

winshare文轩教育



四川教育出版社

教师用书

点金训练

生物学

选择性必修3

生物技术与工程

配人教版

点金训练

教师用书

► 生物学

选择性必修3
生物技术与工程

配人教版

《点金训练》编写组 编

DIANJIN XUNLIAN
— SHENGWUXUE —
JIAOSHI YONGSHU

赠 品



6662025015015



四川教育出版社



扫码查看本书
配套资源包



四川教育出版社

点金训练

教师用书

《点金训练》编写组 编

► 生物学

选择性必修3
生物技术与工程

配人教版



四川教育出版社

CONTENTS

目录

生物学·人教版 选择性必修3 生物技术与工程

第1章 发酵工程

第1节 传统发酵技术的应用·····	1
第2节 微生物的培养技术及应用·····	9
第1课时 微生物的基本培养技术·····	9
第2课时 微生物的选择培养和计数·····	18
专项提升课 微生物培养·····	27
第3节 发酵工程及其应用·····	30
单元活动构建·····	35

第2章 细胞工程

第1节 植物细胞工程·····	47
第1课时 植物细胞工程的基本技术·····	47
第2课时 植物细胞工程的应用·····	54
第2节 动物细胞工程·····	59
第1课时 动物细胞培养·····	59
第2课时 动物细胞融合技术与单克隆抗体·····	66
第3课时 动物体细胞核移植技术和克隆动物·····	72
专项提升课 动物细胞工程·····	78
第3节 胚胎工程·····	80
第1课时 胚胎工程的理论基础·····	80
第2课时 胚胎工程技术及其应用·····	86
单元活动构建·····	91



第 3 章 基因工程

第 1 节 重组 DNA 技术的基本工具	111
第 2 节 基因工程的基本操作程序	119
第 3 节 基因工程的应用	130
专项提升课 基因工程	136
第 4 节 蛋白质工程的原理和应用	139

第 4 章 生物技术的安全性与伦理问题

第 1 节 转基因产品的安全性	153
第 2 节 关注生殖性克隆人	157
第 3 节 禁止生物武器	161
单元活动构建	164

模块综合检测	183
--------------	-----

第 1 章

发酵工程

第 1 节 传统发酵技术的应用

学习任务目标

- 1.运用适应观,说明控制传统发酵条件的原因。
- 2.采用归纳与概括的方法,说出果酒、果醋和泡菜制作的原理。
- 3.尝试利用所给的材料制作泡菜、果酒和果醋等传统发酵食品。

问题式预习

一、发酵与传统发酵技术

1.发酵

- (1)概念:发酵是指人们利用微生物,在适宜的条件下,将原料通过微生物的代谢转化为人类所需要的产物的过程。
- (2)原理:不同的微生物具有产生不同代谢物的能力。

2.腐乳的制作

- (1)腐乳制作有哪些微生物参与了豆腐的发酵?其中起主要作用的是什么?
提示:酵母、曲霉和毛霉等参与豆腐的发酵,其中起主要作用的是毛霉。
- (2)原理:蛋白质 $\xrightarrow{\text{蛋白酶}}$ 小分子的肽和氨基酸。

3.传统发酵技术

- (1)特点:传统发酵以混合菌种的固体发酵及半固体发酵为主,通常是家庭式或作坊式的。
- (2)下列属于传统发酵食品的是①③④⑦。
- ①腐乳 ②米饭 ③酱油 ④泡菜
- ⑤豆腐 ⑥豆芽 ⑦豆豉

二、尝试制作传统发酵食品

1.制作泡菜

菌种来源	植物体表面天然的乳酸菌
原理	无氧的情况下,乳酸菌将葡萄糖分解成乳酸。 反应简式: $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_3H_5O_3(\text{乳酸}) + \text{能量}$

续表

菌种来源	植物体表面天然的乳酸菌
制作流程	配制盐水 { 用清水和食盐配制质量分数为 5% ~ 20% 的盐水,煮沸冷却待用
	原料加工和装坛 { 将新鲜蔬菜洗净,切成块状或条状,混合均匀,晾干后装入泡菜坛内;装至半坛时,放入蒜瓣、生姜及其他香辛料,继续装至八成满
	加盐 { 缓缓注入冷却好的盐水,使盐水没过全部菜料,盖好坛盖
	封坛发酵 { 向坛盖边沿的水槽中注满水,并在发酵过程中注意经常向水槽中补充水,根据室内温度控制发酵时间

2.制作果酒和果醋

(1)菌种的比较

项目	果酒的制作	果醋的制作
菌种	酵母菌	醋酸菌
代谢类型	兼性厌氧型	好氧型
发酵原理	无氧条件下进行酒精发酵: $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_2H_5OH(\text{酒精}) + 2CO_2 + \text{能量}$	O_2 、糖源都充足时: $C_6H_{12}O_6 + 2O_2 \xrightarrow{\text{酶}} 2CH_3COOH(\text{乙酸}) + 2H_2O + 2CO_2 + \text{能量}$; 缺少糖源时: $C_2H_5OH + O_2 \xrightarrow{\text{酶}} CH_3COOH(\text{乙酸}) + H_2O + \text{能量}$

续表

项目	果酒的制作	果醋的制作
最适温度	约为 <u>28℃</u>	<u>30~35℃</u>

(2)流程

器具消毒:将发酵瓶、榨汁机等器具用洗洁精清洗干净,并用体积分数为 70% 的酒精消毒,晾干备用

↓

挑选葡萄:取新鲜葡萄,用清水冲洗 1~2 次,再去除枝梗和腐烂的籽粒,沥干

↓

榨汁:用榨汁机榨取葡萄汁

↓

装瓶:将葡萄汁装入发酵瓶中(注意:要留有大约 1/3 的空间),盖好瓶盖

↓

酒精发酵:温度控制在 18~30 ℃,每隔 12 h 左右将瓶盖拧松一次(注意:不是打开瓶盖),此后再拧紧瓶盖,发酵时间为10~12 d

↓

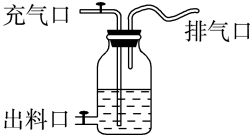
醋酸发酵:葡萄酒制作完成后,打开瓶盖,盖上一层纱布,发酵温度为 30~35 ℃,时间为 7~8 d

 教材开发

1.[教材 P7“探究·实践”]制作葡萄酒的过程中需要每隔 12 h 左右拧松瓶盖,目的是什么? 能否打开瓶盖? 为什么?

提示:拧松瓶盖的目的是放出 CO₂,防止发酵瓶内因气压过大而爆裂。不能打开瓶盖,因为要避免杂菌污染发酵液。

2.[教材 P8“拓展应用”]采用如图所示的发酵装置,制作果酒和果醋时,应如何分别控制充气口?



提示:使用该装置制作果酒时,应该关闭充气口;制作果醋时,应将充气口连接充气泵,输入无菌空气。

 概念辨析

- 1.制作腐乳过程中主要利用毛霉将蛋白质分解成小分子的肽和氨基酸。(√)
- 2.制作泡菜过程中先将蔬菜装至八成满,然后迅速倒入煮沸冷却的盐水。(×)
- 3.泡菜制作时,盐水要没过全部菜料体积的 2/3。(×)
- 4.制作果酒过程中,应先将去除枝梗的葡萄用清水冲洗 1~2 次,然后晾干备用。(×)
- 5.果酒制作过程中,随着发酵的进行发酵液中糖含量增加。(×)
- 6.当缺少糖源时醋酸菌进行无氧呼吸将乙醇转化为乙醛,再将乙醛转化为乙酸。(×)
- 7.果酒、果醋和泡菜发酵后形成的溶液都呈酸性。(√)

任务型课堂

 任务一 泡菜的制作

[探究活动]

乳酸菌是一类能利用碳水化合物发酵产生大量乳酸的细菌的统称。泡菜的制作离不开乳酸菌,乳酸菌在自然界中分布极为广泛,且种类丰富。据此探究下列问题:

探究 1.乳酸菌知识填空。

生物学分类	原核生物
常见类型	乳酸链球菌、乳酸杆菌
代谢类型	<u>异养厌氧型</u>
生殖方式	<u>二分裂</u>
分布	广泛分布于 <u>空气、土壤、植物体表、人或动物的肠道内</u>

续表

生产应用	制作 <u>泡菜、酸奶</u> 等
发酵原理	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3(\text{乳酸}) + \text{能量}$

探究 2.制作泡菜的过程中如何严格控制厌氧条件?

提示:①选择气密性良好的容器——泡菜坛;②用的盐水要先煮沸再冷却;③装坛时压实,盐水没过全部菜料;④用水密封坛口。

探究 3.家庭制作泡菜时,常添加陈泡菜水的目的是什么?

提示:陈泡菜水中含有一定量的乳酸菌,可缩短腌制时间。

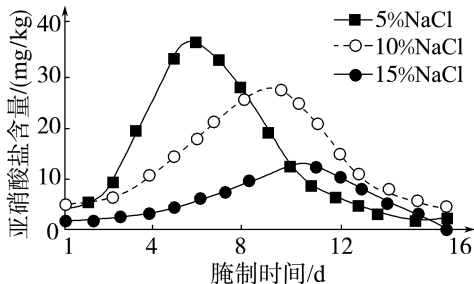
[评价活动]

1.(2023·山东卷)以下是以泡菜坛为容器制作泡菜时的4个处理:①沸盐水冷却后再倒入坛中;②盐水需要浸没全部菜料;③盖好坛盖后,向坛盖边沿的水槽中注满水;④检测泡菜中亚硝酸盐的含量。下列说法正确的是 ()

- A.①主要是为了防止菜料表面的醋酸杆菌被杀死
- B.②的主要目的是用盐水杀死菜料表面的杂菌
- C.③是为了使气体只能从泡菜坛排出而不能进入
- D.④可检测到完整发酵过程中亚硝酸盐含量逐渐降低

解析:①盐水煮沸是为了杀灭杂菌,冷却之后使用是为了保证乳酸菌等微生物的生命活动不受影响,A错误;②盐水需要浸没全部菜料是为了造成无氧环境,有利于乳酸菌的无氧呼吸,B错误;③盖好坛盖后,向坛盖边沿的水槽中注满水,是为了密封发酵,坛内的气体从坛沿水槽内的水中间歇性溢出,而外面的气体不能进入坛内,还可以防止杂菌污染等,C正确;④检测泡菜中亚硝酸盐的含量,可检测到腌制泡菜过程中亚硝酸盐的含量先增多后减少,D错误。

2.研究小组探究泡菜制作过程中不同浓度的食盐对亚硝酸盐含量的影响,结果如图所示。下列叙述正确的是 ()

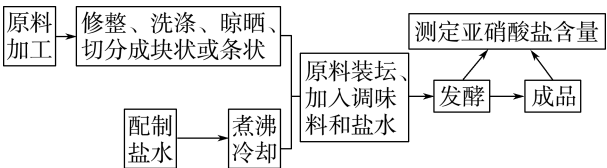


- A.腌制过程中,坛中出现溶液量增多现象的主要原因是细胞呼吸产生水
- B.食盐的浓度越低,亚硝酸盐含量的峰值越高,这与杂菌繁殖数量有关
- C.在泡菜发酵过程中,坛中无氧环境的创设仅依靠盐水浸没蔬菜就能实现
- D.达到峰值后,亚硝酸盐含量下降的原因是亚硝酸盐被微生物转变成亚硝胺

B 解析:腌制过程中,坛中出现溶液量增多现象的主要原因是蔬菜在盐水中失水,A错误。食盐用量过低,会造成杂菌大量繁殖,将蔬菜中的硝酸盐还原成亚硝酸盐,所以制作泡菜时食盐的浓度越低,亚硝酸盐含量的峰值出现得越早,峰值越高,B正确。为了保证坛内乳酸菌发酵所需的无氧环境需

采取以下措施:①选择的泡菜坛要密封性好;②加入蔬菜后要注入煮沸冷却的盐水,使盐水没过全部蔬菜;③盖上坛盖后要在坛盖边沿的水槽中注满清水。仅靠盐水浸没蔬菜不能完全创设坛中无氧环境,C错误。亚硝酸盐含量达到峰值后,缺氧和酸性环境会抑制杂菌生长,使亚硝酸盐的产生量降低;同时已产生的亚硝酸盐会被分解,最终导致亚硝酸盐含量下降,D错误。

3.泡菜是深受大众喜爱的开胃菜,下图是利用萝卜制作泡菜的一般流程示意图,据图回答下列有关问题:



- (1)制作泡菜宜选用新鲜的蔬菜,原因是_____。如果在腌制过程中加入一些已经腌制过的陈年泡菜水效果会更好,原因是_____。
- (2)腌制过程加入的盐水量不能过满,否则会出现溢坛现象,原因是_____。盐和水的质量比是_____。泡菜腌制过程中,温度过高、食盐用量过低、_____,都容易造成细菌大量繁殖,亚硝酸盐含量增加。
- (3)发酵过程主要利用了_____对萝卜中有机物的分解作用,产生乳酸和醇类物质,使萝卜更可口美味。同时在生产过程中通过多种措施控制其他杂菌的繁殖,以保证产品的质量,下列不属于此类措施的是_____ (单选)。

- A.加盐
- B.加白酒
- C.加水密封
- D.加糖

解析:(1)由于新鲜的蔬菜中亚硝酸盐含量低,而亚硝酸盐在特定条件下会转变成致癌物质——亚硝胺,因此制作泡菜宜选用新鲜的蔬菜。制作泡菜的原理是乳酸菌在无氧条件下大量繁殖并发酵产生乳酸,在制作泡菜时加入陈年泡菜水可以增加发酵液中乳酸菌含量,以缩短发酵时间。(2)腌制泡菜时,盐水量不能过满,防止早期发酵产生的CO₂使发酵液溢出。在泡菜的制作过程中,按照盐与清水的质量比为1:10的比例配制盐水,以抑制其他微生物生长。泡菜腌制过程中亚硝酸盐含量一般先增加后减少,若操作过程中温度过高、食盐用量过低、腌制时间过短,都会导致细菌大量繁殖,亚硝酸盐含量增加,不利于人体健康。(3)制作泡菜的原理是乳酸菌在无氧条件下大量繁殖并发酵产生乳

酸。泡菜制作过程中,加盐可以制造一个高渗的外界溶液环境,使其他杂菌失水而死亡;加白酒可以杀死部分杂菌;加水密封可以创设一个缺氧环境,使部分好氧菌无法生存;而加糖的目的是加快发酵速率,但不能抑制其他杂菌的繁殖,A、B、C 不符合题意,D 符合题意。

答案:(1)亚硝酸盐含量低 陈年泡菜水含有大量乳酸菌,能增加乳酸菌含量,缩短发酵时间 (2)防止早期发酵产生 CO_2 使发酵液溢出 1:10 腌制时间过短 (3)乳酸菌 D

任务总结

(1)泡菜制作的两个易错点

①误认为只有乳酸发酵:前期主要是有氧发酵消耗 O_2 ,形成无氧环境,后期主要是乳酸发酵。

②误认为泡菜制作时蔬菜装坛能装满:应装至八成满,防止早期发酵产生的 CO_2 使发酵液溢出。

(2)制作泡菜的注意事项

①用于制作泡菜的蔬菜应新鲜,若放置时间过长,蔬菜中的亚硝酸盐含量会相对较高。

②用清水和食盐配制质量分数为 5%~20% 的盐水。食盐的用量过高时,乳酸菌发酵受抑制,泡菜风味差;用量过低时,杂菌易繁殖,导致泡菜变质。盐水要煮沸冷却后使用,煮沸的作用一是除去水中的氧气;二是杀灭盐水中的其他微生物。

③控制适宜的发酵温度:温度过高易导致杂菌滋生;温度过低不利于乳酸发酵,会使发酵时间延长。

④控制发酵时间:一般在腌制 10 d 后,亚硝酸盐含量开始下降,但泡菜发酵时间并不是越长越好,一方面发酵时间过长,可能会产生其他有害物质;另一方面,发酵时间过长,乳酸含量过高,口味不佳。

(3)控制严格的厌氧条件的措施

①选择气密性好的发酵容器,如泡菜坛;

②盐水煮沸后冷却待用;

③装坛时压实,使盐水没过全部菜料;

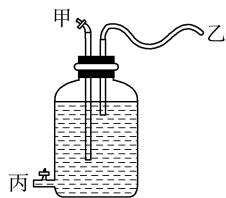
④泡菜坛用水封口,防止空气进入,创造一个封闭无氧的环境,注意发酵期间不宜开盖,并且要经常向水槽中补充水。

任务二

果酒和果醋的制作

[探究活动]

下图为果酒和果醋制作的实验装置图。请据图探究下列问题:



探究 1.甲、乙、丙的作用分别是什么?

提示:甲是充气口,作用是通入无菌空气;乙是排气口,作用是排出在代谢过程中产生的 CO_2 ;丙是出料口,作用是取出样品进行检验和鉴定。

探究 2.图示发酵瓶中葡萄汁的量是否恰当?为什么?

提示:不恰当。发酵瓶中的葡萄汁不能超过该瓶容量的 $\frac{2}{3}$,且不能将排气口淹没。

探究 3.醋酸菌进行醋酸发酵时,无论是利用糖源还是酒精,甲都需要打开,请说明原因。

提示:醋酸菌是好氧细菌,在发酵产生乙酸时需要不断通入无菌空气,所以要将通气口打开。

[评价活动]

1.五味子果实的成熟期在 8、9 月份,由于其鲜果挂果

期短,常温下不易储存,利用五味子干果酿酒可为五味子产业化调整提供一条新的途径。利用五味子生产果酒的流程:五味子→分选→烘干→清洗→去梗→加 20 倍水煮沸 30 min→加水→调整成分→接种酵母→发酵(带渣),过滤→五味子原酒→陈酿,过滤→调配→杀菌→成品。下列相关叙述错误的是 ()

A.分选过程需把霉变的五味子剔除,防止影响果酒品质

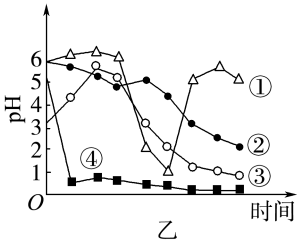
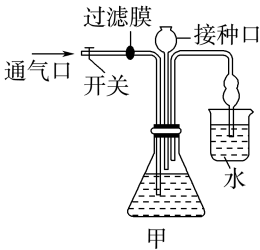
B.加 20 倍水煮沸 30 min 的目的是把五味子中的成分释放出来从而有利于发酵

C.调整发酵液成分的目的之一是为酵母菌的繁殖及发酵提供适宜的 pH

D.将五味子原酒升高温度,接种醋酸菌后密封,即可得到五味子果醋

D 解析:霉变的五味子成分发生改变,在发酵过程中会产生不利于果酒品质的物质,A 正确;若五味子不经煮沸,其内含有的物质不容易释放到水中,不利于发酵,B 正确;经煮沸后得到的五味子汁酸度较高,利用柠檬酸和碳酸氢钠来调节果汁 pH 至 3.0~5.0,有利于酵母菌的繁殖与发酵,C 正确;对五味子原酒接种醋酸菌后需升高温度,并持续通气方可得到五味子果醋,D 错误。

2.在传统发酵技术中,果醋的制作往往在果酒制作基础上进行。图甲是醋酸发酵装置图,图乙是培养液pH变化曲线图,下列叙述正确的是 ()



- A.发酵初期不通气,溶液中没有气泡产生
- B.中期可以闻到酒香,说明进行了酒精发酵
- C.后期接种醋酸菌,适当通气并保持原有温度
- D.图乙中能正确表示 pH 变化的曲线是③

B 解析:若发酵初期不通入气体,由于锥形瓶中含有少量空气,培养液中酵母菌也可进行有氧呼吸产生二氧化碳,即使没有空气,酵母菌也能通过无氧呼吸产生二氧化碳,因此有气泡产生,A 错误;中期可以闻到酒香,说明有酒精产生,即进行了酒精发酵,B 正确;醋酸菌是好氧细菌,最适生长温度为 30~35 ℃,因此后期接种醋酸菌时,需通气并适当升高温度,C 错误;果酒制作过程中,酵母菌进行无氧呼吸产生酒精和 CO₂,pH 会稍有下降,接种醋酸菌后产生酸酸,pH 会下降得更快,因此图乙中能正确表示 pH 变化的曲线是②,D 错误。

3.下图为枸杞果酒生产工艺流程简图,据图回答下列问题:

选料→?→粉碎→灭菌→接种→发酵→过滤→果酒

(1)流程中“?”处的内容应为_____。

(2)果酒酿造过程中如果果汁灭菌不合格,含有醋酸菌,在酒精发酵旺盛时,醋酸菌_____ (填“能”或“不能”)将果汁中的糖发酵为乙酸,请说明理由:_____。

(3)写出果酒制作过程中酵母菌进行反应的反应简式:_____。

(4)枸杞果酒制作过程中,接种完成后要先向发酵罐中通入一段时间的无菌空气,目的是_____。

(5)若要提高果酒的产量,发酵过程中关键要控制好哪些条件? _____。

(6)果酒制作是否成功,需在发酵后用_____来鉴定,在_____条件下,该物质与酒精反应呈现_____色。

解析:(1)由果酒制作过程可知,流程中“?”处的内容应为冲洗。(2)果酒酿造过程中如果果汁灭菌不合格,含有醋酸菌,在酒精发酵旺盛时,醋酸菌不能将果汁中的糖发酵为乙酸,因为醋酸菌需要在有氧且温度为 30~35 ℃条件下,才能将糖转化成乙酸,

而此时发酵罐中的条件是无氧且温度为 18~30 ℃。(3)制作果酒的过程中,酵母菌先在有氧条件下快速繁殖,产生大量酵母菌,此时酵母菌进行有氧呼吸,反应式为 $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2 \xrightarrow{\text{酶}} 6CO_2 + 12H_2O + \text{能量}$;氧气耗尽后酵母菌进行无氧呼吸产生酒精,反应式为 $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_2H_5OH(\text{酒精}) + 2CO_2 + \text{能量}$ 。(4)果酒制作过程中需要先通气后密封,先通气的目的是让酵母菌在有氧条件下大量繁殖,增加数量。(5)若要提高果酒的产量,发酵过程中关键要控制好温度(18~30 ℃)、pH(偏酸性)、通气量(先通气后密封)等条件。(6)果酒制作是否成功,需在发酵后用重铬酸钾溶液来鉴定,在酸性条件下,该物质与酒精反应呈现灰绿色。

答案:(1)冲洗 (2)不能 因为醋酸菌是好氧细菌,而果酒发酵是在无氧环境中(或因为醋酸菌需要在有氧且温度为 30~35 ℃条件下,才能将糖转化成乙酸,而此时发酵罐中的条件是无氧且温度为 18~30 ℃) (3) $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2 \xrightarrow{\text{酶}} 6CO_2 + 12H_2O + \text{能量}$; $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_2H_5OH + 2CO_2 + \text{能量}$ (4)使酵母菌进行有氧呼吸,迅速繁殖,增加数量 (5)适宜的温度、pH、通气量等 (6)重铬酸钾溶液 酸性 灰绿

任务总结

(1)果酒与果醋制作的比较

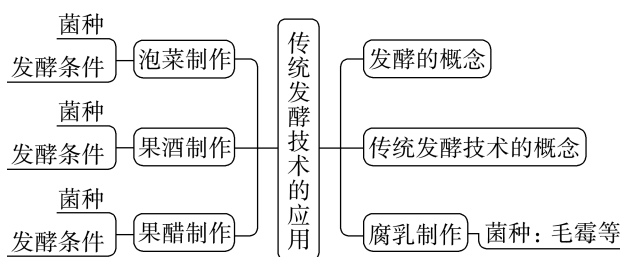
项目		果酒制作	果醋制作
发酵菌种	来源	附着在葡萄皮上的野生型酵母菌	空气中的醋酸菌
	分类地位	单细胞真核生物	单细胞原核生物
	繁殖方式	出芽生殖、孢子生殖	二分裂生殖
	代谢类型	异养兼性厌氧型	异养好氧型
发酵条件	温度	18~30 ℃	30~35 ℃
	时间	10~12 d	7~8 d
	氧气	前期需氧,后期无氧	一直需要充足氧气
	pH	酸性	酸性
结果检测		酒精与酸性的重铬酸钾溶液反应呈现灰绿色	反应液 pH 下降
联系		醋酸发酵可以在酒精发酵的基础上进行,酒精发酵为醋酸发酵提供原料	

(2)果酒和果醋制作的两点提醒

①葡萄汁装入发酵瓶时,要留有大约 $1/3$ 的空间:一是先让酵母菌进行有氧呼吸快速繁殖,耗尽瓶内 O_2 后再进行酒精发酵;二是防止发酵过程中产生的 CO_2 造成发酵液溢出。

②果酒发酵时要适时排气:防止发酵过程中产生的 CO_2 使发酵装置爆裂。果醋发酵时要及时通气:有助于醋酸菌进行有氧呼吸,防止醋酸菌死亡。

► 提质归纳



课后素养评价(一)

基础性·能力运用

知识点 1 传统发酵技术

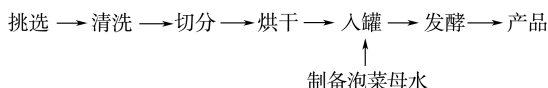
1. 下列关于腐乳制作的叙述中,正确的是 ()

