物试卷(新高考) • 14) 经遗传改造的小鼠胚胎干细胞注入囊胚, 通过胚胎工程的相关技术可以获得具有不同遗传特性的实验小鼠。下列说法错误的是 ()

A. 用促性腺激素处理雌鼠可以获得更多的卵子

B. 体外受精前要对小鼠的精子进行获能处理

C. 胚胎移植前要检查胚胎质量并在囊胚或原肠胚阶段移植

D. 遗传改造的小鼠胚胎干细胞可以通过转基因等技术获得

5. (2020 年天津高考生物试卷 • 1) 在克隆哺乳动物过程中, 通常作为核移植受体细胞的是去核的 ()

A. 卵原细胞

B. 初级卵母细胞

C. 次级卵母细胞

D. 卵细胞

6. (2020 年浙江省高考生物试卷(7 月选考) • 15) 下列关于病毒的叙述, 错误的是 ()

A. 有的病毒经灭活处理后, 可用于细胞工程中介导动物细胞的融合

B. 适当增加机体内参与免疫的细胞数量与活性, 可提高对新型冠状病毒的抵御能力

C. 在某人的分泌物中检测到新型冠状病毒, 推测该病毒的增殖不依赖于宿主细胞

D. 用高温高压处理病毒使其失去感染能力, 原因之一是病毒的蛋白质发生了热变性

7. (2020 年浙江省高考生物试卷(7 月选考) • 24) 下列关于基因工程的叙述, 正确的是 ()

A. 若受体大肠杆菌含有构建重组质粒时用到的限制性核酸内切酶, 则一定有利于该重组质粒进入受体并保持结构稳定

B. 抗除草剂基因转入某抗盐植物获得 2 个稳定遗传转基因品系, 抗性鉴定为抗除草剂抗盐和抗除草剂不抗盐。表明一定是抗盐性的改变与抗除草剂基因的转入无关

C. 抗除草剂基因转入某植物获得转基因植株, 其 DNA 检测均含目的基因, 抗性鉴定为抗除草剂和不抗除草剂。表明一定是前者表达了抗性蛋白而后者只表达抗性基因 RNA

D. 已知不同分子量 DNA 可分开成不同条带, 相同分子量的为一条带。用某种限制性核酸内切酶完全酶切环状质粒后, 出现 3 条带。表明该质粒上一定至少有 3 个被该酶切开的位置

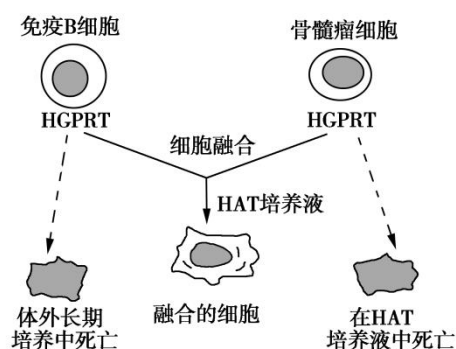
8. (2019 北京卷 • 4) 甲、乙是严重危害某二倍体观赏植物的病害。研究者先分别获得抗甲、乙的转基因植株。再将二者杂交后得到 F_1 , 结合单倍体育种技术, 培育出同时抗甲、乙的植物新品种, 以下对相关操作及结果的叙述, 错误的是

- A. 将含有目的基因和标记基因的载体导入受体细胞
- B. 通过接种病原体对转基因的植株进行抗病性鉴定
- C. 调整培养基中植物激素比例获得F₁花粉再生植株
- D. 经花粉离体培养获得的若干再生植株均为二倍体

9. (2019江苏卷·16) 下列生物技术操作对遗传物质的改造, 不会遗传给子代的是

- A. 将胰岛素基因表达质粒转入大肠杆菌, 筛选获得基因工程菌
- B. 将花青素代谢基因导入植物体细胞, 经组培获得花色变异植株
- C. 将肠乳糖酶基因导入奶牛受精卵, 培育出产低乳糖牛乳的奶牛
- D. 将腺苷酸脱氨酶基因转入淋巴细胞后回输患者, 进行基因治疗

10. (2019江苏卷·23) 下图为杂交瘤细胞制备示意图。骨髓瘤细胞由于缺乏次黄嘌呤磷酸核糖转移酶(HGPRT⁻), 在HAT筛选培养液中不能正常合成DNA, 无法生长。下列叙述正确的是



- A. 可用灭活的仙台病毒诱导细胞融合
- B. 两两融合的细胞都能在HAT培养液中生长
- C. 杂交瘤细胞需进一步筛选才能用于生产
- D. 细胞膜的流动性是细胞融合的基础

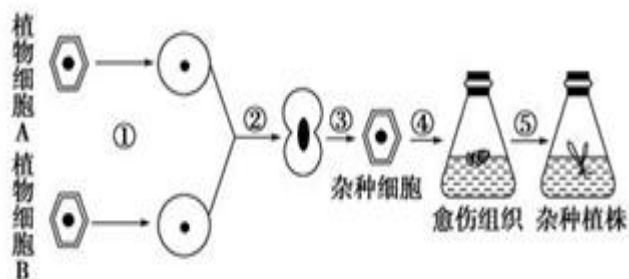
11. (2019天津市七校联考) 利用基因工程技术生产羧酸酯酶(CarE)制剂, 用于降解某种农药的残留, 基本流程如图。下列叙述正确的是



- A. 过程①的反应体系中需要加入逆转录酶和核糖核苷酸
- B. 过程②需使用限制酶和 DNA 聚合酶, 是基因工程的核心步骤
- C. 过程③需要使用 NaCl 溶液制备感受态的大肠杆菌细胞

D. 过程可利用 DNA 分子杂交技术鉴定 CarE 基因是否成功导入受体细胞

12. (2019 上海二模) 下图为植物体细胞杂交过程示意图。在利用植物细胞 A 和 B 培育成为杂种植株过程中, 运用的技术有



A. 干细胞技术和细胞融合技术

B. 细胞融合技术和植物组织培养技术

C. 细胞融合技术和细胞核移植技术

D. 干细胞技术和植物组织培养技术

13. (2018 江苏卷, 10) 下列关于采用胚胎工程技术实现某良种肉用牛快速繁殖的叙述, 正确的是 ()

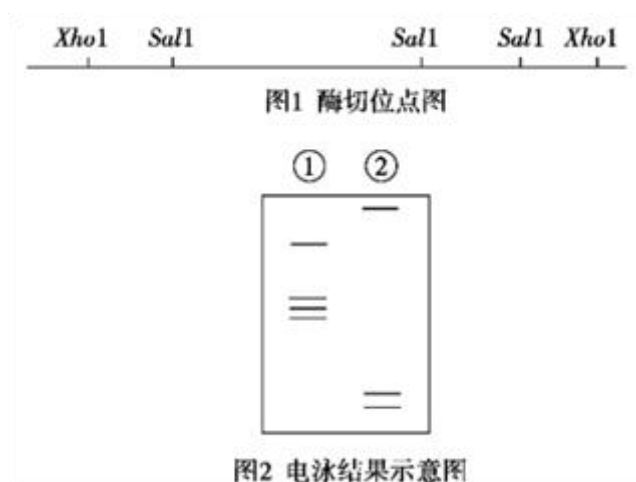
A. 采取激素注射等方法对良种母牛作超数排卵处理

B. 体外培养发育到原肠胚期的胚胎即可进行移植

C. 使用免疫抑制剂以避免代孕牛对植入胚胎的排斥反应

D. 利用胚胎分割技术, 同卵多胎较同卵双胞胎成功率更高

14. (2018 北京卷, 5) 用 XhoI 和 SalI 两种限制性核酸内切酶分别处理同一 DNA 片段, 酶切位点及酶切产物分离结果如图。以下叙述不正确的是 ()



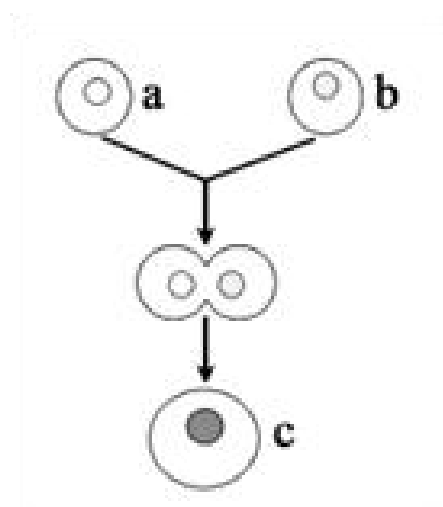
A. 如图中两种酶识别的核苷酸序列不同

B. 如图中酶切产物可用于构建重组 DNA

C. 泳道①中是用 SalI 处理得到的酶切产物

D. 图中被酶切的 DNA 片段是单链 DNA

15. (2018 江苏卷, 22) 如图为细胞融合的示意图, 下列叙述正确的是 ()



