

3',启动子应与模板链的3'端相连,故 *SNACI* 基因以 B 链为转录模板链,B 错误。Leap 启动子是一段有特殊结构的 DNA

片段,能被 RNA 聚合酶识别并结合,驱动基因的转录;为使 *SNACI* 基因在普通水稻植株中超量表达,必须含有强启动子,结合质粒上终止子的位置,若选用限制酶 *BamH* I、*EcoR* I,目的基因会反向插入载体,所以应选用限制酶 *BamH* I 和 *Kpn* I 切割图中的 Ti 质粒和 DNA 片段,C 错误。重组质粒含有卡那霉素抗性基因,故若将重组质粒导入农杆菌中,农杆菌培养基中需添加卡那霉素进行筛选,D 正确。

3.A 【解析】一个 DNA 分子经 PCR 扩增两次后的产物有 4 个,A 错误;PCR 技术中,复性是指引物结合到互补 DNA 链上,复性温度过高会使碱基之间的氢键不易形成,导致引物不能与模板链牢固结合,扩增效率下降,B 正确;若引物之间的碱基可互补配对,则引物之间可能相结合,导致 PCR 扩增失败,C 正确;为方便构建基因表达载体,可在引物中增加合适的限制酶酶切位点,以便扩增出的目的基因能够被相应限制酶切割,D 正确。

4. (1) *Xho*I、*Bam*HI

(2) 5'-GAAGTC-3'、3'-GCTTGG-5' 能

【解析】(1)据图甲可知,目的基因中存在 *Sma*I 和 *EcoR*I 两种限制酶的识别序列,若用这两种限制酶切割会破坏目的基因;为防止目的基因和质粒自身环化和反向连接,质粒和目的基因应该用 *Xho*I、*Bam*HI 切割。根据启动子方向以及终止子位置,PCR 扩增启动子 S 时,图中引物 I、II 应分别加入 *Xho*I、*Bam*HI 的识别序列。

(2)DNA 聚合酶的作用是从引物的 3'端开始连接脱氧核苷酸,引物与模板链的 3'端结合,因此,扩增该基因的合适引物组合是 5'-GAAGTC-3'、3'-GCTTGG-5'。引物是根据目的基因两

端的脱氧核苷酸序列设计的,故通过引物的设计,能做到选择性扩增 DNA 片段。

5. (1)复制原点 GAATTCTCTCCG *EcoR* I 和 *Hind* III P1、P4

(2)RNA 聚合酶识别和结合的部位,可驱动融合基因转录

确保融合蛋白能够连续翻译

(3)卡那霉素 C

【解析】(1)质粒能在受体细胞中复制依赖复制原点,因此 Ti 质粒上与其在农杆菌中复制能力相关的结构为复制原点。*StPin1A* 基因上无限制酶的识别序列,为了使扩增后的 *StPin1A* 基因能够与 Ti 质粒上的 *NaPI* 基因正确连接,用 PCR 技术扩增 *StPin1A* 基因时,需要设计合适的引物,依据图 1 及表中信息推测,*StPin1A* 要连接到 *NaPI* 的后面形成融合基因,且转录模板链的 3'端应与启动子接近,切割 Ti 质粒时需要用限制酶 *EcoR* I 和 *Hind* III,故引物 P2 包含的碱基序列为 5'-GAATTCTCTCCG-3'。对获得的 *NaPI-StPin1A* 融合基因进行扩增,上游引物选 P1,下游引物选 P4。

(2)融合基因启动子是 RNA 聚合酶识别和结合的部位,可驱动融合基因转录。为了使连接后的融合基因 *NaPI-StPin1A* 能够表达出融合蛋白,应剔除 *NaPI* 基因中终止密码子对应的碱基序列。

(3)Ti 质粒上存在卡那霉素抗性基因,将构建好的重组 Ti 质粒导入农杆菌中进行转化,并将农杆菌涂布在含有卡那霉素的固体培养基上,选择生长正常的菌落中的农杆菌与棉花的叶肉细胞共培养。在愈伤组织阶段取部分细胞提取总 DNA 进行 PCR 和凝胶电泳,此操作的目的是检测融合基因 *NaPI-StPin1A* 是否导入,由于 *NaPI* 基因长度为 462 bp, *StPin1A* 基因长度为 750 bp,融合基因长度大约为 $462+750=1\,212$ (bp),对照题图 2 电泳结果可知,其中成功导入融合基因 *NaPI-StPin1A* 的细胞是 C。

素养提升集训 2—— 关注现代生物科技的新进展

刷 难关

1.C 【解析】蛋白质工程的基本流程:预期蛋白质功能→设计预期的蛋白质结构→推测应有的氨基酸序列→找到并改变相对应的脱氧核苷酸序列(基因)或合成新的基因→获得所需要的蛋白质,所以在利用 AI 设计蛋白质前需要先明确其功能需求,A 正确;利用 AI 进行蛋白质设计属于蛋白质工程范畴,蛋

白质工程可以设计出自然界不存在的蛋白质,B 正确;利用 AI 链接:教材 P110 “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为基础,对编码该蛋白的基因进行有目的的设计改造,以改造现有蛋白质或制造新的蛋白质。”

获得蛋白质也需要以基因工程为基础,因为最终要通过改造或合成相应的基因并使其表达(转录和翻译)来合成蛋白质,C 错误;利用 AI 设计出的蛋白质的功能需要进行实验验证