- A. 腐乳的制作利用毛霉等微生物的有氧呼吸
- B. 腐乳制作过程中需要密闭发酵
- C. 腐乳在制作过程中有机物的干重减少,有机物的种类减少
- D. 霉菌产生的蛋白酶可以将豆腐中的蛋白质和脂肪分解成易吸收的小分子物质

A 解析: 制作腐乳利用的微生物主要是毛霉,毛霉的代谢类型是异养需氧型,因此腐乳的制作过程利用的是毛霉等微生物的有氧呼吸,A 正确;腐乳制作过程分为前期发酵和后期发酵阶段,前期发酵是毛霉大量繁殖生长阶段,在该阶段中不需要密封,后期发酵阶段需要密封,控制毛霉增殖,赋予腐乳风味,B 错误;腐乳制作过程中毛霉等微生物将豆腐中的蛋白质、脂肪分解成小分子有机物并利用其中一部分能量,因此腐乳制作过程中有机物种类增多,但有机物的干重减少,C 错误;霉菌产生的蛋白酶可以将豆腐中的蛋白质分解成多肽和氨基酸,产生的脂肪酶可将脂肪分解成甘油和脂肪酸,D 错误。

知识点 2 泡菜的制作

2. 下图是利用白萝卜制作泡菜的流程图,下列叙述错误的是 ()



- A. 腌制白萝卜泡菜利用了乳酸菌的乳酸发酵
- B. 泡菜母水中小米椒、姜、蒜等既能调味又能抑制杂菌生长
- C. 泡菜入坛发酵时需用水密封,隔绝空气,为乳酸菌提供无氧环境

D. 将盐水煮沸直接倒入坛中,没过全部菜料以抑制杂菌生长

D 解析: 制作传统泡菜利用了植物体表面天然的乳酸菌来进行发酵,A 正确;小米椒、姜、蒜等香辛料既能调味,又能抑制杂菌生长,B 正确;泡菜制作的原理是利用乳酸菌在无氧的条件下进行无氧呼吸产生乳酸,所以泡菜入坛发酵时需用水密封,隔绝空气,提供无氧环境,C 正确;将盐水煮沸,应冷却之后再倒入坛中,避免温度过高杀死菌种,D 错误。

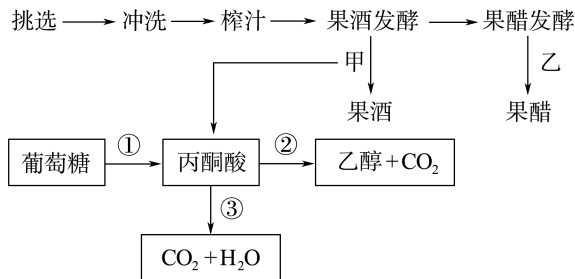
3. 某同学尝试自己制作酸菜,向酸菜坛中加入一些陈酸菜水进行腌制,并在不同的腌制时间测定了酸菜中亚硝酸盐的含量。下列说法错误的是 ()

- A. 制作时需将陈酸菜水煮沸冷却后再加入坛中
- B. 腌制时酸菜坛要装至八成满,盐水没过全部菜料,盖上坛盖再用水密封
- C. 酸菜坛内有时会长一层白膜,是由酵母菌大量繁殖导致的
- D. 不同的腌制时间,酸菜中亚硝酸盐的含量可能相同

A 解析: 酸菜的制作离不开乳酸菌,陈酸菜水中含有大量的乳酸菌,煮沸会杀死乳酸菌,A 错误;酸菜坛要装至八成满,盐水没过全部菜料,盖上坛盖再用水密封,这样可以利用水隔绝空气,从而创造无氧条件,B 正确;酸菜发酵液的表面往往含有适量的氧气,适合酵母菌生长繁殖,酵母菌大量繁殖后在酸菜坛液面形成一层白膜,C 正确;酸菜腌制过程中,亚硝酸盐的含量呈先增加后降低趋势,因此在不同的腌制时间,酸菜中亚硝酸盐的含量可能相同,D 正确。

知识点 3 果酒和果醋的制作

4. 苹果醋是以苹果为原料经甲、乙两个阶段发酵而成的, 下列说法错误的是 ()

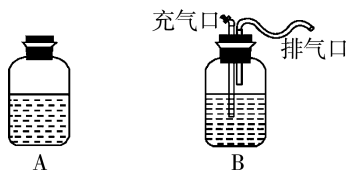


- A. 甲阶段的发酵温度低于乙阶段的发酵温度
 B. 根据醋酸菌的呼吸作用类型, 乙过程需要在无氧条件下完成
 C. 过程①②在酵母菌细胞的细胞质基质中进行, 过程③在线粒体中进行
 D. 甲、乙两阶段完成后溶液 pH 均降低

B 解析: 甲为果酒发酵, 适宜温度为 $18\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$; 乙为果醋发酵, 适宜温度为 $30\sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, 甲阶段的发酵温度低于乙阶段的发酵温度, A 正确。醋酸菌为好氧菌, 故根据醋酸菌的呼吸作用类型, 乙过程需要在有氧条件下完成, B 错误。过程①②是无氧呼吸, 在酵母菌细胞的细胞质基质中进行, 过程③包括有氧呼吸的第二、第三阶段, 在线粒体中进行, C 正确。果酒制作过程中酵母菌会产生二氧化碳, 二氧化碳溶于发酵液会形成碳酸, 使 pH 降低; 果醋制作过程中醋酸菌会产生醋酸, 使 pH 降低, D 正确。

5. 下图表示两名同学制作果酒和果醋时使用的装置。同学甲用装置 A (带盖的瓶子) 制作葡萄酒, 在瓶中加入适量葡萄汁, 发酵温度控制在 $18\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 每隔 12 h 左右将瓶盖拧松一次 (注意不是打开瓶盖), 之后再拧紧。当发酵产生酒精后, 再将瓶盖打开, 盖上一层纱布, 温度控制在 $30\sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, 进行果醋的发酵。同学乙用装置 B, 温度控制与同学甲相同,

不同的是制作果酒阶段关闭充气口, 排气口用夹子夹住, 每隔 12 h 左右松一松夹子放出多余的气体, 制作果醋阶段适时向充气口充气。经过 20 d 左右, 两名同学先后完成了果酒和果醋的制作。据此回答下列问题:



(1) 同学甲在制酒阶段, 每隔 12 h 左右将瓶盖拧松一次, 目的是 _____, 但又不打开, 原因是 _____。

(2) 葡萄酒制作是否成功, 发酵后可用 _____ 试剂来鉴定, 在酸性条件下该物质与酒精反应呈现 _____ 色。

(3) 制作果酒时要将温度控制在 $18\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 而制作果醋时要将温度控制在 $30\sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。两者温度控制不同的原因是 _____。

解析: (1) 同学甲的实验装置比较简单, 通过将瓶盖拧松排出瓶内 CO_2 气体, 不打开瓶盖是为了防止 O_2 和有害杂菌的进入。(2) 酒精的检测原理是酒精在酸性条件下与重铬酸钾试剂反应呈现灰绿色。(3) 酵母菌和醋酸菌的最适生长温度不同, $18\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 是酵母菌生长和发酵的适宜温度, $30\sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 是醋酸菌生长和发酵的适宜温度, 发酵时对温度的控制主要是为了满足微生物生长和发酵的需要。

答案: (1) 排出 CO_2 防止 O_2 和有害杂菌进入 (2) 重铬酸钾 灰绿 (3) $18\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 是酵母菌生长和发酵的适宜温度, $30\sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 是醋酸菌生长和发酵的适宜温度

综合性·创新提升

6. 从开始制作到泡菜品质最佳这段时间内, 泡菜逐渐变酸, 乳酸菌与杂菌数目发生变化, 下列有关分析错误的是 ()

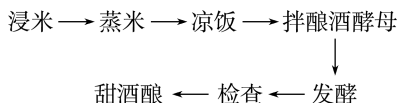
- A. 泡菜制作初期就有乳酸菌的存在
 B. 密闭的发酵环境使乳酸菌在种间竞争中占据一定优势
 C. 在发酵过程中, 乳酸含量逐渐增多, 可以抑制其他微生物的生长
 D. 发酵过程中, 杂菌数目的减少使乳酸菌与杂菌的

种间竞争减弱, 因此乳酸菌数目一直增多

D 解析: 泡菜制作初期多种微生物并存, 也存在乳酸菌, A 正确; 乳酸菌是厌氧细菌, 密闭的发酵环境使其在种间竞争中占据一定优势, B 正确; 发酵过程中, 乳酸含量逐渐增多, 不仅可以抑制其他微生物的生长, 也会增大乳酸菌之间的竞争, 因此乳酸菌数目不会一直增多, C 正确, D 错误。

7. 甜酒酿是用蒸熟的糯米拌上酿酒酵母发酵而成的一种甜米酒, 其制作流程如下图所示。下列叙述错

误的是 ()



- A. 蒸米既可以将米粒上的微生物杀死,又有利于淀粉的快速糖化
- B. 蒸米后凉饭的目的是防止酿酒酵母被高温杀死
- C. 发酵时将温度控制在 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以便于酿酒酵母的繁殖
- D. 发酵时应将拌有酿酒酵母的凉饭装满密闭的容器,发酵过程中适时排气

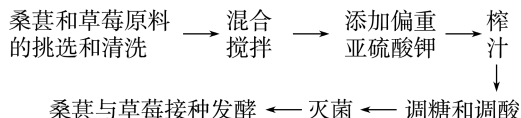
D 解析:在酿酒时要先将糯米蒸熟,主要有两个作用,一是熟糯米比生糯米更容易被微生物分解,有利于淀粉的快速糖化;二是蒸熟可以高温杀菌,避免了其他杂菌的污染,A 正确。凉饭使糯米温度降低,其目的是防止温度过高使酒曲中的酵母菌死亡,B 正确。 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 是酵母菌生长的适宜温度,发酵时将温度控制在 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以便于酿酒酵母的繁殖,C 正确。发酵时应将拌有酿酒酵母的凉饭装于密闭的容器中,但不能装满,应留有约 $1/3$ 的空间,D 错误。

8. 用酵母菌酿制葡萄酒时,通常葡萄酒中的酒精浓度不超过 14% ,其原因可能是 ()

- A. 加水过多
- B. 原料中用于发酵的糖太少
- C. 一定浓度的酒精影响酵母菌的存活
- D. 发酵过程产热多,高温使酵母菌死亡

C 解析:葡萄酒中酒精浓度不会太高是因为高浓度的酒精会使酵母菌失活,C 正确。

9. 桑葚与草莓营养价值极高,口味调和。草莓中含量较高的维生素 C 有助于延缓桑葚天然色素的氧化;桑葚独有的花青素、白藜芦醇等物质能显著增强复合果酒的功效。下图表示桑葚草莓复合果酒的工厂化制备流程,下列说法错误的是 ()



- A. 在生产复合果酒的过程中,要防止桑葚天然色素被氧化
- B. 果酒发酵初期通入氧气能促进酵母菌繁殖,有利于加快果酒发酵
- C. 复合果酒的制备过程中对发酵设备要进行灭菌处理
- D. 变酸的果酒表面会形成一层菌膜,这层菌膜是由酵母菌形成的

D 解析:桑葚独有的天然色素如花青素等物质能

显著增强复合果酒的功效,所以在生产复合果酒的过程中,要防止桑葚天然色素被氧化,A 正确;酵母菌在有氧条件下进行快速增殖,所以果酒发酵初期通入氧气能促进酵母菌繁殖,有利于加快果酒发酵,B 正确;为了防止杂菌污染,复合果酒的制备过程中要对发酵设备进行灭菌处理,C 正确;变酸的果酒表面会形成一层菌膜,这层菌膜是由醋酸菌形成的,D 错误。

10. “葡萄美酒夜光杯,欲饮琵琶马上催。醉卧沙场君莫笑,古来征战几人回?”这首唐诗中提及了葡萄酒。除了葡萄酒还有果醋、腐乳、泡菜等食品都是利用不同微生物的发酵制作完成的。发酵食品加工过程中离不开微生物。例如,果酒和果醋的制作离不开酵母菌和醋酸菌,腐乳的制作离不开毛霉等微生物。

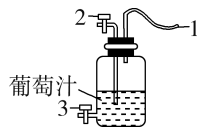
(1) 腐乳是通过微生物发酵制成的佐餐食品,其制作流程如下,请回答下列问题:

豆腐上长出毛霉 → 加盐腌制 → 加卤汤装瓶 → 密封腌制

- ① 制作腐乳的原料中哪种有机物的含量比较高? _____。毛霉可利用体内的酶将该成分分解成哪些小分子有机物? _____。
- ② 在用盐腌制腐乳的过程中,若盐的浓度过低会出现什么现象? _____。

- ③ 卤汤中酒的含量为什么要控制在 12% 左右? _____。

(2) 下图是利用酵母菌和醋酸菌制作果酒和果醋的装置示意图,请回答下列问题:



- ① 酵母菌和醋酸菌在结构上的主要区别是醋酸菌 _____。
- ② 葡萄汁装入发酵瓶之前要将发酵瓶清洗干净,用 _____ 消毒。
- ③ 制作 _____ 时应将开关 2 打开,长而弯曲的胶管 1 在发酵过程中的作用主要是 _____,发酵时瓶内的温度一般应控制在 _____。

解析:(1) ① 制作腐乳的原料是豆腐,其含有的有机物中蛋白质和脂肪比较多;毛霉可利用体内产生的蛋白酶将蛋白质水解成小分子肽和氨基酸,脂肪酶将脂肪水解成脂肪酸和甘油。② 在用盐腌

制腐乳的过程中,若盐的浓度过低,不足以抑制微生物的生长,可能导致豆腐腐败。③卤汤中酒的含量要控制在12%左右,是因为酒精含量过低,不足以抑制杂菌生长;含量过高,使毛霉等微生物失活,腐乳成熟时间将延长。(2)①酵母菌是真核生物,醋酸菌是原核生物,两者在结构上的主要区别是醋酸菌没有以核膜为界限的细胞核。②果酒发酵瓶应该用体积分数为70%的酒精消毒。③在果醋发酵时,需要通入氧气,故在制作果醋时应该打开开关2;长而弯曲的胶管是出气口,在发酵过程中,可以排出发酵产生的CO₂,并防止空气中杂菌的污染;发酵时瓶内的温度一般应控制在30~35℃,这是醋酸菌生长的最适温度。

答案:(1)①蛋白质、脂肪 小分子肽和氨基酸、甘油和脂肪酸 ②不足以抑制杂菌的生长,导致豆腐腐败 ③酒精含量过低,不足以抑制杂菌生长;含量过高,使毛霉等微生物失活,腐乳成熟时间将延长 (2)①无以核膜为界限的细胞核 ②体积分数为70%的酒精 ③果醋 排出发酵产生的CO₂,并防止空气中杂菌的污染 30~35℃

11.下表为制作山楂酒的有关过程。分析回答下列问题:

主要原料	山楂
设备	榨汁机、发酵桶、大锅等
制作过程	山楂经充分水洗,用榨汁机榨汁,将山楂汁倒入发酵桶中,经7~10 d的发酵,即成果酒。将经过发酵的果酒滤出,倒入发酵容器内,储存在地下室里,进行30 d的再发酵,继续放置在阴凉的地下室进行陈酿,陈酿期间,要坚持倒桶(换桶),并保持酒桶常满,即得原汁山楂酒

(1)请写出山楂酒制作的原理:_____ (用反应式表示)。
(2)与山楂酒发酵有关的微生物主要是_____,在山楂酒制作中菌种的主要来源是_____

_____。山楂要去掉枝梗,这要在水洗_____ (填“前”“中”或“后”)进行,原因是_____

(3)发酵的温度应控制在_____℃,在发酵过程中要先通气后密封,先通气的原因是_____
_____。陈酿期间,保持酒桶常满的原因是_____

(4)检验是否产生酒精可在_____条件下,用_____试剂检测。
(5)若要进一步制作山楂醋,应在发酵液中加入_____菌种,改变的条件还有_____
_____ (至少答出两条)。

解析:(1)山楂酒制作的原理是酵母菌无氧呼吸,其反应式为 $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_2H_5OH + 2CO_2 + \text{能量}$ 。(2)参与山楂酒发酵的微生物主要是酵母菌;在山楂酒制作中,菌种主要来自野生的酵母菌。山楂应在水洗后去掉枝梗,这样可避免去枝梗造成的损伤在冲洗过程中遭到杂菌污染。(3)果酒发酵的适宜温度为18~30℃;在发酵过程中要先通气后密封,先通气的目的是让酵母菌在有氧条件下大量繁殖,增加菌种数量;后密闭的目的是让酵母菌进行发酵(无氧呼吸)。(4)可在酸性条件下,用重铬酸钾试剂检验是否产生酒精。(5)若要进一步制作果醋,应在发酵液中加入醋酸菌。需要改变的条件是通入氧气,提高温度等。

答案:(1) $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_2H_5OH + 2CO_2 + \text{能量}$
(2)酵母菌 野生酵母菌 后 避免去枝梗造成的损伤在冲洗过程中遭到杂菌污染 (3)18~30 酵母菌在有氧条件下大量繁殖,增加菌种数量 为酵母菌酒精发酵创造无氧条件 (4)酸性 重铬酸钾 (5)醋酸菌 通入氧气、提高温度

第2节 微生物的培养技术及应用

第1课时 微生物的基本培养技术

学习任务目标

- 1.运用适应观,说明培养基的营养构成。
- 2.采用归纳与概括的方法,说明常用无菌技术的异同。
- 3.尝试利用给定的实验方案进行微生物的纯培养。

问题式预习

一、培养基的配制

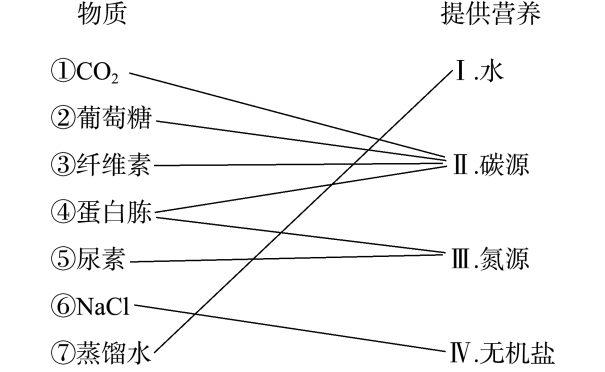
1.培养基

- (1)概念:人们按照微生物对营养物质的不同需求,配制出供其生长繁殖的营养基质。
- (2)作用:用以培养、分离、鉴定、保存微生物或积累其代谢物。
- (3)种类

培养基种类	划分标准	特点	用途
液体培养基	物理性质	不含凝固剂	工业生产
固体培养基		加凝固剂,如琼脂	微生物分离、鉴定等

2.培养基的配制

(1)主要营养物质(连线)



(2)其他条件

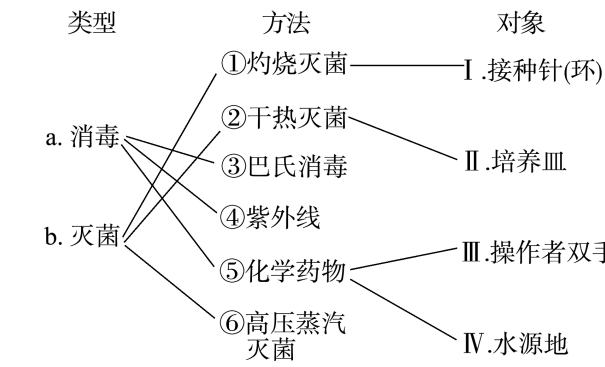
微生物	特殊条件
乳酸杆菌	添加 <u>维生素</u>
霉菌	pH 一般为酸性
细菌	pH 一般为 <u>中性或弱碱性</u>
厌氧微生物	无氧的条件

二、无菌技术

- 1.获取纯净的微生物培养物的关键:防止杂菌污染。
- 2.消毒和灭菌

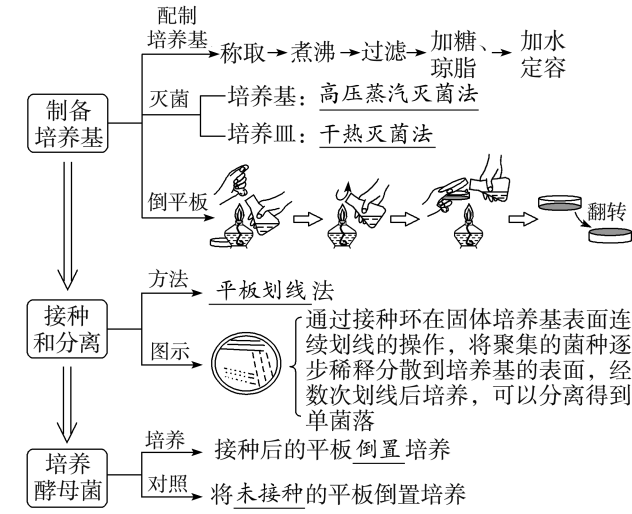
	条件	结果	对象
消毒	较为温和的物理、化学或生物等方法	仅杀死物体表面或内部的一部分 <u>微生物</u>	操作的空间、操作者的衣着和手
灭菌	<u>强烈</u> 的理化方法	杀死物体内外 <u>所有的微生物</u> (包括芽孢和孢子)	微生物培养的器皿、接种用具和培养基等

3.常见方法(连线)



三、微生物的纯培养

- 1.概念:由单一个体繁殖所获得的微生物群体称为纯培养物,获得纯培养物的过程就是纯培养。
- 2.接种方法:平板划线法和稀释涂布平板法。
- 3.酵母菌的纯培养



教材开发

- 1.[教材 P13“探究·实践”]在第二次以及其后的划线操作时,为什么总是从上一次划线的末端开始划线?
提示:划线后,线条末端细胞的数目比线条起始处要少,从上一次划线的末端开始划线,能使细胞的数目随着划线次数的增加而逐步减少,最终能得到由单个微生物繁殖而来的菌落。
- 2.[教材 P13“探究·实践”]在划线操作结束后,还需要灼烧接种环吗?为什么?
提示:需要。划线结束后灼烧接种环,能及时杀死接种环上残留的菌种,避免污染环境和感染操作者。
- 3.[教材 P13“探究·实践”]完成平板划线后,如何确定培养基是否被污染?

提示:将一个未接种的培养基和一个已接种的培养基放在一起培养,若未接种的培养基有菌落形成,说明培养基被污染。

概念辨析

- 1.培养基一般都含有水、碳源、氮源和无机盐,有时还需要加入一些特殊的物质。(√)
- 2.固体培养基中的琼脂能为微生物生长提供碳源。(×)
- 3.无论哪种培养基均需要灭菌。(√)

- 4.牛奶一般通过 100 ℃ 煮沸 5~6 min 来消毒。(×)
- 5.紫外线照射 30 min 可以杀死物体表面的微生物。(√)
- 6.吸管和培养皿通常采用高压蒸汽灭菌法进行灭菌。(×)
- 7.固体培养基灭菌后,应冷却至 50 ℃ 左右时倒平板。(√)
- 8.完成平板划线接种后应将培养皿倒置培养。(√)

任务型课堂

任务一 培养基的配制

探究活动

人们按照微生物对营养物质的不同需求,配制出供其生长繁殖的营养基质——培养基,用以培养、分离、鉴定、保存微生物或积累其代谢物。据此探究下列问题:

探究 1.按照培养基的物理性质,培养基可划分为哪几种类型?

提示:培养基可依据物理性质划分为固体培养基、半固体培养基和液体培养基。

探究 2.若用于微生物的大量繁殖,应选择哪一种物理状态的培养基?为什么?