A. 若 a 细胞和 b 细胞是植物细胞, 需先去分化再诱导融合

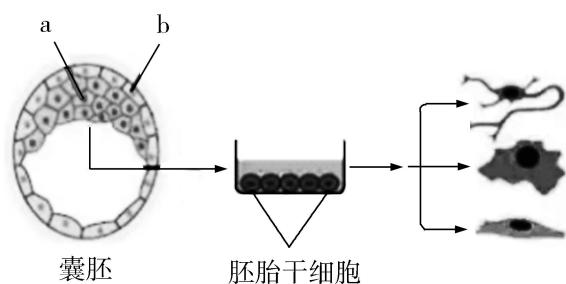
B. a 细胞和 b 细胞之间的融合需要促融处理后才能实现

C. c 细胞的形成与 a、b 细胞膜的流动性都有关

D. c 细胞将同时表达 a 细胞和 b 细胞中的所有基因

二、多选题

1. (2020 年江苏省高考生物试卷 • 23) 小鼠胚胎干细胞经定向诱导可获得多种功能细胞、制备流程如图所示。下列叙述错误的是 ()



A. 为获得更多的囊胚, 采用激素注射促进雄鼠产生更多的精子

B. 细胞 a 和细胞 b 内含有的核基因不同, 所以全能性高低不同

C. 用胰蛋白酶将细胞 a 的膜白消化后可获得分散的胚胎干细胞

D. 胚胎干细胞和诱导出的各种细胞都需在 CO_2 培养箱中进行培养

三、非选择题

1. (2022·全国甲卷·高考真题) 某牧场引进一只产肉性能优异的良好公羊, 为了在短时间内获得具有该公羊优良性状的大量后代, 该牧场利用胚胎工程技术进行了相关操作。回答下列问题,

(1)为了实现体外受精需要采集良种公羊的精液，精液保存的方法是_____。在体外受精前要对精子进行获能处理，其原因是_____；精子体外获能可采用化学诱导法，诱导精子获能的药物是_____（答出1点即可）。利用该公羊的精子进行体外受精需要发育到一定时期的卵母细胞，因为卵母细胞达到_____时才具备与精子受精的能力。

(2)体外受精获得的受精卵发育成囊胚需要在特定的培养液中进行，该培养液的成分除无机盐、激素、血清外，还含的营养成分有_____（答出3点即可）等。将培养好的良种囊胚保存备用。

(3)请以保存的囊胚和相应数量的非繁殖期受体母羊为材料进行操作，以获得具有该公羊优良性状的后代。主要的操作步骤是_____。

2.（2022·全国乙卷·高考真题）新冠疫情出现后，病毒核酸检测和疫苗接种在疫情防控中发挥了重要作用。回答下列问题。

(1)新冠病毒是一种RNA病毒，检测新冠病毒RNA（核酸检测）可以采取RT-PCR法。这种方法的基本原理是先以病毒RNA为模板合成cDNA，这一过程需要的酶是_____，再通过PCR技术扩增相应的DNA片段。根据检测结果判断被检测者是否感染新冠病毒。

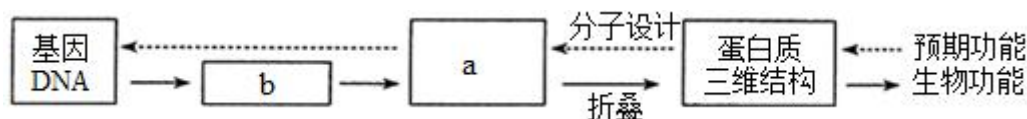
(2)为了确保新冠病毒核酸检测的准确性，在设计PCR引物时必须依据新冠病毒RNA中的_____来进行。PCR过程每次循环分为3步，其中温度最低的一步是_____。

(3)某人同时进行了新冠病毒核酸检测和抗体检测（检测体内是否有新冠病毒抗体），若核酸检测结果为阴性而抗体检测结果为阳性，说明_____（答出1种情况即可）；若核酸检测和抗体检测结果均为阳性，说明_____。

(4)常见的病毒疫苗有灭活疫苗、蛋白疫苗和重组疫苗等。已知某种病毒的特异性蛋白S（具有抗原性）的编码序列（目的基因）。为了制备蛋白疫苗，可以通过基因工程技术获得大量蛋白S。基因工程的基本操作流程是_____。

3.（2022·湖南·高考真题）水蛭是我国的传统中药材，主要药理成分水蛭素为水蛭蛋白中重要成分之一，具有良好的抗凝血作用。拟通过蛋白质工程改造水蛭素结构，提高其抗凝血活性。回答下列问题：

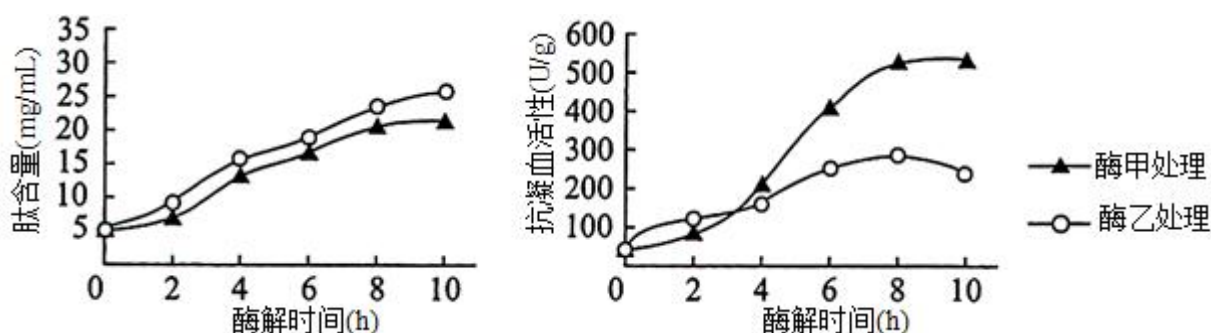
(1)蛋白质工程流程如图所示，物质a是_____，物质b是_____。在生产过程中，物质b可能不同，合成的蛋白质空间构象却相同，原因是_____。



(2)蛋白质工程是基因工程的延伸，基因工程中获取目的基因的常用方法有_____、_____和利用PCR技术扩增。PCR技术遵循的基本原理是_____。

(3)将提取的水蛭蛋白经甲、乙两种蛋白酶水解后，分析水解产物中的肽含量及其抗凝血活性，结果如图所示。推测两种处理后酶解产物的抗凝血活性差异主要与肽的_____（填“种类”或“含量”）有关，导致其活性

不同的原因是_____。

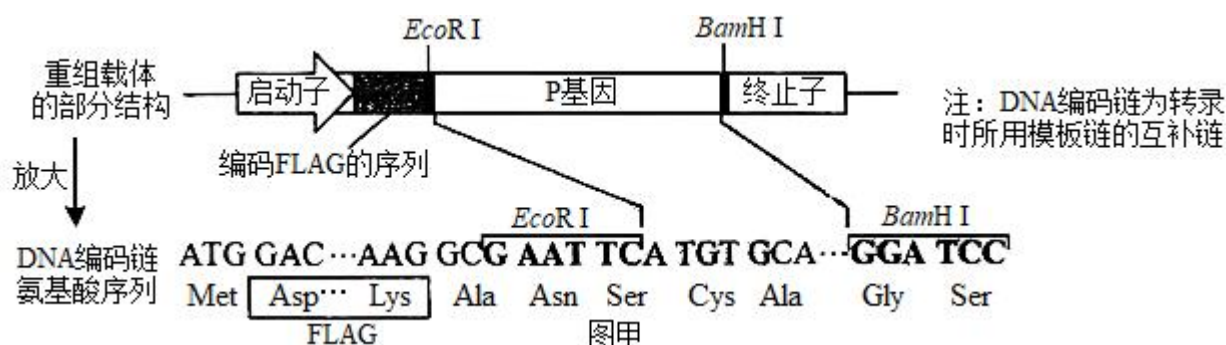


(4)若要比蛋白质工程改造后的水蛭素、上述水蛭蛋白酶解产物和天然水蛭素的抗凝血活性差异，简要写出实验设计思路_____。

4. (2022·山东·高考真题)某种类型的白血病由蛋白 P 引发，蛋白 UBC 可使 P 被蛋白酶识别并降解，药物 A 可通过影响这一过程对该病起到治疗作用。为探索药物 A 治疗该病的机理，需构建重组载体以获得融合蛋白 FLAG-P 和 FLAG-P Δ 。P Δ 是缺失特定氨基酸序列的 P，FLAG 是一种短肽，连接在 P 或 P Δ 的氨基端，使融合蛋白能与含有 FLAG 抗体的介质结合，但不影响 P 或 P Δ 的功能。

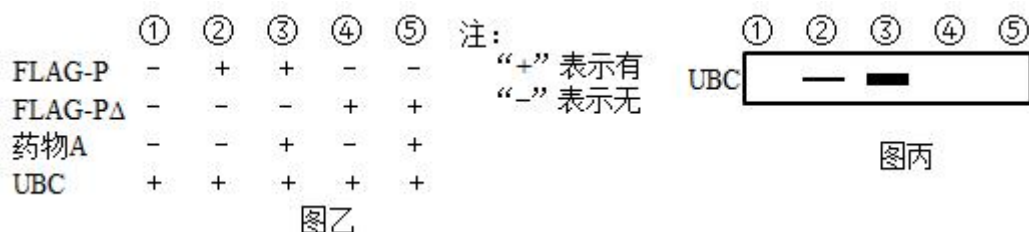
(1)为构建重组载体，需先设计引物，通过 PCR 特异性扩增 P 基因。用于扩增 P 基因的引物需满足的条件是_____、为使 PCR 产物能被限制酶切割，需在引物上添加相应的限制酶识别序列，该限制酶识别序列应添加在引物的_____ (填“3'端”或“5'端”)。

