

物环境的循环过程。物质循环具有全球性、循环往复运动的特点。

(3) 该生态系统的营养结构为乙 \rightarrow a \xrightarrow{b} c \xrightarrow{d} , 碳在各营养级生物之间以含碳有机物的形式传递。

(4) 丙为消费者, 在生态系统中不可或缺, 其作用主要体现在加快生态系统的物质循环, 有利于植物的传粉和种子的传播。

(5) 种群的年龄组成在 S_2 点为增长型, 因为此时的种群数量还未达到 K 值。 S_3 点对应的种群数量为 $\frac{K}{2}$, 此时的种群增长率最大, 为持续获得最大的捕捞量, 应在种群数量高于 S_3 点对应数量时进行捕捞, 使捕捞后的数量保持在 $\frac{K}{2}$ (S_3 点对应数量), 这样可以使种群数量快速增长。

13. (1) 小于 (2) ④ 尽量减少使用化石燃料; 扩大绿化面积, 增加绿色植物对 CO_2 的吸收等

(3) 芦苇、水芹和睡莲等水生植物能遮挡阳光、吸收无机盐、抑制微囊藻的繁殖, 并通过收获相关产品输出水中的 N、P

(4) $b-d-e$ $\frac{b-c-d}{a}$ 生态位

【解析】(1) 达到“碳中和”时, ④光合作用过程吸收的 CO_2 总量应等于 CO_2 排放总量, 而 CO_2 排放总量除包括①②③⑤过程释放的 CO_2 外, 还包括化石燃料的开采和使用过程中排放的 CO_2 , 所以达到“碳中和”时, ①②③⑤过程释放的 CO_2 总量小

于④过程固定的 CO_2 总量。

(2) 提高④光合作用过程是缩小生态足迹的措施之一。过度的人工碳排放, 即过度燃烧化石燃料, 会破坏生态系统的碳平衡, 使大气中二氧化碳的含量上升, 导致气温升高, 从而形成温室效应。为了避免温室效应的形成, 可以设法增加 CO_2 的去路、减少 CO_2 的来路, 故采取的措施有尽量减少使用化石燃料(减少来路); 扩大绿化面积, 增加绿色植物对 CO_2 的吸收(增加去路)等。

(3) 在富营养化的湖泊中微囊藻大量繁殖, 造成鱼虾大量死亡, 而芦苇、水芹和睡莲等水生植物能遮挡阳光、吸收无机盐, 进而抑制微囊藻的繁殖, 并可通过收获相关产品输出水中的 N、P, 因此种植芦苇、水芹和睡莲等水生植物既能有效抑制微囊藻繁殖, 又能治理富营养化。

(4) 草鱼用于生长、发育和繁殖的能量 = 草鱼同化的能量 - 草鱼呼吸作用散失的能量 = 草鱼摄入食物中的能量 - 草鱼粪便中的能量 - 草鱼呼吸作用散失的能量 = $(b-d-e)$ ($kJ \cdot m^{-2} \cdot a^{-1}$), 能量传递效率是本营养级从上一营养级获得的同化量 \div 上一营养级的同化量 $\times 100\% = \frac{b-c-d}{a} \times 100\%$ 。生态位是指一个物种在群落中的地位或作用, 采取以鳙鱼、鲢鱼、草鱼、青鱼四大家鱼为主的多鱼种混养模式, 利用的是它们在池塘中占据不同的生态位, 混养可以更好地利用池塘中的食物和空间。

专题十 生物技术与工程

考向 1 发酵工程

刷考点

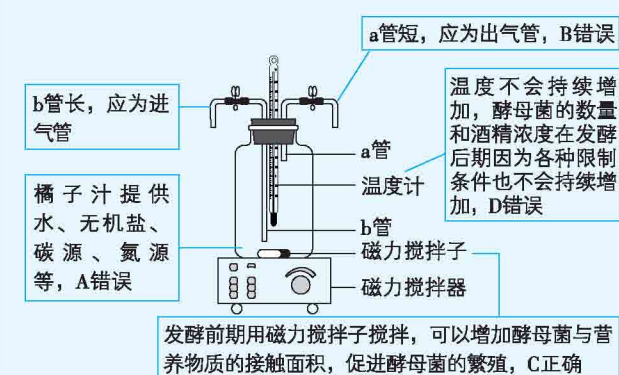
1. C 【解析】用谷氨酸棒状杆菌发酵生产味精, 用醋酸菌发酵生产醋, 二者均为原核生物, A 正确; 酱油和腐乳的发酵过程, 都利用了霉菌产生的蛋白酶将蛋白质分解成小分子的肽和氨基酸, B 正确; 白酒的制作过程中, 需要先在有氧环境中让酵母菌大量繁殖, 然后在无氧环境中, 让酵母菌通过无氧呼吸产生酒精, C 错误; 溶菌酶能通过破坏细菌的细胞壁, 使细菌失去保护而死亡, 因此延长食品的保存期可以添加适量的溶菌酶作为防腐剂, D 正确。

2. D 【解析】发酵过程 II 是醋酸菌利用酒精生产醋酸的过程, 需要 O_2 但不产生 CO_2 , A 错误。酒精发酵过程中酵母菌无氧呼吸会产生 CO_2 , 使发酵液 pH 降低, 醋酸发酵过程中产生的醋酸会使发酵液的 pH 再度降低, B 错误。酒精发酵的适宜温度为 $18 \sim$

$30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 醋酸发酵的适宜温度为 $30 \sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, 因此发酵过程 I (酒精发酵) 的温度比发酵过程 II (醋酸发酵) 低, C 错误。发酵罐内发酵是发酵工程的中心环节, 因此发酵过程 I、II 是此生产过程的中心环节, D 正确。

3. C

题图分析



4. B 【解析】在发酵初期,有害菌的生长较为旺盛,使得亚硝酸盐的生成较快,含量较高,故酸笋发酵需要适宜的发酵时间,时间过短可能导致亚硝酸盐含量过高, **A 正确**;竹笋表面含有发酵的天然菌种,故对原材料进行预处理时不能对竹笋进行灭菌,否则会杀死发酵所需的天然菌种, **B 错误**;因为上一批次的发酵液中含有大量的发酵菌种,故适当加入上一批次的发酵液可加快发酵进程, **C 正确**;发酵过程中会产生酸性物质,酸性环境会抑制大多数微生物的生长繁殖, **D 正确**。

5. A 【解析】制作果醋利用的是醋酸菌,制作腐乳利用的主要是毛霉,它们的代谢类型均为异养需氧型, **A 正确**;果醋发酵利用的醋酸菌为好氧菌,故果醋发酵过程中需要一直通气, **B 错误**;牛奶不宜用高压蒸汽灭菌,高温会破坏牛奶的营养成分, **C 错误**;葡

→ **易错点**: 牛奶宜用巴氏消毒法进行消毒

萄酒制作完成后可打开瓶盖并盖上一层纱布,同时需上调发酵温度,进行葡萄醋的发酵, **D 错误**。

6. D 【解析】赤霉素可以促进种子产生淀粉酶, **A 正确**;焙烤的温度一般不会使淀粉酶失活,碾磨能促使淀粉与淀粉酶充分接触,从而利于糖化, **B 正确**;煮沸时加入啤酒花能增加啤酒的苦味等风味,蒸煮后温度高,需冷却才能接种,否则会使菌种失活, **C 正确**;后发酵阶段应在低温、密封环境中进行, **D 错误**。

7. C 【解析】大豆中含有丰富的蛋白质,可为微生物的生长繁殖提供氮源,小麦中的淀粉可以为微生物的生长繁殖提供碳源, **A 正确**;米曲霉发酵时需提供营养物质并通入空气搅拌,因此米曲霉属于异养需氧型真核生物, **B 正确**;乳酸菌属于厌氧菌,无氧条件

→ **易错点**: 霉菌属于真核生物

下,乳酸菌发酵可产生乳酸,但不能产生 CO_2 , **C 错误**;抑制杂菌污染和繁殖是酱油质量的重要保障,在发酵池中酵母菌产生的酒精能抑制杂菌生长,乳酸菌产生的乳酸使发酵液呈酸性,也能抑制杂菌生长,同时往发酵池中添加的食盐也能抑制杂菌生长, **D 正确**。

8. D 【解析】根据题图可知,应从酵母菌细胞中提取蛋白质, **A 错误**;酵母菌在有氧条件下会大量繁殖,进而能生产大量的菌体细胞,因而可推测,该生产工艺利用微生物有氧发酵技术生产蛋白质, **B 错误**;果糖生产废水中的果糖为微生物的生长提供碳源,果糖中不含氮元素,因而果糖不能为微生物的生长提供氮源, **C 错误**;连续搅拌有利于增加废水废料中的含氧量,促进酵母菌进行有氧呼吸,也有利于增加有机物与酵母菌的接触,加快酵母菌吸收利用废水废料中的有机物, **D 正确**。

9. C 【解析】紫外线照射能诱导生物发生基因突变,提高突变率,获得更多的突变菌株, **A 正确**;据图可知, B 步骤采用了稀释涂布平板法在培养基②上进行接种, **B 正确**;③为基本培养基,需要提供氮源,不需要添加赖氨酸, **C 错误**;菌落甲在培养基③内对应位置无菌落,因此纯化培养菌落甲可得到所需突变菌株, **D 正确**。

10. C 【解析】该种微生物生活在海洋中,故按海水的成分和浓度配制的培养基可以用来培养该种微生物, **A 正确**;分离和纯化微生物常用平板划线法和稀释涂布平板法,平板划线法是用接种环在培养基表面对样品连续划线、逐步稀释, **B 正确**;用液体培养基培养微生物可从培养液中获得次级代谢产物,用于抗菌菌活性检测, **C 错误**;获得目的微生物后,可利用基因工程的手段定向改造生物,调节其代谢途径以提高产量, **D 正确**。