提示:应选择液体培养基。因为在液体培养基中,菌体可以与营养液充分接触,有利于菌体充分利用营养物质。

评价活动

- 1.下列有关微生物培养基种类及配制原则的叙述,正确的是 ()
 - A.任何培养基都必须含有碳源、氮源、水、无机盐及特殊的营养物质
 - B.液体培养基可用于观察菌落,固体培养基可用于工业生产
 - C.微生物的生长除受营养因素影响外,还受 pH、O₂、渗透压等的影响
 - D.培养霉菌时需将培养基的 pH 调节到中性或微碱性
- C 解析:培养基一般都含有水、碳源、氮源和无机盐,特殊营养物质不是培养基必需的,A 错误;固体培养基可用于观察菌落,液体培养基可用于工业生产,B 错误;培养基一般都含有水、碳源、氮源和无机盐等营养物质,微生物的生长除了受到以上营养因素的影响外,还受到 pH、O₂、渗透压等的影响,C 正确;培养霉菌时需将培养基的 pH 调节至酸性,D 错误。

- 2.下表所示为某培养基的营养构成,下列叙述错误的是 ()

成分	含量
NaNO ₃	3 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
(CH ₂ O)	30 g
琼脂	15 g
蒸馏水	定容至 1 000 mL

- A.根据物理性质划分,该培养基属于固体培养基
- B.该培养基中的 NaNO₃ 可作为氮源
- C.根据培养基的配方可知,该培养基培养的是异养型微生物
- D.固体培养基中加入少量水即可形成液体培养基
- D 解析:该培养基配方中有凝固剂琼脂,依物理性质划分,应属于固体培养基,A 正确;NaNO₃ 含有氮元素,可作为氮源,B 正确;该培养基中的 (CH₂O) 可作为有机碳源,因此其培养的微生物是同化作用类型为异养型的微生物,C 正确;液体培养基中加入凝固剂(如琼脂)可形成固体培养基,固体培养基中去除凝固剂才能制成液体培养基,D 错误。
- 3.回答下列与细菌培养相关的问题:
 - (1)在细菌培养时,培养基中能同时提供碳源、氮源的成分是 _____ (填“蛋白胨”“葡萄糖”或“NaNO₃”)。制备培养基时要根据所培养细菌的不同来调节培养基的 pH,其原因是 _____。硝化细菌在没有碳源的培养基上 _____ (填“能”或“不能”)生长,原因是 _____。
 - (2)用平板培养细菌时一般需要将平板 _____ (填“倒置”或“正置”)。
 - (3)单个细菌在平板上会形成菌落,研究人员通常可根据菌落的形状、大小、颜色等特征来初步区分

不同种的微生物,原因是_____。

(4)使用后的培养基在丢弃前需要经过_____处
理,这种处理可以杀死丢弃物中所有的微生物。

解析:(1)蛋白胨能同时为微生物提供碳源、氮源、
维生素等,而葡萄糖不能提供氮源,NaNO₃不能提
供碳源。不同细菌生长繁殖所需要的最适 pH 是
不同的,应该根据所培养细菌的不同来调节培养基
的 pH。硝化细菌是化能自养型细菌,能够以空气
中的 CO₂ 为碳源,因此在没有碳源的培养基上能
够生长。(2)用平板培养细菌时,一般需要将平板
倒置,这样可以防止皿盖上的水珠落入培养基污染
培养基。(3)不同种类的细菌所形成的菌落,在大小、
形状、光泽度、颜色、硬度、透明度等方面具有一
定的特征,不同种细菌在一定培养条件下表现出各
自稳定的菌落特征,可以作为菌种鉴定的重要依
据。(4)使用后的培养基在丢弃前需进行灭菌处
理,以免污染环境。

答案:(1)蛋白胨 不同细菌生长繁殖所需的最适
pH 不同 能 硝化细菌可以利用空气中的 CO₂
作为碳源 (2)倒置 (3)在一定的培养条件下,不
同种微生物表现出各自稳定的菌落特征 (4)灭菌

任务总结

(1)培养基的成分及功能

营养物质	作用	功能	主要来源
碳源	能为微生物代谢提供碳元素	构成生物体的细胞物质和一些代谢产物,有些是异养生物的能源物质	无机碳源: CO ₂ 、NaHCO ₃ 等; 有机碳源: 糖类、脂肪酸、花生粉饼、石油等

任务二

无菌技术

化学及感官上的变化生产出来的乳产品。



探究 1.上述两种牛奶,哪种采用了灭菌处理?

提示:超高温灭菌乳的杀菌方法属于灭菌,巴氏杀菌奶的杀菌方法属于消毒。

探究 2.在实验室中,培养基和接种环通常使用的灭菌方法是什么?

提示:培养基使用高压蒸汽灭菌法灭菌,接种环

续表

营养物质	作用	功能	主要来源
氮源	能为微生物代谢提供氮元素	合成蛋白质、核酸以及含氮的代谢产物	无机氮源: N ₂ 、NH ₃ 、铵盐、硝酸盐等; 有机氮源: 尿素、牛肉膏、蛋白胨等
水	是生命活动所必需的	不仅是优良的溶剂,而且可维持生物大分子结构的稳定	外界摄入
无机盐	为微生物提供除碳、氮以外的各种重要元素,包括大量元素	是细胞内的组成成分、生理调节物质、某些化能自养菌的能源、酶的激活剂	无机化合物

(2)微生物的碳源、氮源和能源物质的易错提醒

①误认为所有碳源和氮源都可提供能量:有机碳源和有机氮源是异养微生物的能源物质。

②误认为所有微生物的能源都是有机碳源:自养微生物的碳源一般是 CO₂;光能自养微生物如蓝细菌等的能源是光能。

[探究活动]

市场销售的牛奶主要有两种。

巴氏杀菌乳是指使用较低温度(72~85 ℃)对新鲜牛奶进行杀菌处理得到的乳制品。这种牛奶处理方法比较温和,能杀死牛奶中的绝大多数微生物,保持牛奶原有的风味。

超高温灭菌乳是牛奶在连续流动的状态下,经 135 ℃ 以上不少于 1 s 的超高温瞬时灭菌,可以完全破坏其中可以生长的微生物,然后在无菌状态下包装于微量透气的容器中,最大限度地减少产品在物理、

使用灼烧法灭菌。

探究 3.某同学在实验过程中不小心将灭菌的培养皿和未灭菌的培养皿混合了,那么这些培养皿还能用于实验吗?为什么?

提示:不能。因为已灭菌的材料物品不能与周围物品接触,以防污染,所以该同学应将培养皿再次灭菌后才能用于实验。

探究 4.采用无菌技术除了能防止实验室的培养物被其他外来微生物污染外,还有什么目的?

提示:无菌技术还能有效避免操作者被微生物感染。

[评价活动]

1. 无菌技术是微生物培养过程中的关键技术之一,主要包括消毒和灭菌。下列关于消毒和灭菌的叙述中,错误的是 ()

- A. 灭菌是指用强烈的物理、化学方法杀死物体内外所有微生物
- B. 消毒是指用较为温和的物理、化学方法杀死物体表面的一部分微生物
- C. 常用的灭菌方法有干热灭菌、湿热灭菌、灼烧灭菌等
- D. 做好消毒和灭菌工作后,要注意避免已经灭菌处理的用具与周围的物品接触

B 解析:灭菌是指使用强烈的理化方法杀死物体内外所有微生物,包括芽孢和孢子,A 正确;消毒是指用较为温和的物理、化学或生物等方法仅杀死物体表面或内部一部分微生物,B 错误;常用的灭菌方法有干热灭菌、湿热灭菌、灼烧灭菌等,耐高温的和需要保持干燥的物品可用干热灭菌,培养基等可用湿热灭菌(如高压蒸汽灭菌),接种环等可用灼烧灭菌,C 正确;周围物品可能会含有杂菌,为防止杂菌污染,无菌技术操作时应避免已经灭菌处理的材料用具与周围的物品接触,D 正确。

2. 日常生活中保存食品的方法有罐藏法、巴氏消毒法、冷藏法、干燥法、防腐剂法等,它们是如何阻止或抑制微生物生长的? 下列叙述错误的是 ()

- A. 罐藏法是将食品进行短时间的高温、高压处理,然后放入已经消毒的金属或玻璃罐中,并在真空下封口
- B. 巴氏消毒法是采用较温和的物理、化学方法来杀死一切对人体有害的致病菌
- C. 防腐剂法是在食品中加入无毒副作用的防腐剂以抑制微生物生长
- D. 干燥法是通过降低食品的含水量来抑制微生物生长

B 解析:罐藏法是将食品进行短时间的高温、高压处理,然后放入已经消毒的金属或玻璃罐中,并在真空下封口,由于食品中的微生物已经被杀死,外界微生物又不能进入,因此可以阻止或抑制微生物

生长,较长时间保存食品,A 正确;巴氏消毒法是采用较温和的物理方法,杀死一部分对人体有害的致病菌,B 错误;防腐剂法通过在食品中加入无毒副作用的防腐剂来抑制微生物生长,C 正确;干燥法通过降低食品中的含水量来抑制微生物生长,D 正确。

3. 无菌技术常采用消毒、灭菌措施,可有效防止杂菌污染,在生产、生活和科学研究中广泛使用。请回答下列问题:

- (1) 在实验室中,玻璃和金属材质的实验器具 _____ (填“可以”或“不可以”)放入干热灭菌箱中进行干热灭菌。
- (2) 牛奶的消毒常采用巴氏消毒法或高温瞬时灭菌法,与煮沸灭菌法相比,这两种方法的优点是 _____。
- (3) 密闭空间内的空气可采用紫外线照射消毒,其原因是紫外线能 _____。在照射前,适量喷洒 _____,可强化消毒效果。
- (4) 某同学在使用高压蒸汽灭菌锅时,若压力达到设定要求,而锅内并没有达到相应温度,最可能的原因是 _____。

解析:(1) 在实验室中,能耐高温的和需要保持干燥的物品,如玻璃器皿和金属材质的实验器具等可以放入干热灭菌箱中进行干热灭菌。(2) 巴氏消毒法或高温瞬时灭菌法与煮沸灭菌法相比,其优点是在达到消毒目的的同时,营养物质损失较少。(3) 紫外线照射能消毒的原因是其能够破坏微生物细胞中的 DNA 分子。在利用紫外线照射前,适量喷洒苯酚或煤酚皂溶液等消毒液,可强化消毒效果。(4) 采用高压蒸汽灭菌时,若压力达到设定要求,而温度未达到相应要求,最可能的原因是没有排尽高压蒸汽灭菌锅内的冷空气。

答案:(1) 可以 (2) 在达到消毒目的的同时,营养物质损失较少 (3) 破坏 DNA 结构 消毒液(或苯酚,或煤酚皂溶液等) (4) 未将锅内冷空气排尽

任务总结 ■■■■

几种常用灭菌和消毒方法的比较

种类	主要方法	应用范围
灼烧灭菌	酒精灯火焰的充分燃烧层灼烧	微生物接种工具,如涂布器、接种环、接种针或其他金属用具等,接种过程中的试管口或瓶口等
干热灭菌	干热灭菌箱 160~170 ℃ 维持 1~2 h	耐高温的和需要保持干燥的物品,如玻璃器皿、金属用具等
高压蒸汽灭菌	100 kPa、121 ℃ 维持 15~30 min	培养基及其他多种器材等

续表

种类	主要方法	应用范围
巴氏消毒法	63 ~ 65 ℃ 消毒 30 min 或 72 ~ 76 ℃ 处理 15 s 或 80 ~ 85 ℃ 处理 10~15 s	牛奶、啤酒、果酒和酱油等不宜进行高温灭菌的液体
煮沸消毒法	100 ℃ 煮沸 5~6 min	家庭餐具等生活用品

续表

种类	主要方法	应用范围
紫外线消毒法	紫外灯照射 30 min	接种室空气
化学药物消毒法	用体积分数为 70%~75% 的乙醇、碘酒等涂抹	用于皮肤、伤口、动植物组织表面消毒、空气、手术器械、塑料或玻璃器皿等的消毒

任务三

酵母菌的纯培养

[探究活动]

微生物接种的方法有很多,最常用的是平板划线法和稀释涂布平板法,其中平板划线法是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。据此探究下列问题:

探究 1.灼烧接种环之后,为什么要等其冷却后才能蘸取菌液?

提示:以免温度太高杀死菌种。

探究 2.接种操作时每次划线接种前与接种结束后都要灼烧接种环,其目的分别是什么?

提示:划线前灼烧是为了杀死上次划线结束后残留的菌种。接种结束后灼烧是为了及时杀死接种环或接种针上残留的菌种,避免污染环境和感染操作者。

[评价活动]

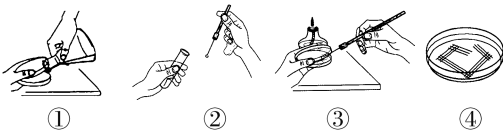
1.下列关于“酵母菌的纯培养”实验的叙述中,错误的是 ()

- A.马铃薯捣烂后的滤液中含有酵母菌生长所需的多种营养成分
- B.接种环灭菌时,顶端的环和环后的部分柄均需通过火焰灼烧
- C.平板划线时,接种环应在固体培养基表面轻轻地连续划线
- D.完成平板划线后,应将平板立刻倒置培养以免污染培养基

解析:马铃薯捣烂后的滤液中含有酵母菌生长所需的多种营养成分,A 正确;接种环灭菌时,顶端的环和环后的部分柄均需通过火焰灼烧,防止杂菌的污染,B 正确;平板划线时,接种环应在固体培养基表面轻轻地连续划线,用力划会使培养基表面破损,影响实验结果的观察,C 正确;完成平板划线后,待菌液被培养基吸收,再将平板倒置培养,D 错误。

2.下图为实验室中酵母菌的纯培养部分操作步骤,下

列说法不正确的是 ()



- A.①步骤使用的培养基已调节过 pH 并灭菌
- B.③到④过程中,每次划线前与接种结束后都需要对接种环进行灼烧处理
- C.②步骤接种环经灼烧灭菌后应趁热快速蘸取菌液
- D.①②③步骤操作时都需要在酒精灯火焰旁进行

C 解析:①步骤为倒平板,在倒平板之前,培养基已调节过 pH 并进行了灭菌处理,A 正确;③到④过程中,每次划线前对接种环进行灼烧处理,是为了杀死接种环上残留的菌种,使划线时接种环上的菌种直接来源于上次划线的末端,接种结束后灼烧接种环能及时杀死接种环上残留的菌种,避免污染环境和感染操作者,B 正确;②中接种环经灼烧灭菌后应冷却后再蘸取菌液,以防高温杀死菌种,C 错误;①②③步骤操作时都需要在酒精灯火焰旁进行,防止被杂菌污染,D 正确。

3.在微生物学中,由单一个体繁殖所获得的微生物群体称为纯培养物,获得纯培养物的过程就是纯培养。研究者欲对酵母菌进行纯培养,培养基成分如下表所示。请回答下列有关问题:

组分	含量
马铃薯	200 g
葡萄糖	20 g
琼脂	20 g
H ₂ O	定容至 1 000 mL

- (1)马铃薯为酵母菌的生长提供的营养物质有_____。
- (2)从物理性质上看该培养基属于_____培养基。

(3)酵母菌属于单细胞真菌，一般培养条件应设为_____。

A.pH 酸性 B.pH 碱性

C.28 ℃ D.37 ℃

E.1~2 天 F.3~4 天

(4)纯培养后的酵母菌可用于果酒发酵，果酒发酵的原理是_____（写出反应式）。待发酵结束后，欲进一步制作果醋，需改变的发酵条件主要有_____、_____。

解析：(1)马铃薯可以为酵母菌的生长提供多种营养物质，包括碳源、氮源、无机盐、特殊营养物质(或维生素或生长因子)等。(2)根据题表可知，培养基中加入琼脂作为凝固剂，因此从物理性质上看该培养基属于固体培养基。(3)酵母菌属于单细胞真菌，培养酵母菌一般培养条件应设为酸性条件下，在 28 ℃ 环境中培养 1~2 天，故选 ACE。(4)酵母菌的无氧呼吸能将葡萄糖分解为酒精和二氧化碳，纯培养后的酵母菌可用于果酒发酵，果酒发酵的原理是 $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_2H_5OH + 2CO_2 + \text{能量}$ ；醋酸菌是好氧菌，最适生长温度为 30~35 ℃，待果酒发酵结束后，欲进一步制作果醋，需改变的发酵条件主要有升高温度至 30~35 ℃和通气。

答案：(1)碳源、氮源、无机盐、特殊营养物质(或维生素，或生长因子)等 (2)固体 (3)ACE

(4) $C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{酶}} 2C_2H_5OH + 2CO_2 + \text{能量}$ 升高温度至 30~35 ℃ 通气

任务总结

平板划线操作的注意事项

(1)蘸取菌液前及每次划线之后都需灼烧接种环，划线操作结束仍需灼烧接种环，但灼烧接种环的目的不尽相同。

项目	蘸取菌液前灼烧	每次划线前灼烧	划线结束后灼烧
目的	避免接种环上可能存在的微生物污染培养基	杀死上次划线结束后接种环上残留的菌种，使每次划线的菌种均来自上次划线的末端	杀死接种环上残留的菌种，避免污染环境 and 感染操作者

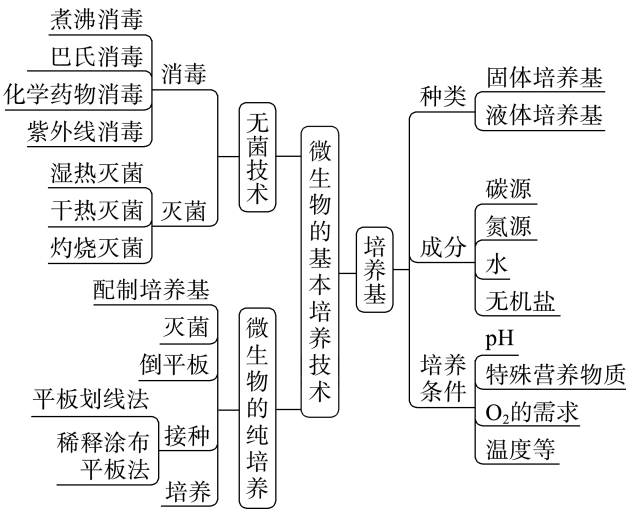
(2)灼烧接种环之后，要等其冷却后才能伸入菌液中或进行划线，以免温度太高杀死菌种。

(3)在做第二次以及其后的划线操作时，要从上一次划线的末端开始划线，这样才能使菌体的数目随着划线次数的增加而逐步减少，最终得到由单个菌体繁殖而来的菌落。

(4)最后一次的划线不要与第一次的划线相连。

(5)划线时用力大小要适当，防止用力过大将培养基划破。

► 提质归纳



课后素养评价(二)

基础性·能力运用

知识点 1 培养基的配制

1.下列有关培养基的叙述中，正确的是 ()

A.培养基的营养成分都有碳源、氮源、水、无机盐

B.除水以外的无机物都属于无机盐

C.用培养基培养甲型 H1N1 流感病毒做科学研究

D.不同微生物的培养基配制过程中应调整至不同的 pH，以适应微生物的生长

D 解析：固氮微生物培养基可无氮源，A 错误；CO₂ 和 N₂ 是无机物，也是某些微生物的碳源和氮源，B 错误；甲型 H1N1 流感病毒必须寄生在活细胞内，不能用培养基培养，C 错误；不同微生物生长的适宜 pH 不同，配制培养基时应调整至其最适 pH，D 正确。

2. 下列关于四种生物的能量、碳源、氮源和代谢类型的描述中，正确的是 ()

项目	硝化细菌	乳酸菌	酵母菌	衣藻
能源	氧化NH ₃	分解乳酸	固定N ₂	利用光能
碳源	糖类	糖类	糖类	CO ₂
氮源	NH ₃	N ₂	N ₂	NO ₃ ⁻
代谢类型	自养需氧型	异养需氧型	异养需氧型	自养需氧型

- A. 硝化细菌 B. 乳酸菌
C. 酵母菌 D. 衣藻
- D 解析: 硝化细菌是自养微生物, 其利用的碳源为CO₂, A 错误; 乳酸菌是异养厌氧微生物, 不能直接利用N₂, 且能量来源为糖类, B 错误; 酵母菌不能固定N₂, 能分解糖类等有机物, 其代谢类型为异养兼性厌氧型, C 错误; 衣藻是自养需氧型微生物, 能利用光能、CO₂ 等合成能源物质, D 正确。

知识点 2 无菌技术

3. 在微生物的实验室培养过程中, 获得纯净培养物的关键是 ()

- A. 将用于微生物培养的器皿、接种用具和培养基等进行灭菌
B. 接种纯种细菌
C. 适宜环境条件下培养
D. 防止杂菌污染

D 解析: 在微生物的实验室培养中, 防止杂菌污染是获得纯净培养物的关键, D 正确。

4. 下列有关无菌技术的叙述, 错误的是 ()

- A. 无菌技术包括消毒和灭菌两个方面
B. 经巴氏消毒法可以杀死牛奶中的绝大多数微生物, 基本不破坏牛奶的营养成分
C. 煮沸消毒法中 100 ℃ 煮沸 5~6 min 可以杀死所有微生物, 包括芽孢和孢子
D. 将接种环直接在酒精灯火焰的充分燃烧层灼烧, 可以迅速彻底地灭菌

C 解析: 常用的无菌技术包括消毒和灭菌两个方面, A 正确; 巴氏消毒法是低温消毒法, 既可以杀死牛奶中的绝大多数微生物, 又可以基本不破坏牛奶的营养成分, B 正确; 煮沸消毒法是在 100 ℃ 煮沸消

毒 5~6 min, 可以使蛋白质变性, 杀死微生物的营养细胞和一部分芽孢, C 错误; 接种时, 对接种环等金属用具通常用灼烧灭菌法, 将接种环直接在酒精灯火焰的充分燃烧层灼烧, 可以迅速彻底地灭菌, D 正确。

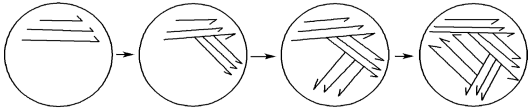
知识点 3 微生物的纯培养

5. 下列有关微生物的分离与培养的叙述中, 不正确的是 ()

- A. 培养基倒平板的温度一般为 50 ℃ 左右
B. 倒置平板可防止培养皿皿盖上的冷凝水滴落造成污染
C. 倒平板时将培养皿的皿盖拿开, 以便于将锥形瓶中的培养基倒入培养皿
D. 检验培养基是否被杂菌污染的最有效方法是将未接种的培养基放在恒温培养箱中培养

C 解析: 为避免杂菌污染培养基, 倒平板时需拇指和食指将培养皿打开一条稍大于瓶口的缝隙, 将锥形瓶中的培养基(10~20 mL)倒入培养皿, 立即盖上培养皿的皿盖, C 错误。

6. 下图为平板划线法分离纯化细菌示意图。根据所学生物学知识, 回答下列问题:



(1) 对接种环或涂布器灭菌时用 _____ 法。

(2) 平板划线时, 为保证每次划线都从上次划线末端的微生物浓度开始, 所以每次划线前都要 _____, 平板划线结束后, 最后一次的划线不能与第一次的划线 _____。

解析: (1) 对接种环或涂布器等金属用具进行灭菌时常采用灼烧灭菌法。(2) 平板划线时, 为保证每次划线都从上次划线末端的微生物浓度开始, 在每次划线前都要对接种环进行灼烧灭菌。平板划线结束后, 最后一次的划线不能与第一次的划线相连。

答案: (1) 灼烧灭菌 (2) 对接种环进行灼烧灭菌 相连(或相接、相交、交叉等)

综合性·创新提升

7. 某培养基成分如下:

葡萄糖	4~10 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	4 g
K ₂ HPO ₄	7 g

续表

KH ₂ PO ₄	2 g
MgSO ₄	1 g
CaCl ₂	0.02 g

续表

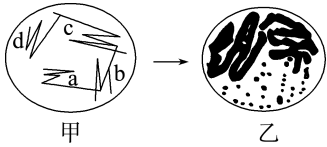
微量元素 (Fe、Co、Mn、 Zn、Cu、Ni、Mo)	各 2~10 μg
蒸馏水	1 000 mL
pH	7.2

下列相关叙述正确的是 ()

- A.从培养基组成来看,该培养基属于固体培养基
- B.从培养基的 pH 分析该培养基可用于培养霉菌
- C.去掉(NH₄)₂SO₄,该培养基可用于选择培养固氮微生物
- D.微量元素在生物体中含量很少,培养基中可以不加或少加

C 解析:从培养基组成来看,该培养基属于合成培养基,从物理形态来看,因其不含凝固剂琼脂,属于液体培养基,A 错误;该培养基的 pH 为 7.2 是弱碱性,适于细菌的培养,霉菌需要在酸性条件下生长,B 错误;去掉(NH₄)₂SO₄后,培养基成分缺乏氮源,只有固氮微生物能生长,故可用于固氮微生物的筛选,C 正确;微量元素在生物体内的含量少,但作用很重要,是生物体必不可少的成分,培养基中必须添加,D 错误。

- 8.在分离、纯化细菌的实验中,划线接种(甲)、培养结果(乙)如图所示,a、b、c、d 是划线的四个区域。下列叙述错误的是 ()



- A.每次划线前和接种结束后都要对接种环灼烧灭菌
- B.连续划线的目的是获得单个细菌形成的菌落
- C.接种环共灼烧了 4 次
- D.不能将 a 区和 d 区划线相连

C 解析:平板划线法中每次划线前都要灼烧接种环,以保证菌种来自上一次划线的末端,接种结束后也要灼烧接种环,防止污染环境、感染操作者,A 正确;连续划线可以将聚集的菌种逐步稀释,以便获得单个菌落,B 正确;接种过程中每次接种前需要灼烧接种环,接种结束后也需要灼烧接种环以免污染环境,总共需要灼烧接种环 5 次,C 错误;题图中 a 对应的区域出现了单个菌落,d 区域菌落最密集,说明 a 区域为划线的最终区域,d 区域为划线的起始区域,二者不能相连,D 正确。

- 9.为了观察手掌上附着的微生物,某同学制作培养基,将自己的手掌在配制的牛肉膏蛋白胨固体培养

基上轻轻按压后,盖上培养皿皿盖,将平板倒置放在恒温培养箱中培养 48 h,结果如图所示。与此实验相关的叙述错误的是 ()



- A.培养结果显示手掌上布满了菌落
- B.待高温灭菌后的培养基冷却至 50 ℃ 左右,再进行倒平板
- C.在超净工作台上和酒精灯火焰旁进行操作,是为了防止杂菌污染
- D.手掌在牛肉膏蛋白胨固体培养基上轻轻按压属于接种操作

