

8. (1)显微镜直接计数法统计细菌总数,菌落计数法只统计活菌数  
(2)5 000  
(3)灭菌 避免高温杀死细菌  
(4)A 相同处理时间下使用 A 后活细菌减少量最大;使用 A 达到活细菌减少量最大时所用时间最短  
(5)黑(或深紫)

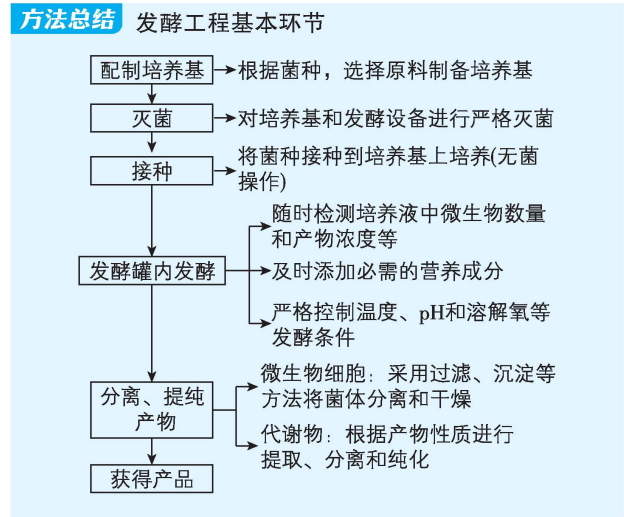
【解析】(1)显微镜直接计数法无法区分活细菌和死细菌,计数时均会计算在内,而菌落计数法需要先对细菌进行培养,只有活菌才可以在培养基上生长并形成单菌落,且当两个或多个细胞连在一起时,平板上观察到的只是一个菌落,故显微镜直接计数法测得的细菌数量大于菌落计数法。  
(2)从 100 mL 细菌原液中取 1 mL 加入无菌水中得到 10 mL 稀释菌液,稀释倍数为 10,再从稀释菌液中取 200  $\mu$ L(即 0.2 mL)涂布平板,菌落计数的结果为 100 个,则据此推算细菌原液中细菌浓度为  $100 \div 0.2 \times 10 = 5\,000$ (个/mL)。  
(3)用涂布法接种微生物时,为避免杂菌污染,需要先将涂布器在酒精灯上灼烧灭菌,冷却后再进行涂布,防止涂布器温度过高杀死目的菌种。  
(4)由题图可知,本实验的自变量为处理时间和消毒液种类,随着处理时间的延长,A、B、C 三种消毒液均可以减少活细菌的数量,且使用 A 消毒液的一组活细菌减少量最大、减少速率最快,所以 A 消毒液杀菌效果最好。  
(5)在伊红美蓝鉴别培养基上,大肠杆菌的代谢产物会与伊红美蓝结合使菌落呈黑(或深紫)色,并有金属光泽。

方法总结 选择培养基与鉴别培养基

(1)选择培养基只允许特定微生物生长,鉴别培养基则不同,只是特定微生物菌落特征明显,一定要注意区分。  
(2)常见的选择培养基有①以尿素作为唯一氮源的培养基——用于分离分解尿素的细菌;②不添加氮源的培养基——用于分离固氮微生物;③加入青霉素的培养基——

用于分离得到酵母菌和霉菌;④加入高浓度食盐的培养基——用于分离得到金黄色葡萄球菌。  
(3)鉴别培养基主要有伊红美蓝培养基——可以鉴别大肠杆菌。

9. D 【解析】相同菌体密度下,菌球体越大,菌球体内部黑曲霉菌体能利用的氧气越少,柠檬酸产生速率越慢,A 正确;由题干“菌体内铵离子浓度升高时,可解除柠檬酸对其合成途径的反馈抑制”可知,发酵中期添加一定量的硫酸铵可提高菌体内铵离子浓度,进而提高柠檬酸产量,B 正确;发酵过程中随着柠檬酸的积累,pH 下降,可抑制大部分细菌的生长,C 正确;柠檬酸易溶于水,故发酵结束后,将过滤所得的固体物质进行干燥不可获得柠檬酸产品,D 错误。  
10. C 【解析】黑曲霉不能直接吸收淀粉,但可以吸收利用其水解产物葡萄糖,淀粉水解糖属于糖类,能为发酵提供碳源和能源,A 正确;扩大培养可以增加黑曲霉的数量,提供足量菌种用于发酵,B 正确;培养基、发酵罐的常用灭菌方法是高压蒸汽灭菌法,而空气常用过滤除菌,C 错误;通气、搅拌可以增加溶解氧,同时使菌种与营养物质充分接触,有利于黑曲霉代谢,促进柠檬酸积累,D 正确。



第 2 章 细胞工程

第 1 节 植物细胞工程

课时 1 植物细胞工程的基本技术

刷基础

1. C 【解析】配子也具有发育成完整个体所必需的全部基因,花药离体培养证明植物的配子也能表现出全能性,A 错误;植物体细胞具有发育成完整个体所需的全部基因,但高度分化的植物细胞只有在离体状态下才可能表现出全能性,B 错误;在植物的生长发育过程中,并不是所有的细胞都表现出全能性,如高度分化的细胞没有表现出全能性,C 正确;将花粉

关键点: 在特定的时间和空间下细胞中的基因会选择性表达, 所以不是所有细胞都能表现出全能性

培育成单倍体植株体现了细胞的全能性,但玉米种子中有植物体的幼体,发育成完整植株不能体现细胞的全能性,D 错误。

方法总结 细胞的全能性

(1)概念:细胞的全能性是指细胞经分裂和分化后,仍然具有产生完整生物体或分化成其他各种细胞的潜能。  
(2)细胞具有全能性的原因:细胞含有本物种全套的遗传信息。  
(3)细胞全能性的大小:受精卵>干细胞>生殖细胞>体细胞。分化程度越高的细胞,其全能性通常越小。  
(4)高度分化的植物细胞表现出全能性的条件:离体、适宜的营养条件、适宜的环境条件。

2. B 【解析】原生质层是由细胞膜、液泡膜以及这两层膜之间的细胞质组成,过程①获得的原生质体是植物细胞去除了细胞壁后的结构,A 错误;获取的原生质体不宜悬浮在低渗溶液中,以防止其吸水涨破,B 正确;过程②为诱导芽分化,需要适当提高细胞分裂素的比例,C 错误;过程③表示诱导根的分化形成幼苗,在此之前细胞壁已经形成,且秋水仙素不能诱导细胞壁再生,D 错误。

3. B 【解析】植物组织培养过程中,决定其生长发育方向的关键激素是生长素和细胞分裂素,A 错误;外植体消毒时,采用酒精消毒并用无菌水冲洗后,用次氯酸钠溶液再次消毒并冲洗,B 正确;过程①脱分化形成愈伤组织,一般不需要光照,过程②再分化需要给予适宜光照,C 错误;通过植物组织培养快速繁殖甜叶菊植株依据的原理是植物细胞的全能性,D 错误。

4. ABD

思路导引

叶片的污染率最高,成活率最低,东云系多肉植物可能因为叶片污染率高导致叶插成活率低,C 正确

部位	污染率/%		成活率/%	
	HBG	阿姆斯特壮	HBG	阿姆斯特壮
叶片	56.67	70.00	26.67	16.67
嫩芽	23.33	20.00	46.46	53.33
花芽	16.67	13.33	56.67	60.00

花芽的污染率最低且成活率最高,故东云系多肉植物进行植物组织培养时优选部位为花芽,D 错误

【解析】实验所用叶片、嫩芽和花芽等外植体需要经过消毒后才能进行培养,灭菌采取强烈的理化方法会损伤外植体,A 错误;诱导愈伤组织形成通常使用固体培养基,B 错误。

5. D 【解析】过程①用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁获得的原生质体应放在等渗溶液中,放在蒸馏水中会使原生质体吸水涨破,A 错误;过程②是原生质体融合,利用了细胞膜具有一定的流动性的原理,但不能体现植物细胞的全能性,B 错误;PEG 融合法属于化学法,C 错误;过程③筛选抗黄龙病且

教材链接:教材 P37 “人工诱导原生质体融合的方法基本可以分为两大类——物理法和化学法。物理法包括电融合法、离心法等;化学法包括聚乙二醇(PEG)融合法、高Ca<sup>2+</sup>—高pH融合法等。”

对嫁接接穗有亲和力的品种,需对杂种植物进行嫁接接穗并接种黄龙病病原体,D 正确。

6. A

教材变式 本题是教材 P38 练习与应用“概念检测”T1 的变式题,本题将教材中的两种植物给予新的情境,同时结合两种植物体细胞的染色体数,综合考查了植物体细胞杂交技术的相关知识,试题难度加大。

【解析】植物体细胞杂交是将不同来源的植物体细胞在一定条件下融合成杂种细胞,并把杂种细胞培育成新植物体的技术,该技术可以克服二者远缘杂交不亲和的障碍,获得不引起鼓胀的牧草,A 正确;利用显微镜观察杂种细胞染色体的形态和数目,能判断杂种细胞的融合类型,B 错误;获得的杂种植株的染色体数为 28 条,是异源四倍体,理论上能够正常联会产生配子,C 错误;过程③(再分化)由于基因的选择性表达,同一个体不同细胞中核 DNA 相同,但 RNA 和蛋白质不完全相同,D 错误。

7. (1) 细胞膜的流动性和植物细胞的全能性 植物体细胞杂交技术

(2) 酶解法 聚乙二醇(PEG)融合法、高Ca<sup>2+</sup>—高pH融合法 杂种细胞再生出细胞壁

(3) 脱分化诱导形成愈伤组织和愈伤组织再分化形成幼苗所需的生长素和细胞分裂素的比例不同 再分化产生幼苗的过程需要长芽,芽中叶绿素的合成需要光照

(4) 植物体细胞杂交技术能够将不同物种的遗传物质组合到同一个体中,实现不同物种间的基因交流

【解析】(1) 培育“番茄—马铃薯”杂种植株利用了植物体细胞杂交技术,将两种植物细胞融合成杂种细胞,并把杂种细胞培育成杂种植株,依据的生物学原理是细胞膜的流动性和植物细胞的全能性。

(2) 过程①为去壁,该过程需要采用酶解法,即用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁获得植物原生质体。人工诱导原生质体融合的方法有物理法和化学法,物理法包括电融合法、离心法等,化学法包括聚乙二醇(PEG)融合法、高Ca<sup>2+</sup>—高pH融合法等。当杂种细胞再生出细胞壁时,意味着原生质体融合已经完成。

(3) 过程④为脱分化,表示将杂种细胞培育成愈伤组织的过程;过程⑤为再分化,表示将愈伤组织培育成胚状体进而培育成幼苗的过程。从脱分化到再分化需要更换新的培养基,因为脱分化诱导形成愈伤组织和愈伤组织再分化形成幼苗所需的生长素和细胞分裂素的比例不同。与过程④(脱分化)相比,过程⑤(再分化)需要提供光照,