11. D 【解析】抑菌圈越大,说明该种抗生素对该种病原微生物抑制作用越强,说明该病原微生物对该种抗生素敏感性越大, **A 正确**;图 1 抑菌圈Ⅳ中出现了部分菌落,可能是该病原微生物发生了基因突变,产生了耐药性, **B 正确**;进行药敏试验,需利用稀释涂布平板法将平板上布满测试菌,使用的工具是涂布器, **C 正确**;接种后的平板应倒置培养,如图 2 中①所示,倒置培养能防止冷凝形成的水珠滴入培养基, **D 错误**。

12. A 【解析】由题干信息可知,操作过程中并未对清洗液进行稀释, **A 错误**;由于两个或更多的细胞连在一起时,观察到的只是一个菌落,因此利用稀释涂布平板法得到的鸡蛋表面菌落数可能比实际数略少, **B 正确**;无论在夏季还是冬季,半封闭式养殖模式的鸡蛋表面菌落数都明显高于全封闭式养殖模式,由此可知鸡蛋表面的细菌主要来自环境, **C 正确**;在两种养殖模式下,冬季的鸡蛋表面菌落数均高于夏季,故冬季鸡舍更需要消毒来减少鸡蛋表面的细菌污染, **D 正确**。

13. C 【解析】烟草中有果胶、纤维素、淀粉、木聚糖等多种多糖,筛选获得 S1~S5 微生物菌株时不应以淀粉为唯一碳源, **A 错误**;平板划线法通过接种环在固体培养基表面连续划线的操作,将聚集的菌种逐步稀释分散到培养基的表面,不需对培养液进行稀释, **B 错误**;据图分析可知, S1 微生物的多种多糖酶活力都较强,故用 S1 单菌落培养获得的纯培养物对烟叶进行醇化效果最好, **C 正确**;通常低温下酶的活性低,酶催化化学反应需要适宜的温度,故烟叶醇化发酵应在适宜的温度下进行, **D 错误**。

14. BCD 【解析】纤维素是大分子,菌 T 不能吸收,菌 T 能够分泌纤维素酶将纤维素最终分解为葡萄糖, **A 错误**;稀释涂布平板法和平板划线法都是酵母菌纯培养时常用的接种方法, **B 正确**;淋洗液可用湿热灭菌法进行灭菌,培养瓶可用干热灭菌法进行灭菌, **C 正确**;本实验利用的发酵底物主要是秸秆分解产

生的葡萄糖,以粮食为原料发酵生产乙醇,其发酵底物主要是粮食中的淀粉分解产生的葡萄糖,二者所利用的发酵底物均主要为葡萄糖,D 正确。

15. (1) 次生 降解苯甲酸的根际菌大多分布在富含苯甲酸的环境中,多年连续种植花生的土壤中苯甲酸含量相对较高

(2) 以苯甲酸为唯一碳源 1.8×10^4

(3) 过滤、沉淀 能否在环境中大量生长繁殖、是否具有广谱降解的特性(是否能降解除苯甲酸以外的苯乙酮等物质)

【解析】(1) 因为苯甲酸等物质不是花生基本的生命活动所必需的物质,所以属于次生代谢物。降解苯甲酸的根际菌大多分布在富含苯甲酸的环境中,多年连续种植花生的土壤中苯甲酸含量相对较高,因此从这种土壤中获得降解苯甲酸的微生物的概率要高于普通土壤。

(2) 为确保能够分离得到分解苯甲酸的微生物,常将土壤稀释液先进行选择培养,该培养基应以苯甲酸为唯一碳源,其他营养物质适宜。分离、纯化培养时,采用稀释涂布平板法接种,先进行等浓度梯度稀释,如果每次稀释 10 倍,则取 0.2 mL 菌液需要添加 1.8 mL 无菌水,图中一共稀释了 4 次,因此总共稀释了 10^4 倍。

(3) 获得的菌种可通过发酵工程大量增殖,并通过过滤、沉淀等方式将微生物本身分离出来。得到的苯甲酸降解菌能否降解除苯甲酸以外的苯乙酮等物质,能否适应土壤环境并大量繁殖等问题均是在推广前要考虑的问题。

方法总结 培养微生物的培养基按照功能划分可分为选择培养基和鉴别培养基等,选择培养基是指允许特定种类的微生物生长,同时抑制或阻止其他种类微生物生长的培养基。利用选择培养基,可使混合菌群中的某种(类)微生物的生长繁殖占优势,从而提高该种(类)微生物的筛选效率。

重难专项 22 微生物计数

1. B 【解析】制作题述平板时培养基不需要加入血清,动物细胞培养需要血清,A 错误;菌落是指在固体培养基上长出的肉眼可见的子细胞群体,因此,实验培养菌落所用的培养基应为固体培养基,B 正确;按题述稀释涂布平板法,若三个平板上的菌落平均数为 100 个,则每毫升样品中细菌总数为 $100 \div 0.1 \times 10^5 = 1 \times 10^8$ (个),C 错误;食用常乳前,最佳的消毒方法是巴氏消毒法,该方法不仅能杀死绝大多数微生物,还能避免常乳中的营养成分被破坏,D 错误。

方法总结 稀释涂布平板法计数

(1) 原理:当样品的稀释度足够高时,培养基表面生长的一个单菌落,来源于样品稀释液中的一个活菌。通过统计平板上的菌落数,就能推测出样品中大约含有多少活菌。

(2) 操作:①设置重复组,增强实验的说服力与准确性;②为了保证结果准确,一般选择菌落数在 30~300 的平板进行计数。

(3) 计算公式:每克(或毫升)样品中的菌株数 = $(C \div V) \times M$,其中 C 代表某一稀释度下平板上生长的平均菌落数, V 代表涂布平板时所用的稀释液的体积(mL), M 代表稀释倍数。

2. D 【解析】“探究培养液中酵母菌种群数量变化”的实验中,先放置盖玻片,将培养液滴于盖玻片边缘,然后让培养液从盖玻片边缘处自行渗入计数室,A 错误;滴加培养液后等细胞沉降到计数室底部再开始计数,B 错误;计数同一样品时,应统计计数室中的 5 个中方格,再取平均值,C 错误;图中一个中方格中活的酵母

菌有 9 个,等体积染色相当于稀释两倍,则该 1 mL 样品中酵母菌

数约为 $9 \div 16 \times 400 \times 10^4 \times 200 = 4.5 \times 10^8$ (个),D 正确。

关键点: 每毫升培养液中的酵母菌数 = 每个小方格中的平均酵母菌数 $\times 400 \times 10^4 \times$ 稀释倍数

3. (1) 高压蒸汽灭菌法(或湿热灭菌法) 选择

(2) 1.28×10^7 个/mL 偏大

(3) 低频性 不含链霉素的培养基中的大肠杆菌未接触过链霉素却产生了链霉素抗性,说明该抗性并非链霉素诱导而是自发产生的

【解析】(1) 对培养基灭菌一般使用高压蒸汽灭菌法(或湿热灭菌法),使用 3 号培养基的目的是筛选出具有链霉素抗性的大肠杆菌,所以 3 号培养基属于选择培养基。

(2) 菌落平均值为 $(125 + 126 + 133) \div 3 = 128$ (个),4 号培养液中大肠杆菌密度约为 $128 \times 10^4 \div 0.1 = 1.28 \times 10^7$ (个/mL);使用细菌计数板直接计数会把死菌也计入,所以计数结果偏大。

(3) 3 号培养基属于选择培养基,能筛选出具有链霉素抗性的大肠杆菌,3 号培养基上菌落数目较 1 号和 2 号培养基少很多,说明突变产生链霉素抗性的大肠杆菌数量较少,说明基因突变具有低频性;1 号和 2 号培养基中的大肠杆菌没有接触过链霉素,但是部分却突变产生了链霉素抗性,说明这种突变是自发产生的而不是由于链霉素的诱导,所以证明了基因突变是自发产生的而不是环境因素诱导的结果。

考向2 细胞工程

刷考点

1. B 【解析】外植体消毒时先用体积分数为 70% 的酒精处理 30 s, 后用质量分数为 5% 左右的次氯酸钠溶液处理 30 min, A 正确; 外植体插入培养基时需形态学上端朝上, 不要倒插, B 错误; 在诱导外植体转变为愈伤组织的过程中一般不需要给予光照, C 正确; 将幼苗先移植到消过毒的珍珠岩等环境中, 待其长壮后再移栽入土, D 正确。

方法总结 外植体消毒过程: 酒精擦拭双手和超净工作台台面→外植体(幼嫩的茎段)流水冲洗→酒精消毒→无菌水清洗→次氯酸钠溶液处理→无菌水清洗。

2. A 【解析】细胞产物的工厂化生产可利用植物细胞培养技术, 通过促进细胞增殖, 从而获得大量次生代谢物, A 正确; 植物顶端分生区附近(如茎尖)的病毒极少, 甚至无病毒, 因此, 切取一定大小的茎尖进行组织培养, 再生的植株就有可能不带病毒, 从而获得脱毒苗, 脱毒苗不具有抗病毒的特点, B 错误; 利用花药离体培养可获得玉米单倍体幼苗, 再经过诱导染色体数目加倍后, 从中选择出具有优良性状的个体, 这样能够极大缩短育种年限, C 错误; 植物的快速繁殖技术是指用于快速繁殖优良品种的植物组织培养技术, 它可以保持优良品种的遗传特性, 因此在运用此项技术快速繁殖花卉过程中, 不能改良植物的性状, D 错误。