(2)PCR 扩增得到的 P 基因经酶切连接插入载体后，与编码 FLAG 的序列形成一个融合基因，如图甲所示，其中“ATGTGCA”为 P 基因编码链起始序列。将该重组载体导入细胞后，融合基因转录出的 mRNA 序列正确，翻译出的融合蛋白中 FLAG 的氨基酸序列正确，但 P 基因对应的氨基酸序列与 P 不同。据图甲分析，出现该问题的原因是_____。修改扩增 P 基因时使用的带有 EcoR I 识别序列的引物来解决该问题，具体修改方案是_____。



(3)融合蛋白表达成功后，将 FLAG-P、FLAG-P Δ 、药物 A 和 UBC 按照图乙中的组合方式分成 5 组。各组样品混匀后分别流经含 FLAG 抗体的介质，分离出与介质结合的物质并用 UBC 抗体检测，检测结果如图丙所示。已知 FLAG-P 和 FLAG-P Δ 不能降解 UBC，由①②③组结果的差异推测，药物 A 的作用是_____；由②④组或

③⑤组的差异推测，P Δ 中缺失的特定序列的作用是_____。



(4)根据以上结果推测，药物A治疗该病的机理是_____。

5. (2022年6月·浙江·高考真题)回答下列(一)、(二)小题:

(一)回答与产淀粉酶的枯草杆菌育种有关的问题:

(1)为快速分离产淀粉酶的枯草杆菌,可将土样用_____制成悬液,再将含有悬液的三角瓶置于80℃的_____中保温一段时间,其目的是_____。

(2)为提高筛选效率,可将菌种的_____过程与菌种的产酶性能测定一起进行:将上述悬液稀释后涂布于淀粉为唯一碳源的固体培养基上培养,采用_____显色方法,根据透明圈与菌落直径比值的大小,可粗略估计出菌株是否产酶及产酶性能。

(3)为了获得高产淀粉酶的枯草杆菌,可利用现有菌种,通过_____后再筛选获得,或利用转基因、_____等技术获得。

(二)回答与植物转基因和植物克隆有关的问题:

(4)在用农杆菌侵染的方法进行植物转基因过程中,通常要使用抗生素,其目的一是抑制_____生长,二是筛选转化细胞。当选择培养基中抗生素浓度_____时,通常会出现较多假阳性植株,因此在转基因前需要对受体进行抗生素的_____检测。

(5)为提高培育转基因植株的成功率,植物转基因受体需具有较强的_____能力和遗传稳定性。对培养的受体细胞遗传稳定性的早期检测,可通过观察细胞内_____形态是否改变进行判断,也可通过观察分裂期染色体的_____，分析染色体组型是否改变进行判断。

(6)植物转基因受体全能性表达程度的高低主要与受体的基因型、培养环境、继代次数和_____长短等有关。同时也与受体的取材有关,其中受体为_____时全能性表达能力最高。

6. (2022年1月·浙江·高考真题)回答下列(一)、(二)小题:

(一)红曲霉合成的红曲色素是可食用的天然色素,具有防腐、降脂等功能。研究者进行了红曲色素的提取及红色素的含量测定实验,流程如下:



(1)取红曲霉菌种斜面,加适量_____洗下菌苔,制成菌悬液并培养,解除休眠获得_____菌

种。经液体发酵，收集红曲霉菌丝体，红曲霉菌丝体与 70%乙醇溶液混合，经浸提、_____，获得的上清液即为红曲色素提取液。为进一步提高红曲色素得率，可将红曲霉细胞进行_____处理。

(2)红曲色素包括红色素、黄色素和橙黄色素等，红色素在 390nm、420nm 和 505nm 波长处均有较大吸收峰。用光电比色法测定红曲色素提取液甲的红色素含量时，通常选用 505nm 波长测定的原因是_____。测定时需用_____作空白对照。

(3)生产上提取红曲色素后的残渣，经_____处理后作为饲料添加剂或有机肥，这属于废弃物的无害化和_____处理。

(二)我国在新冠疫情方面取得了显著的成效，但全球疫情形势仍然非常严峻、尤其是病毒出现了新变异株——德尔塔、奥密克戎，更是威胁着全人类的生命健康。

(4)新冠病毒核酸定性检测原理是：以新冠病毒的单链 RNA 为模板，利用_____酶合成 DNA，经 PCR 扩增，然后在扩增产物中加入特异的_____，如果检测到特异的杂交分子则核酸检测为阳性。

(5)接种疫苗是遏制新冠疫情蔓延的重要手段。腺病毒疫苗的制备技术要点是：将腺病毒的复制基因敲除；以新冠病毒的_____基因为模板合成的 DNA 插入腺病毒基因组，构建重组腺病毒。重组腺病毒在人体细胞内表达产生新冠病毒抗原，从而引发特异性免疫反应。在此过程中，腺病毒的作用是作为基因工程中目的基因的_____。将腺病毒复制基因敲除的目的是_____。

(6)单克隆抗体有望用于治疗新冠肺炎。单克隆抗体的制备原理是：取免疫阳性小鼠的_____细胞与骨髓瘤细胞混合培养，使其融合，最后筛选出能产生特定抗体的杂交瘤细胞。与植物组织培养相比，杂交瘤细胞扩大培养需要特殊的成分，如胰岛素和_____。

(2021 年全国甲卷) 7. PCR 技术可用于临床的病原菌检测。为检测病人是否感染了某种病原菌，医生进行了相关操作：①分析 PCR 扩增结果；②从病人组织样本中提取 DNA；③利用 PCR 扩增 DNA 片段；④采集病人组织样本。回答下列问题：

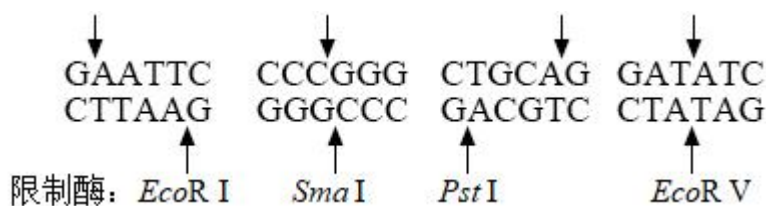
(1)若要得到正确的检测结果，正确的操作顺序应该是_____ (用数字序号表示)。

(2)操作③中使用的酶是_____。PCR 反应中的每次循环可分为变性、复性、_____三步，其中复性的结果是_____。

(3)为了做出正确的诊断，PCR 反应所用的引物应该能与_____ 特异性结合。

(4)PCR (多聚酶链式反应) 技术是指_____。该技术目前被广泛地应用于疾病诊断等方面。

(2021 年全国乙卷) 8. 用 DNA 重组技术可以赋予生物以新的遗传特性，创造出更符合人类需要的生物产品。在此过程中需要使用多种工具酶，其中 4 种限制性核酸内切酶的切割位点如图所示。



回答下列问题:

- 常用的 DNA 连接酶有 *E. coli* DNA 连接酶和 T₄DNA 连接酶。上图中_____酶切割后的 DNA 片段可以用 *E. coli* DNA 连接酶连接。上图中_____酶切割后的 DNA 片段可以用 T₄DNA 连接酶连接。
- DNA 连接酶催化目的基因片段与质粒载体片段之间形成的化学键是_____。
- DNA 重组技术中所用的质粒载体具有一些特征, 如质粒 DNA 分子上有复制原点, 可以保证质粒在受体细胞中能_____; 质粒 DNA 分子上有_____, 便于外源 DNA 插入; 质粒 DNA 分子上有标记基因 (如某种抗生素抗性基因), 利用抗生素可筛选出含质粒载体的宿主细胞, 方法是_____。
- 表达载体含有启动子, 启动子是指_____。

(2021 年广东卷) 9. 非细胞合成技术是一种运用合成生物学方法, 在细胞外构建多酶催化体系, 获得目标产物的新技术, 其核心是各种酶基因的挖掘、表达等。中国科学家设计了 4 步酶促反应的非细胞合成路线 (如图), 可直接用淀粉生产肌醇 (重要的医药食品原料), 以期解决高温强酸水解方法造成的严重污染问题, 并可以提高产率。

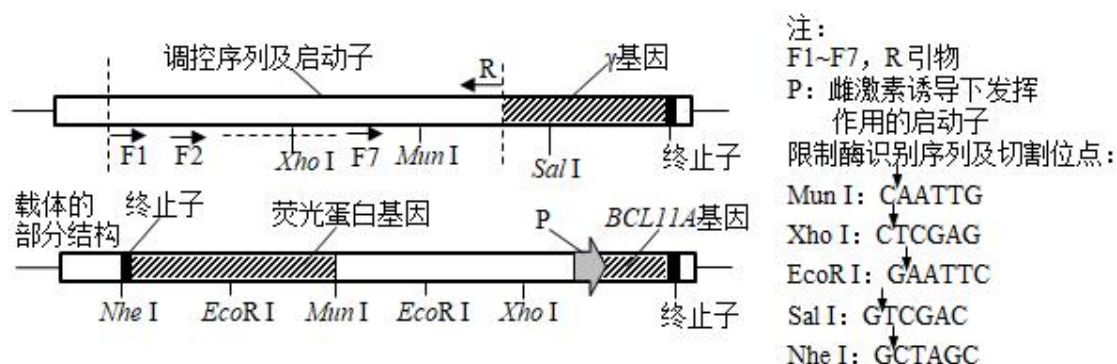


回答下列问题:

- 研究人员采用 PCR 技术从土壤微生物基因组中扩增得到目标酶基因。此外, 获得酶基因的方法还有_____。(答出两种即可)
- 高质量的 DNA 模板是成功扩增出目的基因的前提条件之一。在制备高质量 DNA 模板时必须除去蛋白, 方法有_____。(答出两种即可)
- 研究人员使用大肠杆菌 BL21 作为受体细胞、pET20b 为表达载体分别进行 4 种酶的表达。表达载体转化大肠杆菌时, 首先应制备_____细胞。为了检测目的基因是否成功表达出酶蛋白, 需要采用的方法有_____。
- 依图所示流程, 在一定的温度、pH 等条件下, 将 4 种酶与可溶性淀粉溶液混合组成一个反应体系。若这些酶最适反应条件不同, 可能导致的结果是_____。在分子水平上, 可以通过改变_____,

从而改变蛋白质的结构，实现对酶特性的改造和优化。

(2021 年山东卷)10. 人类 γ 基因启动子上游的调控序列中含有 BCL11A 蛋白结合位点，该位点结合 BCL11A 蛋白后， γ 基因的表达被抑制。通过改变该结合位点的序列，解除对 γ 基因表达的抑制，可对某种地中海贫血症进行基因治疗。科研人员扩增了 γ 基因上游不同长度的片段，将这些片段分别插入表达载体中进行转化和荧光检测，以确定 BCL11A 蛋白结合位点的具体位置。相关信息如图所示。



(1) 为将扩增后的产物定向插入载体指导荧光蛋白基因表达，需在引物末端添加限制酶识别序列。据图可知，在 F₁~F₇ 末端添加的序列所对应的限制酶是____，在 R 末端添加的序列所对应的限制酶是____。本实验中，从产物扩增到载体构建完成的整个过程共需要____种酶。

(2) 将构建的载体导入除去 BCL11A 基因的受体细胞，成功转化后，含 F₁~F₆ 与 R 扩增产物的载体表达荧光蛋白，受体细胞有荧光，含 F₇ 与 R 扩增产物的受体细胞无荧光。含 F₇ 与 R 扩增产物的受体细胞无荧光的原因是____。

(3) 向培养液中添加适量的雌激素，含 F₁~F₄ 与 R 扩增产物的受体细胞不再有荧光，而含 F₅~F₆ 与 R 扩增产物的受体细胞仍有荧光。若 γ 基因上游调控序列上与引物序列所对应的位置不含有 BCL11A 蛋白的结合位点序列，据此结果可推测，BCL11A 蛋白结合位点位于____，理由是____。

(2021 年 1 月浙江卷)11. 回答下列(一)、(二)小题：

(一) 某环保公司从淤泥中分离到一种高效降解富营养化污水污染物的细菌菌株，制备了固定化菌株。

(1) 从淤泥中分离细菌时常用划线分离法或____法，两种方法均能在固体培养基上形成____。对分离的菌株进行诱变、____和鉴定，从而获得能高效降解富营养化污水污染物的菌株。该菌株只能在添加了特定成分 X 的培养基上繁殖。

(2) 固定化菌株的制备流程如下：①将菌株与该公司研制的特定介质结合；②用蒸馏水去除____；③检验固定化菌株的____。菌株与特定介质的结合不宜直接采用交联法和共价偶联法，可以采用的 2 种方法是____。

(3) 对外，只提供固定化菌株有利于保护该公司的知识产权，推测其原因是_____。

(二) 三叶青为蔓生的藤本植物，以根入药。由于野生三叶青对生长环境要求非常苛刻，以及生态环境的破坏和过度的采挖，目前我国野生三叶青已十分珍稀。

(1) 为保护三叶青的_____多样性和保证药材的品质，科技工作者依据生态工程原理，利用_____技术，实现了三叶青的林下种植。

(2) 依据基因工程原理，利用发根农杆菌侵染三叶青带伤口的叶片，叶片产生酚类化合物，诱导发根农杆菌质粒上 *vir* 系列基因表达形成_____和限制性核酸内切酶等，进而从质粒上复制并切割出一段可转移的 DNA 片段 (T-DNA)。T-DNA 进入叶片细胞并整合到染色体上，T-DNA 上 *rol* 系列基因表达，产生相应的植物激素，促使叶片细胞持续不断地分裂形成_____，再分化形成毛状根。

(3) 剪取毛状根，转入含头孢类抗生素的固体培养基上进行多次_____培养，培养基中添加抗生素的主要目的是_____。最后取毛状根转入液体培养基、置于摇床上进行悬浮培养，通过控制摇床的_____和温度，调节培养基成分中的_____，获得大量毛状根，用于提取药用成分。

(2021 年天津卷) 12. 乳酸菌是乳酸的传统生产菌，但耐酸能力较差，影响产量。酿酒酵母耐酸能力较强，但不产生乳酸。研究者将乳酸菌的乳酸脱氢酶基因 (LDH) 导入酿酒酵母，获得能产生乳酸的工程菌株。下图 1 为乳酸和乙醇发酵途径示意图，图 2 为构建表达载体时所需的关键条件。

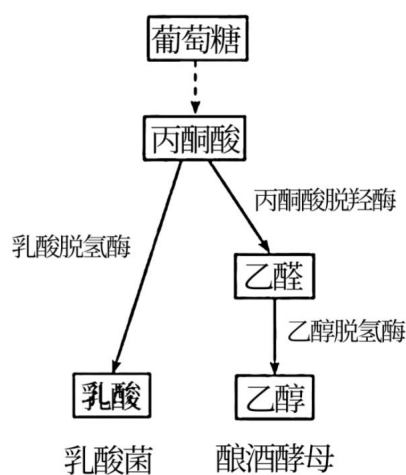


图1

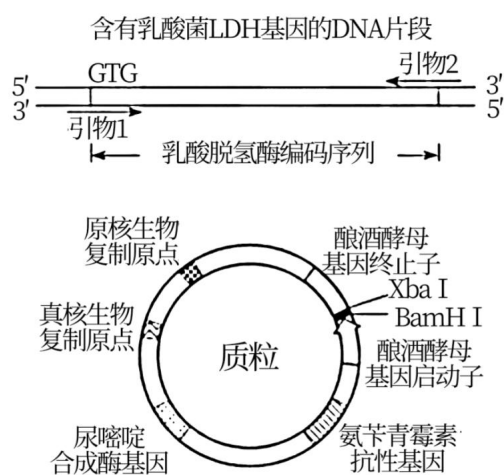


图2

(1) 乳酸脱氢酶在转基因酿酒酵母中参与厌氧发酵的场所应为_____。

(2) 获得转基因酿酒酵母菌株的过程如下：

① 设计引物扩增乳酸脱氢酶编码序列。

为使扩增出的序列中编码起始密码子的序列由原核生物偏好的 GTG 转变为真核生物偏好的 ATG，且能通过

双酶切以正确方向插入质粒,需设计引物 1 和 2。其中引物 1 的 5'端序列应考虑 和 。

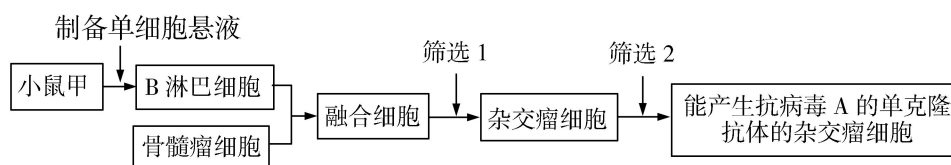
②将上述 PCR 产物和质粒重组后，导入大肠杆菌，筛选、鉴定，扩增重组质粒。重组质粒上有_____，所以能在大肠杆菌中扩增。启动子存在物种特异性，易被本物种的转录系统识别并启动转录，因此重组质粒上的乳酸脱氢酶编码序列（能/不能）在大肠杆菌中高效表达。

③提取重组质粒并转入不能合成尿嘧啶的酿酒酵母菌株,在_____的固体培养基上筛选出转基因酿酒酵母,并进行鉴定。

(3)以葡萄糖为碳源,利用该转基因酿酒酵母进行厌氧发酵,结果既产生乳酸,也产生乙醇。若想进一步提高其乳酸产量,下列措施中不合理的是 (单选)。

- A. 进一步优化发酵条件
- B. 使用乳酸菌 LDH 基因自身的启动子
- C. 敲除酿酒酵母的丙酮酸脱羧酶基因
- D. 对转基因酿酒酵母进行诱变育种

13. (2020 年全国统一高考生物试卷 (新课标 I) • 38) 为研制抗病毒 A 的单克隆抗体, 某同学以小鼠甲为实验材料设计了以下实验流程。



回答下列问题:

- (1) 上述实验前必须给小鼠甲注射病毒 A，该处理的目的是_____。
- (2) 写出以小鼠甲的脾脏为材料制备单细胞悬液的主要实验步骤：_____。
- (3) 为了得到能产生抗病毒 A 的单克隆抗体的杂交瘤细胞，需要进行筛选。图中筛选 1 所采用的培养基属于_____，使用该培养基进行细胞培养的结果是_____。图中筛选 2 含多次筛选，筛选所依据的基本原理是_____。
- (4) 若要使能产生抗病毒 A 的单克隆抗体的杂交瘤细胞大量增殖，可采用的方法有_____（答出 2 点即可）。

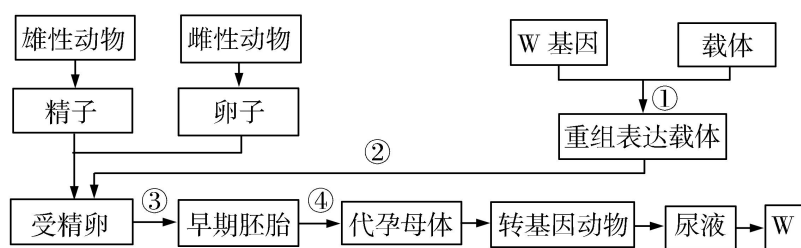
14. (2020 年全国统一高考生物试卷 (新课标 II) • 38) 植树造林、“无废弃物农业”、污水净化是建设美丽中国的重要措施。回答下列有关生态工程的问题:

- (1) 在植树造林时，一般认为，全部种植一种植物的做法是不可取的。因为与混合种植方式所构建的生态系统相比，按照种植一种植物方式所构建的生态系统，其抵抗力稳定性_____。抵抗力稳定性的含义是_____。
- (2) “无废弃物农业”是我国利用生态工程的原理进行农业生产的一种模式，其做法是收集有机物质。包括

人畜粪便、枯枝落叶等，采用堆肥和沤肥等多种方式，把它们转变为有机肥料，再施用到农田中。施用有机肥料的优点是_____（答出 3 点即可）。在有机肥料的形成过程中，微生物起到了重要作用，这些微生物属于生态系统组分中的_____。

（3）在污水净化过程中，除发挥污水处理厂的作用外，若要利用生物来回收污水中的铜、镉等金属元素，请提供一个方案：_____。

15.（2020 年全国统一高考生物试卷（新课标Ⅲ）• 38）W 是一种具有特定功能的人体蛋白质。某研究小组拟仿照制备乳腺生物反应器的研究思路，制备一种膀胱生物反应器来获得 W，基本过程如图所示。



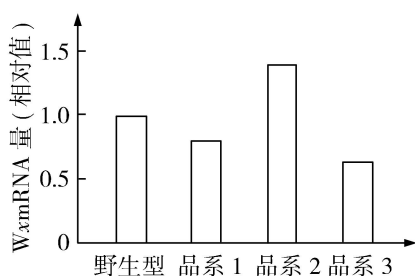
（1）步骤①中需要使用的工具酶有_____。步骤②和③所代表的操作分别是_____和_____。步骤④称为_____。

（2）与乳腺生物反应器相比，用膀胱生物反应器生产 W 的优势在于不受转基因动物的_____（答出 2 点即可）的限制。

（3）一般来说，在同一动物个体中，乳腺上皮细胞与膀胱上皮细胞的细胞核中染色体 DNA 所含的遗传信息_____（填相同或不同），原因是_____。

（4）从上述流程可知，制备生物反应器涉及胚胎工程，胚胎工程中所用到的主要技术有_____（答出 2 点即可）。

16.（2020 年山东省高考生物试卷（新高考）• 25）水稻胚乳中含直链淀粉和支链淀粉，直链淀粉所占比例越小糯性越强。科研人员将能表达出基因编辑系统的 DNA 序列转入水稻，实现了对直链淀粉合成酶基因（Wx 基因）启动子序列的定点编辑，从而获得了 3 个突变品系。



（1）将能表达出基因编辑系统的 DNA 序列插入 Ti 质粒构建重组载体时，所需的酶是_____，重组载体进入水稻细胞并在细胞内维持稳定和表达的过程称为_____。

(2) 根据启动子的作用推测, Wx 基因启动子序列的改变影响了_____, 从而改变了 Wx 基因的转录水平。与野生型水稻相比, 3 个突变品系中 Wx 基因控制合成的直链淀粉合成酶的氨基酸序列_____(填: 发生或不发生)改变, 原因是_____。

(3) 为检测启动子变化对 Wx 基因表达的影响, 科研人员需要检测 Wx 基因转录产生的 mRNA (Wx mRNA) 的量。检测时分别提取各品系胚乳中的总 RNA, 经_____过程获得总 cDNA。通过 PCR 技术可在总 cDNA 中专一性的扩增出 Wx 基因的 cDNA, 原因是_____。

(4) 各品系 Wx mRNA 量的检测结果如图所示, 据图推测糯性最强的品系为_____, 原因是_____。

17. (2020 年天津高考生物试卷) 某植物有 A、B 两品种。科研人员在设计品种 A 组织培养实验时, 参照品种 B 的最佳激素配比 (见下表) 进行预实验。

品种 B 组织培养阶段	细胞分裂素浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	生长素浓度 ($\mu\text{mol/L}$)
I 诱导形成愈伤组织	m_1	n_1
II 诱导形成幼芽	m_2	n_2
III 诱导生根	m_3	n_3

据表回答:

- (1) I 阶段时通常选择茎尖、幼叶等作为外植体, 原因是_____。
- (2) 在 I、II、III 阶段中发生基因选择性表达的是_____阶段。
- (3) 为确定品种 A 的 I 阶段的最适细胞分裂素浓度, 参照品种 B 的激素配比 ($m_1 > 2.0$), 以 $0.5 \mu\text{mol/L}$ 为梯度, 设计 5 个浓度水平的实验, 细胞分裂素最高浓度应设为_____ $\mu\text{mol/L}$ 。
- (4) III 阶段时, 科研人员分别选用浓度低于或高于 $n_3 \mu\text{mol/L}$ 的生长素处理品种 A 幼芽都能达到最佳生根效果, 原因是处理幼芽时, 选用低浓度生长素时的处理方法为_____, 选用高浓度生长素时的处理方法为_____。
- (5) 在_____阶段用秋水仙素对材料进行处理, 最易获得由单个细胞形成的多倍体。

18. (2020 年浙江省高考生物试卷 (7 月选考)) 回答下列 (二) 小题:

(二) 回答与基因工程和植物克隆有关的问题:

(1) 天然农杆菌的 Ti 质粒上存在着一段 DNA 片段 (T-DNA), 该片段可转移并整合到植物细胞染色体上。为便于转基因植物在组织培养阶段的筛选, 设计重组 Ti 质粒时, 应考虑 T-DNA 中要有可表达的目的基因, 还需要有可表达的_____。

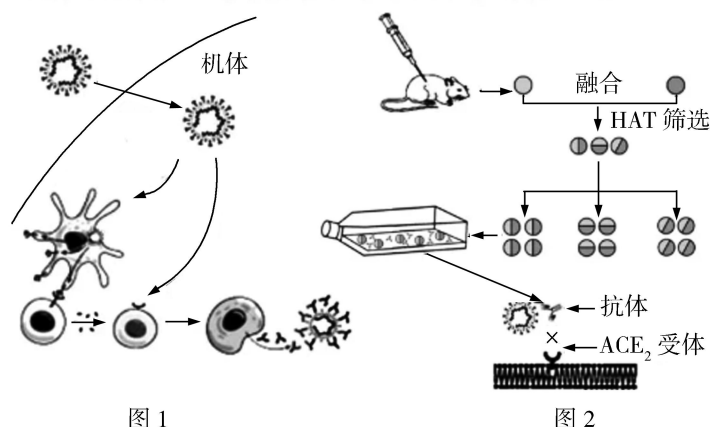
(2) 结合植物克隆技术进行转基因实验, 为获得转基因植株, 农杆菌侵染的宿主一般要选用具有优良性状、

较高的遗传稳定性、_____及易被农杆菌侵染等特点的植物材料。若植物材料对农杆菌不敏感，则可用_____的转基因方法。

(3) 利用带侧芽的茎段获得丛状苗的过程与利用茎段诱导产生愈伤组织再获得丛状苗的过程相比，前者总培养时间_____，且不经_____过程，因而其遗传性状稳定，是大多数植物快速繁殖的常用方法。

(4) 与发芽培养基相比，配制转基因丛状苗生根培养基时，可根据实际情况适当添加_____，促进丛状苗基部细胞分裂形成愈伤组织并进一步分化形成_____，最终形成根。还可通过改变 MS 培养基促进生根，如_____ (A. 提高蔗糖浓度 B. 降低培养基浓度 C. 提高大量元素浓度 D. 不添加琼脂)。

