**第三章 基因工程**

**第一节 基因工程及其技术**

**知识填空**

1. 基因工程又称为 DNA重组技术,是指在体外通过人工“剪切”和“拼接”等方法,将外源目的基因与载体 DNA进行组合形成重组 DNA,然后导入受体细胞,并使其在受体细胞中表达，产生人类需要的基因产物的技术。

2.限制性内切核酸酶作为“分子手术刀”切割DNA分子。能够识别双链DNA分子的特定脱氧核苷酸序列，并且使每一条链中特定部位的磷酸二酯键断开。

3.DNA分子经限制酶切割产生的DNA片段末端通常有两种形式——黏性末端和平末端。当限制酶在它识别序列的中心轴线两侧将DNA分子的两条链分别切开时，产生的是黏性末端；当限制酶在它识别序列的中心轴线处切开时，产生的是平末端。

4.DNA连接酶作为“分子缝合针”将切下来的DNA片段拼接成新的DNA分子。DNA连接酶主要有两类：*E.coli* DNA连接酶、T4 DNA连接酶。

5.通常利用质粒作为载体，将基因送入细胞。质粒是一种裸露的、结构简单、独立于真核细胞细胞核或原核细胞拟核DNA之外，并具有自我复制能力的环状双链DNA分子。

6.DNA的粗提取与鉴定：

(1)DNA不溶于酒精，但某些蛋白质溶于酒精，利用这一原理，可以初步分离DNA与蛋白质。(2)DNA在不同浓度的NaCl溶液中溶解度不同，它能溶于2 mol/L的NaCl溶液。(3)在一定温度下，DNA遇二苯胺试剂会呈现蓝色，因此二苯胺试剂可以作为鉴定DNA的试剂。

7.基因工程的步骤：目的基因的筛选与获取→基因表达载体的构建→将目的基因导入受体细胞→目的基因的检测与鉴定。

8.PCR是聚合酶链式反应的缩写。它的原理是DNA半保留复制。PCR每次循环分为三步：变性、退火和延伸。

9.基因表达载体的组成：目的基因、标记基因、启动子、终止子等。

10.启动子是一段有特殊序列结构的DNA片段，位于基因的上游，紧挨转录的起始位点，它是RNA聚合酶识别和结合的部位，驱动基因转录。

11.将目的基因导入受体细胞的方法：植物细胞：花粉管通道法、农杆菌转化法；动物细胞：显微注射技术；微生物细胞：Ca+处理法。

12.目的基因的检测与鉴定包括分子水平的检测、个体生物学水平的鉴定。

**知识判断**

1.基因工程常用的载体质粒也存在于真核细胞中。( )

2.DNA连接酶能将两碱基间的氢键连接起来。( )

3.在一定温度下，DNA遇二苯胺试剂会呈现紫色，因此二苯胺试剂可以作为鉴定DNA的试剂。( )

4.载体质粒通常采用抗生素合成基因作为筛选标记基因。( )

5.为了让目的基因在乳腺细胞中特异性表达，需用绵羊的乳腺细胞作为受体细胞。( )

6.在溶有DNA的NaCl溶液中，加入二苯胺试剂即呈蓝色。( )

7.提取某生物的DNA，将其中的一个基因扩增出来，在PCR反应体系中，至少需3次扩增才能获得所需的基因。( )