3. D

题图分析 图中①是接种外植体的过程, ②是脱分化过程, ③和④分别是诱导生芽和诱导生根的过程, ⑤是幼苗形成新的植株的过程。

【解析】由题图分析可知, ①过程是接种外植体, 该过程需要消毒以实现无菌操作, A 错误; ②是脱分化过程, 脱分化过程中也有基因的选择性表达, B 错误; 由题图分析可知, ③是诱导生芽, ④是诱导生根, 两个过程所用植物激素的比例不同, C 错误; ⑤是幼苗形成新的植株的过程, 该过程中存在细胞的分裂、生长、分化和凋亡, D 正确。

4. B 【解析】植物体细胞杂交技术打破了原来的生殖隔离, 能实现远缘杂交育种, A 正确; 植物体细胞杂交技术的关键环节是原生

→ **突破点:** 基因工程、植物体细胞杂交、动物细胞融合等技术可克服远缘杂交不亲和的障碍, 使自然状态下无法实现的物种间的基因交流能够进行

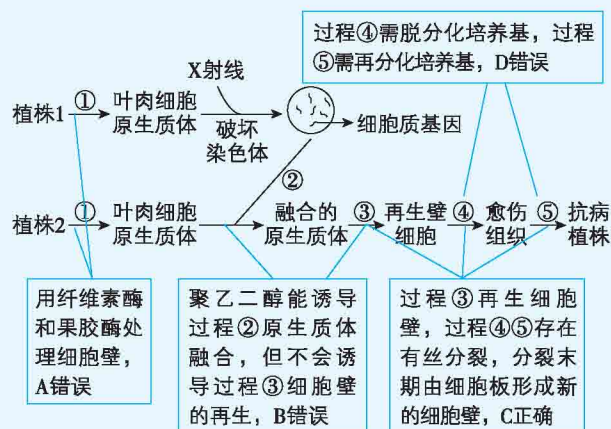
质体间的融合, B 错误; 矮牵牛—粉蓝烟草植株的培育依据了植物细胞全能性和细胞膜具有流动性等原理, C 正确; 矮牵牛和粉

蓝烟草原来都是可育的, 都具有同源染色体, 故获得的矮牵牛—粉蓝烟草杂种植株在理论上也是可育的, D 正确。

5. A 【解析】两种技术都打破了生殖隔离, 使远缘杂交成为可能, 都会发生细胞融合, 而细胞融合利用了细胞膜的流动性, A 正确; 动物细胞融合技术只是形成杂交细胞, 最终并没有形成完整动物个体, 未体现动物细胞的全能性, B 错误; 灭活的病毒常用于诱导动物细胞融合, 图中②是植物细胞原生质体融合, 不能用灭活的病毒诱导, C 错误; 两种技术还有其他区别, 如植物体细胞杂交将获得完整植株, 动物细胞融合技术得到的是杂交细胞, D 错误。

6. C

题图分析



7. C 【解析】根据题意, 用 Vero 细胞可以培养新冠病毒, 因此 Vero 细胞的细胞膜上需存在新冠病毒能够特异性识别的受体, 便于病毒识别, A 正确; 培养 Vero 细胞时, 培养液需要定期更换, 及时清除代谢产物, 以保证细胞培养的无毒的环境, B 正确; 动物细胞培养时, 需要置于含 95% 空气和 5% CO_2 混合气体的 CO_2 培养箱中进行培养, O_2 是细胞代谢所必需的, CO_2 主要作用是维持培养液的 pH, C 错误; 由题意可知, 病毒经过 β -丙内酯灭活等过程能制备成疫苗, 故 β -丙内酯灭活会使新冠病毒失去感染能力, 但不会破坏其表面的抗原结构, 保留其抗原性, D 正确。

8. ACD 【解析】动物细胞培养时通常先将组织块剪碎, 再用胰蛋白酶或胶原蛋白酶等处理将其分散成单个细胞, A 正确; 原代培养过程中, 细胞有丝分裂时可能会因复制出现差错而发生基因突变, 也会存在部分细胞死亡, B 错误; 传代培养的细胞遗传物质可能发生改变, 使其具有了类似癌细胞的特点而获得无限增殖的能力, C 正确; 从图中可以看出, 随着细胞传代次数增加, 传代的

→ **突破点:** 即形成无限细胞系

间隔时间基本相等, D 正确。

9.D 【解析】杂交瘤细胞若丢失来自 B 淋巴细胞的染色体,可能会导致抗体产生能力下降,A 正确。EBV 转化细胞能在 HAT 培养基中存活,但对 Oua(乌本苷)敏感。骨髓瘤细胞在 HAT 培养基中不能存活,但对 Oua 不敏感,HAT 培养基筛选去除的是未与 EBV 转化细胞融合的骨髓瘤细胞以及自身融合的骨髓瘤细胞,Oua 筛选去除的是未与骨髓瘤细胞融合的 EBV 转化细胞以及自身融合的 EBV 转化细胞,B、C 正确。图示获得的杂交瘤细胞还要进行克隆化培养和抗体检测,检测呈现阳性的杂交瘤细胞才能用于生产单克隆抗体,D 错误。

10.A 【解析】产生抗体的 B 淋巴细胞不能大量增殖,A 错误;过程③采用克隆化培养和抗原—抗体杂交法筛选出能产生特定抗体的杂交瘤细胞,B 正确;过程②筛选得到的细胞为杂交瘤细胞,但该杂交瘤细胞未必能产生所需抗体,C 正确;单克隆抗体制备过程涉及的细胞工程技术有动物细胞培养、动物细胞融合等,D 正确。

11. (1)需要 确保小鼠已产生能分泌识别癌胚抗原的抗体的 B 淋巴细胞

(2)病毒表面含有的糖蛋白和一些酶能够与细胞膜上的糖蛋白发生作用,使细胞互相凝聚,细胞膜上的蛋白质分子和脂质分子重新排布,细胞膜打开,细胞发生融合

(3)既能迅速大量增殖,又能产生抗体 协调配合

(4)使每个培养孔尽量只接种一个杂交瘤细胞

(5)获取能产生可同时识别癌胚抗原和长春碱的双特异性单克隆抗体的杂交—杂交瘤细胞

【解析】(1)分析题图可知,过程①是给小鼠注射癌胚抗原,其目的是使小鼠产生能分泌识别癌胚抗原的抗体的 B 淋巴细胞,处理后需要对小鼠进行抗体检测,因为抗体和抗原的结合具有特异性,故可以通过抗体检测确保小鼠已产生能分泌识别癌胚抗原的抗体的 B 淋巴细胞。

(2)分析题图可知,过程②是诱导小鼠骨髓瘤细胞与 B 淋巴细胞融合,常用灭活的病毒来诱导融合,作用机理为病毒表面含有的糖蛋白和一些酶能够与细胞膜上的糖蛋白发生作用,使细胞互相凝聚,细胞膜上的蛋白质分子和脂质分子重新排布,细胞膜打开,细胞发生融合。

(3)分析题图可知,过程③使用的 HAT 培养基为选择培养基,通过筛选,只有杂交瘤细胞可以在此培养基生长。故过程③得到的杂交瘤细胞的特征是既能迅速大量增殖,又能产生抗体。单克隆抗体的化学本质是蛋白质,在细胞内的合成和加工过程体现了细胞器之间的协调配合。

(4)过程④一般在多孔培养板上对过程③获得的杂交瘤细胞进行筛选和培养,可以获得能产生特定抗体的杂交瘤细胞,在此过程中需要使每个培养孔尽量只接种一个杂交瘤细胞。

(5)过程⑤的操作目的是获取能产生可同时识别癌胚抗原和长春碱的双特异性单克隆抗体的杂交—杂交瘤细胞。

12. (1)逆转录 质粒

(2)二次免疫后,能产生特定抗体的 B 淋巴细胞更多

(3)骨髓瘤细胞

(4)维持培养液的 pH

(5)单克隆抗体 A;能特异性识别 EV71 病毒并检测出感染 EV71 的细胞,且中和效果好

(6)快速检测是否感染,以便有效治疗患者

【解析】(1)以 RNA 为模板构建 cDNA 需要经过逆转录过程。质粒是基因工程最常用的载体,除此之外,还可以用噬菌体、动植物病毒等作为载体,因此将目的基因导入大肠杆菌时需要构建表达载体,常用的表达载体是质粒。

(2)在小鼠腹腔内注射 VP1 蛋白进行免疫 35 天,在获取 B 淋巴细胞前 3 天再次注射 VP1 蛋白,可以通过二次免疫产生更多的能产生特定抗体的 B 淋巴细胞。

(3)由于缺失 *HPRT* 基因的细胞无法在 HAT 培养基中生存,HAT 培养基可以筛选出骨髓瘤细胞与 B 淋巴细胞融合的杂交瘤细胞,其他细胞都会死亡,B 淋巴细胞的存活时间较短,不需要特别筛选,所以缺失 *HPRT* 基因的细胞就是骨髓瘤细胞。

(4)在杂交瘤细胞筛选培养过程中需在培养基中添加胎牛血清,并置于 37℃ 的 CO₂ 培养箱中培养,培养箱中 CO₂ 的作用是维持培养液的 pH。

(5)由题图 2 可以看出,使用单克隆抗体 A 与单克隆抗体 B 均能检测出感染 EV71 的细胞和特异性识别 EV71 病毒,但单克隆抗体 A 的中和效果好。

(6)该单克隆抗体具有很高的特异性,能够快速检测是否感染,以便有效治疗患者。

13.D 【解析】在核移植技术中,常将采集到的卵母细胞培养至 MⅡ 期,采用显微操作去除卵母细胞的细胞核,再用物理或化学方法激活重新组合的细胞,使其完成细胞分裂和发育进程,A、C 正确;体细胞核移植技术在畜牧业生产方面主要可以加速家畜遗传改良进程、促进优良畜群繁育,B 正确;核移植时,提供卵母细胞的动物为雌性,提供细胞核的动物可以不是雌性,D 错误。