突破点:体外活性检测、体内功能验证等

才能确定是否符合预期,不能仅依赖理论模型,D 正确。

2. ABD 【解析】农杆菌转化法是将目的基因导入双子叶植物常用的方法,PCR 扩增和电泳检测可用于判断目的基因是否成功整合到目标生物细胞的染色体 DNA 上, **A 正确**;根尖分生区的病毒极少,甚至无病毒,是培育脱毒苗的理想材料, **B 正确**;外植体(如根尖分生区)在培养前需进行表面消毒(如用酒精、次氯酸钠处理),以去除微生物污染,植物组织培养一般使用的是固体培养基, **C 错误**;③(诱导愈伤组织形成)和④(诱导胚状体形成)阶段需调整生长素与细胞分裂素的浓度和比例以调控细胞的分裂、脱分化和再分化, **D 正确**。

3. D 【解析】在动物细胞培养过程中,由于人们对细胞所需的营养物质还没有完全研究清楚,因此在使用合成培养基时,通常需要在培养基中加入动物血清等天然成分,以保证细胞的正常增殖,所以步骤①获得的体细胞培养时,为保证细胞正常增殖,往往要加入动物血清, **A 正确**。猪细胞表面存在一些引发人免疫排斥的关键抗原,基因编辑的目标之一就是

→ **关键点:** 异种器官移植面临的主要问题之一是免疫排斥反应

对这些关键抗原进行改造或消除,从而降低免疫排斥反应的发生,提高器官移植的成功率,所以步骤②基因编辑的目标之一是消除猪细胞表面引发人免疫排斥的关键抗原, **B 正确**。构建用于异种器官移植的胚胎,需要利用体细胞核移植技术将供体细胞的细胞核移植到去核卵母细胞中(或将供体细胞注入去核的卵母细胞),形成重构胚,然后通过电刺激等方法激活重构胚使其完成细胞分裂和发育进程,以得到早期胚胎,所以步骤③构建胚胎,需要利用体细胞核移植技术以及早期胚胎培养, **C 正确**。为提高步骤④的成功率,应对代孕母猪进行同期发情处理,使代孕母猪的子宫生理状态适于孕育胚胎,为胚胎植入创造良好的条件,代孕母猪一般不会对移植的胚胎产生免疫排斥反应,不需要对其使用免疫抑制剂, **D 错误**。

4. (1) 3.9~6.0 胰高血糖素、肾上腺素、甲状腺激素、糖皮质激素等

(2) 自身免疫病 基因的选择性表达

(3) 胰蛋白酶或胶原蛋白

(4) 探究移植胰岛细胞能否降低糖尿病小鼠的血糖水平 移植 75 天后患者血糖调节基本恢复正常水平

(5) 不会导致细胞异常分裂(避免致癌风险)

【解析】(1) 正常人空腹时血糖浓度范围为 3.9~6.0 mmol/L;人体内有多种激素参与调节血糖浓度,如胰高血糖素、肾上腺素、甲状腺激素、糖皮质激素等,均能提高血糖浓度。

(2) 自身免疫病是指自身免疫反应对组织和器官造成损伤并出现了症状,T1DM 主要是免疫系统攻击了自身胰岛 B 细胞,

引起其损伤导致胰岛素分泌不足,故属于自身免疫病。CiPSCs 被诱导形成胰岛细胞说明发生了细胞分化,其实质是基因的选择性表达。

(3) 将动物组织分散为单个细胞所用的酶是胰蛋白酶或胶原蛋白酶。

(4) 分析题干可知,自变量为是否移植胰岛细胞,由题图 2 可知,因变量为血糖浓度变化,故实验目的为探究移植胰岛细胞能否降低糖尿病小鼠的血糖水平;分析图 3 可知,移植 75 天后患者血糖水平 < 200 mg/dL,血糖调节已经恢复正常水平,表明患者能摆脱胰岛素依赖。

(5) 将原癌基因导入细胞,原癌基因可能过表达,导致细胞异常增殖,而化学分子诱导 CiPSCs 的优势是不会导致细胞异常分裂,避免致癌风险。

5. (1) 限制酶和 DNA 连接酶 磷酸二酯键

(2) 靶标序列和供体序列 PCR

(3) 待插入的甲醇诱导型启动子、编码重组酶的 S 基因序列和转录桥接 RNA 的序列 卡那霉素和甲醇

(4) 切除 利用该系统切除相关抗原决定基因,使移植器官无法产生相应抗原,从而不能引起免疫排斥反应

【解析】(1) 重组酶能识别并切割特定 DNA 序列,还能将供体序列中的目标片段插入靶标序列中,发挥了基因工程工具中限制酶和 DNA 连接酶的功能,即限制酶切割 DNA 的特定序列,DNA 连接酶连接 DNA 片段,该过程涉及磷酸二酯键的断裂和形成。

(2) 桥接 RNA 的第二、三茎环要与待插入目标片段的靶标序列、含有目标片段的供体序列结合,所以设计结合序列时,需要依据靶标序列和供体序列的碱基序列,保证碱基互补配对。获取特定 DNA 序列后,利用 PCR 技术扩增(PCR 可在体外大量扩增 DNA 片段)。

(3) 要在质粒 A 中插入甲醇诱导型启动子,可对质粒 B 进行编辑,包含待插入的甲醇诱导型启动子、编码重组酶的 S 基因序列和转录桥接 RNA 的序列,通过该系统实现启动子插入。质粒 A 上卡那霉素抗性基因因缺乏启动子无法表达,插入诱导型启动子后其可在特定条件下表达,所以用含卡那霉素和甲醇的培养基筛选,能存活的菌株是基因编辑成功的菌株。

(4) 从报告系统来看,重组酶—桥接 RNA 复合物处理前无荧光,处理后有荧光,说明原本 GFP 基因因结构无法表达,处理后实现了 DNA 片段切除,使 GFP 基因能够表达。重组酶—桥接 RNA 基因编辑技术可用于降低器官移植时免疫排斥的发生,原理是利用该系统切除相关抗原决定基因,使移植器官无法产生相应抗原,从而不能引起免疫排斥反应。