高中必刷题 生物学

这是因为再分化产生幼苗的过程需要长芽,芽中叶绿素的合成需要光照。

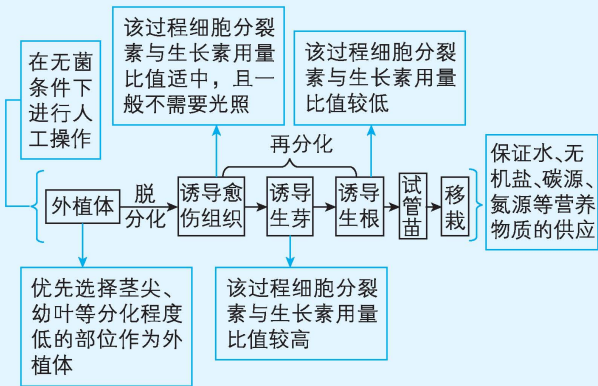
(4)植物体细胞杂交技术能够通过细胞融合技术将不同物种的遗传物质组合到同一个体中,实现不同物种间的基因交流,故能打破不同物种间的生殖隔离,实现远缘杂交。

刷易错

★易错点 对植物组织培养的条件掌握不牢

8. AB 【解析】细胞分裂素浓度与生长素浓度的比值( $\frac{m}{n}$ )低时,有利于根的分化、抑制芽的形成;比值高时,有利于芽的分化、抑制根的形成;比值适中时,促进愈伤组织的形成。因此不同阶段 $\frac{m}{n}$ 的值是不同的,此值最大的阶段是Ⅱ阶段,A 错误。Ⅰ阶段为脱分化,一般不需要光照,Ⅱ、Ⅲ阶段需要给予适当的光照,B 错误。Ⅰ阶段时通常选择茎尖、幼叶等作为外植体,原因是茎尖、幼叶细胞分化程度低,容易诱导产生愈伤组织,C 正确。Ⅰ阶段诱导形成的愈伤组织细胞处于不断分裂的未分化状态,而秋水仙素诱导多倍体形成的机理是抑制有丝分裂过程中纺锤体的形成,从而使细胞内染色体数目加倍,所以在Ⅰ阶段用秋水仙素对材料进行处理容易获得多倍体,D 正确。

易错警示 植物组织培养的条件



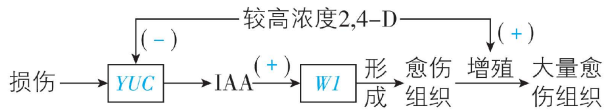
刷提升

1. B 【解析】若将融合的原生质体置于无菌水中,由于无细胞壁的限制,原生质体可能会吸水涨破,A 错误;愈伤组织无叶绿体,叶肉细胞含有叶绿体,可通过观察叶绿体的有无,即有无绿色作为初步筛选杂种细胞的标志,B 正确;杂种植株的核 DNA 只来自早花柠檬,而线粒体 DNA 只来自山金柑,因此不会保留并成功表达山金柑和早花柠檬全部性状,C 错误;杂种植株核 DNA 与早花柠檬核 DNA 完全相同,而早花柠檬属于二倍体生物,故杂种植株应该是二倍体,D 错误。

2. (1)全能性 潜能

(2)①抑制 ②愈伤组织形成量 影响愈伤组织形成的可能是生长素类调节剂的种类而非含量

(3)



【解析】(1)植物组织培养的理论基础是植物细胞具有全能性,全能性是指细胞经过分裂和分化后,仍具有产生完整生物体或分化成其他各种细胞的潜能。

(2)①观察图 1,与对照组相比,2,4-D-CIM 组中 IAA 合成酶基因(YUC)相对表达量明显降低,说明较高浓度 2,4-D 抑制 IAA 的合成。②研究者推测,一定量 IAA 有利于愈伤组织的形成。为证明该推测,在 2,4-D-CIM 的基础上,再分别添加 IAA、NAA,检测接种后外植体细胞 IAA 响应基因 W1 的表达情况,同时还测量了各组愈伤组织的形成量。增加两个 NAA 组是为了进一步确认影响愈伤组织形成的可能是生长素类调节剂的种类而非含量。

(3)根据实验结果可知,较高浓度 2,4-D 抑制 IAA 合成酶基因(YUC)的表达,从而抑制 IAA 合成,IAA 促进 W1 基因表达,有利于愈伤组织形成,且较高浓度 2,4-D 可促进愈伤组织增殖,模式图见答案。

课时 2 植物细胞工程的应用

刷基础

1. A 【解析】次生代谢物通常是由植物特定部位产生的,不是植物基本生命活动所必需的物质,利用怀菊任何部位的细胞进行植物细胞培养,不一定能够获得次生代谢物,A 错误;怀

菊快速繁殖是通过植物组织培养技术实现的,这一过程中产生的体细胞突变同样可以通过植物组织培养(无性生殖)遗传,B 正确;微型繁殖技术不仅可以高效、快速地实现种苗的大量繁殖,还可以保持优良品种的遗传特性,C 正确;生芽培养基中细胞分裂素与生长素的比值较大,而生根培养基中该比值较小,D 正确。

菊快速繁殖是通过植物组织培养技术实现的,这一过程中产生的体细胞突变同样可以通过植物组织培养(无性生殖)遗传,B 正确;微型繁殖技术不仅可以高效、快速地实现种苗的大量繁殖,还可以保持优良品种的遗传特性,C 正确;生芽培养基中细胞分裂素与生长素的比值较大,而生根培养基中该比值较小,D 正确。

2. B 【解析】产生花粉的过程属于减数分裂过程,该过程中会发生基因分离,选用花粉进行组织培养,不一定能保持铁皮石斛的优良遗传性状,应选用体细胞进行植物组织培养来保持石斛的优良遗传性状,A 错误;为获得无菌培养物,外植体要经过表面消毒处理后再进行接种培养,所用的培养基必须

彻底灭菌, **B 正确**; 利用植物组织培养技术培育的脱毒苗可能不带病毒, 但不是抗病毒的新品种, **C 错误**; 用同一植株体细胞离体培养获得的再生苗可能出现变异, 如在愈伤组织的培养过程中可能发生基因突变等, **D 错误**。

**易错警示** 脱毒苗是切取病毒极少甚至没有病毒的顶端分生区附近(如茎尖)组织经组织培养而来的, 可能不带病毒, 但并不具备抗病毒能力, 仍可能被病毒感染。

**3. C** 【解析】②过程用 52 ℃ 热水处理 30 min 再 38 ℃ 处理 10~15 d 可能使组织中病毒减少或减弱病毒侵染增殖能力, 使得脱毒效果更好, **A 正确**; 过程③是诱导生芽, 需要细胞分裂素的比例比生长素大, **B 正确**; 分析题图可知, 过程③后已长出芽, 能进行光合作用, 所以不需要加入葡萄糖, **C 错误**; 图示培育过程利用了植物组织培养技术, 该过程以带叶原基的芽为外植体, 属于无性繁殖, 有利于保持亲本的性状, **D 正确**。

**4. D** 【解析】过程 a 由花粉得到单倍体幼苗, 要经过花药(或花粉)离体培养, **A 正确**。基因型为 Aabb 的玉米能产生 2 种基因型(Ab 和 ab)的花粉, 经花药离体培养后可得到 2 种单倍体幼苗, 幼苗再经秋水仙素处理后可得到 AAbb 和 aabb 两种基因型的玉米, **B 正确**。细胞具有全能性是指细胞经分裂和分化后, 仍然具有产生完整生物体或分化成其他各种细胞的潜能。过程 a 或过程 c、d 中植物细胞培育成了完整个体, 能够说明植物细胞具有全能性, **C 正确**。c 是叶肉细胞培养成为愈伤组织的过程, 是脱分化过程; d 是愈伤组织形成胚状体的过程, 是再分化过程, 两个过程均需要一定的植物激素诱导, **D 错误**。

**5. BC** 【解析】 $\gamma$  射线照射愈伤组织, 可以诱发基因突变; 白三叶草组织细胞的培养通过①脱分化和②再分化最终形成白三叶草幼苗依据的原理是植物细胞的全能性, **A 正确**。通过脱分化形成愈伤组织细胞的培养基为固体培养基, **B 错误**。白三叶草愈伤组织和胚状体的细胞中核 DNA 相同, 但由于基因选择性表达, 故细胞中 RNA 不完全相同, **C 错误**。由于基因突变具有随机性和不定向性, 需要对获得的新植株进行筛选, 过程③通常向白三叶草幼苗喷洒除草剂, 获得抗除草剂的白三叶草, **D 正确**。

**6. C** 【解析】据实验结果可知, 细胞停止生长后才开始大量合成 X, 故应先培养大量细胞, 后改变条件使细胞停止生长来大量生产 X, **A 正确**; 由题干可知, 微生物侵害等胁迫可诱导植物细胞产生 X, 将微生物菌体作为诱导因子加入培养基, 可能会提高 X 产量, **B 正确**; X 的工厂化生产利用的

是植物细胞培养技术, 不需要将外植体培养成完整植株, **C 错误**; 可通过改造酵母菌等微生物的基因, 再利用发酵工程生产 X, **D 正确**。

**7. ABC** 【解析】在进行植物组织培养时, 需要在培养基中添加适当比例的生长素和细胞分裂素诱导细胞的脱分化和再分化, 因此①脱分化和②再分化过程都受到外源激素的调控, **A 错误**; ①过程表示脱分化, 实现脱分化的条件是外植体细胞的基因进行选择表达, 而不是发生基因突变, **B 错误**; 由于植物顶端分生区附近(如茎尖)病毒极少, 甚至没有病毒, 所以将该区细胞进行离体培养可以获得脱毒苗, 而不能用成熟的根和茎来培养获得脱毒苗, 并且脱毒苗通常并不具有更强的抗病毒能力, **C 错误**; 辣椒素是次生代谢物, 通过细胞培养得到的高产细胞系就可产生, 不需要培养成完整植株, 所以不需要实现植物细胞的全能性, **D 正确**。

**8. (1) 纤维素酶和果胶 聚乙二醇融合法(或高  $\text{Ca}^{2+}$ —高 pH 融合法) 失水皱缩**

(2) ①ZA 细胞中的 QJ 和 CH 的遗传信息在表达时相互干扰, 导致  $\beta$ -amyrin 表达量降低 ②ZB

(3) 生产周期短; 几乎不受季节、天气等因素限制; 保护野生植物资源等(合理即可)

【解析】(1) 原生质体为植物细胞去除了细胞壁(主要成分为纤维素和果胶)后的结构, 故需要用纤维素酶和果胶酶处理 QJ 和 CH 的细胞获得原生质体, 再用聚乙二醇融合法(或高  $\text{Ca}^{2+}$ —高 pH 融合法)诱导原生质体融合。上述过程需在与细胞液浓度相当的培养液中进行, 避免原生质体吸水涨破或失水皱缩。

(2) ①ZA 中含有 QJ 和 CH 的正常合成酶基因  $\beta$ -amyrin, 但齐墩果酸含量反而低于 QJ 和 CH, 可能的原因是 ZA 细胞中的 QJ 和 CH 的遗传信息在表达时相互干扰, 导致  $\beta$ -amyrin 表达量降低。②由题图可知, ZB 细胞中齐墩果酸含量最高, 因此为大量获取齐墩果酸, 可在适宜条件下选择 ZB 细胞进行细胞产物的工厂化生产。