14. D 【解析】过程①用含血清的液体培养基,置于含 95% 空气和 5% CO_2 的培养箱中培养, **A 正确**; 胚胎移植前要用物理或化学方法激活重构胚,使其完成细胞分裂和发育进程, **B 正确**; 可用 Ca^{2+} 载体或乙醇激活重构胚,使其完成分裂和发育进程, **C 正确**; 去核卵母细胞含有细胞质基因,也会遗传给食蟹猴,因此代孕母猴分娩的食蟹猴性状表现和提供卵母细胞的雌性食蟹猴有关, **D 错误**。

15. BC 【解析】图中细胞 a 是培养到 M II 期的卵母细胞,通过显微操作去除的实际上是纺锤体—染色体复合物, **A 错误**; 用灭活

→ **易错点**: 另外还要一同去除靠近细胞核的第一极体

的仙台病毒短暂处理能促进细胞融合,用电融合法也能使两细胞融合, **B 正确**; 重构胚中基因 A 的正常表达是克隆成功的关键,组蛋白 H3 的甲基化会抑制核的全能性,乙酰化能提高克隆成功率,而 Kdm4d 促使组蛋白去甲基化, TSA 促使组蛋白保持乙酰化,进而促进了基因 A 的正常表达, **C 正确**; “中中”和“华华”的培育用到了体细胞核移植技术,属于无性生殖, **D 错误**。

16. C 【解析】胚胎移植是胚胎工程的最后一道环节, **A 错误**; 用外源促性腺激素对供体母羊进行超数排卵处理, **B 错误**; 胚胎移植时,要对受体母羊与供体母羊进行同期发情处理,为移入受体的胚胎提供相同的生理环境, **C 正确**; 应选择发育良好、形态正常的桑葚胚或囊胚进行移植, **D 错误**。

17. C 【解析】依据胚胎在不同发育阶段对培养条件的特定需要,受精卵在体外培养时,不同发育阶段的胚胎需用不同成分的培养液, **A 正确**; 过程②为胚胎移植,其实是早期胚胎在相同生理环境条件下空间位置的转移, **B 正确**; 桑葚胚阶段还未形成内细胞团, **C 错误**; 陶赛特羊 D 由体外受精的受精卵发育而来,其性状由 A 羊和 B 羊共同决定, **D 正确**。

刷热点

1. ACD 【解析】抗体—药物偶联物 (ADC) 由抗体、接头和药物构成,其中抗体能特异性识别肿瘤细胞表面的组织因子 (TF),将 ADC 靶向运输到肿瘤细胞,药物是微管破坏剂,起到杀伤作用, **A 正确**; ①为 TF,其基因的表达具有组织特异性,并不是在所有细胞中均表达, **B 错误**; Tivdak 进入靶细胞后,蛋白酶连接剂被水解而释放微管破坏剂,进而杀死癌细胞, **C 正确**; Tivdak 具有特异性识别作用,可专门进入癌细胞内起作用,一般不会损伤正常细胞, **D 正确**。

2. (1) 获得能产生特定(与乳腺癌细胞表面抗原特异性结合的)抗体的 B 淋巴细胞

(2) 动物细胞融合 一定的流动性

(3) 筛选杂交瘤细胞 既能大量增殖,又能产生特定抗体

(4) 单克隆抗体能使药物精准地作用于乳腺癌(靶)细胞,避免其他细胞受损

(5) 由单一 B 淋巴(或杂交瘤)细胞克隆产生的、只识别某一特定抗原的特异性抗体(或由一种 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合得到的单一杂交瘤细胞产生的特异性抗体)

【解析】(1) 向小鼠注射的特定抗原应取自人的乳腺癌细胞,目的是从小鼠体内获得能产生特定(与乳腺癌细胞表面抗原特异性结合的)抗体的 B 淋巴细胞。

(2) 步骤①是指动物细胞融合,实现该过程依赖于细胞膜具有一定的流动性的结构特点。

(3) 步骤②是指筛选杂交瘤细胞,经步骤③筛选得到的杂交瘤细胞具有的特点是既能大量增殖,又能产生特定抗体。

(4) ADC 中的单克隆抗体能使药物精准地作用于乳腺癌(靶)细胞,避免其他细胞受损,故能降低乳腺癌治疗药物的副作用。

(5) 单克隆抗体是指由单一 B 淋巴(或杂交瘤)细胞克隆产生的、只识别某一特定抗原的特异性抗体(或由一种 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合得到的单一杂交瘤细胞产生的特异性抗体)。

考向 3 基因工程

刷考点

1. C 【解析】限制酶可以切割磷酸二酯键,不切割氢键,可以产生平末端也可以产生黏性末端, **A 错误**; 酶的专一性是指每种酶只能催化一种或一类化学反应,故 T4 DNA 连接酶具有专一性, **B 错误**; 将目的基因导入植物细胞的常用方法有农杆菌转化法和花粉管通道法, **C 正确**; 目的基因是否翻译使用抗原—抗体杂交技术检测, **D 错误**。

2. B 【解析】酵母菌 GS115 是组氨酸缺陷菌株,不能合成组氨酸,导入组氨酸合成基因后可以合成组氨酸,可以用不含组氨酸的培养基筛选导入了重组质粒的酵母菌 GS115, **A 正确**; 据图可知,为保证目的基因 (*Avr II* 会破坏目的基因) 和启动子 (*Sac I* 会破坏启动子) 的完整性,可用 *EcoR I* 和 *Not I* 分别切割含有 *IL-2* 基因的 DNA 片段和 pPIC9K 质粒, **B 错误**; 质粒上的启动子可作为 RNA 聚合酶识别并结合的位点,驱动基因转录, **C 正确**; 酵母菌是真核细胞,其含有的内质网和高尔基体能对蛋白质进行加工修饰, **D 正确**。

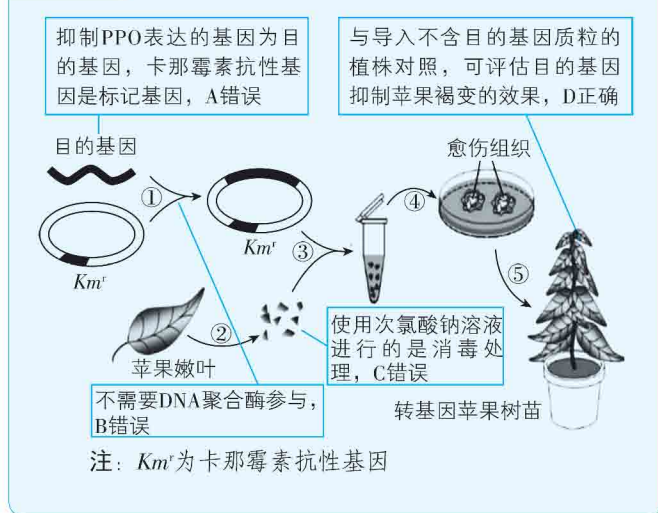
3. D 【解析】图中有启动子和终止子等,因此质粒还需具备的结构有限制酶的切割位点、标记基因、复制原点等, **A 正确**; 启动子是 RNA 聚合酶识别和结合的部位,能驱动基因转录出 mRNA, **B 正确**; 引物 F_2 与 R_1 或 F_1 与 R_2 结合部位包含 *J* 基因的碱基序列

和不属于 J 基因的碱基序列,因此用 PCR 检测 J 基因连接到质粒中且方向正确,可选用的一对引物是 F₁ 和 R₂,C 正确;若 J 基因的模板链在 b 链上,根据启动子和终止子的位置可知,b 链从左到右为 3'→5',又因为 DNA 复制的方向是子链的 5'→3',故引物基础上延伸的方向也为 5'→3',即引物 F₁ 与 b 链相应部分序列互补,与 a 链部分序列相同,D 错误。

解题关键 基因工程的关键步骤是构建基因表达载体,基因表达载体主要由启动子、目的基因、标记基因和终止子等组成,其中标记基因用于筛选重组 DNA 分子,可以是四环素抗性基因、氨苄青霉素抗性基因等抗性基因,也可以是荧光蛋白基因或产物能显色的基因。

4. D

题图分析



5. (1) 逆转录酶 DNA 连接酶

(2) Ca^{2+} (或 CaCl_2) 感受态

(3) 大肠杆菌 鉴别受体细胞中是否含有目的基因,从而将含有目的基因的细胞筛选出来

(4) 抗原—抗体杂交(或抗原与抗体特异性结合)

【解析】(1) 戊型肝炎病毒是一种 RNA 病毒,过程①是以病毒 RNA 为模板合成 DNA 的过程,需要的酶是逆转录酶;过程④是将目的基因与质粒连接在一起,需要的酶是 DNA 连接酶。

(2) 将目的基因导入大肠杆菌需要用 Ca^{2+} 处理大肠杆菌,增大大肠杆菌细胞膜的透过性,使其处于感受态,利于吸收周围环境中 DNA,以完成转化过程。

(3) 启动子是一段有特殊结构的 DNA 片段,其作用是驱动目的基因的转录,启动子具有物种或组织特异性,构建在大肠杆菌细胞内特异性表达 pORF2 蛋白的载体时,需要选择大肠杆菌细胞的启动子。标记基因的作用是鉴别受体细胞中是否含有目的基

因,从而将含有目的基因的细胞筛选出来。

(4) 戊肝抗体诊断试剂盒利用抗原—抗体杂交原理,通过观察是否产生杂交带检测被测个体体内是否产生 pORF2 的特异性抗体。

6. (1) 使 DNA 聚合酶能够从引物的 3'端起始复制

(2) *Hind* III 和 *Bam* H I

(3) 农杆菌转化 染色体 DNA

(4) B *Taq* DNA 聚合(耐高温的 DNA 聚合)