19. (2020 年江苏省高考生物试卷) 新型冠状病毒可通过表面的刺突蛋白 (S 蛋白) 与人呼吸道粘膜上皮细胞的 ACE2 受体结合，侵入人体，引起肺炎。图 1 为病毒侵入后，人体内发生的部分免疫反应示意图。单克隆抗体可阻断病毒的粘附或入侵，故抗体药物的研发已成为治疗新冠肺炎的研究热点之一。图 2 为筛选、制备抗 S 蛋白单克隆抗体的示意图。请据图回答下列问题：



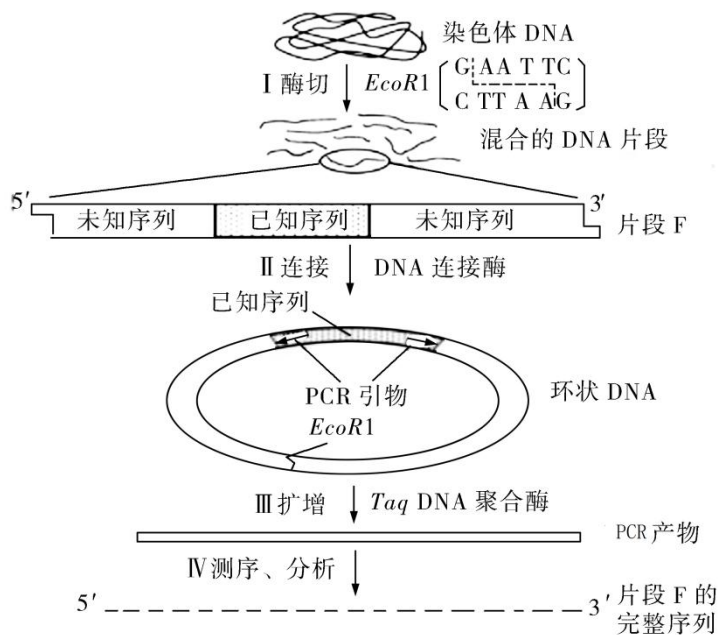
(1) 图 1 中人体内抗原递呈细胞吞噬病毒，并将病毒的抗原暴露在细胞表面，被_____细胞表面的受体识别后激活该细胞。

(2) B 细胞识别入侵的病毒后，在淋巴因子作用下，经过细胞的_____，形成_____细胞。

(3) 为判断疑似患者是否为新型冠状病毒感染者，采集鼻咽拭子主要用于病原学检查，检测病毒的_____；采集血液样本主要用于血清学检查，检测_____。

(4) 据图 2 所示，研制抗 S 蛋白单克隆抗体，需先注射_____免疫小鼠以激活小鼠的免疫细胞，再提取激活的 B 细胞与骨髓瘤细胞融合，用 HAT 培养基筛选获得_____细胞。因为同一种抗原可能激活_____细胞，还需继续筛选才能获得分泌单克隆抗体的细胞株。

20. (2020 年江苏省高考生物试卷) 如果已知一小段 DNA 的序列，可采用 PCR 的方法，简捷地分析出已知序列两侧的序列，具体流程如下图 (以 EcoRI 酶切为例)：



请据图回答问题：

- (1) 步骤 I 用的 *EcoR* I 是一种_____酶，它通过识别特定的_____切割特定位点。
- (2) 步骤 II 用的 DNA 连接酶催化相邻核苷酸之间的 3'-羟基与 5'-磷酸间形成_____；PCR 循环中，升温到 95℃ 是为了获得_____；TaqDNA 聚合酶的作用是催化_____。
- (3) 若下表所列为已知的 DNA 序列和设计的一些 PCR 引物，步骤 III 选用的 PCR 引物必须是_____（从引物①②③④中选择，填编号）。

	DNA 序列（虚线处省略了部分核苷酸序列）
已知序列	5'-AACTATGCGCTCATGA-----GCAATGCGTAGCCTCT-3' 3'-TTGATACGCGAGTACT-----CGTTACGCATCGGAGA-5'
PCR 引物	①5'- AACTATGCGCTCATGA-3' ②5'- GCAATGCGTAGCCTCT-3' ③5'- AGAGGCTACGCATTGC-3' ④5'- TCATGAGCGCATAGTT-3'

(4) 对 PCR 产物测序，经分析得到了片段 F 的完整序列。下列 DNA 单链序列中（虚线处省略了部分核苷酸序列），结果正确的是_____。

- A. 5'- AACTATGCG-----AGCCCTT-3'
- B. 5'- AATTCCATG-----CTGAATT-3'
- C. 5'- GCAATGCGT-----TCGGGAA-3'

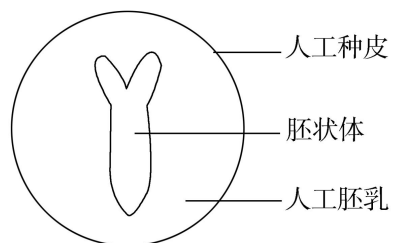
D. 5'-TTGATACGO-----CGAGTAC-3'

21. (2019 全国卷 I·38)

基因工程中可以通过 PCR 技术扩增目的基因。回答下列问题。

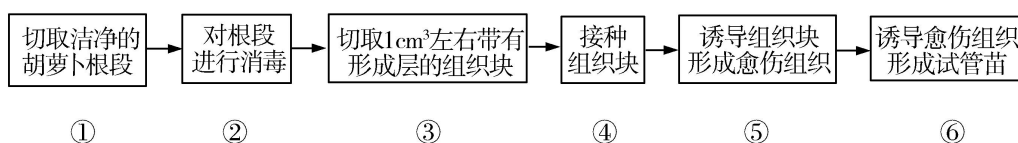
- (1) 基因工程中所用的目的基因可以人工合成,也可以从基因文库中获得。基因文库包括_____和_____。
- (2) 生物体细胞内的 DNA 复制开始时,解开 DNA 双链的酶是_____。在体外利用 PCR 技术扩增目的基因时,使反应体系中的模板 DNA 解链为单链的条件是_____。上述两个解链过程的共同点是破坏了 DNA 双链分子中的_____。
- (3) 目前在 PCR 反应中使用 *Taq* 酶而不使用大肠杆菌 DNA 聚合酶的主要原因是_____。

22. (2019 全国卷 II·38) 植物组织培养技术在科学研究和生产实践中得到了广泛的应用。回答下列问题。



- (1) 植物微型繁殖是植物繁殖的一种途径。与常规的种子繁殖方法相比,这种微型繁殖技术的特点有_____ (答出2点即可)。
- (2) 通过组织培养技术,可把植物组织细胞培养成胚状体,再通过人工种皮(人工薄膜)包装得到人工种子(如图所示),这种人工种子在适宜条件下可萌发生长。人工种皮具备透气性的作用是_____。人工胚乳能够为胚状体生长提供所需的物质,因此应含有植物激素、_____和_____等几类物质。
- (3) 用脱毒苗进行繁殖,可以减少作物感染病毒。为了获得脱毒苗,可以选取植物的_____进行组织培养。
- (4) 植物组织培养技术可与基因工程技术相结合获得转基因植株。将含有目的基因的细胞培养成一个完整植株的基本程序是_____ (用流程图表示)。

23. (2019 全国卷 III·38) 培养胡萝卜根组织可获得试管苗,获得试管苗的过程如图所示。



回答下列问题。

(1) 利用胡萝卜根段进行组织培养可以形成试管苗。用分化的植物细胞可以培养成完整的植株，这是因为植物细胞具有_____。

(2) 步骤③切取的组织块中要带有形成层，原因是_____。

(3) 从步骤⑤到步骤⑥需要更换新的培养基，其原因是_____。在新的培养基上愈伤组织通过细胞的_____过程，最终可形成试管苗。

(4) 步骤⑥要进行照光培养，其作用是_____。

(5) 经组织培养得到的植株，一般可保持原品种的_____，这种繁殖方式属于_____繁殖。

24. (2019北京卷·31) 光合作用是地球上最重要的化学反应，发生在高等植物、藻类和光合细菌中。

(1) 地球上生命活动所需的能量主要来源于光反应吸收的_____，在碳(暗)反应中，RuBP羧化酶(R酶)催化CO₂与RuBP(C₅)结合，生成2分子C₃，影响该反应的外部因素，除光照条件外还包括_____ (写出两个)；内部因素包括_____ (写出两个)。

(2) R酶由8个大亚基蛋白(L)和8个小亚基蛋白(S)组成。高等植物细胞中L由叶绿体基因编码并在叶绿体中合成，S由细胞核基因编码并在_____中由核糖体合成后进入叶绿体，在叶绿体的_____中与L组装成有功能的酶。