(3) 利用原生质体融合技术开发药用植物细胞产物的工厂化生产的意义有生产周期短, 几乎不受季节、天气等因素限制, 保护野生植物资源, 提高产量等。

## 刷提升

**1. (1) 植物细胞具有全能性 可以高效、快速地实现种苗的大量繁殖; 保持优良品种的遗传特性 诱导原生质体融合**

(2) (质量分数为 5% 左右的) 次氯酸钠溶液 生长素和细胞分裂素 ③



(3)不同意。植物细胞中次生代谢物含量很低,利用细胞产物的工厂化生产黄酮类化合物主要是通过增加细胞数量来增加黄酮类化合物的产量

【解析】图中①表示外植体接种,②表示脱分化,③表示再分化,④表示诱导愈伤组织产生突变体,⑤表示去除细胞壁获得原生质体,⑥表示植物细胞培养。

(1)植物组织培养所利用的原理是植物细胞具有全能性。植物组织培养技术可以高效、快速地实现种苗的大量繁殖;植物组织培养属于无性生殖,可以保持优良品种的遗传特性。培育形成植株丁的过程中,PEG 的作用是诱导原生质体融合。

(2)对外植体进行消毒所用的试剂是体积分数为 70%的酒精和质量分数为 5%左右的次氯酸钠溶液。生长素和细胞分裂素的浓度、比例等都会影响植物组织培养中细胞的发育方向。利用植物组织培养技术获得植株时,脱分化过程(②)一般不需要光照,再分化过程(③)需要光照。

(3)不同意该同学的观点。原因是黄酮类化合物属于植物的次生代谢物,在植物细胞中含量很低,利用细胞产物的工厂化生产黄酮类化合物主要通过增加细胞数量,从而增加黄酮类化合物的产量。

2. (1)不需要 再分化

(2)纤维素酶和果胶 愈伤组织细胞既能大量增殖,又能产生紫杉醇

(3)蔗糖浓度过低不能给细胞提供足够的碳源,浓度过高可能会导致细胞失水死亡

(4)不支持 紫杉醇处理组的患者细胞的有丝分裂指数高于对照组

(5)与甲组相比,乙组多极纺锤体癌细胞比例及癌细胞的死亡率增加,而丙组下降

【解析】(1)图 1 中过程①为脱分化过程,脱分化一般不需要光照。过程②为再分化过程。

常考点: 脱分化过程一般不需要光照,再分化过程需要光照

(2)植物细胞壁的主要成分是纤维素和果胶,根据酶的专一性可知,分散植物细胞需要用纤维素酶和果胶酶处理。愈伤组织细胞分化程度低、分裂能力强,且红豆杉的愈伤组织细胞能产生紫杉醇,故为获得大量紫杉醇,应将红豆杉的外植体培育到愈伤组织阶段。

(3)蔗糖浓度过低不能给细胞提供足够的碳源,浓度过高可能会造成细胞失水死亡,故蔗糖浓度过低和过高均不利于悬浮细胞的培养。

(4)由图 2 可知,紫杉醇处理组的患者细胞有丝分裂指数高于对照组,说明紫杉醇并未抑制细胞的分裂,以上实验结果不支持紫杉醇通过抑制癌细胞分裂来发挥抗癌作用。

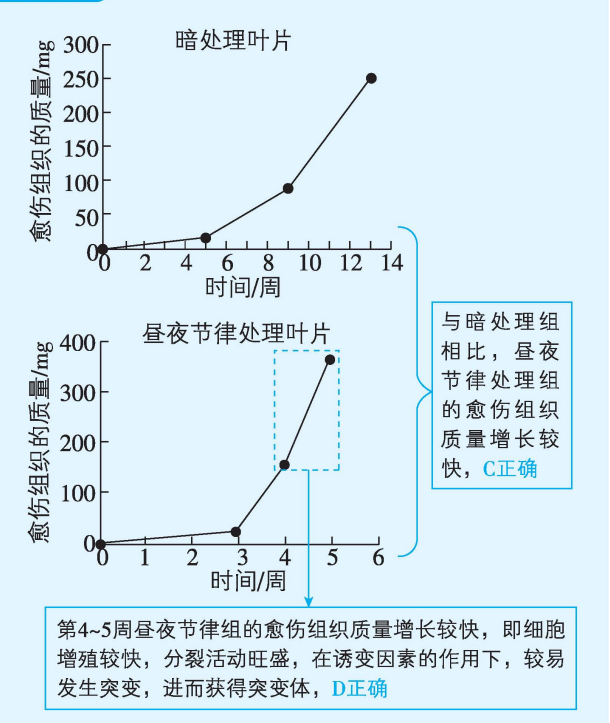
(5)为了进一步证实癌细胞对紫杉醇敏感性增强确实是由多极纺锤体的增加引起的,设计了三组实验,实验的自变量为添加物质的种类,因变量为多极纺锤体癌细胞比例及癌细胞的死亡率,该实验为验证性实验,预期实验结果是与甲组相比,乙组多极纺锤体癌细胞比例及癌细胞的死亡率增加,而丙组下降。

专题 2 植物细胞工程的基本技术

刷难关

1. A

题图解读



【解析】该实验并未获得完整的植株和其他各种细胞,因此不能得出沙漠洋葱的叶片细胞具有全能性的结论, A 错误;该实

教材链接: 教材 P34 “细胞经分裂和分化后,仍然具有产生完整生物体或分化成其他各种细胞的潜能,即细胞具有全能性。”

验所用培养基为诱导愈伤组织形成的培养基,不能用于诱导芽和根的形成, B 正确。

常考点: 诱导形成愈伤组织、诱导生根和诱导生芽的培养基中生长素和细胞分裂素比值不同

2. ABC 【解析】该实验的外植体(西瓜幼苗子叶)需要经消毒处理,而不是灭菌处理, A 错误;愈伤组织的形成属于脱分化过程,脱分化是指已分化的细胞在一定因素作用下恢复细胞分裂能力,失去原有分化状态的过程,因此细胞没有发生分化, B 错误;对外植体进行暗处理与不进行暗处理相比,脱分化率和再分化率均显著提高,而暗处理

时间的长短(一周及以上)对细胞脱分化率(愈伤组织诱导率)影响相对不大,但对再分化率(胚状体诱导率)的影响相对较大,**C 错误**;结合图示结果可知,在暗处理0周时,胚状体诱导率为0,在暗处理1周时,胚状体诱导率最高,随暗处理时间延长胚状体诱导率下降,因此诱导形成胚状体的最适暗处理时间可能是1周左右,**D 正确**。

### 3. (1) 6 将 pH 调整为酸性

(2) ①植物体细胞杂交 ②花粉离体培养(或植物组织培养) 愈伤组织 ③生长素和细胞分裂素的比例 ④一定浓度的秋水仙素(或低温)

【解析】(1)植物丙是植物甲和乙通过体细胞杂交技术形成的杂种植株,为异源多倍体。根据题意可知,低产耐酸植物甲(4N)体细胞中有4个染色体组,高产不耐酸植物乙(2N)体细胞中有2个染色体组,因此植物丙的体细胞中有6个染色体组。植物丙'有耐酸的特性,因此过程③所用的固体培养基需将 pH 调整为酸性。

(2)通过单倍体育种技术,利用低产耐酸植物甲(4N)和高产不耐酸植物乙(2N)培育出高产耐酸的新品种丁,需要先将两种植物的优良性状集中到一个个体上。①由于两种植物存在生殖隔离,因此不能进行有性杂交,可将甲和乙的细胞通过植物体细胞杂交技术培养获得杂种植株,收集其花粉;②再利用花粉离体培养技术培养花粉,经过脱分化过程形成愈伤组织;③由于植物组织培养的不同阶段需要的生长素和细胞分裂素的比例不同,因此可通过改变培养基中的生长素和细胞分裂素的比例,诱导分化;④用一定浓度的秋水仙素(或低温)处理单倍体幼苗;最后通过筛选获得符合要求的植

→ **关键点:** 秋水仙素或低温处理会诱导染色体数目加倍

株,收获其所结种子。

## 第2节 动物细胞工程

### 课时1 动物细胞培养

#### 刷基础

1. **C** 【解析】用于动物细胞培养的合成培养基需加入糖类、氨基酸、无机盐、维生素等,通常还需加入血清等天然成分,**A 正确**;哺乳动物细胞培养的温度多以(36.5±0.5)℃为宜,**B 正确**;动物细胞培养需要一定的气体环境(95%空气和5%CO<sub>2</sub>的混合气体),CO<sub>2</sub>能维持培养液的pH,**C 错误**;培养动物细胞一般使用液体培养基,也称为培养液,培养液需要定期更换,以便清除代谢物,防止细胞代谢物积累对细胞自身造成危害,**D 正确**。

#### 易错警示 动物细胞培养、植物组织培养和微生物培养的条件

(1)动物细胞培养的条件:

- ①无菌、无毒的环境:a. 灭菌及无菌操作,b. 定期更换培养液,以清除代谢物。
- ②营养物质:糖类、氨基酸、无机盐、维生素等,还需加入血清等天然成分。
- ③适宜的温度、pH 和渗透压。
- ④95%空气+5%CO<sub>2</sub>的混合气体环境。

(2)植物组织培养的条件:

- ①在无菌条件下进行人工操作。
  - ②保证水、无机盐、碳源、氮源等营养物质的供应。
  - ③需要添加一些植物生长调节物质,主要是生长素和细胞分裂素。
  - ④愈伤组织再分化形成芽,芽中需形成叶绿体,以进行光合作用,此时需要光照。
- (3)微生物培养基一般都含有水、碳源、氮源、无机盐,此外还要满足微生物生长对 pH、特殊营养物质以及氧气的要求等。

2. **B** 【解析】在动物细胞培养时,需将组织分散成单个细胞,步骤②可用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理,破坏细胞间的连接,使细胞分散开来,**A 正确**;进行传代培养时,悬浮培养的

→ **教材链接:** 教材 P44 “在进行细胞培养时,首先要对新鲜取材的动物组织进行处理,或用机械的方法,或用胰蛋白酶、胶原蛋白酶等处理一段时间,将组织分散成单个细胞。”

细胞直接用离心法收集,贴壁细胞需要用胰蛋白酶等处理使之分散成单个细胞,再用离心法收集,**B 错误**;步骤③原代培养和④传代培养过程中,为了保证气体交换,可使用松盖培养瓶进行培养,**C 正确**;大多数类型动物细胞在培养时具有贴壁生长的特性,需要贴附于某些基质表面才能生长增殖,**D 正确**。

3. **D** 【解析】在动物细胞培养过程中,为了促进细胞的增殖,培养基中通常需要添加某些特定的物质,如生长因子等,**A 正确**;Vero 细胞在培养时会因密度过大、有害代谢物质积累和培养液中营养物质缺乏等因素而分裂、生长受阻,细胞表面相互接触后也会出现接触抑制现象而停止增殖进入平台期,②处细胞即将进入平台期,说明其生长缓慢甚至停止生长,而①处细胞正处于对数生长期,其生长和增殖速率均很快,**B 正确**;该实验对非洲绿猴肾细胞进行培养,依据的原理是细胞增殖,理论上细胞只进行有丝分裂,**C 正确**;更换培养