(5) *Xho* I 和 *Eco* R I 抑制乙烯受体基因的表达,从而无法正常识别乙烯信号,进而延缓成熟

【解析】(1) 用 PCR 技术扩增 *AtCOR15a* 基因时需要添加引物,引物的作用是使 DNA 聚合酶能够从引物的 3'端起始复制。

(2) 为了筛选重组 DNA 分子,必须保留抗生素抗性基因,不能选择 *Sma* I,若选择 *Eco* R I,则目的基因两端具有相同的黏性末端,目的基因会自身环化,综合分析,采用双酶切法,据图 1 分析,选用的两种限制酶组合是 *Hind* III 和 *Bam* H I。

(3) 当②感染番茄细胞后,利用农杆菌转化法将目的基因转移到番茄细胞中,并且将其整合到该细胞的染色体 DNA 上。

常考点: 将目的基因导入植物细胞常使用农杆菌转化法

(4) 利用 PCR 检测连接是否成功,应当将强启动子和 *AtCOR15a* 基因都扩增出来,所以可选的引物组合是①+③,故选 B。该 PCR 反应体系中需加入 *Taq* DNA 聚合酶,以此来扩增 DNA。

(5) 利用农杆菌转化法将目的基因导入受体细胞,能进入受体细胞的是携带目的基因的 T-DNA 片段,LB/RB 分别是 T-DNA 的左边界、右边界,且该植物原有 *ErsI* 基因翻译受抑制,因此 *ErsI* 基因(乙烯受体基因)应反向插入 LB 和 RB 之间,故提取的目的基因 A、B 两端需分别添加 *Xho* I 和 *Eco* R I 的识别序列。推测该方法提高番茄储藏时间的机理是抑制乙烯受体基因的表达,从而无法正常识别乙烯信号,进而延缓成熟。

7. (1) C B 防止目的基因或质粒自身环化,使目的基因定向连接到质粒上,以增大目的基因正向(正确)连接的概率

(2) *Bam* H I、*Sac* I 依次使用含卡那霉素的培养基和含潮霉素的培养基筛选,能够在含卡那霉素的培养基中生长,而不能在含潮霉素的培养基中生长的大肠杆菌即为导入重组质粒的大肠杆菌

(3) *ALKBH5* 基因过表达导致 *STC2* 基因表达的 mRNA 去甲基化,进而导致 *STC2* 基因过表达而引起癌细胞迁移

【解析】(1) 据图 1 分析,利用 PCR 扩增目的基因 *STC2* 时,在 DNA 复制过程中,子链的延伸方向是从 5'端到 3'端,且 *STC2* 基因的 α 链为转录的模板链,需要在引物 C 的 5'端添加 *Bam* H I 识

别序列和强启动子序列,在引物 B 的 5'端添加 *Sac* I 识别序列。目的基因两端用不同限制酶切割的原因是防止目的基因或质粒自身环化,使目的基因定向连接到质粒上,以增大目的基因正向(正确)连接的概率。

(2)图 1 显示,目的基因 *STC2* 的两侧有 *Bam*H I、*Sac* I 的识别位点,二者不会把强启动子切割掉,因此为确保目的基因正确插入质粒,需要选择限制酶 *Bam*H I、*Sac* I 切割质粒。将重组质粒导入大肠杆菌时,可利用潮霉素和卡那霉素筛选出导入重组质粒的大肠杆菌。由于限制酶 *Bam*H I 和 *Sac* I 破坏了潮霉素抗性基因,故可依次使用含卡那霉素的培养基和含潮霉素的培养基筛选,能够在含卡那霉素的培养基中生长,而不能在含潮霉素的培养基中生长的大肠杆菌即为导入重组质粒的大肠杆菌。

(3)根据结果可知,*ALKBH5* 基因沉默会减少癌细胞迁移量,*STC2* 基因过表达会恢复癌细胞迁移量。因此推测 *ALKBH5* 基因过表达导致 *STC2* 基因表达的 mRNA 去甲基化,进而导致 *STC2* 基因过表达而引起癌细胞迁移。

8. (1)*Bam*H I、*Xba* I

(2) Ca^{2+} 卡那霉素 筛选并扩大培养含重组质粒的农杆菌

(3)ACD

(4)无菌水 切割 脱分化 潮霉素抗性基因在植物细胞中表达水平低 胚状体 人工种子

【解析】(1)根据题目信息,目的基因应插入 T-DNA 中,T-DNA 中含有 *Bgl* II 和 *Nhe* I 的酶切位点,故可使用这两个酶处理 T-DNA;根据表格信息,*Bgl* II 形成的黏性末端和 *Bam*H I 形成的黏性末端一致,*Nhe* I 形成的黏性末端与 *Xba* I 形成的黏性末端一致,由于目的基因序列上面的链为编码链,下面的链是模板链,为了保证定向连接,需要把目的基因的左边插入接近启动子的一侧,为不破坏目的基因,引物 F 上应添加 *Bam*H I 的识别序列,引物 R 上应添加 *Xba* I 的识别序列。

(2)细菌经过 Ca^{2+} 处理后,可处于易于吸收外源 DNA 的状态,有利于表达载体进入农杆菌。因基因表达载体中含有卡那霉素抗性基因,可作为标记基因用于筛选目的基因,故需要用含有卡那霉素的 LB 培养液振荡培养,筛选的同时增大含有重组质粒的农杆菌的数量,即目的是筛选并扩大培养含重组质粒的农杆菌。

(3)目的基因在 T-DNA 上,T-DNA 可转移到染色体 DNA 上,提取质粒进行检测未必能检测到,A 错误;F 和 R 作为引物可扩增出目的基因,用二者作为引物对各个单菌落进行 PCR 扩增后,电泳检测有 X 基因的证明含有目的基因,导入成功,B 正确;35 S 是真核细胞的启动子,目的基因在真核细胞中才能表达,在细菌中不能表达,用抗 X 蛋白的单克隆抗体检测不到基因表达产物,

C 错误;发出绿色荧光证明绿色荧光蛋白基因成功表达,不能说明目的基因导入(可能是空质粒),D 错误。故选 ACD。

(4)消毒的试剂长时间存在可影响细胞活性,需要用无菌水进行冲洗;冲洗后需要对外植体即猕猴桃枝条进行切割,因为植物细胞具有全能性,在适宜条件下脱分化形成愈伤组织,愈伤组织再经过诱导可再分化;侵染后部分愈伤组织细胞的染色体上已整合了 T-DNA,目的基因及标记基因的表达水平很低,潮霉素抗性基因在植物细胞中处于低表达水平,抗性不够,不能马上使用潮霉素杀灭残留农杆菌。愈伤组织再分化可形成胚状体,加入一定的营养物质和种皮可包埋形成人工种子,方便储存和运输等。

9. D 【解析】蛋白质工程操作的对象是 DNA,需对基因进行改造或合成,是在基因工程的基础上延伸出来的第二代基因工程,A

易错点:蛋白质工程不是直接改造蛋白质

正确;蛋白质工程是通过改造或合成基因,对现有蛋白质进行改造,或制造一种新的蛋白质,B 正确;图中①为转录,②为翻译,大肠杆菌是原核生物,没有核膜,转录和翻译可同时进行,C 正确;物质 a 为 mRNA,mRNA 序列改变,由于密码子的简并性,最终编码的氨基酸序列可能不变,D 错误。

10. B 【解析】题述酶 a 活性的调节机制属于负反馈调节,A 错误;结构决定性质,不同氨基酸性质差异的主要原因是 R 基不同,B 正确;由题意可知,当赖氨酸含量高时会抑制酶 a 的活性,因此利用蛋白质工程原理提高赖氨酸产量的最合理方式是改造酶 a 的结构,使其不能被赖氨酸抑制,C 错误;增大该菌种细胞膜的通透性会影响细胞的正常生命活动,不会提高赖氨酸的生产量,D 错误。

11. D 【解析】蛋白质工程中对蛋白质结构进行改造最终要通过改造或合成基因来完成,A 正确;生产 AmyS2 是从预期 AmyS2 功能出发设计预期的蛋白质结构,再推测应有的氨基酸序列,B 正确;质粒 C 中含 AmyS2 基因与信号肽基因,导入质粒 C 的工程菌能生成 AmyS2 并在信号肽的作用下将 AmyS2 分泌到细胞外的培养液中,C 正确;*Bam*H I 酶会导致目的基因结构被破坏,因此构建质粒 B 应选择限制酶 *Nde* I 和 *Eco*R I,构建质粒 C 应选择的限制酶是 *Mlu* I 和 *Eco*52 I,D 错误。

重难专项 23 限制酶的选择

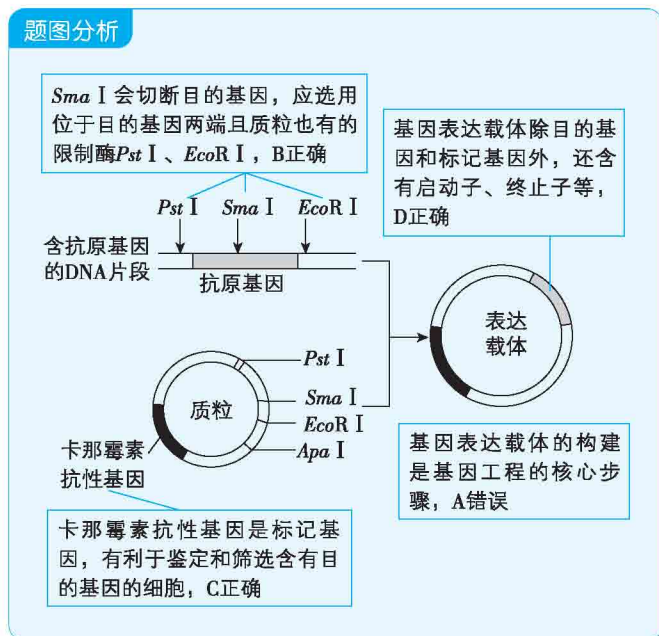
1. D 【解析】使用 PCR 技术扩增时需要一对引物,A 错误;选择 *Sma* I 获得的是平末端,无法与改良基因上的黏性末端高效连接,B 错误;从各种限制酶的酶切位点分析,除使用 *Xma* I 外,还需使用 *Bgl* II 切除相应黏性末端,产生 GATC 与改良基因 CTAG 一侧进行连接,同时需要用 DNA 连接酶构建基因表达载体,C 错误;*LacZ* 基因编码的酶能分解 β -半乳糖苷,产生蓝色物质,菌落