A 解析:将自己的手掌在配制的牛肉膏蛋白胨固体培养基上轻轻按压后,手上的微生物转移到培养基上,经过培养形成了菌落,因此培养结果显示手掌上布满了微生物,A 错误;待高温灭菌后的培养基冷却至 50 ℃ 左右后,再进行倒平板,该温度为刚好不烫手的温度,且表现为液态,因而可以进行倒平板操作,B 正确;在超净工作台上和酒精灯火焰旁进行操作,该部位属于无菌区,目的是防止杂菌污染,C 正确;手掌在牛肉膏蛋白胨固体培养基上轻轻按压属于接种操作,可将手上的微生物转移到培养基上,D 正确。

- 10.我国科学家从北极分离、鉴定出了一种耐冷细菌,过程如下:

- ①接种在人造海水中,15 ℃ 条件下振荡培养 3 小时;
- ②梯度稀释后将样品涂布在 TYS 培养基中(0.5% 胰蛋白胨、0.1% 酵母提取物、1.5% 琼脂),15 ℃ 条件下培养 7 天;
- ③挑取生长的菌落,进行划线,15 ℃ 条件下培养后选择不同形态的菌落进行进一步的培养、鉴定和保藏。

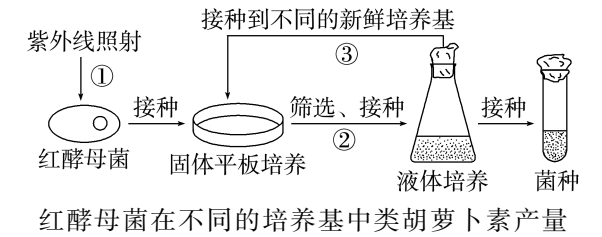
下列说法错误的是 ()

- A.TYS 培养基是含有机碳源、氮源的固体培养基
- B.人造海水、培养皿等在使用前需要进行灭菌处理
- C.涂布后再次划线培养的目的是进一步纯化所得菌种
- D.分析所有菌落,能还原采样点所有微生物的种类与含量

D 解析:在 TYE 培养基中,含有“0.5% 胰蛋白

胨、0.1%酵母提取物、1.5%琼脂”可知,TYS培养基含有有机碳源、氮源,且含有琼脂,是固体培养基,A正确;人造海水、培养皿等在使用前需要进行灭菌处理,防止杂菌污染,B正确;涂布后再次划线培养的目的是进一步纯化所得菌种,C正确;由于培养条件限制,有一些菌种可能无法经培养形成菌落,因而不能还原采样点所有微生物的种类与含量,D错误。

11.类胡萝卜素中的胡萝卜素是一种常用的色泽鲜艳、对人体有益的天然色素类食品添加剂,且类胡萝卜素可从红酵母菌体内获取。下图为筛选获得高产红酵母菌菌种的过程,下表为筛选培养过程中获得的部分数据(表中细胞生物量是指培养期间单位体积内所含的生物个体总量)。请分析回答下列问题:



菌种	①	②	③
培养基成分	葡萄糖	甘蔗汁	泥炭提取物
细胞生物量 /(g·L ⁻¹)	2.4	9.2	4.8
类胡萝卜素含量 /(mg·g ⁻¹)	26.01	1.9	1.261
类胡萝卜素产量 /(mg·L ⁻¹)	62.4	17.5	6.03

- (1)酵母菌不具有的结构有_____ (从“拟核”“芽体”“叶绿体”“细胞壁”中选填)。
- (2)图中过程①的目的是_____。为获得单菌落,可采用_____法,通过接种环将初筛菌液接种在固体培养基上,连续划线培养,接种时需要先进行的操作是_____。
- (3)表中显示的培养基成分能为红酵母菌生长提供_____,图中过程③的目的是_____。
- (4)根据上表信息,你认为进一步提高高产红酵母菌类胡萝卜素产量的有效措施是_____。

解析:(1)酵母菌是真核生物,没有拟核和叶绿体,但是在出芽生殖的过程中会产生芽体,并且具有细胞壁。(2)过程①的目的是人工诱变(提高红酵母菌的突变率)。为获得单菌落,可采用平板划线法将初筛菌液接种在固体培养基上,接种时需要对接环进行灭菌处理,即先进行的操作是灼烧接种环并冷却。(3)题表中葡萄糖、甘蔗汁以及泥炭提取物均为酵母菌生长提供碳源,图中过程③的目的是筛选出最适宜用于培养高产红酵母菌的培养基。(4)根据题表信息,进一步提高高产红酵母菌类胡萝卜素产量的有效措施是优化培养基。

答案:(1)拟核、叶绿体 (2)人工诱变(提高红酵母菌的突变率) 平板划线 灼烧接种环并冷却 (3)碳源 筛选出最适宜用于培养高产红酵母菌的培养基 (4)优化培养基

第 2 课时 微生物的选择培养和计数

学习任务目标

- 1.运用适应观,举例说明选择培养的原理。
- 2.采用归纳与概括、模型与建模等方法,概述测定微生物数量的常用方法。
- 3.尝试运用稀释涂布平板法,对细菌进行分离和计数。

问题式预习

一、选择培养基

1.概念

- (1)允许生长:特定种类的微生物。
- (2)抑制或阻止生长:其他种类的微生物。

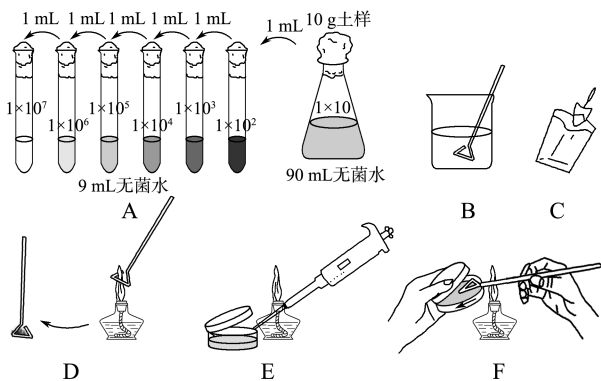
2.实例

- 下列属于选择培养基的是①④⑤。
- ①80℃条件下的培养基
 - ②pH=7条件下的培养基

- ③牛肉膏蛋白胨培养基
- ④以尿素为唯一氮源的培养基
- ⑤添加青霉素的培养基

二、微生物的选择培养

- 1.培养基:选择培养基。
- 2.样品处理:对样品进行充分稀释。
- 3.接种方法:稀释涂布平板法。
- 4.操作过程



- (1)对涂布器进行消毒灭菌的步骤分别是BD。
- (2)E所示步骤中向培养基加入菌液的体积是0.1 mL。
- (3)A所示步骤中试管中加入1 mL菌液和9 mL无菌水,依次等比稀释。
- (4)正确的操作步骤顺序是CAEBDF。
- (5)接种完毕后,将平板倒置,放入30~37℃的恒温培养箱中培养。

三、微生物的数量测定

1.稀释涂布平板法

- (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。
- (2)计数原则
 - ①一般选择菌落数为30~300的平板计数。
 - ②在同一稀释度下,应至少对3个平板进行重复计数,然后求出平均值。
 - (3)不足: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,所以统计的菌落数往往比活菌的实际数目少。

2.显微镜直接计数法

- (1)计数工具:显微镜、细菌计数板或血细胞计数板。
- (2)不足:因计数结果一般是活菌数和死菌数的总和,故比活菌的实际数目多。

四、土壤中分解尿素的细菌的分离与计数

- 1.原理:绝大多数微生物都能利用葡萄糖,但只有能合成脲酶的微生物才能分解尿素。利用以尿素作

为唯一氮源的选择培养基,可以从土壤中分离出分解尿素的细菌。

2.步骤

土壤取样:铲去表层土,铲取距地表3~8 cm的土壤层。注意取土样的铁铲和纸袋在使用前需要灭菌

样品稀释:测定土壤中细菌的数量,一般选用 1×10^4 、 1×10^5 和 1×10^6 倍稀释的稀释液进行平板培养

取样涂布:涂布器从酒精中取出时,要让多余的酒精在烧杯中滴尽,然后再放在火焰上灼烧。涂布时可转动培养皿,使涂布均匀

培养:30~37℃培养1~2 d,同时培养空白培养基,分析培养物中是否有杂菌污染以及选择培养基是否筛选出菌落

观察、记录并计数:每隔24 h统计一次菌落数目,选取菌落数目稳定时的记录作为结果,并记录菌落的特征

3.操作提示

基于对土壤中分解尿素的细菌的分离与计数的实验操作的理解,判断下列关于实验操作的说法正确的是①②③⑤。

- ①本实验耗时长,应提前制订好计划,提高效率
- ②本实验用到的器材比较多,应该对试管和平板做好标记
- ③取土样的铁铲和取样纸袋使用前都需要灭菌
- ④为了防止杂菌污染,从酒精中取出的涂布器应该直接在酒精灯火焰上充分燃烧灭菌
- ⑤过热的涂布器不能直接放在盛有酒精的烧杯中

教材开发

- 1.[教材 P18 正文]在稀释涂布平板法中,为何需至少涂布3个平板?

提示:作为重复实验,统计时取平均值,以减少偶然因素对实验结果的影响,增强实验结果的说服力。

- 2.[教材 P18 正文]采用稀释涂布平板法接种,为什么统计的菌落数目往往比活菌的实际数目低?

提示:因为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。

- 3.[教材 P19“探究·实践”]如何借助生物化学的方法来鉴定所分离的尿素分解菌?

提示:使用以尿素为唯一氮源的培养基,尿素分解菌合成的脲酶可以将尿素分解成氨,氨会使培养基

的碱性增强,在培养基中加入酚红指示剂,若指示剂变红,可确定该细菌能够分解尿素。

概念辨析

- 1.利用稀释涂布平板法统计菌落数目时,统计的菌落数就是活菌的实际数。(×)
- 2.统计菌落数目时为保证结果准确,一般选择菌落数目最多的平板进行统计。(×)
- 3.利用稀释涂布平板法和平板划线法均可实现细菌的分离和计数。(×)

- 4.稀释涂布平板法是将不同稀释度的菌液倒入液体培养基进行培养。(×)
- 5.涂布接种时,需将涂布器浸在盛有酒精的烧杯中,然后取出并用酒精灯外焰灼烧,待酒精燃尽、涂布器冷却后再使用。(√)
- 6.一般选择菌落数大于 300 的平板进行计数。(×)
- 7.显微镜直接计数法统计的都是稀释液中的活菌。(×)

任务型课堂

任务一

选择培养基

[探究活动]

自然界中微生物数量繁多,种类庞杂,要想从分离出需要的特定微生物并不容易,尤其是当要分离的微生物在混合菌群中不是优势种群时,更难实现。请探究以下问题:

探究 1.如何从大豆田土壤中分离出固氮微生物?

提示:从大豆田土壤中取土样,利用缺乏氮源的培养基可分离出固氮微生物。

探究 2.要分离出分解纤维素的微生物,应在什么样的环境中取土样?应配制什么样的培养基?

提示:应从富含纤维素的环境中取土样,如树林中多年落叶形成的腐殖土。应配制以纤维素为唯一碳源的培养基。

探究 3.根据选择培养的原理,如何筛选出耐酸菌?

提示:可将培养基的 pH 调至酸性,再接种细菌培养。

[评价活动]

- 1.解脂菌能利用分泌的脂肪酶将脂肪分解成甘油和脂肪酸并吸收利用。脂肪酸会使醇溶青琼脂平板变为深蓝色。将不能直接吸收脂肪的甲、乙两种菌分别等量接种在醇溶青琼脂平板上培养,甲菌菌落周围呈现深蓝色,乙菌菌落周围不变色。下列说法错误的是 ()

- A.甲菌属于解脂菌
- B.实验中所用培养基以脂肪为唯一碳源
- C.可将两种菌分别接种在同一平板的不同区域进行对比
- D.该平板可用来比较解脂菌分泌脂肪酶的能力

B 解析:根据题干信息“甲菌菌落周围呈现深蓝色”可知,甲可以分泌脂肪酶,将脂肪分解成甘油和脂肪酸,脂肪酸使醇溶青琼脂平板变为深蓝色,因

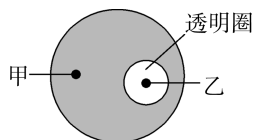
此甲属于解脂菌,A 正确;乙菌菌落周围没有出现深蓝色,说明乙菌不能产生脂肪酶,不能利用脂肪为其供能,但乙菌可以在培养基上生存,说明该培养基不是以脂肪为唯一碳源,B 错误;可将两种菌分别接种在同一平板的不同区域进行对比,更直观,C 正确;该平板可用来比较解脂菌分泌脂肪酶的能力,可以以菌落周围深蓝色圆圈的大小为观察指标,D 正确。

- 2.研究人员用无机盐、琼脂和石油配制的培养基从被石油污染的土壤中筛选出了一种石油降解菌。下列有关叙述错误的是 ()

- A.这种培养基是一种选择培养基
- B.利用这种石油降解菌可以降解石油,修复土壤
- C.相对于未被污染的土壤,从被石油污染的土壤中更容易分离到石油降解菌
- D.能在该培养基上生长的微生物不一定是石油降解菌

D 解析:由题意可知,从被石油污染的土壤中筛选出一种石油降解菌,故这种培养基是一种选择培养基,A 正确;利用这种石油降解菌可以降解石油,修复土壤,B 正确;石油降解菌在被石油污染的土壤中含量较高,C 正确;由于该培养基以石油作为唯一碳源,能在该培养基上生长的微生物就是石油降解菌,D 错误。

- 3.物质 W 是一种含氮有机物,W 在培养基中达到一定量时培养基表现为不透明。某小组欲从土壤中筛选出能降解 W 的细菌,结果如图所示。下列说法不正确的是 ()



- A.透明圈的形成是因为物质 W 被分解
- B.所用的选择培养基应该以物质 W 为唯一氮源
- C.甲菌落中的细菌不分解物质 W 即可生长,说明其不需要氮源
- D.乙菌落中的细菌不一定都能降解 W,仍需要进一步纯化

C 解析:物质 W 在培养基中达到一定量时培养基表现为不透明,因此透明圈的形成是因为物质 W 被分解,A 正确;要筛选出能降解物质 W 的细菌,所用的选择培养基应该以物质 W 为唯一氮源,B 正确;氮是细菌生长的必需元素之一,该培养基以物质 W 为唯一氮源,而甲菌落周围未出现透明圈,说明甲菌落中的细菌可能是利用空气中的氮气作为氮源,C 错误;乙菌落中的细菌不一定都能降解 W,因此仍需要进一步纯化,D 正确。

任务总结

(1)选择培养基的选择作用

选择培养原理	具体处理	分离菌种
利用营养缺陷选择培养基进行的选择培养	不加含碳有机物的无碳培养基	分离自养微生物
	无氮培养基	分离自生固氮微生物
利用微生物(目的菌)对某种营养物质的特殊需求,使该营养物质成为某类微生物的唯一供给者	石油作为唯一碳源的培养基	分离出能降解石油的微生物
	尿素作为唯一氮源的培养基	分离出能分解尿素的微生物

续表

选择培养原理	具体处理	分离菌种
在完全培养基中加入某些化学物质,利用加入的化学物质抑制部分微生物生长或促进部分微生物生长	加入青霉素等抗生素	能分离出酵母菌和霉菌等真菌,同时抑制细菌和放线菌的生长
	加入高浓度的食盐	分离金黄色葡萄球菌
利用培养条件进行的选择培养	在高温环境中培养	分离耐高温的微生物
	将培养基 pH 调至较低水平	分离耐酸的微生物
	在无氧环境中培养	分离厌氧微生物和兼性厌氧微生物

(2)微生物的筛选方法

单菌落挑取法	利用平板划线法或稀释涂布平板法接种到固体平板培养基表面,直接根据微生物菌落的特征利用单菌落挑取的方法获得目的微生物
选择培养法	利用选择培养基对微生物进行选择培养,直接获得目的微生物
鉴定培养法	利用鉴别培养基使目的微生物菌落呈现稳定的特征,然后筛选目的微生物

任务二

土壤中分解尿素的细菌的分离与计数

[探究活动]

样品的稀释程度将直接影响平板上生长的菌落数量,在实际操作中,通常用一定稀释范围的样品液进行培养,以保证获得菌落数在 30~300、适于计数的平板。据此探究以下问题:

探究 1.为什么分离不同的微生物要采用不同的稀释度?

提示:土壤中微生物种类繁多,不同种类的微生物数量差距较大,数量多的稀释度应该更高一些,这样最后在平板上涂布和培养的时候会更容易得到单一菌落,便于计数。

探究 2.如何鉴定尿素被细菌分解了?

提示:在细菌分解尿素的化学反应中,细菌合成

的脲酶将尿素分解成氨,氨会使培养基的碱性增强, pH 升高,因此,可以通过检测培养基的 pH 变化来判断该化学反应是否发生。在以尿素为唯一氮源的培养基中加入酚红指示剂,培养分解尿素的细菌后,如果 pH 升高,指示剂将变红,说明尿素被细菌分解了。

[评价活动]

1.下列关于“土壤中分解尿素的细菌的分离与计数”实验操作的叙述,错误的是 ()

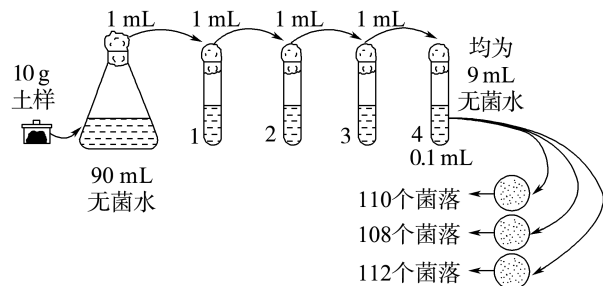
- A.利用稀释涂布平板法准确估计菌落数目的关键是恰当的稀释度
- B.若要判断选择培养基是否起到了选择作用,需要设置未接种的牛肉膏蛋白胨培养基作为对照

C.在“土壤中分解尿素的细菌的分离和计数”实验中,应采用稀释涂布平板法

D.计数时,应选择至少3个菌落数为30~300之间的平板进行计数并取平均值

B 解析:利用稀释涂布平板法准确估计菌落数目的关键是恰当的稀释度,稀释倍数太低,平板上菌落太多,会长在一起,稀释倍数太高,平板上菌落数目过少,都不易进行计数,A正确;若要判断选择培养基是否起到了选择作用,需设置接种了没有选择作用的牛肉膏蛋白胨培养基作对照,B错误;在“土壤中分解尿素的细菌的分离和计数”实验中,应采用稀释涂布平板法,C正确;计数时,通常选择至少3个菌落数为30~300的实验组平板进行计数并取平均值,D正确。

2.土壤中有丰富的微生物,要利用其中某种微生物,需要进行菌种的分离和纯化,过程如下图所示。下列叙述错误的是 ()



A.若目的是筛选分解尿素的细菌,则尿素可以作为该菌的氮源和碳源

B.3号试管的稀释倍数为 1×10^4 ,理论上3号试管的活菌数应是4号试管的10倍

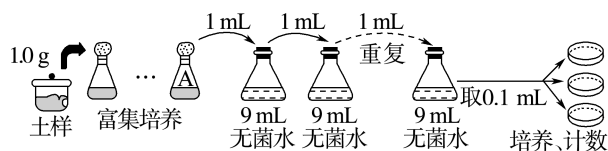
C.4号试管的结果表明每克土壤中的活菌数约为 1.1×10^8 个

D.该方法统计的菌落数比活菌的实际数目少

A 解析:若目的是筛选分解尿素的细菌,则尿素可以作为该菌的氮源,不能作为碳源,A错误;由题图分析可知,3号试管的稀释倍数为 1×10^4 倍,4号试管的稀释倍数为 1×10^5 ,则理论上3号试管的活菌数应是4号试管的10倍,B正确;4号试管进行稀释涂布平板法计数的结果表明每克土壤中的活菌数为 $(110 + 108 + 112) \div 3 \div 0.1 \times 10^5 = 1.1 \times 10^8$ 个,C正确;进行稀释涂布平板法计数时可能发生两个或多个细菌细胞长成一个菌落,故该实验方法统计得到的菌落数往往会比实际活菌数目低,D正确。

3.孔雀石绿(简称MG)是广泛使用的有机染料,在自然环境中极难降解,容易引起土壤污染,进而危害人体健康。因此,从土壤中分离和筛选出高效的MG降解菌有非常重要的意义。已知MG在水中

溶解度低,含过量MG的固体培养基不透明。请回答下列问题:



(1)培养基的配制:MG降解菌富集培养基需含有 NaH_2PO_4 、 KH_2PO_4 、 NaCl 、 NH_4Cl 、 CaCl_2 、 MgSO_4 、水等,再加_____作为唯一碳源。配制好的培养基,需用_____法进行灭菌。

(2)MG高效降解菌株的分离和纯化:图中所示的分离纯化细菌的方法是_____,用该方法统计的样品菌落数目比活菌的实际数目_____(填“少”或“多”),原因是_____。

实验室采用此方法,将A中的1mL菌液稀释1000倍,在3个平板上分别接入0.1mL稀释液;经正确操作培养后,3个平板上的菌落数分别为150、158和160。据此可得出每升样品中的活菌数至少为_____个。

(3)MG高效降解菌株的鉴定:将纯化获得的菌种接种于含过量MG的固体培养基(其他营养成分等适宜)上,根据培养基是否出现_____来鉴别出目的菌株,原因是_____。

解析:(1)该实验的目的是筛选出高效的MG降解菌,则培养基中应以MG作为唯一碳源,能够降解MG的细菌能生长,其他微生物的生长会受到抑制,从而达到筛选的目的。配制好的培养基,需用高压蒸汽灭菌法进行灭菌。(2)稀释涂布平板法能用于分离和计数,题图中分离纯化细菌的方法是稀释涂布平板法。用该方法(稀释涂布平板法)统计样品的菌落数目比活菌的实际数目少,原因是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。根据计算公式可计算出每升样品中的活菌数至少为 $(150 + 158 + 160) \div 3 \div 0.1 \times 1000 \times 10^3 = 1.56 \times 10^9$ 个。(3)MG高效降解菌株的鉴定:将纯化获得的菌种接种于含过量MG的固体培养基(其他营养成分等适宜)上,已知MG在水中溶解度低,含过量MG的固体培养基不透明,故可根据培养基是否出现透明圈来鉴别目的菌株,这是因为目的菌株通过降解MG生长,使菌落周围的培养基变透明,出现透明圈。

答案:(1)孔雀石绿(MG) 高压蒸汽灭菌 (2)稀释涂布平板法 少 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 1.56×10^9

(3)透明圈 目的菌株通过降解 MG 生长,使菌落周围的培养基变透明,出现透明圈

任务总结

- (1)平板划线法和稀释涂布平板法的比较
- ①单菌落的获得:利用平板划线法接种时,单菌落从后划线的区域挑取;利用稀释涂布平板法接种时,只有合适的稀释度才能得到单菌落。
- ②两种接种方法的应用:两种方法都能将微生物分散到固体培养基表面,以获得单菌落,达到分离纯化微生物的目的,稀释涂布平板法还能对微生物进行计数,而平板划线法不能。
- (2)两种常用统计菌落数目方法的比较

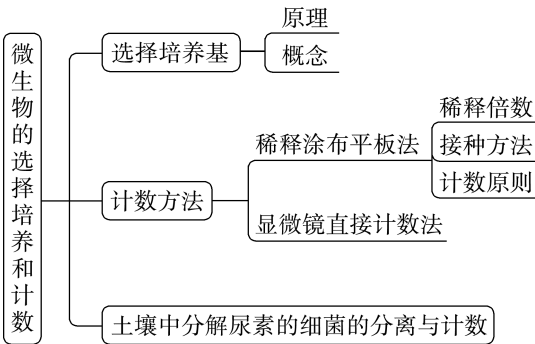
项目	间接计数法(稀释涂布平板法)	直接计数法
原理	当样品的稀释度足够高时,培养基表面生长的一个单菌落,来源于样品稀释液中的一个活菌。通过统计平板上的菌落数,就能推测出样品中大约含有多少活菌	利用特定的细菌计数板或血细胞计数板,在显微镜下观察计数,计算一定体积的样品中微生物的数量
主要用具	培养基	显微镜、细菌计数板或血细胞计数板
计数数据	培养基上的菌落数	菌体本身
优点	计数的是活菌	计数方便、操作简单

续表

项目	间接计数法(稀释涂布平板法)	直接计数法
缺点	当两个或多个细菌细胞连在一起时,平板上观察到的只是一个菌落,比实际值偏小	死菌、活菌都计算在内,比实际值偏大

- (3)用稀释涂布平板法计数微生物的要点
- ①稀释涂布平板法操作要求:按照平行重复原则,每一稀释度的菌液涂布 3 个或 3 个以上的平板。
- ②计数的时机:当各平板上菌落数目稳定时进行计数。
- ③选择可用于计数的平板:选择菌落数在 30~300 的平板(相同稀释度的平板均符合该特点)进行计数,然后取平均值。
- (4)每克样品中的菌株数=某一稀释度下平板上生长的平均菌落数÷涂布平板时所用的稀释液的体积×稀释倍数。

► 提质归纳



课后素养评价(三)

基础性·能力运用

知识点 微生物的选择培养与计数

- 1.(2023·山东卷)平板接种常用在微生物培养中。下列说法正确的是 ()
- A.不含氮源的平板不能用于微生物培养
- B.平板涂布时涂布器使用前必须进行消毒
- C.接种后未长出菌落的培养基可以直接丢弃
- D.利用以尿素为唯一氮源的平板能分离出合成脲酶的微生物
- D 解析:不含氮源的平板可用于固氮菌的培养,A 错误;平板涂布时涂布器使用前必须浸在酒精中,然后在火焰上灼烧灭菌,这种操作属于灭菌,不属