基可清除代谢物,防止细胞代谢物积累对细胞自身造成危害,进而延缓衰退期细胞数量下降的速率,**D 错误**。

4. BC

**教材变式** 本题是教材 P47“练习与应用”拓展应用的变式题。本题在教材的基础上,对诱导多能干细胞的功能、性质和应用前景等进行综合考查,是对教材知识的拓展应用。

**【解析】**诱导多能干细胞(iPS 细胞)是类似胚胎干细胞的一种细胞,可分化产生多种细胞,该项技术将来有可能应用于再生医学、药物安全性与有效性检测等领域,**A 正确**;诱导多能干细胞分化成多种细胞是基因选择性表达的结果,不同细胞中细胞核 DNA 不变, RNA 及蛋白质不完全相同,**B 错误**;成纤维细胞可以转化为 iPS 细胞,已分化的 B 细胞、T 细胞也可以转化为 iPS 细胞,**C 错误**;可通过诱导使 iPS 细胞定向分化成用于移植的器官,这为某些疾病的治疗提供了广阔的前景,**D 正确**。

刷提升

**1. C 【解析】**体外培养的动物细胞大多需要贴附在基质表面才能生长增殖,称为贴壁生长,**A 正确**;动物细胞培养时,可以用机械方法,也可以用胰蛋白酶或胶原蛋白酶等处理使组织分散为单个细胞,**B 正确**;培养动物细胞一般使用液体培养基,常规细胞培养和三维细胞培养均不需要在培养基中添加琼脂,**C 错误**;三维细胞培养形成的立体结构更接近体内组织,可用于检测药物对组织内部细胞的作用,**D 正确**。

**2. B 【解析】**微囊法将细胞封闭在半透膜的微囊内,可减少外界对细胞的机械损伤,有利于大规模培养动物细胞,**A 正确**;微囊悬浮培养能防止培养过程中细胞贴壁生长,但接触抑制是体外细胞培养时贴壁型细胞生长的特性,微囊悬浮培养仍然会出现接触抑制现象,**B 错误**;半透膜可阻留细胞分泌的大分子产物(如蛋白质),使其在囊内积累,故微囊法培养动物细胞,有利于获得高度纯化的大分子细胞产物,**C 正确**;动物细胞培养需严格的无菌无毒环境,以防杂菌和代谢物的污染导致细胞死亡,**D 正确**。

**3. D 【解析】**培养肝癌细胞的过程中需定期更换培养液,以补充细胞生长所需的营养物质,清除细胞代谢物等,**A 错误**;肝癌细胞具有无限增殖的特点,在培养过程中不会发生接触抑制,**B 错误**;对照组应为未导入 TK 的肝癌细胞,实验组应为导入 TK 的肝癌细胞,**C 错误**;从图中可以看出,添加更昔洛韦后,实验组细胞数量先减少后缓慢增长,而对照组细胞数

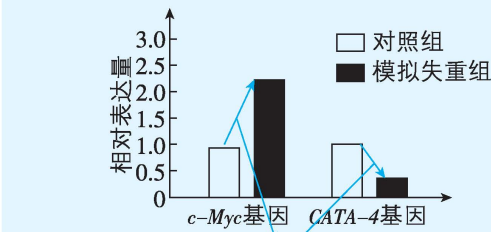
量快速增长,说明外源基因 TK 与更昔洛韦可组成自杀基因系统,**D 正确**。

**4. BCD 【解析】**根据题意可知,用不同浓度的血清培养 hUC-MSCs,48 h 后取上清液,用上清液培养 HCECs,而不是用不同浓度的血清直接培养,**A 错误**。为检测 HCECs 的吸光度,可利用胰蛋白酶处理使 HCECs 分散成单个细胞,**B 正确**。由表格数据可知,利用不同浓度的血清培养 hUC-MSCs,取其上清液来培养 HCECs,原因可能是 hUC-MSCs 在培养过程中产生某种物质调控 HCECs 增殖;培养 24 h 后活细胞数目不同,血清浓度较低时活细胞数目较多,**C、D 正确**。

**5. D 【解析】**iPS 细胞可以由病人自身的体细胞诱导形成,将它移植回病人体内,理论上可以避免免疫排斥反应,故 iPS 细胞的应用前景优于胚胎干细胞,**A 正确**;c-Myc 为原癌基因,原癌基因表达的蛋白质是细胞正常生长和增殖所必需的,若 c-Myc 基因突变或表达过强,移植 iPS 细胞可能存在发生恶性肿瘤的风险,**B 正确**;体细胞被诱导为 iPS 细胞,细胞的全能性增加、分化程度降低,发生了基因的选择性表达,**C 正确**;由于基因的选择性表达,iPS 细胞分裂分化而成的多种细胞中 RNA 和蛋白质均不完全相同,**D 错误**。

6. D

题图解读



由题干信息可知,在失重条件下,心肌细胞培养96 h后凋亡率显著增加,而由题图可知,c-Myc基因和CATA-4基因相对表达量在失重条件下发生明显变化,可推测c-Myc基因和CATA-4基因相对表达量的变化与失重条件下心肌细胞凋亡率增加密切相关,**D 正确**

**【解析】**动物细胞在进行体外培养时,大多数种类细胞是贴壁生长的,**A 错误**;动物细胞培养时通常将细胞置于含有 95%

**教材链接:**教材 P44“体外培养的动物细胞可以分为两大类:一类细胞能够悬浮在培养液中生长增殖;另一类则需要贴附于某些基质表面才能生长增殖,大多数细胞属于这种类型。”

空气和 5%CO<sub>2</sub> 的混合气体环境中,其中 CO<sub>2</sub> 的作用是维持培养液的 pH,而多数动物细胞生存的适宜 pH 为 7.2~7.4,**B 错误**;由于人们对细胞所需营养物质尚未全部研究清楚,因此在使用合成培养基时,通常需要加入血清等一些天然成分,**C 错误**。

**7. ABD 【解析】**培养液需要定期更换,以便清除代谢物,防止代谢物积累对细胞自身造成危害,**A 正确**;血清中含有细胞

所需的营养物质,所以上室无血清可以模拟低营养环境,B 正确;上室为无血清培养液,下室为含血清培养液,加入上室的肿瘤细胞一段时间后出现在下室中,说明血清培养液中含有某些因子促使肿瘤细胞向营养高的下室移动,C 错误;要研究特定基因对细胞侵袭的影响,可先敲除基因或让该基因过表达,即改变特定基因的表达水平,D 正确。

8. B 【解析】成块的组织中细胞与细胞靠在一起,在培养前需用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理,使组织块分散成单个细胞后才能进行细胞培养,A 正确;细胞在体外培养时,需要对培养液和培养用具进行灭菌,以及在无菌环境下进行操作,定期更换培养液以防止细胞代谢物对细胞造成危害,B 错误;动物细胞在培养过程中会出现细胞贴壁和接触抑制的现象,由此推测第二种细胞会贴壁到无细胞区,当两种细胞分裂、生长到表面相互接触时停止分裂,C 正确;细胞膜表面上可能存在接收邻近细胞信号的受体,以完成细胞间的信息交流,通过检测混合培养液中是否存在信息类物质可初步推测两种细胞间的信息交流方式,D 正确。

## 课时2 动物细胞融合技术与单克隆抗体

### 刷基础

1. C 【解析】不同种生物的细胞也能融合,如人、鼠细胞融合,A 错误;诱导植物原生质体融合不能用灭活的仙台病毒,B 错误;动物细胞融合体现了细胞膜的流动性,C 正确;植物细胞的融合通常要先去除细胞壁,得到原生质体后再促融,与动物细胞的融合过程不完全相同,D 错误。

2. D 【解析】①过程是向小鼠体内注射人绒毛膜促性腺激素(HCG),目的是获得能产生相应抗体的B淋巴细胞,结合题干“女性受孕后,胎盘会产生一种糖蛋白类激素,叫人绒毛膜促性腺激素(HCG)”可知,孕早期女性血液中含有①过程注射的物质,A 正确;②过程可以用灭活病毒诱导动物细胞融合,原理是灭活的病毒可以使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,B 正确;③过程

常考点:诱导动物细胞融合的方法有电融合法、PEG融合法和灭活病毒诱导法等

需通过特定的选择培养基筛选杂交瘤细胞,在细胞融合后,会存在多种细胞,如未融合的细胞、同种细胞融合的细胞以及杂交瘤细胞等,在特定的选择培养基上未融合的细胞和同种细胞融合的细胞都会死亡,只有融合的杂交瘤细胞才能生长,从而筛选出杂交瘤细胞,C 正确;④过程中筛选出的杂交瘤细胞具有癌细胞的特性,能够无限增殖,在体外培养时,一般不会出现接触抑制现象,D 错误。

## 3. C

教材变式 本题是教材 P50“思考·讨论——单克隆抗体的应用”的变式题。本题以选择题的形式对单克隆抗体的制备过程、原理、应用等进行综合考查,能够更好地巩固教材重点知识,提升知识应用能力。

【解析】利用动物细胞融合技术将免疫后得到的B淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合成杂交瘤细胞,杂交瘤细胞既能大量增殖,又能产生特异性抗体,可利用该细胞制备单克隆抗体,A 正确;单克隆抗体制备过程中至少经过两次筛选,一次是用特定的选择培养基进行筛选,获得杂交瘤细胞,杂交瘤细胞还需进行克隆化培养和抗体检测,即用96孔板培养和抗体检测,经多次筛选,就可获得能分泌所需抗体的杂交瘤细胞,在体外大规模培养可获得单克隆抗体,B 正确;ADC以胞吞的方式进入肿瘤细胞,这体现了细胞膜的结构特点,即具有一定的流动性,C 错误;ADC通过胞吞的方式进入肿瘤细胞,被溶酶体裂解,释放药物,实现了对肿瘤细胞的选择性杀伤,D 正确。

### 刷易错

#### ★易错点 混淆单克隆抗体制备过程中的两次筛选

4. AD 【解析】根据物理性质划分,培养基有液体培养基和固体培养基;从功能角度划分,HAT培养基属于选择培养基,A 正确。在单克隆抗体制备过程中并没有利用细胞的全能性,因为该过程不需要形成完整个体或分化出其他各种细胞,B 错误。第一次筛选:利用特定选择培养基(HAT培养基)筛选,获得杂交瘤细胞,即由B淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合形成的细胞,未融合的亲本细胞和融合的具有同种核的细胞都会死亡,C 错误。第二次筛选:对杂交瘤细胞进行克隆化培养和抗体检测,获得能产生所需抗体的杂交瘤细胞,D 正确。

#### 易错警示 单克隆抗体制备过程中的两次筛选

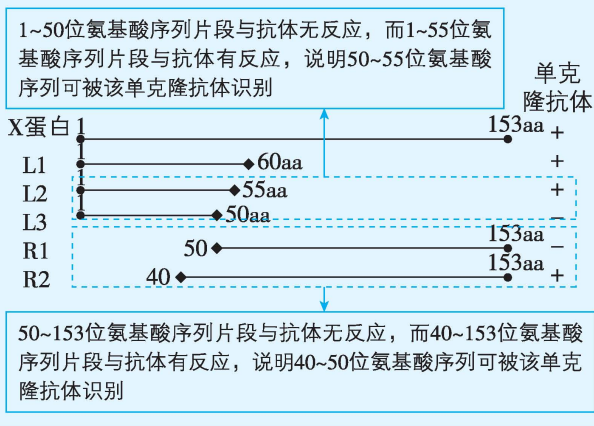
首先将特定抗原注射到小鼠体内,使小鼠发生特异性免疫,得到能产生特定抗体的B淋巴细胞;再利用动物细胞融合技术将B淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合;然后筛选出杂交瘤细胞,即AB型细胞(A为B淋巴细胞,B为骨髓瘤细胞),不需要A、B、AA、BB等类型细胞;然后用多孔板克隆化培养杂交瘤细胞,并进行抗体检测筛选出能分泌所需抗体的杂交瘤细胞;最后在体外或体内培养杂交瘤细胞,获取大量的单克隆抗体。