为蓝色,如果没有分解,则菌落为白色,因此可以将菌液涂布在含氨苄青霉素和 β -半乳糖苷的平板上,由于重组质粒的 *LacZ* 基因在重组过程中被切断,不能编码相应的酶分解 β -半乳糖苷,菌落呈现白色,所以在含氨苄青霉素和 β -半乳糖苷的培养基上,白色菌落的大肠杆菌含重组质粒,**D 正确**。

2. C 【解析】基因工程的核心步骤是构建基因表达载体,不是通过 PCR 扩增获取目的基因,**A 错误**;由于载体 E 只有产生黏性末端的酶切位点,要使用中间载体 P 将目的基因接入载体 E,同时防止载体自身环化,需要用两种限制酶分别切割载体 E 和中间载体 P,据图可知,中间载体 P 和载体 E 均含有 *Xho* I 和 *Pst* I 识别序列,故可选用 *Xho* I 和 *Pst* I 进行酶切,载体 P 的这两种酶识别序列中含有 *Eco* R V 识别位点,并且其切割产生平末端,可以用于连接目的基因,*Sma* I 虽然也能切割得到平末端,但是其识别位点没有位于 *Xho* I 和 *Pst* I 识别位点之间,故不能选择其对中间载体 P 进行切割,**B 错误**;由图可知,载体 P 是中间载体,不含有表达该目的基因的启动子与终止子,**C 正确**;受体细胞表现出抗性基因的相应性状,可能是导入了重组质粒,也可能只导入了空质粒(不含目的基因的质粒),**D 错误**。

3. D 【解析】引物是根据目的基因两侧序列制备的,需要与目的基因两端互补,故若通过 PCR 技术大量扩增该目的基因,应该选用引物甲和引物丙,**A 正确**;图中 *Bam* H I 会破坏两种抗性基因,不能选用,故图乙中目的基因左侧只能选用 *Bcl* I,而质粒上没有目的基因右侧 *Sau* 3 A I 的酶切位点,两者都有 *Hind* III 的酶切位点,因此应选用 *Bcl* I 和 *Hind* III 切割,**B 正确**;将基因表达载体导入受体细胞,需用钙离子等处理受体细胞,使其处于易于吸收外源 DNA 的状态,**C 正确**;在受体细胞中,插入目的基因时氨苄青霉素抗性基因被破坏,不能和目的基因同时表达,**D 错误**。

4. A



5. (1)真核基因启动子不能被原核细胞的 RNA 聚合酶识别,转录不能正确起始,且从真核基因组克隆的基因含有内含子,大肠杆菌中没有转录后剪接系统 肝脏 模板 DNA *Taq* DNA 聚合酶(或者耐高温的 DNA 聚合酶) **62**

(2)限制酶 *Sau* 3 A I 会破坏目的基因 *Bam* H I、*Eco* R I 对目的基因是否导入进行检测

(3) Ca^{2+} 抗原—抗体杂交 目的基因前后的启动子和终止子设计不理想,导致目的基因不能正常表达

【解析】(1)基因表达包括转录和翻译过程,由于真核基因启动子不能被原核细胞的 RNA 聚合酶识别,转录不能正确起始,且从真核基因组克隆的基因含有内含子,大肠杆菌中没有转录后剪接系统,翻译不能正常进行,故从人体细胞中直接提取的 *HSA* 基因,导入大肠杆菌细胞中不能表达。人血清白蛋白(*HSA*)主要在肝脏中合成,人体的肝脏细胞中含有 *HSA* 基因转录的 mRNA,PCR 反应体系的主要成分应该包含 4 种脱氧核苷酸、引物、 Mg^{2+} 、模板 DNA、*Taq* DNA 聚合酶。若扩增后得到了 32 个 *HSA* 基因,则该过程共需要 $32 \times 2 - 2 = 62$ (个)引物。

(2)由图 2 可知,限制酶 *Sau* 3 A I 会破坏目的基因。为了防止目的基因与质粒间的任意连接,应该选择 *Sau* 3 A I、*Eco* R I 切割质粒。*Sau* 3 A I 和 *Bam* H I 切出的黏性末端相同,故采用 *Bam* H I、*Eco* R I 充分切割目的基因,产生与质粒相同的黏性末端,便于连接。质粒上抗生素抗性基因作为标记基因的主要作用是对目的基因是否导入进行检测。

(3)将目的基因导入大肠杆菌时,常用 Ca^{2+} 处理细胞;为了检测水稻胚乳细胞中是否合成了 *HSA* 蛋白,可采用抗原—抗体杂交的方法,若胚乳细胞中含有 *HSA* 基因,但是检测不到 *HSA* 蛋白,说明目的基因不能正常表达,可能的原因是目的基因前后的启动子和终止子设计不理想,导致目的基因不能正常表达。

6. (1)(基因)分离 — 氨基酸改变 空间结构

(2) BC

(3)卡那霉素抗性 潮霉素 与 M 植株(非转基因植株)相比,该转基因植株花粉粒数变多、单荚结种子数变多,接近野生型植株

【解析】(1)由题意可知,A 品系与 Am 杂交, F_2 可育株 377 株,不育株 136 株,性状分离比近似 3 : 1,符合孟德尔的分离定律;说明雄性不育性状至少受一对等位基因的控制。突变体 Am 中,*Br* 基因对应的 mRNA 第 160 号位为 U(在 A 植株中为 C),说明根本原因是发生了碱基的替换,导致氨基酸改变进而使蛋白质的空间结构变化,该基因功能丧失。

(2)根据题目信息,若 PCR 目的片段包括完整 T-DNA,无条带,则图中利用 LP+RP 来扩增,就包括完整的 T-DNA,不能扩增出

条带,利用 BP+RP 能扩增出条带,故选 BC。

(3)由题图及题干信息可知,农杆菌对卡那霉素敏感,白菜对潮霉素敏感,而基因工程中,标记基因的作用是便于重组 DNA 分子的筛选,故图中卡那霉素抗性基因一般用于检测农杆菌是否导入了质粒,然后利用添加了潮霉素的培养基筛选转基因植株。若与 M 植株相比,该转基因植株(恢复了 *Br* 基因的功能)花粉粒数变多、单荚结数变多,接近野生型植株,说明 *Br* 基因异常是导致雄性不育的原因,可用于后续研究。

重难点专项 24 PCR 技术的原理及应用

1. D 【解析】③过程为变性,变性过程使用 90~95 °C 的高温处理是为了让目的基因的氢键断裂,使双链解开,充分变性, A 正确;⑤过程为延伸,延伸过程使用 70~75 °C 的温度处理既可以防止 DNA 变性,还能促进子链的延伸, B 正确;④过程为复性,复性过程使用 55~60 °C 的温度处理,使两种引物通过碱基互补配对与两条单链 DNA 结合, C 正确;DNA 中不含有 U,含有 T, D 错误。

解题关键 PCR 技术过程:变性→复性→延伸。变性:当温度上升到 90 °C 以上时,双链 DNA 解聚为单链;复性:温度下降到 50 °C 左右,两种引物通过碱基互补配对与两条单链 DNA 结合;延伸:温度上升到 72 °C 左右时,耐高温的 DNA 聚合酶活性较大,可使 DNA 新链由 5'端向 3'端延伸。

2. C 【解析】利用 PCR 技术扩增基因时,高温变性使 DNA 双链解旋,不需要解旋酶来打开 DNA 双链, A 正确;引物②和引物③中部分序列可互补配对,引物之间的结合会干扰引物和模板链的结合,因此不能在同一个反应体系中进行 *dsred2* 基因和 *amy* 基因的扩增, B 正确;*dsred2* 基因和 *amy* 基因混合后可以得到两种类型的杂交链, C 错误;杂交链延伸得到 *dsred2-amy* 融合基因的过程中,不需要加入引物,两条母链位于杂交带处的 3'端的碱基序列可作为子链合成的引物, D 正确。

解题关键 *dsred2* 基因和 *amy* 基因混合后除得到图中杂交链类型外,还有两基因各自的另外一条链之间在 5'端互补配对形成的杂交链,这种类型杂交链不会延伸。

3. (1) DNA 的半保留复制 $\frac{1}{8}$

(2)模板链 碱基互补配对

(3)乙、丙 目的基因反向连接

【解析】(1)PCR 技术的原理是 DNA 的半保留复制。利用 PCR 技术扩增目的基因时,由于 DNA 聚合酶只能从 3'端延伸 DNA

链,因此要用两种引物才能确保 DNA 两条链同时被扩增;引物 I 延伸而成的 DNA 单链会与引物 II 结合,进行 DNA 的延伸;一个 DNA 分子经 4 轮复制以后,不同时含有两种引物的 DNA 分子占 $\frac{2}{16} = \frac{1}{8}$ 。

(2)引物长度一般在 15~30 bp 之间,如果引物过短则特异性差,易与模板链随机互补结合而发生错配;如果引物过长则自身容易发生碱基互补配对而形成稳定的双链结构,不能发挥引物的作用。