- 于消毒,B 错误;使用后的培养基即使未长出菌落也要在丢弃前进行灭菌处理,不能直接丢弃,以免污染环境,C 错误;脲酶可以催化尿素分解,在以尿素为唯一氮源的平板上,能合成脲酶的微生物可以分解尿素获得氮源而进行生长繁殖,而不能合成脲酶的微生物因缺乏氮源无法生长,因此以尿素为唯一氮源的平板可以分离出能合成脲酶的微生物,D 正确。
- 2.三个培养皿中分别加入 10 mL 不同组分的培养基,然后接种相同的大肠杆菌样液。培养 36 h 后,计算

菌落数,结果如下表所示。下列相关叙述正确的是 ()

培养皿	培养基组分	菌落数
I	琼脂、葡萄糖	35
II	琼脂、葡萄糖、生长因子	250
III	琼脂、生长因子	0

- A.该实验采用的是液体培养基
- B.该实验采用平板划线法接种
- C.I 和 III 对照,说明大肠杆菌的生长不需要生长因子
- D.II 和 III 对照,说明大肠杆菌的生长需要葡萄糖
- D 解析:培养基中都加入了琼脂,故该实验采用的是固体培养基,A 错误;对微生物进行计数时宜采用稀释涂布平板法接种,B 错误;I 与 III 中有葡萄糖、生长因子两种变量,不能得出相应结论,C 错误;II 和 III 对照,自变量是有无葡萄糖,说明大肠杆菌的生长需要葡萄糖,D 正确。

3.嗜热菌又称耐高温细菌,是一类生活在火山口及其周围区域、温泉、工厂高温废水排放区等高温环境中的微生物。研究者从温泉中筛选高效产生耐高温淀粉酶的嗜热菌,其选择过程如下图 1 所示。将得到的菌悬液转接于同时含有葡萄糖和淀粉作碳源的固体培养基上培养,得到若干菌落后用碘液作显色处理,结果如图 2 所示。下列说法错误的是 ()

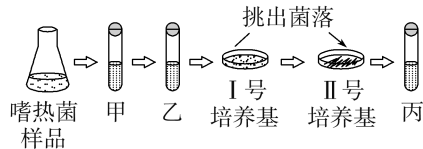


图1

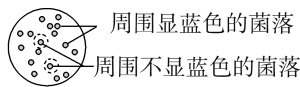


图2

- A.热泉的高温状态淘汰了绝大多数的微生物,保留了嗜热菌
- B.甲、乙试管内为液体培养基,液体培养基能扩大培养水生嗜热菌
- C.丙中嗜热菌数量迅速增加,培养过程中需保证充足的营养和高温条件
- D.图 2 中周围显蓝色的菌落含有所需的嗜热菌
- D 解析:热泉的高温状态淘汰了绝大多数的微生物,保留了能在高温中生长的嗜热菌,A 正确;甲、乙试管内为液体培养基,液体培养基能使微生物与营养物质充分接触,可用于扩大培养水生嗜热菌,B 正确;丙中培养的是挑选出来的嗜热菌,在保证充

足的营养和高温条件下数量可迅速增加,C 正确;题图 2 中有的菌落周围不显蓝色,说明其产生的淀粉酶可以在高温环境下分解淀粉,所以周围不显蓝色的菌落含有所需的嗜热菌,D 错误。

4.幽门螺杆菌(含有脲酶)感染是急慢性胃炎和消化性溃疡的主要致病因素。在患者体内采集样本并制成菌液后,进行分离培养。下列叙述错误的是 ()

- A.采用稀释涂布平板法,可对幽门螺杆菌进行分离和计数
- B.以尿素为唯一氮源的培养基可初步筛选出幽门螺杆菌
- C.样本可用蒸馏水稀释后涂布平板,统计结果是活菌数量
- D.尿素分解菌能够将尿素分解为氨,使酚红指示剂变红

C 解析:采用稀释涂布平板法,在稀释度足够高的情况下,可对幽门螺杆菌进行分离和计数,A 正确;在以尿素为唯一氮源的培养基上能分泌脲酶的微生物才能生长,幽门螺杆菌含有脲酶,因此可初步筛选出幽门螺杆菌,B 正确;样本应用无菌水稀释后涂布平板,而不是蒸馏水,C 错误;尿素分解菌可分泌脲酶,脲酶分解尿素产生氨,使培养基 pH 升高,加酚红指示剂后变红,D 正确。

5.下表所示配方的培养基可筛选某种细菌,该细菌可以在该培养基上生长、形成菌落。请回答下列问题:

组分	含量
KH_2PO_4	1.4 g
Na_2HPO_4	2.1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2 g
葡萄糖	10.0 g
尿素	1.0 g
琼脂	15.0 g
将上述物质溶解后,用蒸馏水定容至 1 000 mL	

- (1)该培养基可筛选的细菌是 _____,理由是 _____。
- (2)如果从土壤中获取的样本含该细菌的数量较少,则需要对样本中的细菌进行扩大培养, _____(填“能”或“不能”)用表格中的培养基,因为 _____。
- (3)如果对该细菌进行计数,则将得到的细菌用 _____法接种。为了确定该细菌确实属于所要分离的细菌,需要在培养基中加入 _____。

(填试剂)。

(4)另一种接种细菌的方法是_____,使用该方法操作时,每一次划线前都要灼烧接种环,目的是_____。

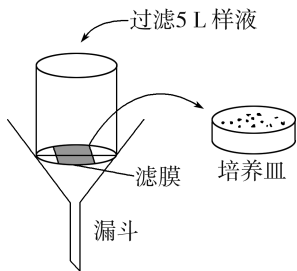
解析:(1)根据题表可知,培养基中尿素是唯一的氮源,说明该培养基筛选的细菌是尿素分解菌。(2)题表所示培养基组分中含有琼脂,说明是固体培养基,不能用于菌种的扩大培养,扩大培养应该用液体培养基。(3)微生物常用的接种方法有平板划线法和稀释涂布平板法,其中后者可以用于菌种

的计数;以尿素为唯一氮源且含酚红指示剂的培养基可以选择和鉴别尿素分解菌。(4)利用平板划线法接种时,每一次划线前都要灼烧接种环,目的是杀死残留在接种环上的细菌。

答案:(1)尿素分解菌 培养基中尿素是唯一的氮源 (2)不能 扩大培养应该用液体培养基,表中培养基组分中含琼脂,是固体培养基 (3)稀释涂布平板 酚红指示剂 (4)平板划线法 杀死残留在接种环上的细菌

综合性·创新提升

- 6.某样液经滤膜过滤后,转移到完全培养基上并在适宜条件下培养,每隔 12 h 统计一次菌落数目,选取菌落数目稳定时的数据作为结果,统计某种菌菌落数为 205 个,如图所示。下列说法正确的是 ()



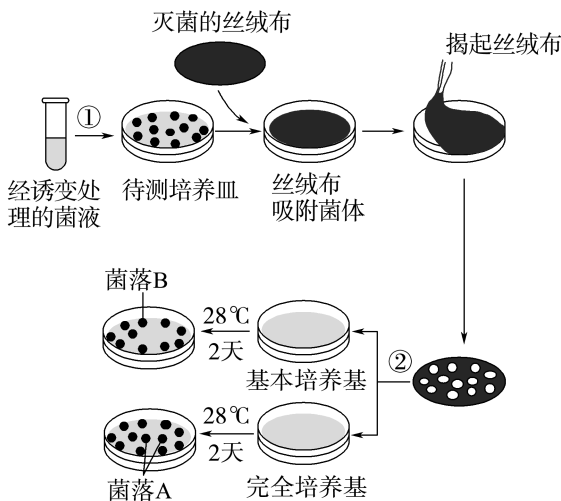
- A.若用滤膜测定硝化细菌数量,则培养基中可不添加氮源
B.若计算出样液中该种菌的密度为41个/L,该值比实际值偏大
C.为了提高准确度,需设平行重复实验,但不用设置空白对照
D.当菌落数目稳定时,大小不同的菌落形成的起始时间一般不同

解析:硝化细菌属于化能合成型自养微生物,因此制备培养硝化细菌的培养基不需要添加碳源,但需要添加氮源,A 错误;由于培养过程中可能出现两个或多个细菌可能长成一个菌落的情况,所以该值比真实值偏小,B 错误;为了提高准确度,需设平行重复实验,同时需要设置空白对照,C 错误;当菌落数目稳定时,大小不同的菌落的形成时间一般是不同的,D 正确。

- 7.营养缺陷型菌株就是在人工诱变或自发突变后,微生物细胞代谢调节机制中的某些酶被破坏,使代谢过程中的某些合成反应不能进行的菌株。这种菌株能积累正常菌株不能积累的某些代谢中间产物,为工业生产提供大量的原料。以下是实验人员利用影印法初检氨基酸缺陷型菌株的过程。下列说

法合理的是

()

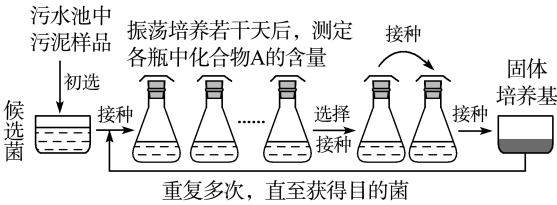


- A.过程①的接种方法为稀释涂布平板法,过程②两种培养基的成分相同
B.进行过程②培养时必须先将丝绒布转印至基本培养基上且顺序不能颠倒
C.统计菌落种类和数量时要每隔 24 h 观察统计一次,直到各类菌落数目稳定,以防止培养时间不足导致菌落数目偏大
D.营养缺陷型菌株细胞代谢调节机制中的某些酶被破坏,可能与核孔复合体的蛋白质空间结构发生改变有关

B 解析:过程①得到的菌落均匀分布,接种方法为稀释涂布平板法,过程②两种培养基的成分不同,基本培养基中缺乏某种氨基酸,A 错误;进行过程②培养时先将丝绒布转印至完全培养基上,可能会携带某种氨基酸进入基本培养基,因此必须先将丝绒布转印至基本培养基上且顺序不能颠倒,B 正确;培养时间不足会导致菌落统计数目偏小,C 错误;若该菌株为原核细胞,则不存在核孔复合体,营养

缺陷型菌株细胞代谢调节机制中的某些酶被破坏，应是控制该酶合成的基因发生了突变，D 错误。

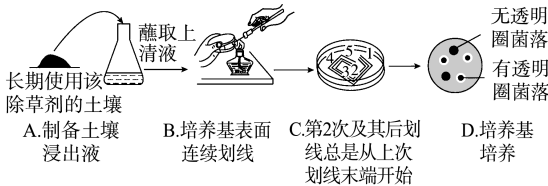
- 8.某化工厂的污水池中含有一种有害的难以降解的有机化合物 A，实验人员用化合物 A、磷酸盐、镁盐以及微量元素等配制培养基，成功筛选到能高效降解化合物 A 的细菌(目的菌)。实验的主要步骤如下图所示。下列有关叙述错误的是 ()



- A.培养基中加入化合物 A 作为唯一碳源，目的是筛选目的菌
- B.将菌种接种到液体培养基中培养的目的是分离、纯化菌种
- C.实验培养过程中进行振荡培养，可使目的菌和培养液充分接触
- D.实验操作过程中，获得纯净“目的菌”的关键是防止外来杂菌污染

B 解析：题中实验的目的是筛选到能高效降解化合物 A 的细菌，因此培养基中以化合物 A 作为唯一碳源，才能筛选目的菌，A 正确；将菌种接种到固体培养基上培养的目的是分离、纯化菌种，在液体培养基中培养的目的是获得大量菌种，B 错误；实验培养过程中进行振荡培养，可使目的菌和培养液充分接触，提高对营养物质的利用率，C 正确；微生物培养过程中，获得纯净“目的菌”的关键是防止外来杂菌污染，D 正确。

- 9.在农业生产中发现一种广泛使用的除草剂(含氮有机化合物)在土壤中不易降解，长期使用可污染土壤。为修复被该除草剂污染的土壤，可按下图所示程序选育能降解该除草剂的细菌(已知该除草剂在水中溶解度低，含一定量该除草剂的培养基不透明)。请回答下列问题：



- (1)制备土壤浸出液时，为避免菌体浓度过高，需将浸出液进行_____处理。
- (2)要从长期使用该除草剂的土壤中分离目的菌，从物理性质、用途方面来看，上述培养皿中培养基的特点是_____。

(3)在划线培养时，只有很少菌落出现，大部分细菌在此培养基上不能生长的主要原因是_____或有氧条件抑制了这些细菌的生长。

(4)在固体培养基上形成的菌落中，无透明圈菌落利用的氮源主要是_____，有透明圈菌落利用的氮源主要是_____，据此可筛选出目的菌。

(5)科研人员用射线处理该细菌获得两个突变株 A 和 B，然后对突变株 A 和 B 进行实验，结果如下表所示：

接种的菌种	一般培养基	实验处理及结果
A	不生长	添加营养物质甲，能生长
B	不生长	添加营养物质乙，能生长
A+B	能生长	不添加营养物质甲、乙就能生长

突变株 A 不能在一般培养基上生长的原因是_____。突变株 A 和 B 混合在一起接种于一般培养基中能生长的最可能原因是_____。

解析：(1)制备土壤浸出液时，为避免菌体浓度过高，需将浸出液进行稀释处理。(2)从物理性质来看，题图培养皿中的培养基属于固体培养基；从用途方面来看，该培养基是以该除草剂为唯一氮源的选择培养基。(3)在以该除草剂为唯一氮源的培养基上，不能降解该除草剂的细菌(除具有固氮能力的细菌外)是不能生长的。(4)含一定量该除草剂的培养基不透明，被菌落分解后可产生透明圈，无透明圈说明除草剂未被分解，菌落利用的氮源是空气中的氮气，而菌落周围形成透明圈说明该除草剂被某些细菌降解了，菌落利用的氮源是该除草剂。(5)分析题表可知，突变株 A 的生长依赖于营养物质甲，突变株 B 的生长依赖于营养物质乙。突变株 A 由于缺乏合成营养物质甲所需要的酶，因而不能在一般培养基上生长；不添加营养物质甲和乙，二者混合培养时都能生长，最可能的原因是突变株 A 为突变株 B 提供了营养物质乙，突变株 B 为突变株 A 提供了营养物质甲。

答案：(1)稀释 (2)以该除草剂为唯一氮源的固体选择培养基 (3)培养基中缺少这些细菌可利用的

氮源 (4)氮气 该除草剂 (5)突变株 A 缺乏合成营养物质甲所需要的酶 突变株 A 生长需要营养物质甲,突变株 B 可以提供;突变株 B 生长需要营养物质乙,突变株 A 可以提供

10.自然界中的微生物往往是混杂生长的。人们在研究微生物时一般要将它们分离提纯,然后进行数量测定。下面是对某水样中大肠杆菌进行数量测定的实验,请回答下列问题。

实验步骤:

- ①制备稀释倍数为 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 的系列稀释液;
- ②用稀释涂布平板法接种样品;
- ③在适宜温度下培养。

结果分析:

(1)一名同学在对应该稀释倍数为 1×10^6 的培养基上测得平板上菌落数的平均值为43.4,那么每毫升样品中的菌株数是_____ (涂布平板时所

用稀释液的体积为 0.2 mL)。(2)用这种方法测定微生物数量时,实际的活菌数往往要比统计的菌落数_____,因为_____。

(3)某同学在测定大肠杆菌的密度时发现,在培养基上还有其他杂菌的菌落。此时_____ (填“能”或“不能”)确定大肠杆菌的品系被污染了,原因是_____。

解析:(1)每毫升样品中的菌株数为 $43.4\div 0.2\times 10^6=2.17\times 10^8$ 。(2)因为肉眼可见的一个菌落可能由两个或多个细胞连在一起生长而成,所以实际的活菌数往往要比统计的菌落数多。(3)杂菌的出现可能是由于培养基灭菌不彻底或在培养过程中感染了杂菌。

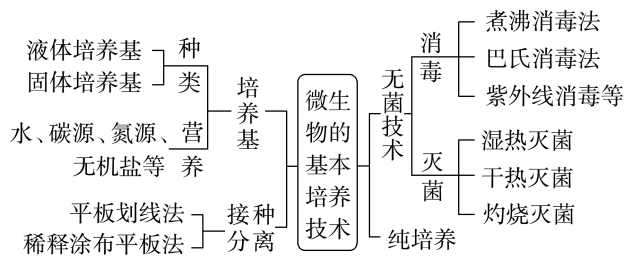
答案:(1) 2.17×10^8 (2)多 当两个或多个细胞连在一起时,平板上观察到的只是一个菌落 (3)不能 不能确定杂菌的来源

专项提升课 微生物培养

核心目的

- 1.避免混淆概念:固体培养基与液体培养基的区别在于,液体培养基中加入琼脂后呈固态,固体培养基中可以形成肉眼可见的菌落。消毒和灭菌的方法不同,灭菌更彻底,能杀死所有微生物,包括芽孢和孢子。平板划线法和稀释涂布平板法都能分离微生物,但只有稀释涂布平板法才能计数。
- 2.助理解新情境:以微生物选择培养为情境的试题很多,需根据微生物的代谢特点,选择唯一的碳源或氮源,根据目的(分离或计数),选择接种方法。若对培养基的成分、无菌技术、接种方法等理解不透,则容易出错。

一、微生物的基本培养技术



对点训练

1.下表为某培养基的配方,下列有关叙述正确的是 ()

成分	牛肉膏	葡萄糖	K ₂ HPO ₄	伊红
含量	10 g	10 g	2 g	0.4 g
成分	亚甲蓝	青霉素	琼脂	蒸馏水
含量	0.065 g	1 万单位	适量	1 000 mL

- A.此培养基是天然培养基
- B.能在此培养基上生长的大肠杆菌,细胞核内有抗青霉素的基因

C.此培养基从物理性质和用途看属于固体鉴别培养基

D.此培养基可以用来检测自来水中细菌含量是否符合饮用水标准

C 解析:由题表可知,培养基加入了牛肉膏(成分比例未知)以及人工合成的其他成分,因此属于半合成培养基,A 错误;大肠杆菌为原核生物,没有细胞核,大肠杆菌能在此培养基上生长是因为其DNA 上有抗青霉素的基因,B 错误;据题表分析可知,该培养基中含有琼脂,属于固体培养基,此外伊红和亚甲蓝具有鉴别作用,青霉素还具有选择作用,故该培养基属于鉴别培养基和选择培养基,C 正确;此培养基中含有青霉素,能杀死或抑制细菌的生长,因此不能用来检测自来水中细菌含量是否符合饮用水标准,D 错误。

2.下列关于无菌技术的叙述,错误的是 ()

- A.经过巴氏消毒法处理的食物因微生物未被彻底消灭,不能在常温下长期保存
- B.接种用的操作台需要进行灭菌处理

C.使用巴氏消毒法处理牛奶是因为高温容易破坏牛奶的营养成分

D.在酵母菌的纯培养过程中,若在培养基中观察到不同形态的菌落,可能是杂菌污染造成的

B 解析:经巴氏消毒法处理的食品因其表面或内部的微生物未被彻底消灭,还含有微生物的芽孢和孢子等,所以不能在常温下长期保存,A 正确;接种用的操作台需要进行紫外线消毒处理,B 错误;牛奶中的营养成分主要为蛋白质和钙质,高温会破坏蛋白质的空间结构,而巴氏消毒法是一种利用较低的温度进行杀菌的方法,既可杀死病菌又能保持物品中营养物质风味不变,C 正确;在一定的培养条件下,不同微生物菌落的形状、大小、颜色不相同,在酵母菌的纯培养过程中,若在培养基中观察到不同形态的菌落,可能是杂菌污染造成的,D 正确。

3.平板划线法和稀释涂布平板法是分离并纯化微生物的常用方法。下列相关叙述正确的是 ()

A.平板划线分离微生物前一般需要将菌液进行梯度稀释

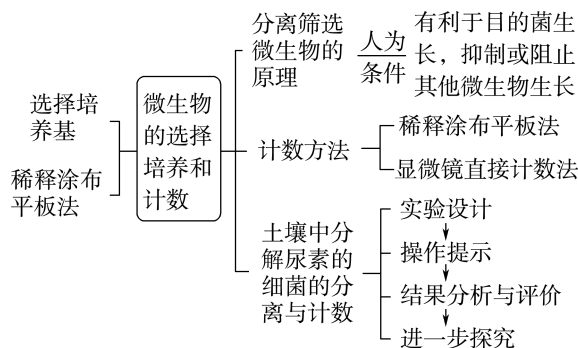
B.醋酸菌的纯化培养通常比酵母菌需要更高的温度

C.使用稀释涂布平板法统计的微生物数量是活菌和死菌的总和

D.接种后的平板需放置在摇床上倒置培养,防止杂菌的污染

B 解析:平板划线法分离微生物前一般不需要将菌液进行梯度稀释,A 错误;醋酸菌最适生长温度一般为 $30\sim 35\text{ }^{\circ}\text{C}$,酵母菌最适生长温度一般为 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右,B 正确;使用稀释涂布平板法统计的微生物数量是活菌的数量,不包括死菌的数量,C 错误;接种后的平板需放置在恒温培养箱中倒置培养,倒置培养的目的是防止冷凝水滴落到平板表面造成污染,同时也能防止培养基中水分过度蒸发,D 错误。

二、微生物的选择培养和计数



对点训练

4.刚果红能与纤维素形成红色复合物,但对纤维素水解后形成的纤维二糖和葡萄糖无作用。某同学利用刚果红配制选择培养基,分离土壤中能水解纤维素的微生物并计算菌落数。下列叙述正确的是 ()

A.划线接种后统计平板上的菌落数,统计值比活菌实际数高

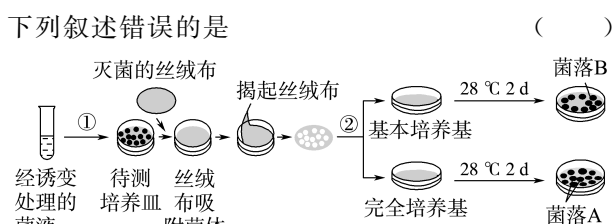
B.选择培养基中应以刚果红作为唯一碳源,并加入琼脂作凝固剂

C.培养基进行高压蒸汽灭菌时,灭菌时间应从电源插上开始计时

D.可以把滤纸埋在土壤中,经过一段时间后,再从已腐烂的滤纸上筛选目的菌

D 解析:平板划线法不能用于菌落的计数,A 错误;刚果红相当于指示剂,选择培养基应以纤维素为唯一碳源,B 错误;培养基进行高压蒸汽灭菌时,灭菌时间应从达到设定的温度和压力值时开始计时,C 错误;滤纸的主要成分是纤维素,可以通过此操作获得能够分解纤维素的微生物,D 正确。

5.营养缺陷型菌株的代谢过程中,某些酶被破坏,导致某些合成反应不能进行。下图表示实验人员利用影印法初检氨基酸缺陷型菌株的过程,其中基本培养基仅能满足野生型菌株生长的营养需求,完全培养基可满足一切营养缺陷型菌株的营养需求。下列叙述错误的是 ()



A.该过程接种的方法为稀释涂布平板法

B.图中基本培养基与完全培养基存在差异的成分是氨基酸

C.进行过程②培养时,应将丝绒布先转印至完全培养基上,后转印到基本培养基

D.直到各类菌落数目稳定,挑取菌落 A 即为所需的氨基酸缺陷型菌株

C 解析:据题图分析,接种后的菌落均匀分布,推测该过程接种的方法为稀释涂布平板法,A 正确;分析题意可知,题图为实验人员利用影印法初检氨基酸缺陷型菌株的过程,所以图中基本培养基与完全培养基存在差异的成分是氨基酸,B 正确;进行②过程培养时,为了防止将特定营养成分带入基本

培养基,应先将丝绒布转印至基本培养基上,再转印到完全培养基上,C 错误;在基本培养基中,氨基酸缺陷型菌株不能生长,而在完全培养基中能够生长,又因为用影印法培养,不同培养基中同种菌株的接种位置相同,所以比较基本培养基和完全培养基中的菌落可知,菌落 A 为氨基酸缺陷型菌株,该过程应在菌落数目稳定时进行,D 正确。

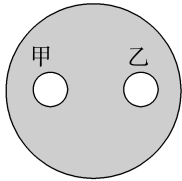
6.某同学从被石油污染的土壤中分离得到 A 和 B 两株可以降解石油的细菌,在此基础上采用平板培养法比较二者降解石油的能力,并分析两个菌株的其他生理功能。实验所用的培养基成分如下。

培养基 I :K₂HPO₄、MgSO₄、NH₄NO₃、石油。

培养基 II :K₂HPO₄、MgSO₄、石油。

操作步骤:

- ①将 A、B 菌株分别接种在两瓶液体培养基 I 中培养,得到 A、B 菌液;
- ②液体培养基 I、II 中添加琼脂,分别制成平板 I、II,并按下图中所示在平板上打甲、乙两孔。



回答下列问题:

(1)实验所用培养基中作为碳源的成分是_____。培养基中 NH₄NO₃ 的作用是为菌株的生长提供氮源,氮源在菌体内可以参与合成_____ (答出 2 种即可)等生物大分子。