刷提升

1. B

题图解读



【解析】单克隆抗体的制备过程中，先将免疫得到的 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞通过动物细胞融合技术进行融合，然后筛选出杂交瘤细胞并对杂交瘤细胞进行动物细胞培养，以获得大量单克隆抗体，故涉及动物细胞融合、动物细胞培养技术，**A 正确**；单个 B 细胞通常仅表达一种 B 细胞受体，因此分化产生的浆细胞只能分泌一种抗体，**B 错误**；利用同位素标记单克隆抗体，基于抗原—抗体特异性结合原理，可定位诊断肿瘤、心血管畸形等疾病，这是单克隆抗体在医学诊断中的常见应用，**C 正确**；由题图解读可知，该单克隆抗体识别抗原（X 蛋白）的区域大概为 40~55 位氨基酸序列，**D 正确**。

2. ABD 【解析】动物细胞融合与植物细胞融合的原理都是利用细胞膜的流动性，与植物细胞融合相比，动物细胞融合特有的方法是灭活病毒诱导法，**A 正确**；双杂交瘤细胞在体外培养过程中一般无接触抑制现象，**B 正确**；杂交瘤细胞是由已免疫的 B 细胞和骨髓瘤细胞融合形成的，不需要接触抗原就能产生抗体，**C 错误**；与单克隆抗体相比，双特异性抗体增加了一个抗原特异性结合位点，为抗体带来了更好的靶向性，能一定程度上提高抗体—药物偶联物的靶向作用，**D 正确**。

**易错警示** 大多数动物细胞在培养过程中有细胞贴壁和接触抑制现象，即贴壁细胞分裂生长到表面相互接触时会停止增殖，若要细胞继续增殖，则需要将细胞分散成单个细胞后分瓶培养；而骨髓瘤细胞没有接触抑制现象，能在适宜条件下无限增殖，杂交瘤细胞具有骨髓瘤细胞的特点，因此在培养过程中不会出现接触抑制。

3. (1) 能产生抗 HER2 抗体的 B 淋巴细胞
- (2) PEG 融合法、电融合法、灭活病毒诱导法 3
- (3) 克隆化培养和抗体检测 每孔只接种 1 个细胞

【解析】(1) 用特定抗原刺激，小鼠体内才能产生能分泌特定抗体的 B 淋巴细胞，故给小鼠注射纯化的 HER2 蛋白的目的是从小鼠的脾脏中获得能产生抗 HER2 抗体的 B 淋巴细胞。

(2) 诱导 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合的常用方法有 PEG 融合法、电融合法、灭活病毒诱导法等。若用 A 表示 B 淋巴细胞，B 表示骨髓瘤细胞，因为细胞融合是随机的，且融合率达不到 100%，故融合体系中会出现多种类型的细胞（A、B、AA、BB、AB），其中两两融合的细胞有 3 种。

(3) 经 HAT 培养基第一次筛选出的杂交瘤细胞产生的抗体存在差异，必须对杂交瘤细胞进行第二次筛选，即进行克隆化培养和抗体检测，选出能产生所需抗体的杂交瘤细胞。第二次筛选通常采用稀释克隆细胞的方法，将杂交瘤细胞多倍稀释，接种在 96 孔培养板上，尽量使每孔只接种一个杂交瘤细胞，通过培养让其增殖，然后进行相应检测。

专题 3 单克隆抗体的制备和应用

刷难关

1. B 【解析】由题意可知，一种抗原决定簇只能刺激机体产生一种抗体，由多种抗原决定簇刺激机体产生的多种抗体的总和称为多克隆抗体，因此多抗由多种 B 细胞克隆产生，**A 错误**；利用灭活病毒诱导法融合骨髓瘤细胞与 B 细胞时，细胞膜上的蛋白质分子和脂质分子会重新排布，有利于细胞融合，**B 正确**；筛选②需要将抗体检测呈阳性的杂交瘤细胞注射到小鼠腹腔进行培养，**C 错误**；甲型 H1N1 流感病毒部分抗原结构改变后，会出现与该抗原对应的单抗失效，而多抗中含有针对其他抗原的抗体，可能仍有效，**D 错误**。

2. ABD 【解析】在小鼠体内培养杂交瘤细胞是将杂交瘤细胞注射到小鼠腹腔内增殖，需要从小鼠腹水中提取特异性抗体，而不是从脾脏中提取，**A 错误**；步骤③获得的杂交瘤细胞是由 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合形成的，具有一个细胞核，该细胞核融合了 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞的核物质，**B 错误**；步骤④需经过克隆化培养和抗体检测，从而获得能稳定产生抗 NS1 蛋白抗体的杂交瘤细胞，**C 正确**；从图 2 可以看出，NS1 蛋白与抗 NS1 蛋白抗体的 Fab 部分结合，SPA 与抗 NS1 蛋白抗体的 Fc 部分结合，**D 错误**。

3. (1) 灭活病毒诱导
- (2) ①瘤细胞、瘤细胞 补救合成 ②克隆化培养 抗体检测 能产生所需抗体的杂交瘤细胞 既能迅速大量增殖，又能产生特定抗体
- (3) 既能使 CD28 接收激活信号，又实现了癌细胞与 T 细胞的聚集，最终激活 T 细胞杀伤癌细胞

课时 3 动物体细胞核移植技术和克隆动物

【解析】(1)相较于诱导植物细胞融合,图甲动物细胞融合所特有的诱导方法是灭活病毒诱导法。

教材链接:教材 P48 “诱导动物细胞融合的常用方法有 PEG 融合法、电融合法和灭活病毒诱导法等。”

(2)①已知物质 A 可以阻断其中的全合成途径,骨髓瘤细胞不能进行补救合成途径,所以用添加 H、A、T 三种物质的培养基来筛选时,瘤细胞和瘤瘤细胞两种途径都无法进行,所以无法合成核苷酸,从而无法在 HAT 培养基上增殖。杂交瘤细胞(由 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合产生)的全合成途径虽然被物质 A 阻断,但由于其中的 B 淋巴细胞保留了能利用 H、T 物质合成核苷酸的补救合成途径,故可以继续增殖。②将第一次筛选获得的细胞进行克隆化培养和抗体检测,经过多次筛选,就可以获得能分泌所需抗体的杂交瘤细胞,杂交瘤细胞具有既能迅速大量增殖,又能产生特定抗体的特点。

(3)双特异性抗体 PSMA×CD28 协助杀伤癌细胞的机理是双特异性抗体 PSMA×CD28 既能结合 PSMA,使 CD28 接收激活信号,又能结合 CD28,实现了癌细胞与 T 细胞的聚集,从而有效激活 T 细胞杀伤癌细胞。

4. (1)克隆化培养 抗体

(2)用 AFB 单抗分别与橘霉素、伏马菌素 B<sub>1</sub> 进行抗原—抗体杂交,结果为阴性

(3)差异很小(或无显著差异)

(4)D

【解析】(1)图 1 为利用小鼠制备抗 AFB 的单克隆抗体的过程,其中步骤 I 为诱导细胞融合并筛选得到杂交瘤细胞,需进一步通过步骤 II 克隆化培养和步骤 III 抗体检测,经过多次筛选得到能产生 AFB 单抗的杂交瘤细胞。

(2)若想确认上述流程获得的 AFB 单抗具有极强的特异性,可以让 AFB 单抗与食品中可能残留的其他有害残留毒素如橘霉素(CIT)、伏马菌素 B<sub>1</sub>(FB<sub>1</sub>) 进行抗原—抗体杂交,结果为阴性,则可确认 AFB 单抗具有极强的特异性。

(3)图 3 结果表明,在物质 P 浓度为 0.8 mg/mL 时,探针发光性能与更高浓度时差异很小,同时可节省成本,因此科研人员选择该浓度(0.8 mg/mL)作为生产检测探针的条件。

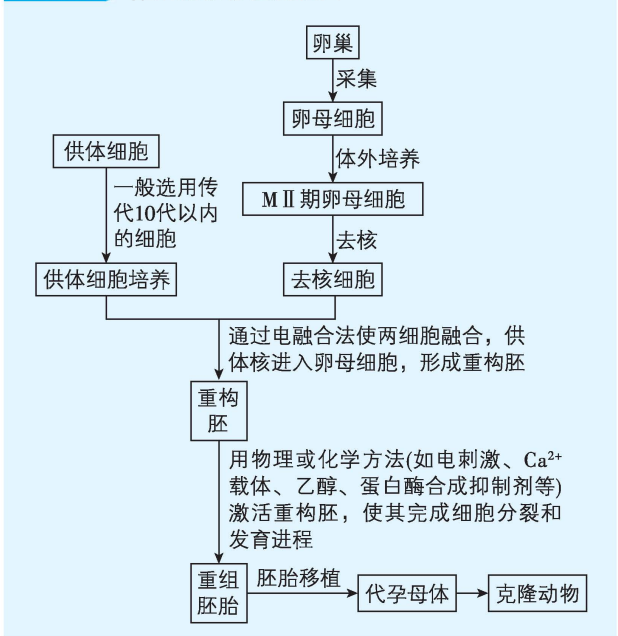
(4)根据科研人员制备免疫试纸和检测 AFB 的原理(用一系列不同浓度的 AFB 标准溶液分别与等量“MP-AFB 单抗探针”混合)可推知随着 AFB 浓度增加,与之结合的探针增加,T 发光值减小,C 发光值增大,即 T/C 发光值比下降,绘制出特定范围 AFB 浓度的线性标准曲线 D 可作为后续检测食品中是否含有 AFB 的参照曲线。

刷基础

1. C 【解析】体细胞核移植过程中卵母细胞需在体外培养至 M II 期,A 正确;可用电融合法诱导动物细胞融合,使供体细胞与去核卵母细胞融合,B 正确;克隆个体的核 DNA 来自供体细胞,但细胞质 DNA(如线粒体 DNA)部分来自去核卵母细胞,且表型受环境影响,无法 100%复制,C 错误;胚胎移植前,重构胚需要激活以启动细胞分裂和发育进程,D 正确。

教材链接:教材 P53 “用物理或化学方法(如电刺激、Ca<sup>2+</sup>载体、乙醇、蛋白酶合成抑制剂等)激活重构胚,使其完成细胞分裂和发育进程”

方法总结 体细胞核移植流程图



2. C 【解析】由图可知,“中中”和“华华”是由去核卵子和体外培养的成纤维细胞融合后发育而成的,故“中中”和“华华”的线粒体 DNA 来自卵子和成纤维细胞,C 错误。

3. CD 【解析】由郊狼甲的体细胞核移植克隆出郊狼乙,可得出郊狼体细胞的细胞核具有全能性,郊狼乙是由重组细胞发育而来的,可得出重组细胞也具有全能性,A 正确;在实际操作中,通常将供体细胞注入去核的卵母细胞,这种方法既操作简便,又能减小对细胞的损伤,B 正确;郊狼乙的遗传物质中细胞质遗传物质来自家犬和郊狼甲,细胞核遗传物质来自郊狼甲,因此郊狼乙的遗传物质与代孕家犬并非完全不同,其核遗传物质与郊狼甲的相同,C 错误;iSCNT 技术使用的是体细胞,体细胞分化程度高,所以与胚胎细胞核移植技术相比,iSCNT 技术成功的难度更大,D 错误。