(3)分析题图可知,理论上可以选择的引物组合有甲和丙、乙和丙两种情况。如果选择甲和丙这对引物,则无论目的基因是否正确插入,扩增的片段都是 50+300+100=450 bp,不符合要求;如果选择乙和丙这对引物,正向连接和反向连接后所得结果不同,所以应选择乙和丙这对引物进行 PCR 鉴定。如果质粒和目的基因反向连接,则引物乙会出现在重组质粒的外侧,此时若加入引物甲和乙,则可以扩增出 300+100=400 bp 的片段。

专题训练

1. A 【解析】麦芽汁中含有糖类、蛋白质、无机盐等营养物质,可以为酵母和乳酸杆菌的发酵提供碳源、氮源、水和无机盐, A 正确;煮沸的目的是灭菌,不是使淀粉分解, B 错误;主发酵结束后,发酵液还要在低温、密闭的环境下储存一段时间进行后发酵, C 错误;过滤消毒只能杀死啤酒中的大部分微生物, D 错误。
2. B 【解析】无氧条件下,乳酸菌能将葡萄糖分解成乳酸,不会产生 CO₂, A 错误;毛霉等多种微生物参与腐乳的制作, B 正确;米饭蒸熟后温度过高,立即接种会导致酵母菌死亡, C 错误;与酒精发酵相比,醋酸发酵需要在较高的温度条件下进行, D 错误。
3. D 【解析】筛选的一般流程:污泥取样→梯度稀释→涂布平板→选择培养→挑选鉴定, A 错误;出现图 1 的原因可能是涂布不均匀,图 2 中有部分菌落成块分布,可能是由于未倒置培养,导致冷凝水滴落到培养基上, B 错误;图 1、图 2 均为稀释涂布平板法接种,在接种前均需将涂布器浸在酒精中,然后在酒精灯火焰上灼烧灭菌,并冷却后使用, C 错误;抗生素可以抑制细菌生长而不会抑制真菌,若筛选得到的是真菌,可在培养基中加入抗生素以进一步纯化, D 正确。
4. C 【解析】由题意可知,热纤梭菌是一种嗜热厌氧细菌,牛粪堆的深层比表层氧气含量更低,温度更高,更适合热纤梭菌生存,故从牛粪堆的深层取样比从表层取样更加合理, A 正确;图示是筛选能高效降解纤维素的热纤梭菌,因此甲、丙都是以纤维素为

唯一碳源的选择培养基, **B 正确**; 当两个或多个菌体连在一起时, 平板上观察到的只有一个菌落, 因此用平板乙统计的菌落数往往比活菌的实际数量少, **C 错误**; 题干中热纤梭菌可分泌一种多酶复合体将纤维素水解为可溶性糖, 因此丙中纤维素的残留量可反映该菌降解纤维素的能力, **D 正确**。

5. D 【解析】紫草素的获得不需要完整的个体, 因此可通过植物细胞培养获得紫草素, **A 错误**; 生产紫草素不需要培养获得紫草植株, 其原理并非植物细胞的全能性, **B 错误**; 紫草素的工厂化生产主要是通过提高细胞数量来提高紫草素产量的, **C 错误**; 紫草素是一类小分子有机化合物, 不是紫草细胞生长和生存所必需的, 属于次生代谢物, **D 正确**。

6. ABC 【解析】该实验的自变量为抗 CD47 的单克隆抗体的有无, 根据单一变量原则可知, 应设置不加单克隆抗体的巨噬细胞和肿瘤细胞的共培养体系作为对照, **A 错误**; 肿瘤细胞有内质网和高尔基体, 参与细胞膜上糖蛋白的形成, 但肿瘤细胞表面糖蛋白比正常细胞少, **B 错误**; 过程②表示用特定的选择培养基筛选出杂交瘤细胞, 由于小鼠处在多种抗原刺激下, 因此筛选出来的杂交瘤细胞不一定能产生所需的抗体, 还需要对第一次筛选的细胞进行克隆化培养和抗体检测, **C 错误**; 抗 CD47 的单克隆抗体可以解除 CD47 对巨噬细胞的抑制作用, 对照组没有抗体, CD47 对巨噬细胞有抑制作用, 因此对照组中巨噬细胞的吞噬指数显著低于实验组, **D 正确**。

7. C 【解析】提高生长素和细胞分裂素的比值可促进愈伤组织形成根而不是芽, **A 错误**; 用果胶酶和纤维素酶去除细胞壁获得原

→ **常考点**: 提高细胞分裂素的比例有利于生芽

生质体, **B 错误**; 胚胎移植前, 可采集部分滋养层细胞进行遗传学检测, **C 正确**; 传代培养时需要营造无菌、无毒以及 95% 空气 + 5% CO₂ 的气体环境, **D 错误**。

8. C 【解析】PCR 复性温度太低时, 易引起引物错配而产生非特异性扩增产物, 还可能导致两模板链重新配对形成双链, **A 正确**; 电泳是在电场的作用下, 带电分子向着与它所带电荷相反的电极移动的过程, 电泳条带迁移的位置和速度与 DNA 分子的大小、带电量 and 构象有关, **B 正确**; 由于使用的引物是甲和丙, 没有与基因相应位置配对, 因此不管基因正接还是反接, 扩增产物均为 450 bp, **C 错误**; 选取引物甲、乙, 扩增出 400 bp 长度片段说明目的基因反接, **D 正确**。

9. A 【解析】DNA 子链合成的方向为 5' 端到 3' 端, 因此通过已知序列设计引物对未知序列进行扩增应选择引物 1 和引物 4, **A 正确**; GC 碱基含量越高, 碱基对间氢键的含量越多, 复性的温度越

高, **B 错误**; PCR 产物是包含所有已知序列和未知序列的链状 DNA 分子, **C 错误**; 整个过程需用到限制酶、DNA 连接酶和耐高温的 DNA 聚合酶, 不需要逆转录酶, **D 错误**。

解题关键 PCR 只能扩增两端序列已知的基因片段, 反向 PCR 可扩增一段已知序列两端的未知序列, 也就是说这一反应体系不是在一对引物之间而是在引物外侧合成 DNA。

10. C 【解析】目的基因整合到受体细胞基因组中属于基因重组, **A 正确**; 用 Ca²⁺ 处理大肠杆菌, 使细胞处于一种能吸收周围环境中 DNA 分子的生理状态, 更容易将基因表达载体导入其中, **B 正确**; 用限制酶 Xho I 和 Xba I 切割质粒时氯霉素抗性基因会被切割掉, 但保留了潮霉素抗性基因, 因此, 可以先用含有潮霉素的培养基 A 筛选出导入空白质粒或重组质粒的大肠杆菌, 再采用同位影印法接种到含有氯霉素的培养基 B 中, 此时含有重组质粒的大肠杆菌不能在含有氯霉素的培养基 B 上生长, 与培养基 A 相比, 培养基 B 上消失的菌落就是符合要求的大肠杆菌菌落, 结合图示可知, 符合要求的大肠杆菌在菌落 3 和 5 中, **C 错误**, **D 正确**。

方法总结 质粒上的双标记基因在用限制酶切割时, 通常保留其中一个。用重组质粒上保留的标记基因筛选出含有质粒的菌株, 再通过影印接种法排除掉空白质粒的菌株, 从而筛选出成功导入重组质粒的菌株。

11. (1) 目的基因、启动子、终止子和标记基因

(2) 潮霉素 B

(3) 棉花植株染色体 DNA F₃ R₂ 在 PCR 反应中, 需要利用高温使 DNA 双链解旋, 普通的 DNA 聚合酶在高温下会变性失活, 而 Taq DNA 聚合酶能够耐高温, 在高温条件下依然具有活性
(4) 用 1~1 362 合成基因序列和 1 363~1 848 天然基因序列获得改造的抗虫蛋白(对苏云金杆菌基因进行改造, 获得相应的抗虫蛋白也给分, 答案合理即可)

【解析】(1) 基因表达载体主要组成部分为目的基因、标记基因、启动子和终止子等。

(2) 分析重组质粒的示意图可知, 利用农杆菌转化法将重组质粒导入棉花愈伤组织, 农杆菌细胞内的 T-DNA 转移到棉花细胞, 并整合到棉花细胞的染色体 DNA 上。成功导入目的基因后的 T-DNA 上只有标记基因 Hyg^R, 所以应用潮霉素 B 初步筛选转化的棉花愈伤组织。

(3) 为检测棉花植株是否导入目的基因, 应以棉花植株染色体 DNA 作模板, 若导入成功, 则可以通过 PCR 获得目的基因。由

于目的基因包含人工合成的 1~1 362 基因序列(含有引物 F3 配对序列)和天然的 1 363~1 848 基因序列(含有引物 R2 配对序列),所以应选用引物 F3 和 R2 来扩增目的基因。在 PCR 反应中,需要利用高温使 DNA 双链解旋,普通的 DNA 聚合酶在高温下会变性失活,而 *Taq* DNA 聚合酶能够耐高温,即在高温条件下依然具有活性,所以在 PCR 反应中需要使用 *Taq* DNA 聚合酶。

(4)蛋白质工程是指以蛋白质分子的结构规律及其与生物功能的关系作为基础,通过改造或合成基因,来改造现有蛋白质,或制造一种新的蛋白质,以满足人类生产和生活的需求。本研究用 1~1 362 合成基因序列和 1 363~1 848 天然基因序列组合以获得改造的抗虫蛋白,将 1~1 362 基因序列改变为棉花细胞偏好密码子的基因序列来改造抗虫蛋白,属于蛋白质工程。