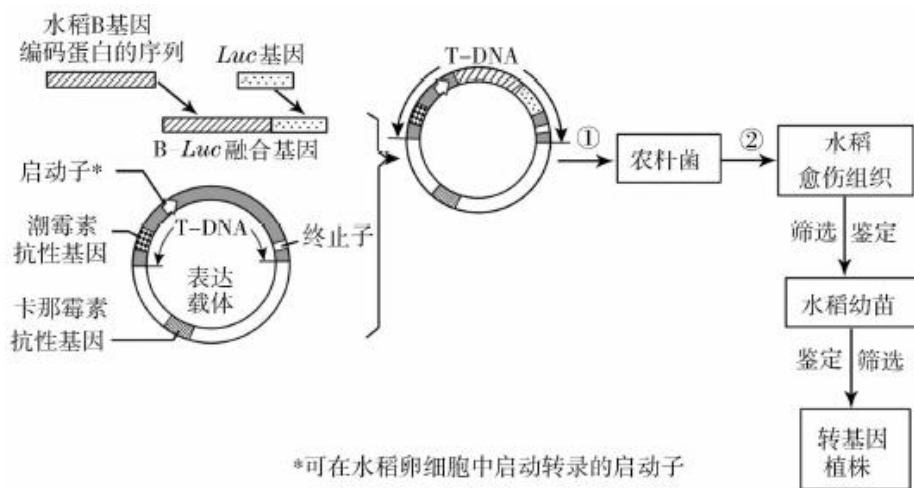
(3) 研究发现，原核生物蓝藻(蓝细菌)R酶的活性高于高等植物，有人设想通过基因工程技术将蓝藻R酶的S、L基因转入高等植物，以提高后者的光合作用效率。研究人员将蓝藻S、L基因转入某高等植物(甲)的叶绿体DNA中，同时去除甲的L基因。转基因植株能够存活并生长。检测结果表明，转基因植株中的R酶活性高于未转基因的正常植株。

①由上述实验能否得出“转基因植株中有活性的R酶是由蓝藻的S、L组装而成”的推测？请说明理由。

②基于上述实验，下列叙述中能够体现生物统一性的选项包括_____。

- a. 蓝藻与甲都以DNA作为遗传物质
- b. 蓝藻与甲都以R酶催化CO₂的固定
- c. 蓝藻R酶大亚基蛋白可在甲的叶绿体中合成
- d. 在蓝藻与甲的叶肉细胞中R酶组装的位置不同

25. (2019天津卷·9) B基因存在于水稻基因组中，其仅在体细胞(2n)和精子中正常表达，但在卵细胞中不转录。为研究B基因表达对卵细胞的影响，设计了如下实验。



据图回答：

(1) B 基因在水稻卵细胞中不转录，推测其可能的原因是卵细胞中_____ (单选)。

- A. 含 B 基因的染色体缺失
- B. DNA 聚合酶失活
- C. B 基因发生基因突变
- D. B 基因的启动子无法启动转录

(2) 从水稻体细胞或_____中提取总 RNA，构建_____文库，进而获得 B 基因编码蛋白的序列。将该序列与 Luc 基因（表达的荧光素酶能催化荧光素产生荧光）连接成融合基因（表达的蛋白质能保留两种蛋白质各自的功能），然后构建重组表达载体。

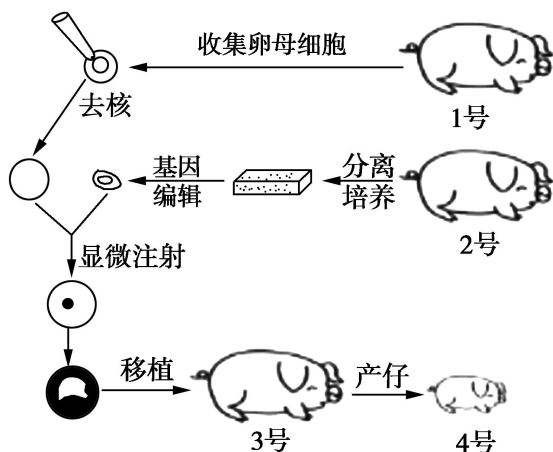
(3) 在过程①、②转化筛选时，过程_____中 T-DNA 整合到受体细胞染色体 DNA 上，过程_____在培养基中应加入卡那霉素。

(4) 获得转基因植株过程中，以下鉴定筛选方式正确的是_____ (多选)。

- A. 将随机断裂的 B 基因片段制备成探针进行 DNA 分子杂交
- B. 以 Luc 基因为模板设计探针进行 DNA 分子杂交
- C. 以 B 基因编码蛋白的序列为模板设计探针与从卵细胞提取的 mRNA 杂交
- D. 检测加入荧光素的卵细胞中是否发出荧光

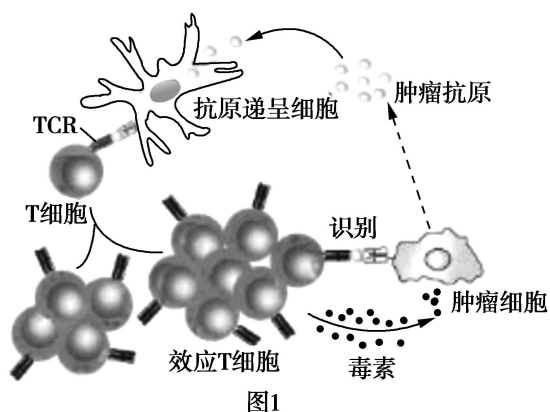
(5) 从转基因植株未成熟种子中分离出胚，观察到细胞内仅含一个染色体组，判定该胚是由未受精的卵细胞发育形成的，而一般情况下水稻卵细胞在未受精时不进行发育，由此表明_____。

26. (2019江苏卷·29) 利用基因编辑技术将病毒外壳蛋白基因导入猪细胞中，然后通过核移植技术培育基因编辑猪，可用于生产基因工程疫苗。下图为基因编辑猪培育流程，请回答下列问题：



- (1) 对1号猪使用_____处理，使其超数排卵，收集并选取处在_____时期的卵母细胞用于核移植。
- (2) 采集2号猪的组织块，用_____处理获得分散的成纤维细胞，放置于37℃的CO₂培养箱中培养，其中CO₂的作用是_____。
- (3) 为获得更多基因编辑猪，可在胚胎移植前对胚胎进行_____。产出的基因编辑猪的性染色体来自于_____号猪。
- (4) 为检测病毒外壳蛋白基因是否被导入4号猪并正常表达，可采用的方法有_____（填序号）。
- ①DNA测序 ②染色体倍性分析
- ③体细胞结构分析 ④抗原—抗体杂交

27. (2019江苏卷·31) (8分) 图1为T细胞通过表面受体(TCR)识别抗原递呈细胞呈递的肿瘤抗原后被激活，进而攻击肿瘤细胞的示意图。图2为肿瘤细胞的一种免疫逃逸机制示意图。肿瘤细胞大量表达PD-L1，与T细胞表面的PD-1结合，抑制T细胞活化，逃避T细胞的攻击。请回答下列问题：



- (1) 图1中抗原递呈细胞通过_____方式摄取肿瘤抗原。
- (2) 图1中T细胞识别肿瘤抗原后被激活，增殖并_____形成效应T细胞群和_____细胞群。
- (3) 图1中效应T细胞通过TCR只能识别带有同样抗原的肿瘤细胞，故发挥的免疫作用具有_____性，效应T细胞分泌毒素，使肿瘤细胞_____死亡。

(4) 为阻断图2中肿瘤细胞的免疫逃逸通路，利用单克隆抗体制备技术，制备了抗PD-L1抗体。该抗体注入体内后通过_____传送与_____结合，可解除T细胞的活化抑制。

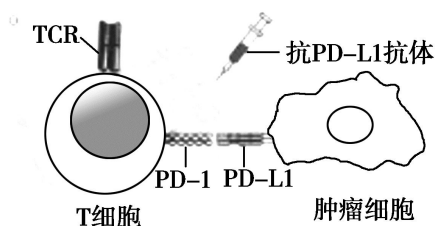


图2

(5) 为应用于肿瘤的临床免疫治疗，需对该抗体进行人源化改造，除抗原结合区域外，其他部分都替换为人抗体区段，目的是_____。

28. (2019 江苏卷·33) (8 分) 图 1 是某基因工程中构建重组质粒的过程示意图，载体质粒 P0 具有四环素抗性基因 (tet^r) 和氨苄青霉素抗性基因 (amp^r)。请回答下列问题：

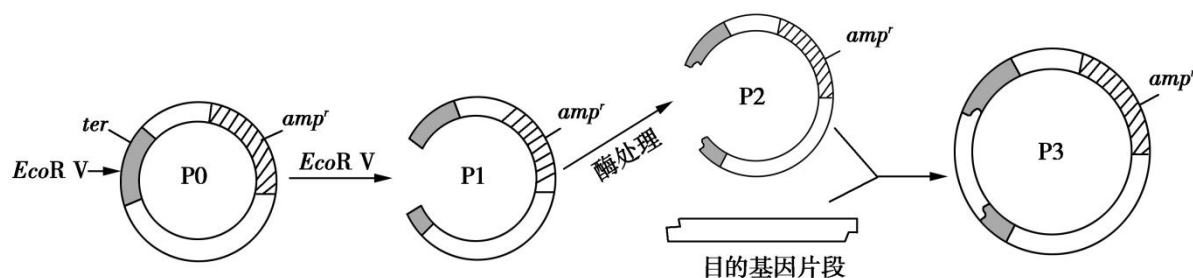


图1

...GAT↓ATC...