4. C 【解析】尽管通过体细胞核移植技术已经获得了多种克隆动物,但该技术的成功率仍然非常低,各个技术环节也有待进一步改进,C 错误。



1. C 【解析】据图可知,该过程利用了动物细胞核移植、动物细胞培养等技术,A 正确;细胞 A 常用于减数分裂 II 中期的次级卵母细胞,原因是其细胞质中含有激发细胞核全能性表达的物质,B 正确;过程②表示重组细胞发育成囊胚,激发细胞核全能性表达的是细胞 A 细胞质中的物质,C 错误;图示中的胚胎干细胞的核遗传物质来源于患者提供的体细胞,将由此形成的器官移植给患者可以避免免疫排斥反应,故该技术有望解决供体器官的短缺和器官移植出现的免疫排斥反应问题,D 正确。

2. CD 【解析】将采集的卵母细胞在体外培养到 MII 期时通过显微操作去核,此时去除的是纺锤体—染色体复合物,A 正确;

教材链接:教材 P52 “减数分裂 II 中期(MII 期)卵母细胞中的‘核’其实是纺锤体—染色体复合物。文中所说的‘去核’是去除该复合物。”

制备供体细胞前可用胰蛋白酶消化动物细胞之间的蛋白质,从而得到单个细胞,B 正确;胎羊 C 的形成是将胎羊 B 的体细胞注射到乙羊去核的卵母细胞中,因此胎羊 C 细胞中线粒体 DNA 来源于乙羊和胎羊 B,C 错误;第二次克隆的重构胚融合成功率高是因为胎羊细胞的分化程度低,细胞核的全能性相对容易表达,D 错误。

3. (1) 胚胎细胞分化程度低,表现全能性相对容易

(2) 显微操作法 B 不变

(3) 使克隆后代的核遗传物质全部来自有重要利用价值的动物提供的体细胞

(4) ①5 只与克隆猴生理状态相似的未敲除 *BMAL1* 基因的同种猴 ②增强

【解析】(1) 与动物体细胞相比,胚胎细胞分化程度低,表现全能性相对容易,故胚胎细胞核移植更易成功。

(2) 目前核移植技术中普遍使用的去核方法是显微操作法。图中克隆猴的细胞核基因来自 B 猴的体细胞,因此克隆猴的性状与 B 猴的性状相似度更高,其体细胞染色体数目与供体猴(B 猴)相同。

(3) 在将体细胞的细胞核移植到受体卵母细胞中前,必须先去除受体卵母细胞的细胞核,以使克隆后代的核遗传物质全部来自有重要利用价值的动物提供的体细胞。

(4) 从表中可知,对照组应该选择数量相同(5 只)、生理状态与克隆猴相似的未敲除 *BMAL1* 基因的同种猴。实验结果表明 *BMAL1* 基因与昼夜节律有关,因此,与对照组相比,敲除 *BMAL1* 基因的克隆猴(实验组猴)的神经内分泌激素褪黑素分泌减少;与睡眠剥夺、抑郁症以及衰老等相关的基因表达增强;不再按照 24 小时的周期活动,在夜间活动明显增多。

### 第 3 节 胚胎工程

#### 课时 1 胚胎工程的理论基础

##### 刷基础

1. A 【解析】卵子形成的过程中 M I 和 M II 是不连续的,M I 在卵巢中完成,M II 通常在输卵管内完成,A 正确;在卵细胞膜和透明带的间隙出现两个极体是卵子受精的标志,B 错误;

常考点:在实际胚胎工程操作中,常以观察到两个极体或者雌、雄原核作为受精的标志

采集到的精子需要进行获能处理,卵子需要发育成熟(减数分裂 II 时期),这样精子和卵子相遇才可发生受精作用,C 错误;初级卵母细胞和次级卵母细胞的细胞质分裂都是不均等分配,D 错误。

2. C 【解析】卵子在受精前处于减数分裂 II 时期,精子入卵后激活卵子完成减数分裂 II,形成雌原核,A 错误;精细胞变形成为精子过程中多余的营养物质丢失,有利于减轻精子重量,便于精子的运动,提高精子受精的机会,B 错误;精子入卵后形成雄原核,卵子完成减数第二次分裂形成雌原核,两者充分发育后相向移动,彼此靠近,核膜消失,C 正确;精子获能液的常见有效成分应为钙离子载体、肝素等,而非  $\text{Ca}^{2+}$ ,D 错误。

3. C 【解析】过程 a 表示卵裂,该时期细胞数目不断增加,但胚胎总体积并不增加,细胞体积变小,A 错误;过程 b 细胞逐渐分化,II 时期表示囊胚期,没有形成内胚层、中胚层和外胚层,B 错误;据图可知,过程 c 透明带破裂,胚胎从其中伸展出来,表示孵化,孵化后发育形成的 III 时期表示原肠胚期,C 正确;

教材链接:教材 P58 “囊胚进一步扩大,透明带破裂,胚胎从其中伸展出来,这一过程叫作孵化。”

正确;早期胚胎发育过程中滋养层细胞会发育成胎膜和胎盘的一部分,内细胞团发育成胎儿的各种组织,D 错误。

4. ABD 【解析】胚胎发育是指从受精卵到幼体,胚后发育是指从幼体到成体,因此图中①过程属于胚胎早期发育,②过程不只是胚后发育,A 错误;早期胚胎的发育在原肠胚阶段之前已经出现细胞分化,且不可逆,B 错误;b 过程中胚胎体积并不增加,而细胞数目不断增多,因此细胞体积变小,细胞的相对表面积逐渐增大,C 正确;孵化后的囊胚已经出现细胞分化,其中滋养层细胞常用于性别鉴定,D 错误。

##### 刷易错

★易错点 区分透明带反应和卵细胞膜反应

5. B 【解析】甲过程中获能后的精子与卵子相遇时,精子会释放多种酶,溶解卵细胞膜外的一些结构,A 正确;图甲中①表示透明带,精子的细胞膜与卵细胞膜融合,卵细胞膜外的透明带会迅速发生生理反应,阻止后来的精子进

入透明带, **B 错误**; ②是卵细胞膜, 精子入卵后, 卵细胞膜会发生反应, 拒绝其他精子进入卵内, **C 正确**; ⑤是雄原核, ⑦是雌原核, 雌、雄原核充分发育后, 相向移动, 彼此靠近, 核膜消失, **D 正确**。

**易错警示** 受精作用过程

(1) 精子释放多种酶溶解卵细胞膜外的一些结构。

(2) 透明带反应: 精子的细胞膜与卵细胞膜融合, 卵细胞膜外的透明带迅速发生生理反应, 阻止后来的精子进入透明带。

(3) 卵细胞膜反应: 精子入卵后, 卵细胞膜会立即发生生理反应, 拒绝其他精子再进入卵内。

(4) 精子入卵后, 尾部脱离, 原有核膜破裂形成雄原核, 同时卵子完成减数分裂 II, 排出第二极体后, 形成雌原核。

(5) 雌、雄原核融合形成合子。

刷提升

1. D

**教材变式** 本题是教材 P59“练习与应用”概念检测 T2 的变式题。本题综合考查受精作用和胚胎早期发育过程的相关知识, 是对本节重点内容的巩固与融合, 能帮助学生更好地掌握相关生理过程中的重要机制。

**【解析】**②过程中细胞发生有丝分裂, 该过程中的基因仍然发生了选择性表达, **A 错误**; ②③过程发生在透明带内, 细胞通过有丝分裂增殖, 但是④过程原肠胚的形成发生在透明带破裂后, **B 错误**; a 表示桑葚胚, 形成桑葚胚的过程中细胞不断分裂, 细胞体积变小, 而细胞核大小基本不变, 所以和受精卵相比, 此时细胞的核质比变大, **C 错误**; 一般情况下, 胚胎发育到③过程开始发生分化, 囊胚期出现内细胞团和滋养层细胞的分化, **D 正确**。

**2. C 【解析】**卵裂期细胞数目不断增加, 但胚胎总体积并不增加, **A 正确**; 胚胎在囊胚阶段继续分化, 其中的滋养层细胞发育成胎膜和胎盘的一部分, 内细胞团发育成胎儿的各种组织, **B 正确**; 由题意及题图可知, 嵌合体幼鼠是由两种类型的细胞(细胞没有融合)发育而来的, 故一个细胞中只有白鼠或黑鼠的基因, **C 错误**; 囊胚中分离的胚胎干细胞具有发育成各种组织、器官甚至个体的潜能, iPS 细胞是诱导多能干细胞, 是类似胚胎干细胞的一种细胞, **D 正确**。

**3. A 【解析】**精子入卵后, 卵细胞膜迅速发生生理反应, 拒绝其他精子再进入卵内, **A 错误**; 为得到只含精子染色体的胚胎干细胞, 需在核融合前剔除卵子的雌原核, **B 正确**; 胚胎干细胞可发育为各种组织或器官, 故单倍体胚胎干细胞可来自

小鼠囊胚期的内细胞团细胞, **C 正确**; 由题意可知, 目前构建成功的单倍体胚胎干细胞无包含 Y 染色体的细胞, 且 Y 染色体比 X 染色体短小, 所以推测 Y 染色体上的基因相对较少, 可能缺少支持单倍体胚胎干细胞存活的基因, **D 正确**。

**方法总结** 防止多精子入卵的两道屏障及其发挥作用的时机

屏障	屏障名称	发挥作用的时机	结果
第一道屏障	透明带反应	精子的细胞膜与卵细胞膜融合	阻止后来的精子进入透明带
第二道屏障	卵细胞膜反应	精子入卵后	拒绝其他精子再进入卵内

**4. CD 【解析】**“半同卵双胞胎”的产生是两个精子与一个卵细胞受精引起的, 与透明带反应和卵细胞膜反应异常有关, **A 正确**; 来自母系的染色体为 M, 来自父系的染色体为 P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub>, 经过融合并分裂后, 染色体进行组合, 细胞 a 的染色体组成为 MP<sub>1</sub>, 细胞 c 的染色体均来自父亲, 其染色体组成为 P<sub>1</sub>P<sub>2</sub>, 则细胞 b 的染色体组成为 MP<sub>2</sub>, 故这对小姐弟来源于母亲的染色体相同, 来源于父亲的染色体不同, **B 正确, D 错误**; 卵子发育到减数第二次分裂才具备受精的能力, 故图中卵子已发育到减数分裂 II, **C 错误**。

课时 2 胚胎工程技术及其应用

刷基础

**1. D 【解析】**哺乳动物的体外受精主要包括卵母细胞的采集、精子的获取和受精等步骤, **A 正确**; 在体外受精前, 要对精子进行获能处理, 从而使精子具有与卵细胞受精的能力, **B 正确**; 图中移植的胚胎是通过卵细胞受精得到的, 具有雄性和雌性两个供体的遗传物质, **C 正确**; 胚胎发育的过程是受精卵→桑葚胚→囊胚→原肠胚, **D 错误**。