12. (1)浆 体液

(2)既能产生特定的抗体,也能无限增殖

(3)接触抑制 动物血清或血浆 保证细胞能够进行有氧呼吸

(4)筛选出杂交瘤细胞 使每个孔内尽量只接种一个杂交瘤细胞

【解析】(1)能够产生抗体的细胞是浆细胞,浆细胞是体液免疫过程中产生的。

(2)杂交瘤细胞的主要特点是既具有浆细胞产生特定抗体的能力,也能像骨髓瘤细胞那样无限增殖。

(3)在进行细胞培养时,一般会出现贴壁生长和接触抑制现象。培养液通常含有葡萄糖、氨基酸、无机盐、维生素、促生长因子等营养物质,此外还要加入动物血清或血浆,以保证细胞能正常生长。动物细胞培养时要将培养液置于含有 95%空气和 5% CO₂ 的混合气体的 CO₂ 培养箱中,其中空气中的氧气是细胞代谢所必需的,保证细胞能够进行有氧呼吸。

(4)在 HAT 选择培养基中培养,未融合的细胞和同种核融合的细胞都死亡,能筛选出杂交瘤细胞。将从 HAT 培养基上筛选出的杂交瘤细胞稀释到 7~10 个细胞/mL,每孔滴入 0.1 mL 细胞稀释液,使每个孔内不多于一个细胞,以达到单克隆培养的目的,选育

→ 突破点: 筛选出单一杂交瘤细胞培养以保证抗体的纯度

出能产生所需特异性抗体的细胞。

13. (1)大肠杆菌繁殖能力强、结构和遗传物质简单、对环境敏感、容易进行遗传操作等

(2)*Taq* DNA 聚合(或耐高温的 DNA 聚合)

(3)Ca²⁺ 抗原—抗体杂交

(4)在培养基 A 中添加氯霉素,再将培养基 A 中生长的菌落利用影印法影印到添加四环素的培养基 B 中,在培养基 A 中能生

长,而在培养基 B 中不能正常生长的菌落即为目的菌株

(5)扩大培养 提取、分离、纯化(或分离、提纯)

【解析】(1)大肠杆菌繁殖能力强、结构和遗传物质简单、对环境敏感、容易进行遗传操作等,因此在基因工程中经常选用大肠杆菌作为受体细胞。

(2)在 PCR 反应中,变性的温度需要 90 ℃ 以上,该温度可使 DNA 双链解旋,普通的 DNA 聚合酶在高温下会变性失活,而 *Taq* DNA 聚合酶在高温条件下依然具有活性,因此扩增 *X* 基因时,PCR 反应中需要使用 *Taq* DNA 聚合酶,还需要提供模板、引物、原料等。

(3)将 *X* 基因导入大肠杆菌前一般先用 Ca²⁺ 处理大肠杆菌,使大肠杆菌变得易从外界环境中吸收 DNA 分子的生理状态,从而提高大肠杆菌的转化率。为检测该基因是否表达出蛋白质,可通过抗原—抗体杂交技术。

(4)影印法是一种微生物学中常用的培养方法,该方法通过比在不同培养基相同位置出现的菌落,从而筛选出适当的菌株。使用 *Bam*H I 和 *Sal* I 限制酶处理质粒和 *X* 基因,四环素抗性基因被破坏,氯霉素抗性基因保留,因此能在氯霉素培养基上生存、不能在四环素培养基上生存的大肠杆菌是含目的基因的菌株,实验思路见答案。

(5)发酵工程一般包括菌种的选育,扩大培养,培养基的配制、灭菌,接种,发酵,产品分离、提纯等方面,因此发酵工业中通过菌种选育、扩大培养和发酵后,再经提取、分离、纯化,最终获得发酵产品。

14. (1)DNA 的半保留复制 变性 引物 4 和引物 5

(2)两(2 或二) (3)无色物质 K

(4)*HSA* 基因在转基因植物细胞中不一定转录(或 *HSA* 基因在转基因植物细胞中不一定翻译)

(5)抗人血清白蛋白的抗体

(6)植物细胞的全能性 脱分化和再分化 生长素和细胞分裂素

【解析】(1)PCR 是一项体外扩增 DNA 的技术,其原理是 DNA 的半保留复制;每个循环都包括变性(90 ℃ 以上)、复性(50 ℃ 左右)和延伸(72 ℃ 左右)三步,其中温度最高的步骤为变性。引物需要与模板的 3' 端结合,据图 1 分析,若要扩增出只含有内含子 2 和外显子 3 的 DNA 片段,应选择的引物是引物 4 和引物 5。

(2)为避免质粒与目的基因的反向连接和自身环化,需要用两种限制酶对目的基因和 Ti 质粒进行切割。

(3)分析题意可知,报告基因表达的产物能催化无色物质 K 反应生成蓝色物质,故过程①除尽农杆菌后,需将植物细胞转接到含无色物质 K 的培养基上筛选出转化成功的细胞。

(4)转基因生物是否培育成功首先应检测目的基因是否成功导入受体细胞,其次应检测目的基因是否成功转录出 mRNA,还需要检测目的基因是否翻译出了蛋白质,最后还需要进行个体生物学水平的鉴定。

(5)抗原与抗体的结合具有特异性,为检测 HSA 基因的表达情况,可提取受体细胞中的蛋白质,与抗人血清白蛋白的抗体进行抗原—抗体杂交实验。

(6)过程②是植物组织培养,原理是植物细胞的全能性,该过程主要包括脱分化和再分化两个阶段。植物组织培养过程中培养基中需主要添加的两种激素是生长素和细胞分裂素。

专题十一 生物学实验

考向 1 教材基础实验

刷考点

1. A 【解析】图①中 b 物镜比 a 物镜长且离载玻片的距离近,说明 b 的放大倍数大于 a,将显微镜镜头由 a 转换成 b,视野中观察到的细胞数目减少, A 错误;图②中 c 细胞位于视野左方,物像的移动方向与标本的移动方向相反,则向左移动装片能将 c 细胞移到视野中央, B 正确;显微镜下观察到的是上下颠倒、左右相反的虚像,观察到的细胞质流动方向和实际细胞质流动方向一致, C 正确;若将显微镜的放大倍数由 100 倍换成 400 倍,能够观察的细胞个数为 $64 \div 4^2 = 4$ (个), D 正确。

2. D 【解析】洋葱鳞片叶外表皮细胞已高度分化,不能进行分裂,不能用来作为观察有丝分裂的材料, A 错误;在低倍镜下即可观察到紫色洋葱鳞片叶外表皮细胞质壁分离, B 错误;解离过程中,酒精和盐酸处理后细胞已死亡,视野内不能看到某个细胞分裂的连续变化过程, C 错误;下表皮细胞不含叶绿体,稍带的叶肉细胞含有叶绿体且体积较大,故菠菜叶片稍带些叶肉的下表皮是观察叶绿体的理想材料, D 正确。

3. A 【解析】使用盐酸和酒精混合液进行解离,目的是使组织中的细胞相互分离开来, A 错误;漂洗时使用清水清洗解离液,防止解离过度,便于染色, B 正确;使用碱性染料甲紫溶液或醋酸洋红液能使染色体着色,便于观察, C 正确;制片时,用拇指按压盖玻片,目的是使细胞分散,减少细胞重叠,有利于观察, D 正确。

4. B 【解析】据图可知,①为减数分裂 I 后期,②为减数分裂 II 末期,③为减数分裂 I 中期,④为减数分裂 I 前期,按照减数分裂时期排列的先后顺序为④→③→①→②, A 正确;②为减数分裂 II 末期,无同源染色体, B 错误;①为减数分裂 I 后期,同源染色体分离的同时非同源染色体自由组合,④为减数分裂 I 前期,同源染色体的非姐妹染色单体之间可能发生互换, C 正确;③为减数分裂 I 中期,各对同源染色体排列在赤道板两侧, D 正确。

5. A 【解析】以蒸馏水作为空白对照组,能排除实验过程中无关变量的影响,便于对结果进行比较, A 正确;学生乙实验中的自变量为不同的待测溶液,实验中每组均添加的 NaOH 溶液和 CuSO_4 溶液,属于无关变量, B 错误;已知还原糖与斐林试剂在水浴加热的条件下会产生砖红色沉淀,且蔗糖不是还原糖,不用增加含已知浓度蔗糖的实验, C 错误;通过颜色反应只能定性分析,不能准确检测两种豌豆中蛋白质的含量, D 错误。

6. A 【解析】DNA 不溶于酒精, DNA 进行粗提取时,可加入 95% 的冷酒精使 DNA 沉淀, A 错误;植物组织培养时,要用酒精对外植体进行消毒,酒精的浓度一般为 70%, B 正确;“检测生物组织中的脂肪”实验中,可以用体积分数为 50% 的酒精洗去苏丹 III 染液染色后的浮色, C 正确;由于酒精可将收集的土壤小动物及时固定,防止腐烂,所以进行土壤小动物类群丰富度的调查时,可用体积分数为 70% 的酒精溶液对小动物进行固定和防腐, D 正确。

方法总结 酒精是生物实验常用试剂之一,如检测脂肪实验中需用体积分数为 50% 的酒精溶液洗去浮色;观察植物细胞有丝分裂实验和低温诱导染色体数目加倍实验中都用体积分数为 95% 的酒精制备解离液对材料进行解离;绿叶中色素的提取和分离实验中需用无水乙醇来提取色素;果酒和果醋制作实验中可用体积分数为 70% 的酒精进行消毒;DNA 粗提取和鉴定实验中可用体积分数为 95% 的冷酒精使 DNA 沉淀。

7. C 【解析】制作泡菜时,用水密封泡菜坛的目的是促进乳酸菌的无氧呼吸, A 错误;制作果酒时,定时拧松瓶盖的目的是排出瓶中的 CO_2 ,防止发酵瓶爆裂, B 错误;制作果醋时,可以往果酒中加入醋酸杆菌,醋酸杆菌能将乙醇转化为乙酸, C 正确;传统发酵技术利用的是天然菌种,不需要对菌种进行纯化培养, D 错误。

易错点: 通常为混合菌种