(2)步骤①中,在资源和空间不受限制的阶段,若最初接种 N₀ 个 A 细菌,繁殖 n 代后细菌的数量是_____。

(3)为了比较 A、B 菌株降解石油的能力,某同学利用步骤②所得到的平板 I、II 进行实验,结果如表所示(“+”表示有透明圈,“+”越多表示透明圈越大,“-”表示无透明圈),推测该同学的实验思路是_____。

菌株	透明圈大小	
	平板 I	平板 II
A	+++	++
B	++	-

(4)现有一贫氮且被石油污染的土壤,根据上表所示实验结果,治理石油污染应选用的菌株是_____,理由是_____。

解析:(1)培养基的基本成分有碳源、氮源、无机盐和水等,由组成培养基的物质所含化学元素可知,作为碳源的成分是石油。DNA、RNA、蛋白质等生物大分子都含有 N 元素,故氮源在菌体内可以参与合成这些物质。(2)由题意“资源和空间不受限制”可知,细菌的增殖呈“J”形曲线,由于 DNA 的半保留复制,细菌每繁殖一代数量是上一代的 2 倍,根据公式 $N_t = N_0 \cdot \lambda^t$, $\lambda = 2$,可计算出,繁殖 n 代后细菌的数量是 $N_0 \cdot 2^n$ 。(3)由题表可知,实验的结果是在平板 I 上,A 菌株降解石油的能力高于 B 菌株;在平板 II 上,A 菌株仍然能降解石油,而 B 菌株不能降解。根据实验的单一变量和对照原则,推测该同学的思路:在无菌条件下,将等量等浓度的 A 菌液和 B 菌液分别接种到平板 I 的甲和乙两孔处,平板 II 也进行同样的操作,在相同且适宜条件下培养一段时间,比较两个平板两孔处的透明圈大小并记录,根据透明圈大表示降解石油能力强、透明圈小表示降解石油能力弱的原理,比较 A、B 菌株降解石油的能力。(4)由题表可知,在平板 I 上,A 菌株降解石油的能力高于 B 菌株;在平板 II (无氮源的培养基)上,A 菌株仍然能降解石油,而 B 菌株不能降解,所以要治理贫氮且被石油污染的土壤,应该选用 A 菌株。

答案:(1)石油 DNA、RNA(或蛋白质)
(2) $N_0 \cdot 2^n$ (3)在无菌条件下,将等量等浓度的 A 菌液和 B 菌液分别接种到平板 I 的甲和乙两孔处,平板 II 也进行同样的操作,在相同且适宜条件下培养一段时间,比较两个平板两孔处的透明圈大小并记录,根据透明圈大表示降解石油能力强、透明圈小表示降解石油能力弱的原理,比较 A、B 菌株降解石油的能力 (4)A A 菌株降解石油的能力高于 B 菌株,并且在没有添加氮源的培养基中也能生长,能适应贫氮且被石油污染的土壤环境

第3节 发酵工程及其应用

学习任务目标

- 运用分析与综合等方法，阐明发酵工程的概念和特点。
- 基于传统发酵到发酵工程的发展历程，认同发酵工程的发展离不开科技进步。
- 了解发酵工程在农业、食品工业、医药工业及其他工业生产上的应用实例，认同发酵工程的应用价值。

问题式预习

一、发酵工程

- 概念：利用微生物的特定功能，规模化生产人类所需产品的综合性生物工程。它涉及菌种的选育和培养、产物的分离和提纯等方面。
- 形成条件：对发酵原理的认识、微生物纯培养技术的建立，以及密闭式发酵罐的成功设计。
- 发酵工程的基本环节

选育菌种：可以从自然界中筛选出来，也可以通过诱变育种或基因工程育种获得

↓

 扩大培养：目的是获取更多的菌种

↓

 配制培养基：在生产实践中，培养基的配方要经过反复试验才能确定

↓

 灭菌：培养基和发酵设备都必须经过严格的灭菌。一旦有杂菌污染，可能导致产量大大下降

↓

 接种：将菌种接种在发酵罐内

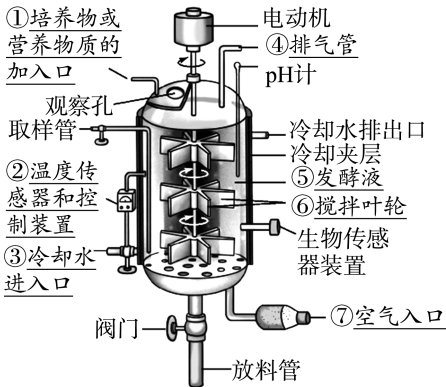
↓

 发酵：是发酵工程的中心环节，发酵过程中要随时检测培养液中的微生物数量、产物浓度等，还要及时添加必需的营养成分，严格控制温度、pH和溶解氧等发酵条件。环境条件不仅会影响微生物的生长繁殖，而且会影响微生物代谢物的形成

↓

 分离、提纯产物：若发酵产品是微生物细胞本身，发酵结束后采用过滤、沉淀等方法将菌体分离和干燥，即可得到产品；若发酵产品是代谢物，可根据产物的性质采取适当的提取、分离和纯化措施获得产品

4. 发酵装置



二、发酵工程的应用

- 特点

(1) 生产条件：温和。

- (2) 原料来源：丰富且价格低廉。

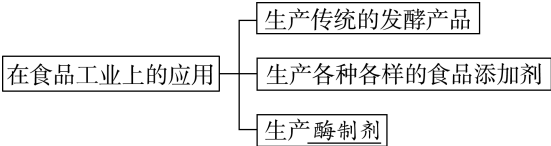
(3) 产物专一。

(4) 废弃物对环境的污染小且容易处理。

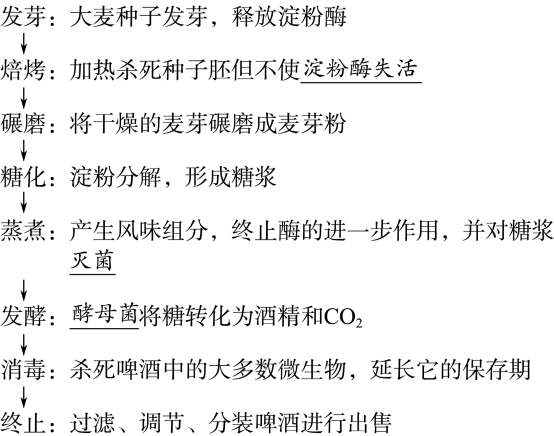
2. 发酵工程的应用

- 在食品工业上的应用

① 应用的三个方面



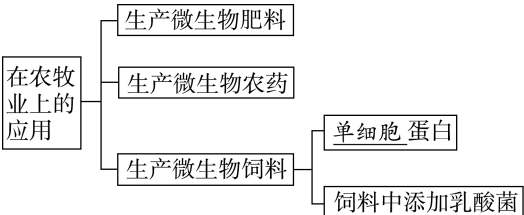
② 应用实例——啤酒的工业化生产流程



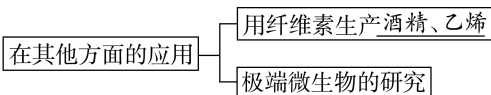
(2) 在医药工业上的应用

- ① 发酵工程可以生产抗生素、多种氨基酸、激素和免疫调节剂等。
- ② 基因工程、蛋白质工程等的广泛应用给发酵工程制药领域的发展注入了强劲动力。

(3) 在农牧业上的应用



(4) 在其他方面的应用



教材开发

1.[教材 P23 图 1-9]发酵工程的中心环节是什么?要严格控制哪些发酵条件?

提示:发酵工程的中心环节是发酵罐内发酵;要严格控制温度、pH 和溶解氧等发酵条件。

2.[教材 P24“思考·讨论”]在啤酒的工业化生产流程中,焙烤与蒸煮的目的有何不同?

提示:焙烤是为了杀死种子胚但不使淀粉酶失活,蒸煮是为了产生风味组分,终止酶的进一步作用,并对糖浆灭菌。

3.[教材 P27“异想天开”]单细胞蛋白是指微生物代谢产物,还是微生物菌体?它含有哪些营养物质?

提示:单细胞蛋白是指微生物菌体,含有丰富的蛋白质、糖类、脂质和维生素等物质。

概念辨析

- 谷氨酸的发酵生产:在中性和弱碱性条件下会积累谷氨酰胺;在酸性条件下则容易形成谷氨酸和 N-乙酰谷氨酰胺。(×)
- 大麦种子发芽能产生淀粉酶,分解淀粉。(√)
- 啤酒工业化生产中,糖浆经蒸煮、冷却后需接种酵母菌进行发酵。(√)
- 以谷物或水果为原料,利用醋酸菌发酵生产各种酒类。(×)
- 利用微生物农药防治病虫害属于生物防治。(√)
- 单细胞蛋白是通过发酵产生的微生物分泌蛋白。(×)

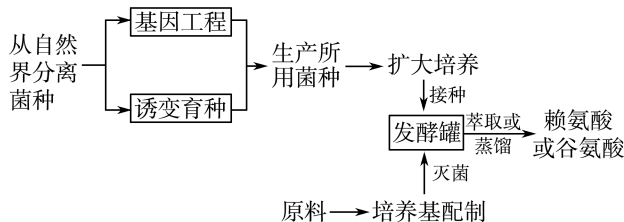
任务型课堂

任务

发酵工程

[探究活动]

发酵工程是指采用现代工程技术,利用微生物给人类生产有用的产品,下图表示发酵工程的基本环节。据此探究下列问题:



探究 1.上图育种方式中,哪种育种方式可定向培育优良菌种?

提示:基因工程育种。

探究 2.需进行严格灭菌的是哪些?

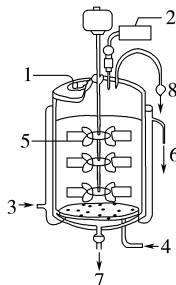
提示:培养基和发酵设备都必须经过严格的灭菌。

探究 3.发酵罐中的搅拌叶轮可能起到什么作用?

提示:使菌体与营养物质充分接触;增加溶氧量。

[评价活动]

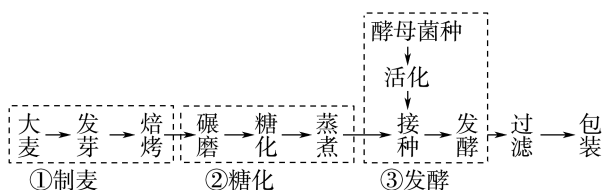
1.下图是谷氨酸的发酵装置,下列关于发酵罐结构与功能的叙述,错误的是 ()



- 3、6 处是发酵罐夹层中水的进出口,水在发酵罐夹层中流动的作用是冷却
- 在谷氨酸发酵过程中,当培养液呈中性或弱碱性时,会积累谷氨酸
- 发酵工程的中心环节是制备适合发酵菌种生长的培养基
- 1 为观察孔,可观察微生物的生长状况和产品形成情况

C 解析:题图中 3、6 处是发酵罐夹层中水的进出口,在利用发酵罐进行发酵的过程中,由于微生物的呼吸作用以及搅拌等都能产生大量的热,使发酵液温度升高,为防止温度过高降低酶的活性,降低谷氨酸产量,常采取在发酵罐夹层中注入流动水的措施,达到冷却降温的目的,A 正确;谷氨酸的发酵生产时,在中性和弱碱性条件下会积累谷氨酸,在酸性条件下则容易形成谷氨酰胺和 N-乙酰谷氨酰胺,B 正确;发酵工程的中心环节是发酵,C 错误;1 为视窗或观察孔,可观察微生物的生长状况和产品形成情况,D 正确。

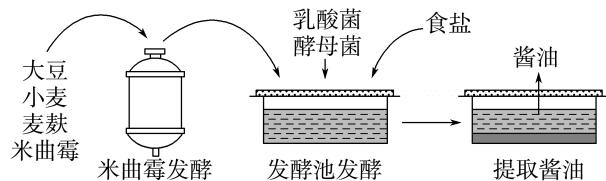
2.啤酒生产的简要流程如图所示,下列说法错误的是 ()



- A.过程①利用大麦发芽产生的淀粉酶进行发酵,在焙烤时该酶失活
- B.过程②中碾磨有利于淀粉与淀粉酶充分接触,加快淀粉分解,形成糖浆
- C.发酵过程中要适时往外排气,后发酵时期可以延长排气时间间隔
- D.过程③在菌种的选育上,可通过基因工程改造啤酒酵母,缩短生产周期

A 解析:过程①利用大麦发芽产生的淀粉酶进行发酵,焙烤的目的是利用加热杀死种子的胚但不使酶失去活性,A 错误;原料淀粉必须与酶充分接触,反应才能完全,过程②中碾磨有利于淀粉与淀粉酶充分接触,加快淀粉分解,形成糖浆,B 正确;由于酵母菌的有氧呼吸和无氧呼吸都会产生二氧化碳,所以发酵过程中要适时往外排气,后发酵时期由于糖类物质不充足,产生的气体变少,可以延长排气时间间隔,C 正确;啤酒生产需要筛选产酒精量高的酵母菌,因此使用基因工程改造啤酒酵母,使之产酒精量提高,可以加速发酵过程,缩短生产周期,D 正确。

- 3.工业上所说的发酵是指微生物在有氧或无氧条件下通过分解与合成代谢将某些原料物质转化为特定产品的过程。利用微生物发酵制作酱油在我国具有悠久的历史。某企业通过发酵制作酱油的流程示意图如下,回答下列问题:



- (1)米曲霉发酵过程中,加入大豆、小麦和麦麸可以为米曲霉的生长提供营养物质,大豆中的_____可为米曲霉的生长提供氮源,小麦中的淀粉可为米曲霉的生长提供_____。
- (2)米曲霉发酵过程的主要目的是使米曲霉充分生长繁殖,大量分泌制作酱油过程所需的酶类,这些酶中的_____、_____能分别将发酵池中的蛋白质和脂肪分解成易于吸收、风味独特的成分,如将蛋白质分解为小分子的肽和_____。米曲霉发酵过程需要提供营养物质、通入空气并搅拌,由此可以判断米曲霉属于_____ (填“自养厌氧”“异养厌氧”或“异养好氧”)微生物。
- (3)在发酵池发酵阶段添加的乳酸菌属于_____

_____ (填“真核生物”或“原核生物”);添加的酵母菌在无氧条件下分解葡萄糖的产物是_____。在该阶段抑制杂菌污染和繁殖是保证酱油质量的重要因素,据图分析该阶段中可以抑制杂菌生长的物质是_____ (答出1点即可)。

解析:(1)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;小麦中的淀粉可为微生物的生长繁殖提供碳源。(2)米曲霉在发酵过程中产生的蛋白酶能将蛋白质分解为小分子的肽和氨基酸,产生的脂肪酶能将脂肪分解为甘油和脂肪酸,使发酵的产物具有独特的风味。米曲霉发酵时需要利用现有的有机物和氧气,说明其代谢类型是异养好氧型。(3)乳酸菌细胞没有由核膜包被的细胞核,属于原核生物。酵母菌属于兼性厌氧型微生物,既可以进行有氧呼吸,也可以进行无氧呼吸,无氧呼吸的产物是酒精和二氧化碳。在发酵池中酵母菌产生的酒精能抑制杂菌的生长,乳酸菌产生的乳酸使发酵液呈酸性也能抑制杂菌的生长,同时往发酵池中添加的食盐也能抑制杂菌的生长。

答案:(1)蛋白质 碳源 (2)蛋白酶 脂肪酶 氨基酸 异养好氧 (3)原核生物 酒精和二氧化碳 酒精、乳酸、食盐(答一个即可)

任务总结

(1)发酵过程的影响因素及相应的调节和控制方法

①温度

微生物分解有机物释放的能量,一部分用于合成ATP,另一部分以热能的形式散发到培养基中,引起发酵温度升高;机械搅拌也会产生一部分热量引起温度升高。

调节和控制培养液温度的方法:用流动的冷却水进行温度的调节。

②pH

pH发生变化的主要原因是培养基中营养成分的利用和代谢产物的积累,如当谷氨酸棒状杆菌利用糖类物质不断生成谷氨酸时,培养液的pH就会下降;而碱性物质的生成则会导致培养液的pH上升。

调节和控制培养液pH的方法:在培养基中添加缓冲液,在发酵过程中加酸或加碱。

③溶解氧

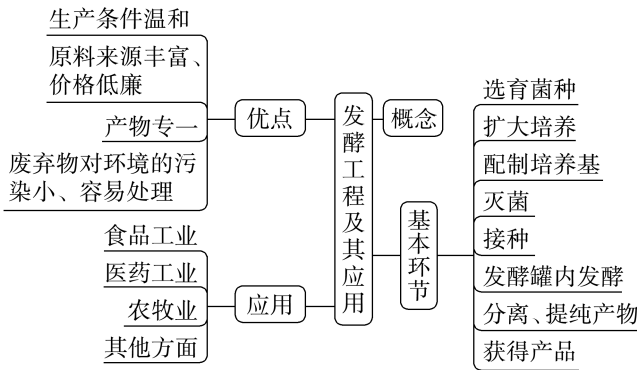
对于好氧型微生物,发酵过程要保证充足的溶解氧;对于厌氧型微生物,要保证严格的无氧环境。

调节和控制溶解氧的方法:利用发酵罐的通气口控制氧气的量。

(2)关于发酵罐使用的三点提醒

- ①发酵罐在使用前要进行灭菌,一般用蒸汽灭菌。
- ②对于需氧发酵,为了防止杂菌污染,应该从空气入口通入无菌空气。
- ③发酵罐内液体要充分搅拌:可以增加培养液中的溶解氧和提高原料利用率。

► 提质归纳



课后素养评价(四)

基础性·能力运用

知识点 1 发酵工程的基本环节

1.生物学家将大肠杆菌的质粒取出,连接上人生长激素基因以后,重新置入大肠杆菌的细胞内,然后用这种带有生长激素基因的大肠杆菌进行发酵。该处理过程在发酵中属于 ()

- A.菌种选育
- B.扩大培养
- C.接种
- D.诱变育种

A 解析:题述过程是通过基因工程选育菌种过程,A 正确。

2.能影响发酵过程中温度变化的因素是 ()

- A.微生物分解有机物释放能量
- B.机械搅拌
- C.发酵罐壁散热及水分蒸发
- D.A、B、C 选项都对

D 解析:能影响发酵过程中温度变化的因素是微生物分解有机物释放能量、机械搅拌产生一部分能量、发酵罐壁散热及水分蒸发带走一部分热量,A、B、C 都正确,选 D。

知识点 2 发酵工程的应用

3.下列关于单细胞蛋白的叙述,正确的是 ()

- A.是从微生物细胞中提取的蛋白质
- B.是通过发酵生产的微生物菌体
- C.是微生物细胞分泌的抗生素
- D.单细胞蛋白不能作为食品

B 解析:单细胞蛋白指通过发酵获得的微生物菌体,A、C 错误,B 正确。酵母菌等生产的单细胞蛋白可以作为食品添加剂,D 错误。

4.由于发酵工程具有生产条件温和、原料来源丰富、价格低廉等特点,在食品工业等领域得到了广泛的应用,下列叙述正确的是 ()

- A.日常生活中食用酱油的制作以大麦为主要原料,利用产蛋白酶的霉菌,将原料中的蛋白质分解成小分子的肽和氨基酸
- B.啤酒发酵的过程分为主发酵和后发酵两个阶段,其中,酵母菌的繁殖在主发酵阶段完成,大部分糖的分解和代谢物的生成在后发酵阶段完成
- C.味精是由谷氨酸棒状杆菌发酵得到的谷氨酸经过一系列处理而获得的
- D.精酿啤酒发酵时间长、产量低、价格高,所以更健康、保质期更长

C 解析:制作酱油的主要原料是大豆,A 错误;啤酒发酵的过程分为主发酵和后发酵两个阶段,酵母菌的繁殖、大部分糖的分解和代谢物的生成都在主发酵阶段完成,B 错误;味精是由谷氨酸棒状杆菌在有氧条件下发酵产生谷氨酸,谷氨酸再经过一系列处理而获得的,C 正确;精酿啤酒发酵时间长、产量低、价格高,但由于精酿啤酒不过滤、不灭菌,与工业啤酒相比,其保质期更短,D 错误。

综合性·创新提升

5.下列对发酵工程及其应用的叙述,不正确的有 ()

- ①用诱变育种或基因工程等方法选育出性状优良

的菌种并进行扩大培养

②用单细胞蛋白制成的微生物饲料,可通过发酵工程从微生物细胞中提取

- ③发酵工程的产品主要包括微生物的代谢物、酶及菌体本身
- ④啤酒的工业化生产过程中,酒精的产生积累主要在后发酵阶段完成
- ⑤生产柠檬酸需要筛选产酸量高的黑曲霉
- ⑥生产谷氨酸需要将 pH 调至中性或弱碱性
- ⑦利用发酵工程生产的根瘤菌肥作为微生物农药可以促进植物生长

- A.2 项 B.3 项
- C.4 项 D.5 项

B 解析:①诱变育种和基因工程等依据的原理都属于可遗传变异,能够改变微生物的遗传性状,进而可以从中选育出性状优良的菌种,并进行扩大培养,①正确;②单细胞蛋白是微生物菌体,并不是通过发酵工程从微生物细胞中提取获得的,②错误;③发酵工程是指利用微生物的特定功能,规模化生产人类所需产品的综合性生物工程,产品主要包括微生物的代谢物、酶及菌体本身,③正确;④啤酒发酵过程分为主发酵和后发酵两个阶段,酵母菌的繁殖、大部分糖的分解和代谢物的生成都是在主发酵阶段完成,故啤酒的工业化生产过程中,酒精的产生积累主要在主发酵阶段完成,④错误;⑤为了获得柠檬酸,在进行发酵时,需要筛选产酸量高的黑曲霉,⑤正确;⑥谷氨酸是由谷氨酸棒状杆菌生产的,其在中性或偏碱的环境中积累谷氨酸,在酸性条件下易生成谷氨酰胺和 N-乙酰谷氨酰胺,故生产谷氨酸需将 pH 调至中性或弱碱性,⑥正确;⑦根瘤菌能进行固氮作用,利用发酵工程生产的根瘤菌肥能够增进土壤肥力,改良土壤结构,促进植株生长,但不能作为微生物农药,⑦错误。

- 6.生产上常利用好氧菌谷氨酸棒状杆菌和图 1 所示发酵罐来大量生产味精,发酵流程如图 2 所示。下列叙述正确的是 ()

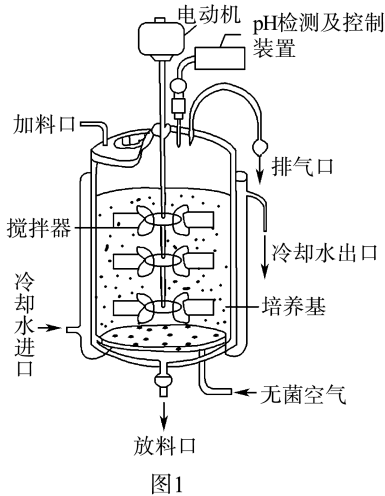


图1

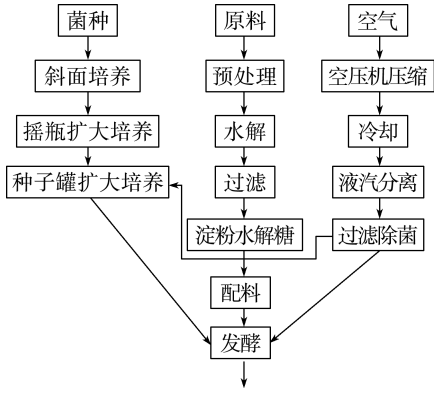


图2

- A.发酵中所使用的谷氨酸棒状杆菌菌种可从自然界筛选,也可通过诱变育种、杂交育种或者基因工程育种获得
- B.为了保证发酵产品的产量和品质,图中发酵配料及发酵罐需经过严格的灭菌
- C.在发酵过程中,通过加料口取样,随时监测产物浓度和微生物数量
- D.图中发酵过程需通入无菌空气,并在通过搅拌使培养液与菌种充分接触后关闭通气口
- B 解析:**谷氨酸棒状杆菌属于原核生物,不能进行有性生殖,无法通过杂交育种获得,A 错误;严格灭菌可以杀死发酵配料及发酵罐中的所有微生物,防止杂菌污染,从而保证发酵产品的产量和品质,B 正确;在发酵过程中,应通过放料口取样,随时监测产物浓度和微生物数量,C 错误;谷氨酸棒状杆菌属于好氧菌,在发酵过程中需要不断地通入无菌空气,不能关闭通气口,D 错误。
- 7.工业上所说的发酵,是指微生物在有氧或无氧条件下,通过分解与合成代谢,将某些原材料转化为特定产品的过程。某工厂利用果糖生产废水和沼气池废料生产蛋白质的发酵技术路线如下图所示。下列叙述正确的是 ()



- A.微生物生长所需碳源主要来源于沼气池废料
- B.该生产工艺利用微生物厌氧发酵技术生产蛋白质
- C.该生产过程中所需酶存在于细胞质基质和线粒体,一定有气体生成
- D.沼气池废料和果糖生产废水在加入反应器之前需要灭菌处理
- C 解析:**糖类是主要的能源物质,微生物生长所需的碳源主要来源于果糖生产废水,A 错误;分析题