**2. B 【解析】**在体外受精中, 精子需经过获能处理(如培养法或化学诱导法)才具备受精能力, 离心处理的主要作用是分离精子, 提高精子浓度和纯度, **A 错误**; 胚胎移植是将体外培养的早期胚胎移植到同种生理状态相同的雌性动物体内, 其实质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**; 胚胎移植过程需对供体注射促性腺激素, 使其超数排卵, 同时要对受体注射相关激素进行同期发情处理, **C 错误**; 经体外胚胎培养检查合格的胚胎移植后, 仍需对受体母畜进行妊娠检查, 以及后续的发育监测, 以确保胚胎正常发育, **D 错误**。

突破点: 通过超声等手段确认胚胎是否着床等



3. B 【解析】胚胎分割所需要的主要仪器设备为体视显微镜和显微操作仪, A 正确; 在分割囊胚阶段的胚胎时, 要注意将结构④内细胞团均等分割, B 错误; 同一胚胎经分割、移植形成的后代具有相同的遗传物质, 该过程中没有发生减数分裂和两性生殖细胞的结合, 可以看作无性繁殖或克隆的方法之一, C 正确; 胚胎移植前进行性别鉴定的方法是取结构③滋养层细胞做 DNA 分析等, D 正确。

刷易错

★易错点 混淆试管动物和克隆动物的生殖方式

4. ABD 【解析】试管动物指通过人工操作使卵子在体外受精, 经培养发育为早期胚胎后, 再进行移植产生的个体, 属于有性生殖; 动物细胞核移植是将动物的一个细胞的细胞核移入去核的卵母细胞中, 使其重组并发育成新的胚胎, 继而发育为动物个体, 用核移植的方法得到的动物称为克隆动物, 克隆动物属于无性生殖, A 正确。目前动物细胞核移植技术中普遍使用的去核方法是显微操作法, 也有人采用梯度离心、紫外线短时间照射和化学物质处理等方法, B 正确。通过转基因等技术, 赋予生物新的遗传特性, 创造出更符合人们需要的新的生物类型和生物产品, 可以定向改造动物的遗传性状; 而试管动物的性状与雌雄亲本均有关, 克隆动物保持了亲本的性状, 二者都不能定向改良动物的遗传性状, C 错误。不同动物胚胎移植的时间不同, 例如, 小鼠一般要培养到桑葚胚阶段才进行移植, 马一般在囊胚阶段进行移植, D 正确。

易错警示 试管动物和克隆动物的培育涉及的胚胎工程技术差异

- ①试管动物需经过体外受精获得。即通过人工操作使卵子和精子在体外条件下受精, 并通过培养发育为早期胚胎后, 再经胚胎移植产生后代。
- ②克隆动物可利用动物细胞核移植获得。即将动物的一个细胞的细胞核移入去核的卵母细胞中, 使这个重新组合的细胞发育成新胚胎, 继而发育成动物个体的技术, 经过核移植得到的动物称为克隆动物。
- ③胚胎分割: 指采用机械方法将早期胚胎切割成 2 等份、4 等份或 8 等份等, 经移植获得同卵双胎或多胎的技术。胚胎分割可以看作动物无性繁殖或克隆的方法之一。

	试管动物	克隆动物
生殖方式	有性生殖	无性生殖
特有技术手段	体外受精技术	动物细胞核移植技术
是否遵循遗传规律	遵循	不遵循

刷提升

- 1. D 【解析】①代表体外受精, 体外受精前和体内受精前精子均需要获能, A 错误; ②代表早期胚胎培养, 该过程中细胞进行有丝分裂, 当胚胎发育至囊胚阶段时已经出现细胞分化, B 错误; ③代表胚胎分割, 在对囊胚阶段的胚胎进行分割时, 要注意将内细胞团均等分裂, 以免影响分割后胚胎的恢复和进一步发育, 而桑葚胚阶段的胚胎还未形成内细胞团, C 错误; ⑤代表胚胎移植, 胚胎移植能否成功, 与受体的生理状态有关, 可事先用激素对受体进行同期发情处理, 使供体和受体的生理状态相同, D 正确。
- 2. D 【解析】为使 A 野生单峰骆驼超数排卵, 可给其注射适量的促性腺激素, 促性腺激素的化学本质为蛋白质, 如果添加在饲料里, 其在消化道内会被水解, A 错误。胚胎移植到 C 体内前收集胚胎并检查, 是为了检查胚胎质量和发育情况, 此时胚胎应发育到桑葚胚或囊胚阶段; 理论上, 受体母骆驼不会对外来胚胎产生免疫排斥, B 错误。卵裂期细胞的数量不断增加, 但胚胎的总体积并不增加, 早期胚胎发育消耗卵细胞提供的营养物质, 有机物总量减少, C 错误。可采用胚胎分割技术提高胚胎利用率, 由于性状受基因和环境共同影响, 所以胚胎分割移植后获得的动物个体之间性状可能不完全相同, D 正确。

易错警示 促性腺激素的化学本质为蛋白质, 在动物的消化道中会被蛋白酶水解, 因此不能饲喂, 只能注射。

- 3. (1) 同期发情 使供、受体母牛生理状态相同, 为早期胚胎移入受体提供相同的生理环境 滋养层 染色体(组型)
- (2) 动物细胞核移植 M II 期的卵母细胞中含有较多促进全能性表达及胚胎发育的物质
- (3) 无菌、无毒 补充细胞所需的营养物质
- (4) 桑葚胚或囊胚 将内细胞团均等分割 它们具有相同的遗传物质

【解析】(1) 胚胎移植时, 对受体母牛进行同期发情处理, 能让供、受体母牛生理状态相同, 利于胚胎着床。滋养层细胞将来发育成胎膜和胎盘的一部分, 取其做 DNA 分析鉴定性别, 不影响胚胎发育; 从细胞水平分析染色体(性染色体)组成也可鉴定性别。

(2) 过程 I 是将细胞 A 的细胞核移植到去核细胞 B(卵母细胞)中, 属于动物细胞核移植技术。M II 期的卵母细胞中含有较多有助于胚胎发育和细胞全能性表达的物质。

(3) 早期胚胎体外培养需无菌、无毒环境; 血清含多种营养成分和生长因子等, 能补充培养液中细胞生长增殖所需的未知营养物质。

(4) 胚胎分割一般选桑葚胚或囊胚期胚胎。囊胚期分割时内细胞团要均等分割, 否则会影响分割后胚胎恢复和进一步发育。胚胎分割产生的小牛来自同一胚胎, 遗传物质相同, 所以遗传性状相同。

## 第2章素养检测

### 刷速度

1. C 【解析】细胞融合技术属于细胞水平的杂交, 能够突破有性杂交的局限, 使远缘杂交成为可能, A 正确; 动物细胞融合技术广泛应用于遗传学研究、单克隆抗体制备以及肿瘤细胞特性分析等领域, B 正确; 动物细胞融合的原理为细胞膜的流动性, 而植物体细胞杂交还利用了细胞的全能性以形成完整植株, 二者原理不完全相同, C 错误; 两种细胞(如 A 和 B) 融合时, 两两融合的组合包括 AA、BB 和 AB, 共 3 种类型, D 正确。

2. D 【解析】细胞全能性是指细胞经分裂和分化后, 仍具有产生完整有机体或分化成其他各种细胞的潜能和特性。肌肉干细胞形成人造肉, 只是分化形成了特定的组织, 没有体现细胞的全能性, A 错误。①过程将肌肉组织小块处理成细胞悬液, 可用机械方法, 也可用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理, 但不能用胃蛋白酶处理, B 错误。②过程培养动物细胞时, 培养液中需添加血清等天然成分, 但生长素是植物激素, 动物细胞培养液中不需要添加生长素, C 错误。③过程加入微载体, 微载体作为固体的细胞生长基质, 其表面能使细胞贴附, 为细胞提供了更大的附着面积, 从而延迟接触抑制的出现, D 正确。

关键点: 胃蛋白酶的最适 pH 为 1.5, 在动物细胞培养的弱碱性环境中胃蛋白酶会失活

常考点: 接触抑制是指当贴壁细胞分裂生长到表面相互接触时, 细胞就会停止分裂增殖

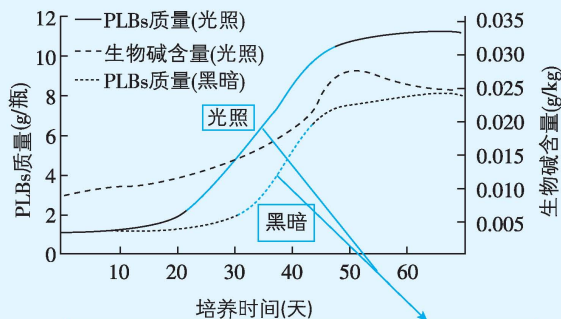
3. D 【解析】野生雄性不育稻细胞质中含雄性不育基因, 故应利用射线照射野生雄性不育稻, 破坏其细胞核; 用罗丹明 6G 处理优良水稻原生质体, 使其细胞质失活, 然后诱导原生质体融合, A 错误。植物细胞壁的成分主要是纤维素和果胶, 可用纤维素酶和果胶酶对植物细胞进行去壁处理, 得到原生质体, 但在低渗环境下原生质体可能会吸水涨破, 需在等渗或微高渗环境下进行, B 错误; 可用聚乙二醇融合法诱导原生质体融合, 但野生雄性不育稻的染色体在融合前已去除, 仅留下细胞质基因, 故融合后的细胞染色体组成为  $2n=24$ , C 错误; 原生质体融合成功的标志是形成新的植物细胞壁, D 正确。

4. BCD 【解析】诱导 iPS 细胞分化成需要的器官后进行自体移植, 理论上可以避免免疫排斥反应, 故可提高器官移植的成功率, A 正确; 该 iPS 细胞中多了 4 个关键基因, 故该 iPS

细胞所携带的遗传信息与肌肉细胞不完全相同, B 错误; 关键基因表达使高度分化的肌肉细胞转变为诱导多能干细胞, 细胞功能专门化程度降低, 即降低了细胞的分化程度, C 错误; 图示过程只是分化形成了几种细胞, 没有形成完整个体, 也没有分化形成其他各种细胞, 故没有体现 iPS 细胞的全能性, D 错误。

### 5. ACD

#### 题图解读



与光照条件下相比, 黑暗条件下 PLBs 的生长起始晚、快速生长持续时间短(图中彩色部分), D 错误

【解析】在接种前对外植体进行消毒, 并在酒精灯火焰旁进行接种可减少杂菌污染, 灭菌会导致外植体死亡, A 错误; 选用新生营养芽为外植体是因为其分化程度低, 分裂能力强, 且几乎不携带病毒, 作外植体培养时容易诱导形成 PLBs, B 正确; 生物碱为细胞的次生代谢物, 不能提供营养, C 错误。

### 6. (1) 注射 M II 期

#### (2) 同期发情

(3) 清除代谢物, 防止细胞代谢物积累对细胞自身造成危害  
增大细胞贴壁生长的附着面积, 避免细胞过早出现接触抑制现象

#### (4) 显微操作

#### (5) 不一定 遗传多样性会降低

【解析】(1) 促性腺激素的化学本质为蛋白质, 口服后会被分解而失去作用, 因此为了获得更多的卵母细胞, 应该给雌性北方白犀牛注射促性腺激素, 使其超数排卵。取自雌性北方白犀牛体内的卵母细胞需要培养至 M II 期才能与获能的精子受精。