(1) $EcoRV$ 酶切位点为 ...CTA↑TAG..., $EcoRV$ 酶切出来的线性载体 P1 为_____末端。

(2) 用 Taq DNA 聚合酶进行 PCR 扩增获得的目的基因片段，其两端各自带有一个腺嘌呤脱氧核苷酸。载体 P1 用酶处理，在两端各添加了一个碱基为_____的脱氧核苷酸，形成 P2；P2 和目的基因片段在_____酶作用下，形成重组质粒 P3。

(3) 为筛选出含有重组质粒 P3 的菌落，采用含有不同抗生素的平板进行筛选，得到 A、B、C 三类菌落，其生长情况如下表（“+”代表生长，“-”代表不生长）。根据表中结果判断，应选择的菌落是_____（填表中字母）类，另外两类菌落质粒导入情况分别是_____、_____。

菌落类型/平板类型	A	B	C
无抗生素	+	+	+
氨苄青霉素	+	+	-
四环素	+	-	-

氨苄青霉素+四环素	+	-	-
-----------	---	---	---

(4) 为鉴定筛选出的菌落中是否含有正确插入目的基因的重组质粒，拟设计引物进行 PCR 鉴定。图 2 所示为甲、乙、丙 3 条引物在正确重组质粒中的相应位置，PCR 鉴定时应选择的一对引物是_____。某学生尝试用图中另外一对引物从某一菌落的质粒中扩增出了 400 bp 片段，原因是_____。

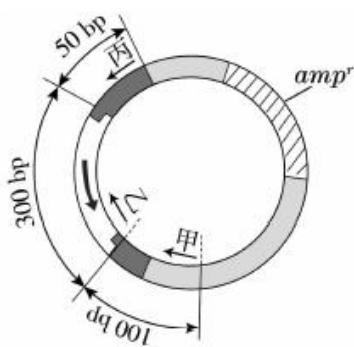


图 2

29. (2019 浙江 4 月选考·32) 回答下列 (二) 小题：

回答与利用生物技术培育抗病品种有关的问题：

(1) 通过抗病性强的植株获取抗病目的基因有多种方法。现已获得纯度高的抗病蛋白 (可作为抗原)，可通过_____技术获得特异性探针，并将_____中所有基因进行表达，然后利用该探针，找出能与探针特异性结合的表达产物，进而获得与之对应的目的基因。

(2) 将上述抗病基因通过转基因的方法导入植物的分生组织可获得抗病性强的植株。若在试管苗期间用分子水平方法判断抗病基因是否表达，应检测_____ (A. 质粒载体 B. 转录产物 C. 抗性基因 D. 病原微生物)。

(3) 植物细胞在培养过程中往往会发生_____，可利用这一特性筛选抗致病真菌能力强的细胞。筛选时在培养基中加入_____，并将存活的细胞进一步培养至再生植株。若利用_____培养建立的细胞系用于筛选，则可快速获得稳定遗传的抗病植株。

(4) 用抗病品种与高产品种进行杂交育种过程中，有时会遇到因胚发育中止而得不到可育种子的情况。若要使该胚继续发育获得植株，可采用的方法是_____。

30. (2018 全国 I 卷·38) 回答下列问题：

(1) 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_____ (答出两点即可)。

(2) 体外重组的质粒可通过 Ca^{2+} 参与的_____方法导入大肠杆菌细胞；而体外重组的噬菌体 DNA 通常需与_____组装成完整噬菌体后，才能通过侵染的方法将重组的噬菌体 DNA 导入宿主细胞，在细菌、心肌细胞、叶肉细胞中，可作为重组噬菌体宿主细胞的是_____。

(3) 真核生物基因(目的基因)在大肠杆菌细胞内表达时,表达出的蛋白质可能会被降解。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,在蛋白质纯化的过程中应添加_____的抑制剂。

31. (2018 全国II卷·38) 某种荧光蛋白(GFP)在紫外光或蓝光激发下会发出绿色荧光,这一特性可用于检测细胞中目的基因的表达。某科研团队将某种病毒的外壳蛋白(L1)基因连接在 GFP 基因的 5'末端,获得了 L1-GFP 融合基因(简称为甲),并将其插入质粒 P0,构建了真核表达载体 P1,其部分结构和酶切位点的示意图如下,图中 E1~E4 四种限制酶产生的黏性末端各不相同。



回答下列问题:

(1) 据图推断,该团队在将甲插入质粒 P0 时,使用了两种限制酶,这两种酶是_____。使用这两种酶进行酶切是为了保证_____,也是为了保证_____。

(2) 将 P1 转入体外培养的牛皮肤细胞后,若在该细胞中观察到了绿色荧光,则说明 L1 基因在牛的皮肤细胞中完成了_____和_____过程。

(3) 为了获得含有甲的牛,该团队需要做的工作包括:将能够产生绿色荧光细胞的_____移入牛的_____中、体外培养、胚胎移植等。

(4) 为了检测甲是否存在于克隆牛的不同组织细胞中,某同学用 PCR 方法进行鉴定。在鉴定时应分别以该牛不同组织细胞中的_____ (填“mRNA”“总 RNA”或“核 DNA”)作为 PCR 模板。

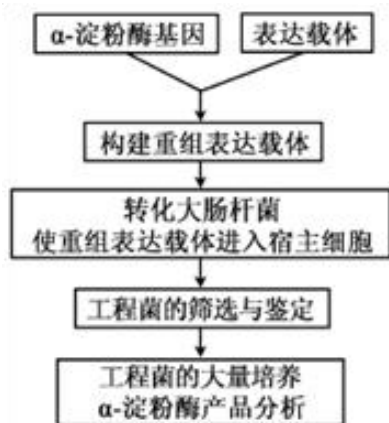
32. (2018 全国III卷·38) 2018 年《细胞》期刊报道,中国科学家率先成功地应用体细胞对非人灵长类动物进行克隆,获得两只克隆猴——“中中”和“华华”。回答下列问题:

(1) “中中”和“华华”的获得涉及核移植过程,核移植是指_____。通过核移植方法获得的克隆猴,与核供体相比,克隆猴体细胞的染色体数目_____ (填“减半”“加倍”或“不变”)

(2) 哺乳动物的核移植可以分为胚胎细胞核移植和体细胞核移植,胚胎细胞核移植获得克隆动物的难度_____ (填“大于”或“小于”)体细胞核移植,其原因是_____。

(3) 在哺乳动物核移植的过程中,若分别以雌性个体和雄性个体的体细胞作为核供体,通常,所得到的两个克隆动物体细胞的常染色体数目_____ (填“相同”或“不相同”),性染色体组合_____ (填“相同”或“不相同”)。

33. (2018 江苏卷·32) 为生产具有特定性能的 α -淀粉酶,研究人员从某种海洋细菌中克隆了 α -淀粉酶基因(1656 个碱基对),利用基因工程大量制备 α -淀粉酶,实验流程见下图。请回答下列问题:



(1) 利用 PCR 技术扩增 α -淀粉酶基因前，需先获得细菌的_____。

(2) 为了便于扩增的 DNA 片段与表达载体连接，需在引物的_____端加上限制性酶切位点，且常在两条引物上设计加入不同的限制性酶切位点，主要目的是_____。

(3) 进行扩增时，反应的温度和时间需根据具体情况进行设定，下列选项中_____的设定与引物有关，_____的设定与扩增片段的长度有关。(填序号)

- ①变性温度 ②退火温度
③延伸温度 ④变性时间
⑤退火时间 ⑥延伸时间

(4) 下图表示筛选获得的工程菌中编码 α -淀粉酶的 mRNA 的部分碱基序列：

5'-AUGCCAUCAACAAAUACUAAACACUU……-3'

图中虚线框内 mRNA 片段包含_____个密码子，如虚线框后的序列未知，预测虚线框后的第一个密码子最多有_____种。

(5) 获得工程菌表达的 α -淀粉酶后，为探究影响酶活性的因素，以浓度为 1%的可溶性淀粉为底物测定酶活性，结果如下：

缓冲液	50mmol/LNa ₂ HPO ₄ -KH ₂ PO ₄				50mmol/LTris-HCl				50mmol/LGly-NaOH			
pH	6.0	6.5	7.0	7.5	7.5	8.0	8.5	9.0	9.0	9.5	10.0	10.5
酶相对活性%	25.4	40.2	49.8	63.2	70.1	95.5	99.5	85.3	68.1	63.7	41.5	20.8

根据上述实验结果，初步判断该 α -淀粉酶活性最高的条件为_____。

34. (2018 海南·31) 甜蛋白是一种高甜度的特殊蛋白质。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) 用农杆菌感染时, 应优先选用黄瓜_____ (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_____。

(2) 若在转基因黄瓜中检测到这种甜蛋白, 则表明该重组质粒中_____已转移到植物细胞中且能够表达; 用该转基因黄瓜的某一植株与一株非转基因植株杂交, 发现子代中含甜蛋白个体数与不含甜蛋白个体数之比为 1: 1, 则说明甜蛋白基因已经整合到_____ (填“核基因组”“线粒体基因组”或“叶绿体基因组”) 中。

(3) 假设某种转基因作物因为受到病毒感染而减产, 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。

(4) 通常, 基因工程操作主要有 4 个步骤, 即目的基因获取、重组表达载体的构建、将目的基因导入受体细胞、目的基因的检测与鉴定。因此, 基因工程的含义可概括为_____。