图可知,该技术中有连续搅拌反应器的过程,该操作可以增加微生物与营养物质的接触面积,此外也可增大溶解氧含量,据此推测该生产工艺利用微生物的有氧发酵技术生产蛋白质,B 错误;该生产过程中有酿酒酵母的参与,利用的是酵母菌的有氧呼吸发酵技术,因此所需酶存在于细胞质基质和线粒体,酵母菌呼吸作用会产生二氧化碳,故该生产过程中,一定有气体生成,C 正确;沼气生产利用的是厌氧微生物,在连续搅拌反应器时厌氧微生物会被抑制,因此沼气池废料无须灭菌,D 错误。

8. 发酵工程是指利用微生物的特定功能,规模化生产人类所需产品的综合性生物工程。回答下列有关发酵工程的问题:

(1) 要高产、高质,首先是菌种的选育,目前最常用的育种方法是_____。

- A. 杂交育种
- B. 人工诱变育种
- C. 单倍体育种
- D. 多倍体育种

(2) 发酵罐一般都有搅拌器,但在利用乳酸菌生产乳酸时不用,这是因为_____。

(3) 单细胞蛋白是市场上较受欢迎的发酵产品,它利用的是微生物的_____。

解析:(1) 人工诱变育种是选育菌种最常用的方法。(2) 乳酸菌是厌氧微生物,不需要氧气,因此发酵时不需要搅拌来增加溶氧量。(3) 单细胞蛋白是指微生物菌体。

答案:(1) B (2) 乳酸菌为厌氧微生物 (3) 菌体

单元活动构建

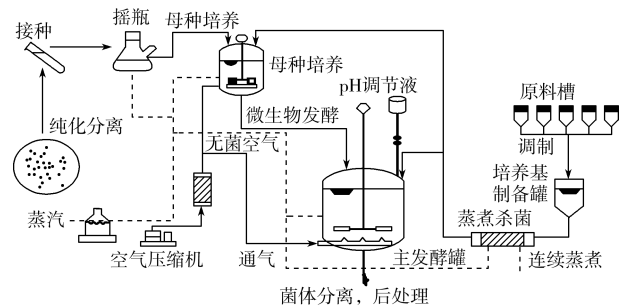
单元活动 运用科学探究实践生产不同发酵产品从而满足人类日益增长的需求

「单元任务」

任务内容	
任务一	掌握发酵工程的基本流程,利用该技术生产多种发酵产品满足人类需求
任务二	不同发酵产品需要的微生物不同,发酵是否成功与接种的微生物是否是纯种有关
任务三	关注影响发酵的因素,从不同方面增加产量

「任务导引」

发酵工程在医药工业上的应用非常广泛,其中青霉素的发现和产业化生产进一步推动了发酵工程在医药领域的应用和发展。青霉素是产黄青霉菌在有氧条件下产生的一种非常重要的抗菌药物,生产青霉素的发酵工程流程如下图所示。



利用发酵工程也可将人类活动产生的大量废纸和玉米、麦草的秸秆等纤维废料转化为新的资源——

燃料乙醇,这对解决资源短缺及环境污染均具有重要意义,发酵过程和青霉素的生产过程基本相同。另外,也可以利用发酵技术制作各类特色食品,如果酒、果醋、腐乳、泡菜等。

杂菌污染是导致大肠杆菌发酵失败的重要原因。为解决该问题,科学家利用基因工程技术,改造出一种加强型大肠杆菌,可防止杂菌污染。当然发酵过程的每个环节需要严格进行无菌操作,这是获得发酵产品的关键。

「任务突破」

任务一	掌握发酵工程的基本流程,利用该技术生产多种发酵产品满足人类需求
-----	---------------------------------

活动 1 随着人们对发酵原理的认识,微生物纯培养技术的建立,发酵工程逐步形成。发酵工程的基本环节一般包括菌种的选育,扩大培养,配制培养基,灭菌,接种,发酵,产物的分离及提纯等方面。其中,选育性状优良的菌种的方法有从自然界中筛选、诱变育种、基因工程育种。

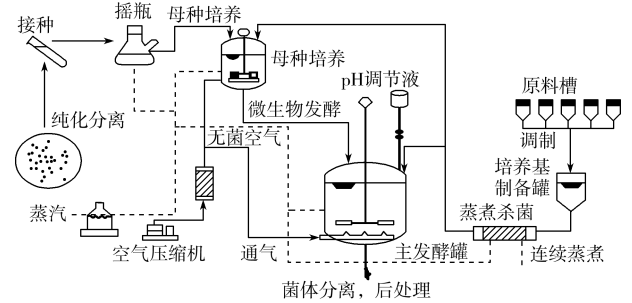
活动 2 酿制苹果醋通常有两条途径,一条途径是向捣碎的苹果汁中直接接种醋酸菌,经过一次发酵制成,在发酵过程中需要经常向发酵液中通入无菌空

气,写出此发酵过程的反应简式: $C_6H_{12}O_6 + 2O_2 \xrightarrow{\text{酶}} 2CH_3COOH(\text{乙酸}) + 2H_2O + 2CO_2 + \text{能量}$;另一条途径需经过先后两次发酵获得,其简要的过程为先接种酵母菌获得果酒,再在果酒中接种醋酸菌获得果醋。

活动 3 利用发酵工程可将人类活动产生的大量废纸和玉米、麦草的秸秆等纤维废料转化为新的资源——燃料乙醇,所需微生物大多分布在富含纤维素的环境中。从土壤中筛选目的菌需要使用以纤维素为唯一碳源的培养基,这种培养基从功能上看属于选择培养基。实验室筛选微生物的基本原理是人为提供目的菌生长的条件,同时抑制或阻止其他微生物的生长。

任务二	不同发酵产品需要的微生物不同,发酵是否成功与接种的微生物是否是纯种有关
-----	-------------------------------------

活动 1 下图表示生产青霉素的发酵过程,此过程中对产黄青霉菌进行分离纯化采用了稀释涂布平板法,该方法可以用来计数菌体的原理为当样品的稀释度足够高时,培养基表面生长的一个菌落来源于样品稀释液中的一个活菌。在制备该培养基时,除了添加必要的营养成分外,还需要将 pH 调至酸性。



活动 2 发酵过程中,为了解某时刻产黄青霉菌的数量,取 10 mL 菌液加入 90 mL 无菌水中,混匀,逐级稀释,将 0.1 mL 稀释液接种于培养基上。若 10^5 倍稀释液对应的三个平板中菌落数量分别为 68、76 和 78,则每毫升菌液中产黄青霉菌数量为 7.4×10^7 个。待完全发酵结束后,采用过滤、沉淀等方法将菌体分离。

任务三	关注影响发酵的因素,从不同方面增加产量
-----	---------------------

活动 1 用葡萄生产葡萄醋的过程中,酒精发酵的质量决定了醋的品质。为了解酒精发酵进程,可以

在发酵过程中定期取样,用稀释涂布平板的方法进行菌落计数,评估菌株增殖状况。选择高产醋酸菌时,可将醋酸菌涂布培养在白色的 $CaCO_3$ 培养基上,并挑选透明圈直径与菌落直径的比值大的菌落作为发酵菌种,发酵菌种经扩大培养后再接种至酒醪中进行发酵。若增加接种量和接种不同类型的醋酸菌,则可以加快产酸的进程,并抑制(不耐酸等)杂菌对发酵的影响,从而提高乙酸含量,使口感更纯正。不同的人最后酿造出的葡萄糯米香醋口感不同,影响其风味的因素可能有菌种的类型、代谢特点,葡萄、糯米的品质,发酵条件的不同等(写出两点即可)。

活动 2 在发酵工程中必须除去杂菌,分析其原因是什么。

答案:杂菌易与生产菌种构成竞争关系,使发酵产品减少;有的杂菌能分解利用发酵产物,导致发酵产品减少。

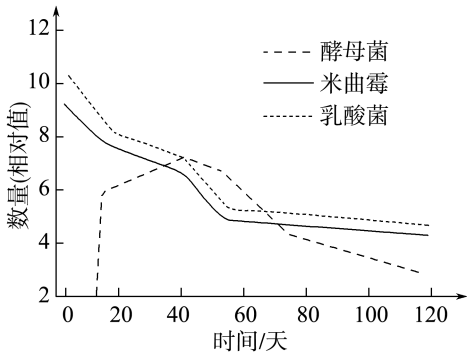
活动 3 如果发酵产品是微生物细胞本身,可在发酵结束之后,采用过滤、沉淀等方法将菌体分离和干燥,即可得到产品。如果产品是代谢物,可根据产物的性质采取适当的提取、分离和纯化措施来获得产品。

「活动达标」

- 青霉菌处在葡萄糖浓度不足的环境中时,会通过分泌青霉素杀死其他细菌,以保证自身生存所需的能量供应。目前已实现青霉素的工业化生产,关于该生产过程,下列说法错误的是 ()
 - 发酵液中的碳源不宜使用葡萄糖
 - 可用深层通气液体发酵技术提高产量
 - 选育出的高产菌株经扩大培养后才可接种到发酵罐中
 - 青霉素具有杀菌作用,因此发酵罐不需要严格灭菌

解析:葡萄糖虽然能被青霉菌迅速利用,但葡萄糖浓度充足的环境不利于青霉菌合成青霉素,因此在青霉菌的发酵过程中,通常不选择葡萄糖作为碳源,A 正确;青霉菌的代谢类型为异养需氧型,深层通气液体发酵技术可以提高溶解氧的浓度,有利于青霉菌的发酵,从而提高产量,B 正确;选育出的高产青霉素菌株经扩大培养后,可以增加自身的浓度和纯度,接种到发酵罐后能提高发酵的效率,C 正确;为了防止细菌、其他真菌等微生物的污染,获得纯净的青霉素,发酵罐仍需严格灭菌,D 错误。

2.酱油起源于我国,至今已有数千年历史。参与酱油酿造过程的微生物主要有米曲霉、酵母菌和乳酸菌等,在众多微生物及其酶系的作用下,分解大豆、小麦中的蛋白质、脂肪等有机物,最终形成具有特殊色泽和良好风味的酱油。下图表示酱油发酵过程中主要微生物的数量变化,下列说法错误的是 ()



酱油发酵过程中主要微生物数量变化

- A.米曲霉产生的蛋白酶能将蛋白质分解成小分子的肽及氨基酸
- B.在发酵初期乳酸菌含量较高,能抑制部分有害微生物的生长
- C.在酱油发酵过程中,乳酸菌和酵母菌的关系表现为相互促进
- D.某些代谢产物的抑制作用是后期酵母菌数量下降的原因之一

C 解析:制作酱油时,米曲霉等微生物产生的蛋白酶能将蛋白质分解成小分子的肽和氨基酸,A正确;由题图可知,在发酵初期乳酸菌含量较高,乳酸菌产生的乳酸可以抑制其他微生物的生长,B正确;分析题图可知,在0~40天,乳酸菌含量减少时,酵母菌的数量增加,由此可知乳酸菌和酵母菌的关系不是相互促进的,C错误;随着发酵的进行,营养物质不断被消耗,某些积累的代谢产物会抑制酵母菌的生长繁殖,D正确。

3.发酵工程在食品工业、医药工业及农牧业等许多领域得到了广泛的应用。下列相关叙述不正确的是 ()

- A.利用黑曲霉将大豆原料中的蛋白质水解,经淋洗后可调制成酱油
- B.利用酵母菌等菌种的发酵工程生产的单细胞蛋白,可作为食品添加剂
- C.将乙型肝炎病毒的抗原基因转入酵母菌中,再通过发酵可生产乙型肝炎疫苗
- D.利用发酵工程生产的微生物农药,可作为化学防治的重要手段

D 解析:以大豆为主要原料,利用产生蛋白酶的霉菌(如黑曲霉),将原料中的蛋白质水解成小分子的肽和氨基酸,然后经淋洗、调制可以制成酱油产品,A正确;微生物含有丰富的蛋白质,以淀粉或纤维素的水解液,制糖工业的废液等为原料,通过发酵可获得大量的微生物菌体,即单细胞蛋白,其中利用酵母菌等生产的单细胞蛋白可作为食品添加剂,B正确;可以将乙型肝炎病毒的抗原基因转入酵母菌中,再通过发酵工程制备乙肝疫苗,C正确;微生物农药是利用微生物或其代谢物来防治病虫害的,是生物防治的重要手段,D错误。

4.谷氨酸钠是味精的主要成分,工业生产中常用谷氨酸棒状杆菌发酵生产谷氨酸,进而获得味精。下表是生物兴趣小组探究发酵条件对谷氨酸棒状杆菌数量和产物生产的影响。

组别	发酵条件		谷氨酸棒状杆菌繁殖速率	单个菌体产谷氨酸量
第一组	通入无菌空气	C : N = 3 : 1	较慢	较多
第二组	通入无菌空气	C : N = 4 : 1	较快	较少

请分析回答下列问题:

- (1)发酵工程的中心环节是_____,生产谷氨酸所用的培养基应能给谷氨酸棒状杆菌提供主要的营养物质,包括无机盐、碳源、_____,且pH应调节至_____。
- (2)为避免杂菌污染,发酵生产谷氨酸的设备和培养基都需经过严格的_____处理。发酵过程采用计算机控制系统监测、控制发酵条件,根据上述探究可判断,利用谷氨酸棒状杆菌发酵生产谷氨酸过程中,最佳控制条件应为_____。

(3)对谷氨酸棒状杆菌进行计数可采用_____直接计数法。若取稀释1 000 倍的发酵液 0.1 mL 滴加到计数板上,计数室(容纳液体总体积为 0.1 mm³)内共有菌体 48 个,则发酵液中菌体的密度为_____个/mL,但理论上实际的活菌数应_____(填“>”或“<”)该数值。

解析:(1)发酵工程的中心环节是发酵罐内发酵。生产谷氨酸所用的培养基应能给谷氨酸棒状杆菌提供主要的营养物质,包括无机盐、碳源、水、氮源,若pH呈酸性,则容易生成谷氨酰胺和N-乙酰谷

氨基酸,故 pH 应调节至中性或弱碱性。(2)为避免杂菌污染,发酵生产谷氨酸的设备和培养基都需经过严格的灭菌处理。发酵过程采用计算机控制系统监测、控制发酵条件,根据上述探究可判断,利用谷氨酸棒状杆菌发酵生产谷氨酸过程中,最佳控制条件应为通入无菌空气,C:N=3:1。(3)对谷氨酸棒状杆菌进行计数可采用显微镜直接计数法。若取稀释 1 000 倍的发酵液 0.1 mL 滴加到计数板

上,计数室(容纳液体总体积为 0.1 mm^3)内共有菌体 48 个,则发酵液中菌体的密度为 $48/0.1 \times 10^3 \times 1\,000 = 4.8 \times 10^8$ 个/mL,但由于该方法不能区分活菌还是死菌,故理论上实际的活菌数应小于该数值。

答案:(1)发酵罐内发酵 水 氮源 中性或弱碱性 (2)灭菌 通入无菌空气,C:N=3:1

(3)显微镜 $4.8 \times 10^8 <$

第 1 章质量评估

(时间:90 分钟,分值:100 分)

第 I 卷(共 40 分)

一、选择题(本题共 20 小题,每小题 2 分,共 40 分)

1.果酒的家庭制作与啤酒的工业化生产相比,属于共同点的是 ()

- A.都利用了酵母菌有氧呼吸产生酒精的原理
- B.发酵前期都需要一定的有氧环境供发酵菌种繁殖
- C.发酵前都需要对原料进行灭菌
- D.发酵结束都必须进行消毒以延长保存期

B 解析:二者均利用了酵母菌无氧呼吸产生酒精的原理,A 错误;发酵前期,均需要一定的有氧环境,使酵母菌大量繁殖,B 正确;果酒的家庭制作不需对原料进行灭菌,C 错误;果酒的家庭制作发酵结束不需要进行消毒,D 错误。

2.将少量的酵母提取液加到足量的葡萄汁中进行果酒制作,15 °C 条件下密封保温一段时间后,检测到反应体系含有少量的酒精。如对上述实验的某个因子进行改动,实验的结果也会发生相应的变化。以下分析正确的是 ()

- A.增加酵母提取液的量,则产生相同酒精所需的时间延长
- B.增加葡萄汁的量,则相同时间内酒精浓度升高
- C.将温度提高到 23 °C,则相同时间内酒精浓度升高
- D.连续通入无菌空气,则相同时间内酒精浓度升高

C 解析:由题意可知,发酵过程中加入的酵母提取液较少,接种的酵母菌数量较少,因此酵母菌数量是限制发酵进程的因素之一,如果增加酵母提取液的量,产生相同酒精所需的时间缩短,A 错误;由题

意可知,葡萄汁是足量的,因此葡萄汁不是限制发酵的因素,增加葡萄汁的量,相同时间内酒精浓度不会升高,B 错误;酵母菌发酵的较适宜温度是 18~30 °C,如果将温度由 15 °C 升高到 23 °C,酵母菌无氧呼吸速率会加快,相同时间内酒精浓度升高,C 正确;酵母菌无氧呼吸产生酒精,如果连续通入无菌空气,酵母菌将进行有氧呼吸,发酵液内没有酒精产生,D 错误。

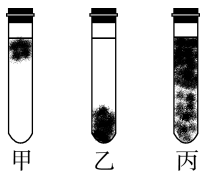
3.下列关于泡菜发酵的叙述,错误的是 ()

- A.泡菜发酵过程中产生的亚硝酸盐会引起细胞癌变,摄入过多会对身体造成伤害
- B.煮沸泡菜盐水的目的是除去水中的氧气和杀灭盐水中的其他杂菌
- C.泡菜坛内有时会长出白膜是兼性厌氧真菌酵母繁殖所致
- D.泡菜腌制时间过短、食盐用量过低、温度过高,都容易造成细菌大量滋生,亚硝酸盐含量增加

A 解析:摄入体内的亚硝酸盐含量过多,在特定的条件下会转化成亚硝胺,亚硝胺是化学致癌因子,可导致细胞癌变,而并非亚硝酸盐引起细胞癌变,A 错误;煮沸泡菜盐水的目的是除去水中的氧气和杀灭盐水中的其他杂菌,B 正确;在泡菜制作过程中,泡菜发酵液的营养丰富,适合兼性厌氧真菌酵母菌生长繁殖,从而在泡菜坛液面形成一层白膜,C 正确;泡菜腌制时间过短、食盐用量过低、温度过高,都容易造成细菌大量滋生,亚硝酸盐含量增加,导致泡菜的品质下降,D 正确。

4.为获得优良的发酵食品,实验室在三支试管中分别培养了酵母菌、醋酸菌、乳酸菌。图中甲、乙、丙三

支试管的菌种及其发酵生产的食品对应正确的是 ()



- A. 甲试管: 酵母菌——果酒; 乙试管: 醋酸菌——果醋; 丙试管: 乳酸菌——泡菜
 B. 甲试管: 醋酸菌——泡菜; 乙试管: 酵母菌——果酒; 丙试管: 乳酸菌——果醋
 C. 甲试管: 乳酸菌——果酒; 乙试管: 酵母菌——泡菜; 丙试管: 醋酸菌——果醋
 D. 甲试管: 醋酸菌——果醋; 乙试管: 乳酸菌——泡菜; 丙试管: 酵母菌——果酒

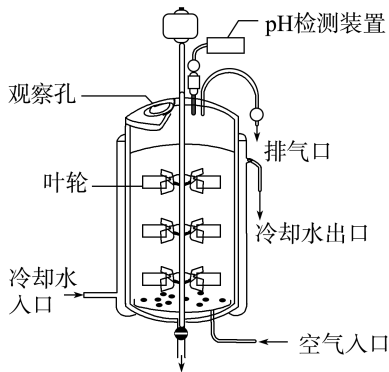
D 解析: 醋酸菌是好氧细菌, 分布在试管上层, 用于制作果醋, 为甲试管中的菌种; 乳酸菌是厌氧细菌, 分布于试管下层, 用于泡菜发酵, 为乙试管中的菌种; 酵母菌是兼性厌氧微生物, 有氧无氧都能生存, 在试管中各部分都有分布, 用于制作果酒, 为丙试管中的菌种, D 正确。

5. 参与黄豆酱发酵的主要微生物有霉菌、酵母菌等。下面是传统黄豆酱的制作过程, 相关叙述错误的是 ()

- ①黄豆蒸煮沥干, 裹上面粉→②均匀铺摊, 用茅草等覆盖后置于不通风、阴凉处, 7 d 后长满酱黄→③将酱黄暴晒后加盐水浸透→④晒酱, 后发酵成熟
 A. 过程①中黄豆表面包裹的面粉, 可为微生物生长提供碳源和能源
 B. 过程②中将黄豆置于不通风环境中, 目的是获得菌种并利于其生长
 C. 过程③中加入的盐水具有灭菌作用, 因此加入的盐水不必煮开
 D. 过程④中耐盐酵母产生酒精等物质, 有利于形成特定风味和香气

C 解析: 面粉中含有淀粉等物质, 可为微生物生长提供碳源和能源, A 正确; 微生物进行发酵需要适宜的条件, 过程②中将黄豆置于不通风环境中, 目的是获得霉菌、酵母菌等菌种并利于其生长, B 正确; 为防止杂菌的污染, 加入的盐水应先煮沸再冷却, C 错误; 过程④是后发酵成熟, 其中耐盐酵母产生酒精等物质, 有利于形成特定风味和香气, 利于黄豆酱的风味形成, D 正确。

6. 下图为啤酒现代化工业发酵过程中的所用的发酵罐, 相关叙述错误的是 ()



- A. 啤酒酵母在接入发酵罐前需要对其进行扩大培养
 B. 通过 pH 检测装置检测发酵液 pH 可监测发酵进程
 C. 发酵中期需使用叶轮搅拌发酵液以增加发酵液中的溶解氧
 D. 夏季高温时, 可使用冷却水对罐体进行降温处理以免发酵失败

C 解析: 为了提高发酵菌种的数量, 常常在接入发酵罐前对其进行扩大培养, A 正确; 在啤酒的发酵过程中随着发酵时间的延长, pH 会慢慢降低, 因此通过 pH 检测装置检测发酵液 pH 可监测发酵进程, B 正确; 发酵中期需要严格的无氧环境, 不需要增加发酵液中的溶解氧, C 错误; 酵母菌在发酵时需要严格控制发酵温度, 夏季高温时, 可使用冷却水对罐体进行降温处理以免发酵失败, D 正确。

7. “LABS”指的是酸奶中常见的四种乳酸菌, 分别是保加利亚乳杆菌(L 菌)、嗜酸乳杆菌(A 菌)、乳双歧杆菌(B 菌)、嗜热链球菌(S 菌)。它们都能发酵糖类产生乳酸, 但 L 菌和 S 菌不能抵抗胃酸和胆汁的腐蚀, 进入小肠前几乎消失殆尽, 而 A 菌和 B 菌可以在人肠内定殖, 抑制有害菌的繁殖。下列相关说法错误的是 ()

- A. A 菌和 B 菌可能具备耐强酸和耐水解酶水解的能力
 B. 酸奶可以降低乳糖不耐症的发生, 说明乳酸菌可以水解或利用乳糖
 C. 因为 L 菌和 S 菌不能定殖在人体内, 所以它们不是调节肠道内菌群平衡的益生菌
 D. 酸奶胀袋, 是乳酸菌进行无氧呼吸产生的气体造成的

D 解析: 由题意可知, A 菌和 B 菌能抵抗胃酸和胆汁的腐蚀, 进入人肠内定殖, 说明 A 菌和 B 菌可能具备耐强酸和耐水解酶水解的能力, A 正确; 乳糖

不耐症是指由于不能完全消化分解母乳或牛乳中的乳糖引起的非感染性腹泻，酸奶中含有四种乳酸菌，可以降低乳糖不耐症的发生，说明乳酸菌可以水解或利用乳糖，B 正确；L 菌和 S 菌不能抵抗胃酸和胆汁的腐蚀，不能定殖在人体肠道内，说明它们不是调节肠道内菌群平衡的益生菌，C 正确；乳酸菌进行无氧呼吸只产生乳酸，不能产生气体，D 错误。

8.微生物实验中，接种环常用的灭菌方法是（ ）

- A.煮沸灭菌
- B.灼烧灭菌
- C.干热灭菌
- D.高压蒸汽灭菌

B 解析：微生物实验中，接种环常用的灭菌方法是灼烧灭菌，B 正确。

9.某学习小组采用如下培养基进行酵母菌的纯化培养实验。下列叙述正确的是（ ）

组分	马铃薯滤液	葡萄糖	琼脂	水
含量	200 g	20 g	15 g	定容至 1 000 mL

- A.该培养基是以葡萄糖为唯一碳源的选择培养基
- B.装有培养基的锥形瓶、培养皿等应进行干热灭菌
- C.将接种后的平板置于 28 ℃ 左右的恒温摇床上振荡培养
- D.若需同时对酵母菌进行计数和分离，应采用稀释涂布平板法接种

D 解析：葡萄糖不是该培养基的唯一碳源，马铃薯滤液也能为酵母菌提供碳源、氮源和无机盐等营养成分，A 错误；装有培养基的锥形瓶、培养皿不能进行干热灭菌，可进行高压蒸汽灭菌，B 错误；平板不适宜在摇床上振荡培养，C 错误；稀释涂布平板法可对微生物进行计数和分离，D 正确。