(2) 要对受体犀牛进行同期发情处理, 使其生理状态更适合同胚移植, 从而提高胚胎移植成功率。

(3) 在进行动物细胞培养时, 要定期更换培养液, 以便清除代谢物, 防止细胞代谢物积累对细胞自身造成危害。由于培养的动物细胞具有贴壁生长、接触抑制的特点, 所以将多孔的中空薄壁小玻璃珠放入培养瓶中增大细胞贴壁生长的附着面积, 避免过早出现接触抑制现象, 以增加培养的细胞数量。



- (4)取自雌性南方白犀牛的卵母细胞培养至一定阶段后需要去核,在去核操作中常采用的方法是显微操作法,也有人采用梯度离心、紫外线短时间照射和化学物质处理等方法。
- (5)获得的克隆北方白犀牛,其细胞核遗传物质来源于供体北方白犀牛,因此其性别与提供细胞核的供体相同,而试管动物的获得经过了两性生殖细胞的结合,性别无法确定,因此,上述后代试管动物和克隆动物的性别不一定相同。生物多样性包括遗传多样性、物种多样性和生态系统多样性,从生物多样性的角度分析,与野生种群相比,人工繁育的种群遗传多样性会降低。

7. (1)细胞壁 聚乙二醇(PEG)融合法或高  $\text{Ca}^{2+}$ —高 pH 融合法 双色荧光(或红、绿荧光)

- (2)  $1 \times 10^6$
- (3)① I 三白草和鱼腥草杂种愈伤组织的蒸馏水提取物  
II 等量的蒸馏水 III 胸腺质量 ②大于

【解析】(1)据图 1 可知,过程①通过酶解法去除细胞壁获取原生质体。诱导植物细胞融合的化学方法有 PEG(聚乙二醇)融合法和高  $\text{Ca}^{2+}$ —高 pH 融合法。由于三白草细胞酶解液中加入红荧光色素,鱼腥草细胞酶解液中加入绿荧光色素,所以杂种原生质体应该带红、绿双色荧光。

(2)由图 2 柱形图可知,在原生质体密度为  $1 \times 10^6$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  时,双核异核融合体比例最高,说明促进三白草和鱼腥草原生质体融合的最适密度为  $1 \times 10^6$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  左右。

(3)为了判断融合体对动物免疫力的影响,实验的自变量应该是实验动物的处理方式,因变量是胸腺的质量,故 A 组应该用三白草和鱼腥草杂种愈伤组织的蒸馏水提取物, C 组为空白对照组,根据对 A、B 两组的处理可知, C 组应用等量的蒸馏水;三组均每天一次等量灌胃,连续一周,检测各组小鼠的胸腺质量。若 A 组小鼠胸腺质量大于(或等于) B 组,且 B 组大于 C 组,则说明融合体能增强动物免疫力,支持利用原生质体融合技术将复方的配伍提前并实现有效成分的工厂化生产。

8. (1)DON 诱导小鼠发生特异性免疫反应,从该小鼠体内得到能产生 DON 抗体的 B 淋巴细胞

- (2)3 杂交瘤细胞
- (3)细胞培养液 特异性强、灵敏度高,并且可以大量制备

(4)丁 丁的血清抗体相对浓度较高,且  $\text{IC}_{50}$  最低,即抗体灵敏度最高

【解析】(1)图 1 为制备 DON 单克隆抗体的流程,故图 1 中给小鼠注射的物质是 DON,其作用是作为抗原诱导小鼠发生特异性免疫反应,从该小鼠体内得到能产生 DON 抗体的 B 淋巴细胞。

(2)B 细胞和骨髓瘤细胞通过①过程进行融合,如果只考虑两两融合,形成的融合细胞共有 3 种类型,即 B 细胞与 B 细胞融合、骨髓瘤细胞与骨髓瘤细胞融合、B 细胞与骨髓瘤细胞融合(杂交瘤细胞)。第一次筛选时所用的培养基为选择培养基,未融合的 B 细胞、骨髓瘤细胞以及同种细胞融合的细胞均不能在此培养基上正常生长和增殖,故能在这种培养基上生长的细胞是杂交瘤细胞。

(3)如果是体外培养,可以从细胞培养液中获取单克隆抗体。与常规的血清抗体相比,单克隆抗体所具备的优点是特异性强、灵敏度高,并且可以大量制备。

(4)结合图 2 可知,制备 DON 单克隆抗体时,最适合作为细胞融合的供体小鼠是丁,依据是丁的血清抗体相对浓度较高,且  $\text{IC}_{50}$  最低,即抗体灵敏度最高。

第 2 章 高考强化

刷真题

1. B 【解析】两个原生质体融合形成的细胞不一定是杂种细胞,也可能是两个花椰菜原生质体融合或两个黑芥原生质体融合形成的融合细胞, A 错误;细胞的全能性是指已经分化的细胞仍然具有发育成完整有机体或分化成其他各种细胞的潜能和特性,杂种细胞经过培养形成再生植株 N,这证明了杂种细胞仍具有全能性, B 正确;花椰菜和黑芥是不同物种,它们之间存在生殖隔离,原生质体能融合并不能证明不存在生殖隔离, C 错误;植株 N 是花椰菜( $\text{BB}, 2n=18$ )和黑芥( $\text{CC}, 2n=16$ )原生质体经 PEG 诱导融合形成杂种细胞后经培养得到的,理论上其染色体组成是 BBCC,存在同源染色体,在减数分裂时能正常联会配对,能产生可育配子, D 错误。

2. C 【解析】过程①是由组织块形成愈伤组织,属于脱分化过程,脱分化过程中细胞通过有丝分裂增殖, A 正确;过程②是愈伤组织形成胚状体,属于再分化过程,再分化会形成不同种类的细胞,进而发育成不同组织、器官, B 正确;过程②(再

分化形成胚状体)和过程③(胚状体发育成试管苗)所用培养基成分、浓度不完全相同,C 错误;培养基中糖类可作为碳源,为植物细胞提供碳元素用于合成有机物等,同时糖类能影响培养基渗透压,维持细胞正常形态,D 正确。

**方法总结** 植物激素中生长素和细胞分裂素是启动细胞分裂、脱分化和再分化的关键激素,它们的浓度、比例等都会影响植物细胞的发育方向。将愈伤组织接种到含有特定激素的培养基上,就可以诱导其再分化成胚状体,长出芽和根,进而发育成完整的植株。

**3. B** 【解析】流程①是对外植体腋芽消毒,消毒的效果取决于消毒剂的种类、浓度和处理时间等,A 错误;由于腋芽中含有分生组织,可以不经过脱分化形成愈伤组织的阶段,直接萌生成幼苗,B 正确;分析比较表格数据可知,与流程②相比,流程③培养基中细胞分裂素类与生长素类物质的比值更小,C 错误;据表分析,与流程③相比,流程④中 NAA 浓度提高并添加了 IBA,即提高生长素类物质的含量,并使用  $\frac{1}{2}$  MS 培养基降低了盐浓度,从而有利于诱导丛生苗生根,D 错误。

**4. B** 【解析】利用植物组织培养技术可实现兰花的快速繁殖和优良性状的保持,原理是植物细胞的全能性,A 正确;动物细胞培养的气体条件为含有 95% 空气和 5% CO<sub>2</sub> 的混合气体,B 错误;可用灭活病毒诱导动物细胞的融合,C 正确;可对供体母牛注射促性腺激素,使其超数排卵,以便获得更多的卵母细胞用于胚胎制备,D 正确。

**5. B** 【解析】iPS 细胞是类似胚胎干细胞的一种细胞,利用多种小分子化合物协同诱导小鼠胎儿成纤维细胞形成 iPS 细胞的过程类似植物细胞的脱分化过程(不属于细胞分化),同样涉及基因表达的变化,A 正确,B 错误;胰蛋白酶可分解细胞间的蛋白质,使动物组织分散为单个细胞,C 正确;动物细胞培养通常需要在含有 95% 空气和 5% CO<sub>2</sub> 的环境中进行,其中 CO<sub>2</sub> 的主要作用是维持培养液的 pH,D 正确。

**6. B** 【解析】从动物体内取出组织,用胰蛋白酶等处理一段时间,将组织分散成单个细胞。然后,用培养液将细胞制成细胞悬液,再将细胞悬液放入培养瓶或培养皿内的初次培养,称为原代培养,A 错误。科学家已尝试采用多种方法来制备

易错点:分瓶前的培养是原代培养,分瓶后的培养是传代培养

iPS 细胞,包括借助载体将特定基因导入细胞中,直接将特定

蛋白导入细胞中或者用小分子化合物等来诱导形成 iPS 细胞,iPS 细胞最初是由成纤维细胞转化而来的,后来发现已分化的 T 细胞、B 细胞等也能被诱导为 iPS 细胞,B 正确。将 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞混合,经诱导融合后的细胞有未融合的亲本细胞、融合的具有同种核的细胞和杂交瘤细胞,需要用特定的选择培养基进行筛选,才能获得杂交瘤细胞,再经克隆化培养和抗体检测,才能得到能分泌所需抗体的细胞,C 错误。囊胚期的细胞已经发生分化,D 错误。

**7. B** 【解析】由题图可知,牛乙提供卵母细胞,故对牛乙注射促性腺激素是为了收集更多的卵母细胞,A 正确;卵母细胞去核应在其减数分裂 II 中期进行,B 错误;培养牛甲的体细胞时应定期更换培养液,防止细胞代谢物积累对细胞自身造成危害,C 正确;可用 PCR 技术鉴定犍牛丁是否含有目的基因,以鉴定其是否为转基因牛,D 正确。

**8. ABD** 【解析】步骤①注射特定抗原后,应从脾脏中分离筛选 B 淋巴细胞,A 错误;步骤②将动物组织分散为单个细胞过程应加入胰蛋白酶或胶原蛋白酶,B 错误;步骤③为诱导细胞融合,关键点:胃蛋白酶发挥作用时的 pH 较低,会损伤细胞

合,常用灭活病毒诱导法、PEG 融合法、电融合法等,体现了细胞膜的流动性,C 正确;步骤④为第一次筛选,应用特定选择培养基进行筛选,步骤⑤为第二次筛选,通过克隆化培养和抗体检测进行筛选,D 错误。

**9. D** 【解析】克隆动物的核基因组来源于甲,细胞质中的基因来源于乙,A 错误;体外受精需用获能后的精子与 M II 期的卵母细胞受精,而不是 M I 期,B 错误;囊胚①中的内细胞团可发育为个体,滋养层细胞将来发育为胎膜和胎盘的一部分,C 错误;由题图可知,体细胞核移植后形成的滋养层不足以支持胚胎完成发育,体外受精后形成的滋养层能够支持胚胎完成发育,故滋养层可影响内细胞团的发育,D 正确。

**10. A** 【解析】根据表格数据分析,随着甲浓度的增大,卵裂率先增大后减小,说明甲浓度较低时促进卵裂过程,浓度过高时抑制卵裂过程,A 错误;甲浓度过高时,第一极体排出率降低,说明甲浓度过高抑制第一极体的排出,B 正确;用 1 μg/mL 的甲处理后受精卵的卵裂率增大,说明添加 1 μg/mL 的甲可提高受精后胚胎发育能力,C 正确;由表格中成熟率、卵母细胞数、第一极体排出数之间的数量关系可知,本实验中以第一极体的排出作为卵母细胞成熟的判断标准,D 正确。