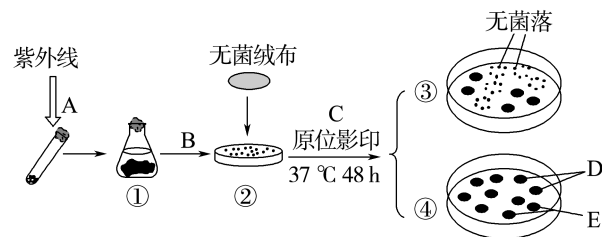
10.分离土壤微生物的正确操作步骤是（ ）

- ①土壤取样 ②称取 5 g 土壤将其加入盛有 45 mL 无菌水的锥形瓶中 ③吸取 0.1 mL 进行平板涂布 ④依次稀释至 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 倍

- A.①→②→③→④
- B.①→③→②→④
- C.①→②→④→③
- D.①→④→②→③

C 解析：土壤微生物分离的操作步骤为①土壤取样→②制备土壤溶液→④制备土壤样品系列稀释液→③涂布平板分离，C 正确。

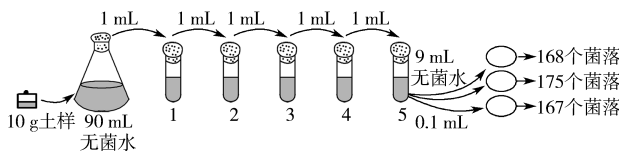
11.下图为纯化大肠杆菌的青霉素抗性突变株的部分流程图，①②③④代表培养基，A、B、C 表示操作步骤，D、E 为菌落。下列说法正确的是（ ）



- A.紫外线可以定向诱发大肠杆菌突变并提高突变率
- B.①②中不含有青霉素，③④中含有青霉素
- C.应从培养基④中挑取菌落 D 进行纯化培养
- D.统计④中的菌落数比涂布的活菌数少，是因为涂布时两个或多个细胞连在一起

D 解析：紫外线照射的目的是诱导野生大肠杆菌发生基因突变，通过紫外线照射处理可提高突变频率，从而增加突变株的数量，但是不能定向诱发大肠杆菌的突变，因为突变是不定向的，A 错误；题图中进行的是纯化大肠杆菌的青霉素抗性突变株的操作，首先利用稀释涂布平板法分离细菌，然后运用影印法将菌种接种到两种培养基中，根据培养基中菌落的生长情况可知，在培养基④中菌落都能够生长，而在培养基③中有的菌落能够生长，有的不能生长，说明①②④中不含有青霉素，③中含有青霉素，B 错误；对比③④培养基可知，培养基中菌落 E 对青霉素具有抗性，菌落 D 对青霉素不具有抗性，因此应该从培养基④中挑取菌落 E 进行纯化培养，C 错误；④中的菌落统计数，比涂布的活菌数少，是因为涂布时若有两个或多个细胞连在一起，平板上观察到的只有一个菌落，D 正确。

12.下图为“土壤中分解尿素的细菌的分离与计数”实验中样品稀释示意图，据图分析下列叙述正确的是（ ）



- A.4号试管中稀释液进行平板培养得到的菌落平均数一定恰为5号的10倍
- B.5号试管的结果表明每克该土壤中的菌株数目为 1.7×10^8 个

C.涂布操作时,用移液枪取少量菌液,在培养基上均匀涂布

D.某一稀释度下至少涂布3个平板,用该实验方法统计得到的结果往往会比实际活菌数目多

C 解析:4号试管中稀释液的稀释倍数比5号的低10倍,如果稀释倍数适当,平板培养后得到的菌落平均数可能是5号的10倍,A错误;5号试管进行稀释涂布平板法计数的结果表明每克土壤中的菌株数为 $(168 + 175 + 167) \div 3 \div 0.1 \times 10^6 = 1.7 \times 10^9$ 个,B错误;涂布操作时,用移液枪取少量(0.1 mL)菌液,在培养基上均匀涂布,C正确;稀释涂布平板法得到的菌落可能存在两个或多个细胞连在一起成为一个菌落的情况,使统计得到的结果往往比实际活菌数目要少,D错误。

- 13.某实验小组欲从土壤中筛选出能分解淀粉的芽孢杆菌。下列叙述不正确的是 ()

A.采样与培养:称量1 g土样置于灭菌后的固体培养基中,30℃振荡培养

B.接种:为避免培养液中菌体浓度过高,需经过系列稀释后接种

C.选择:所用的固体培养基,作为唯一碳源的是淀粉

D.筛选:将适量的碘液滴加到平板中的菌落周围,菌落周围出现透明圈说明此种菌能分解淀粉

A 解析:采样与培养:称量1 g土样置于经高压蒸汽灭菌的液体培养基中,30℃振荡培养,A错误;接种:为避免培养液中菌体浓度过高,需经过系列稀释后用涂布平板法或平板划线法接种,B正确;选择:所用的固体培养基中以淀粉为唯一碳源,则该培养基上只有能分解淀粉的微生物才能够生存,其他微生物因不能利用淀粉而不能生存,C正确;筛选:将适量的碘液滴加到平板中的菌落周围,菌落周围出现透明圈说明此种菌能分解淀粉,D正确。

- 14.下列有关培养基制备的叙述正确的是 ()

A.培养基中都含有碳源、氮源、水、无机盐及琼脂等成分

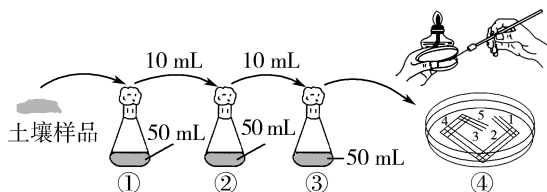
B.在熔化琼脂时,需要控制火力并不断搅拌,以免发生糊底

C.在微生物的实验室培养中,培养皿可用70%酒精擦拭灭菌

D.倒平板时需将培养基冷却至室温,再在酒精灯火焰旁倒平板

B 解析:微生物培养基的主要营养物质有碳源、氮源、水和无机盐等,固体和半固体培养基需要琼脂,液体培养基不需要琼脂,A错误;在熔化琼脂时,需要控制火力并不断搅拌,以免发生糊底,B正确;在微生物的实验室培养中,培养皿要用干热灭菌法彻底消灭其中的微生物,C错误;倒平板时需待培养基冷却至50℃左右后,再在酒精灯火焰附近倒平板,D错误。

- 15.科研人员从被石油污染的土壤中分离获得能降解石油成分“多环芳烃菲”的菌株Q,步骤如下图所示,下列相关叙述错误的是 ()



A.步骤①~③中,培养液中需以多环芳烃菲作为唯一碳源

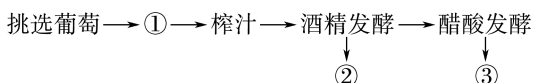
B.步骤①~③中,将锥形瓶放在摇床上充分振荡,使菌株与培养液充分接触

C.步骤④是利用平板划线法纯化菌株Q,图中所示接种环最少灼烧5次

D.步骤④中每一区域可重复画几次,但1区和5区不能出现交叉

C 解析:要想分离出能降解石油成分“多环芳烃菲”的菌株Q,所用培养液中需以多环芳烃菲作为唯一碳源,A正确;培养过程中,将锥形瓶充分振荡,目的是使菌株与培养液充分接触,B正确;接种环在每次接种前和接种结束后都要通过灼烧来灭菌,故完成步骤④共需灼烧接种环6次,C错误;在用平板划线法纯化菌株Q过程中,做第二次以及其后的划线操作时,总是从上一次划线的末端开始划线,1区和5区不能交叉,D正确。

- 16.下图表示制作果酒和果醋的流程,下列相关叙述不正确的是 ()



A.①为冲洗,目的是去掉葡萄表面的污物,但冲洗次数不能过多

- B.②为果酒，酒精发酵过程中要严格控制氧气和温度
- C.③为果醋，醋酸发酵过程中要间断通气
- D.②的制作过程中既涉及有氧呼吸又涉及无氧呼吸

C 解析：①为冲洗，目的是去掉葡萄表面的污物，但冲洗次数不能过多，否则会冲洗掉葡萄表面的野生酵母菌，A 正确；酒精发酵的产物是果酒，氧气和温度是影响果酒制作的两个重要因素，需要在发酵过程中严格控制，B 正确；③为果醋，果醋制作所用微生物是醋酸菌，醋酸菌是好氧细菌，在发酵过程中如果中断氧气供应会抑制醋酸菌的代谢，甚至引起醋酸菌的死亡，所以应持续通入空气，C 错误；果酒制作既需要酵母菌的有氧呼吸以大量繁殖，也需要酵母菌的无氧呼吸以产生酒精，D 正确。

- 17.腊肉是我国传统美食，先秦经典《易经》里提到“晞于阳而炆于火，曰腊肉”，说的便是将肉放在阳光下晒去水分后再放入火中烘烤，就制成了腊肉。传统腊肉制作时还需三类调料：高度白酒、盐、香料等。下列有关说法不正确的是（ ）
- A.“晞于阳”“炆于火”的目的是去除水分，防止腌制过程中杂菌滋生
- B.高度白酒除了能给腊肉带来浓郁香味外，还可以起到灭菌、防腐的作用
- C.在加盐腌制的过程中，细菌等微生物会因渗透失水而失去活性
- D.质检时可采用平板划线法对腊肉中的微生物进行检测计数

D 解析：肉放在阳光下晒去水分后再放入火中烘烤，目的是去除水分，使杂菌难以滋生，A 正确；高度白酒能给腊肉带来浓郁香味的同时还可以杀死细胞，起到灭菌、防腐的作用，B 正确；在加盐腌制的过程中，肉表面渗透压过高，细菌等微生物会因渗透失水而失去活性，C 正确；平板划线法可用于纯化分离腊肉中的微生物，但不能用于计数，D 错误。

- 18.我国《生活饮用水卫生标准》规定：1 mL 自来水中检出的菌落总数不可以超过 100 个（37 ℃ 培养 24 h），不得检出总大肠菌群，杆菌数 1 L 水中不超过 3 个。饮用或食用大肠杆菌超标的水或食物，会引起急性腹泻、肠道感染等疾病。要检测某水样中是否含有大肠杆菌以及对其进行计数，某生

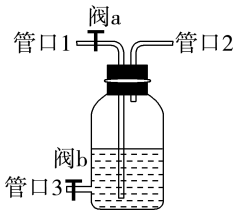
物学兴趣小组进行了相关实验。下表为常用的细菌培养基：

培养基成分	含量
牛肉膏	5 g
蛋白胨	10 g
NaCl	5 g
琼脂	20 g
H ₂ O 定容至 1 000 mL	

- 以下说法不正确的是（ ）
- A.上述培养基中含有琼脂，可用来分离、纯化与计数水样中的细菌
- B.利用该培养基培养大肠杆菌时，需将 pH 调至中性或弱碱性
- C.对水样中的细菌进行计数时，所用接种工具的灭菌方法与培养皿的灭菌方法相同
- D.根据特定的菌落特征可初步判断水样中是否含有大肠杆菌，并在菌落数目稳定时计数

C 解析：含有琼脂的培养基呈固态，可用来分离、纯化与计数微生物，A 正确；大肠杆菌为细菌，培养细菌时一般需要将培养基调至中性或弱碱性，B 正确；计数采用稀释涂布平板法，用到的接种工具是涂布器，需进行灼烧灭菌，而培养皿则要进行干热灭菌，C 错误；一般来说，不同微生物表现出的菌落特征不同，因此可根据特定的菌落特征初步判断水样中是否含有大肠杆菌，进行微生物计数时，应在菌落数目稳定时记录结果，以免遗漏菌落，D 正确。

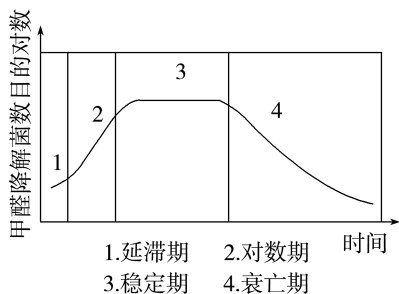
- 19.将下图中的果酒发酵装置改装后用于探究酵母菌呼吸方式的实验，下列相关操作不正确的是（ ）



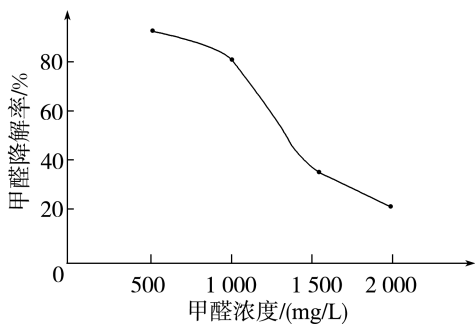
- A.探究有氧条件下酵母菌呼吸方式时打开阀 a
- B.经管口 3 取样检测酒精和 CO₂ 的产生情况
- C.实验开始前对改装后整个装置进行气密性检查
- D.改装时将盛有澄清石灰水的试剂瓶与管口 2 连通
- B 解析：**管口 1 是进气口，打开阀 a 保证 O₂ 的供应，可以探究有氧条件下酵母菌的呼吸方式，A 正

确;管口 2 是出气口,管口 3 是出料口,经管口 3 取样只能检测酒精的产生情况,CO₂通过管口 2 排出,B 错误;实验开始前要对整个装置进行气密性检查,确保有氧、无氧条件只能通过管口 1 控制,C 正确;管口 2 连通装有澄清石灰水的试剂瓶,可通过观察澄清石灰水的混浊程度来检测 CO₂的产生情况,D 正确。

- 20.某研究小组在家具厂周围的土壤中分离出了 1 株高效甲醛降解菌,在适宜的条件下培养一段时间,获得了高效甲醛降解菌的生长曲线(图甲),并探究了该菌株对不同甲醛浓度的降解效果(图乙)。下列说法正确的是 ()



甲



乙

- A.出现生长延滞期是因为菌株接种数量较多,可能无法快速增殖
B.稳定期甲醛降解菌的活菌数基本不变,说明此阶段没有子代菌株产生
C.对甲醛降解菌进行计数时,稀释涂布平板法统计的结果大于显微镜直接计数法
D.图乙中甲醛降解率降低的原因是高浓度甲醛对甲醛降解菌产生了毒害作用

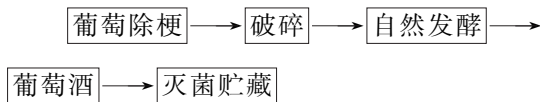
D 解析:由题图甲可知,细菌繁殖前期中有延滞期,原因可能是菌株适应新环境需要时间,且最初接种的数量较少,故生长缓慢,A 错误;稳定期甲醛降解菌的活菌数基本不变,可能是此时出生率与死亡率相当,种群数量维持相对稳定,B 错误;

用稀释涂布平板法计数时,由于两个或多个细胞连在一起可以形成一个菌落,所以统计的结果比实际值往往偏小,而显微镜直接计数法将活菌和死菌一起计数,所以统计的结果比实际值往往偏大,故用稀释涂布平板法统计的结果小于显微镜直接计数法,C 错误;据题图乙可知,高浓度甲醛条件下,甲醛降解率降低,原因是高浓度甲醛对甲醛降解菌产生了毒害作用,D 正确。

第 II 卷(共 60 分)

二、非选择题(本题共 5 小题,共 60 分)

- 21.(10 分)下面是利用微生物制作葡萄酒的流程示意图,请回答下列有关问题:

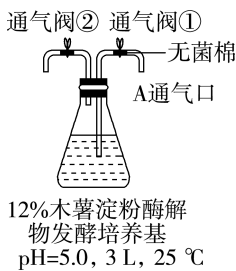


- (1)葡萄酒制作的原理是利用_____分解葡萄糖生成_____,该物质在无氧条件下,转变成酒精。
(2)葡萄除梗应在冲洗后完成,原因是_____。
(3)葡萄酒制作过程中,在没有严格灭菌的条件下,通过控制_____和_____的措施,使酵母菌大量繁殖而成为优势菌种。因为酵母菌能在缺氧、_____的发酵液中生长繁殖,而其他微生物不能,所以果酒制作过程不需要严格灭菌。
(4)在葡萄酒制作过程中出现葡萄酒变酸现象,其原因可能是发酵液中混有的乳酸菌发酵产生乳酸;也可能是_____,导致醋酸菌生长繁殖,产生乙酸。

解析:(1)葡萄酒的制作原理是在无氧条件下酵母菌进行无氧呼吸,分解葡萄糖生成丙酮酸,并将丙酮酸分解成酒精和二氧化碳,从而达到酿酒的目的。(2)葡萄先冲洗再除梗是为了避免除梗时造成葡萄破损,增加被杂菌污染的风险。(3)在有氧条件下酵母菌会大量繁殖,故应控制温度和通入氧气。在缺氧时酵母菌能进行无氧呼吸产生二氧化碳,使发酵液变酸,其他微生物在呈酸性的发酵液中不能生长,所以果酒制作过程不需要严格灭菌。(4)葡萄酒变酸也有可能是发酵容器密闭不严,酒精在醋酸菌的作用下生成了乙酸。

答案:(1)酵母菌 丙酮酸 (2)避免除梗时引起葡萄破损,增加被杂菌污染的风险 (3)温度 通入氧气 呈酸性 (4)发酵容器密闭不严

22.(13分)某新能源研究兴趣小组尝试用木薯块根中的淀粉制备酒精燃料。他们用酶将木薯淀粉降解成单糖,查阅资料后,安装的酒精发酵装置、采用的发酵条件如下图所示。请据图回答下列问题:



- (1)向发酵瓶中加入 5 g 酵母菌开始实验,发酵初期,通气阀①需要偶尔短时间打开,并在 A 通气口处打气,以利于_____ ;实验过程中,通气阀②需要偶尔短时间打开,目的是_____。
- (2)第 3 天,取出少量发酵液,滴加含有_____的浓硫酸溶液来检测酒精。
- (3)检测后发现,尽管酵母菌菌种合适、木薯淀粉酶解物充足、操作正确、发酵温度和 pH 适宜,但酒精含量(+)比预期低。他们展开了讨论,认为还有其他影响因素,如_____。请设计实验对此因素进行探究并预测实验结果(用表格形式呈现;用“+”表示酒精含量,最高含量为“++++”)。
- (4)请对预测的结果进行分析,并得出结论。

解析:(1)酵母菌为兼性厌氧微生物,在 A 通气口处打气可让酵母菌进行有氧呼吸大量繁殖,从而增加酵母菌的数量。通气阀②偶尔短时间打开,是为了排出细胞代谢产生的二氧化碳。(2)橙色的重铬酸钾在酸性条件下与酒精反应变成灰绿色。(3)依题意“尽管酵母菌菌种合适、淀粉酶解物充足、操作正确、发酵温度和 pH 适宜”,排除了氧气、温度、pH、营养物质含量等因素,则还可能是发酵时间影响酒精的产生量。设计同题干中实验,于不同时间采样检测酒精含量。(4)预测结果中,发酵 7 天酒精的产量已达到最高,大于 7 天酒精产量不再增加,可能原因是高浓度酒精抑制酵母菌活性等,因而在此装置和酵母菌添加量为 5 g 时,最好的发酵时间是 7 天。

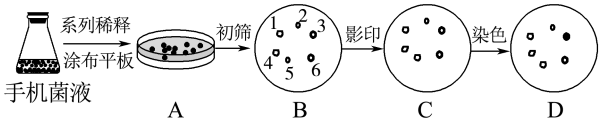
答案:(1)酵母菌进行有氧呼吸大量繁殖 排出二氧化碳 (2)重铬酸钾 (3)发酵时间 如下表所示

实验组号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
发酵时间/天	3	4	5	6	7	8	9
预期结果	+	++	+++	++ ++	+++ ++	+++ ++	+++ ++

注:酵母菌添加量为 5 g,其他条件与题图相同。

(4)预测结果中,发酵 7 天酒精的产量已达到最高,大于 7 天酒精产量不再增加,可能原因是高浓度酒精抑制酵母菌活性等,因而在此装置和酵母菌添加量为 5 g 时,最好的发酵时间是 7 天。

23.(11分)使用日益广泛的手机,在方便人们通信联络的同时也成为细菌等病原体传播的途径。为了解手机上细菌的情况,某兴趣小组进行了如下实验,请回答相关问题:



- (1)取附着在手机上的细菌进行取样培养后,对菌液进行系列梯度稀释和涂布平板操作的目的是_____。
- (2)A 平板上生长的菌落有多种形态。若要使菌落能在 A 平板上生长,下列培养基中组分最合理的是_____ (填“甲”“乙”或“丙”),原因是_____。
- 可采取_____来检测培养基 A 制备是否合格。

培养基编号	培养基组分
甲	蔗糖、NaCl、琼脂、水
乙	牛肉膏、蛋白胨、NaCl、琼脂、水
丙	牛肉膏、蛋白胨、NaCl、蔗糖、水

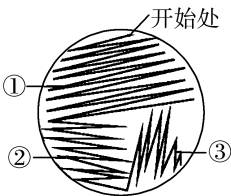
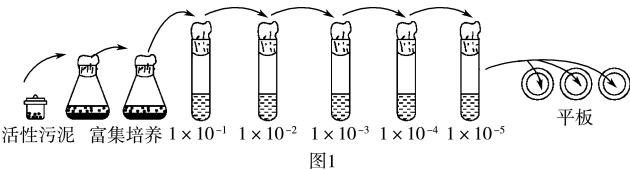
(3)初筛后将平板 B 的菌落通过“影印”方法接种到 C 培养基上培养,使 C 培养基对应位置上出现相同菌落。然后用伊红—美蓝染液对 C 进行染色,根据染色后 D 中出现的结果,可判断平板 B 中_____ (填图中数字)是大肠杆菌的菌落。

解析:(1) 取附着在手机上的细菌进行取样培养后,对菌液进行系列梯度稀释和涂布平板操作的目的是降低菌液浓度,将微生物分散成单个细胞,进而获得单个的菌落。(2) A 平板上生长的菌落有多种形态,说明附着在手机上的细菌种类较多。

牛肉膏、蛋白胨提供的主要营养是碳源、氮源、维生素和生长因子。培养基甲不含氮源(蛋白胨),菌落无法在该培养基上生长;培养基乙含有碳源、氮源、水、无机盐这几类营养物质,且加入了琼脂作为凝固剂,可以达到实验效果;培养基丙不含凝固剂(琼脂),无法形成固体培养基,细菌无法在培养基表面形成菌落;因此培养基中组分最合理的是乙。检测培养基 A 制备是否合格,可将培养基置于适宜条件下培养一段时间,检测其是否有杂菌生成。(3)伊红为酸性染料,美蓝为碱性染料,当大肠杆菌分解乳糖产酸时细菌带正电荷被染成红色,再与美蓝结合形成紫黑色菌落并带有绿色金属光泽。由图可知 3 号菌落为大肠杆菌菌落。

答案:(1)降低菌液浓度,将微生物分散成单个细胞,进而获得单个的菌落 (2)乙 培养基乙含有碳源、氮源、水、无机盐这几类营养物质,且加入了琼脂作为凝固剂,可以达到实验效果 将培养基置于适宜条件下培养一段时间,检测其是否有杂菌生成 (3)3

24.(11 分)苯酚及其衍生物广泛存在于工业废水中,对环境有严重危害。小明同学准备依据下图操作步骤,从处理废水的活性污泥中分离筛选高效降解苯酚菌株。请回答下列问题:



管号	1	2	3	4	5	6
苯酚浓度/(mg/L)						1

(1)苯酚降解菌富集培养基含有蛋白胨、 K_2HPO_4 、 $MgSO_4$ 、苯酚和水,其中可作为碳源的有_____。

(2)将采集到的样品接种培养,苯酚用量应随转接次数增加而逐渐_____,以达到富集苯酚降解菌的目的。若图 1 平板中菌落过于密集,应进一

步_____,以便于菌落分离与计数。制备平板培养基时除了需要水、营养物质外,还必须添加_____。

(3)图 2 为平板划线示意图,在图中_____ (填图中序号)区域更易获得单菌落。

(4)采用比色测定法(使用苯酚显色剂)检测降解后的废水中苯酚残留量,需制作系列浓度梯度并进行显色反应,上表中 1~5 号比色管的苯酚浓度应分别为_____。如果废水为 50 mg/L 苯酚溶液,降解后约有 21% 的苯酚残留,则需将残留液稀释_____ (填“5”“10”或“20”)倍后,再进行比色。

解析:(1)培养基中的营养物质一般包括水、无机盐、碳源、氮源等,分析富集培养基的成分可知,蛋白胨和苯酚中含有碳元素,可作为碳源。(2)要富集苯酚降解菌,应提高其主要营养物质的含量。若菌落过于密集,说明稀释倍数不够,应进一步稀释,再涂布平板。平板培养基一般为固体培养基,制备时需加入凝固剂——琼脂。(3)用平板划线法接种菌体时,随划线次数的增加,菌体数量逐渐减少,故③区域更易获得单菌落。(4)进行实验时,需要设置苯酚浓度为 0 的空白对照组,且题中已给出 6 号比色管中的苯酚浓度为 1 mg/L,根据浓度梯度的设计原则和空白对照原则,1~5 号比色管中的苯酚浓度应依次为 0 mg/L、0.2 mg/L、0.4 mg/L、0.6 mg/L、0.8 mg/L。废水中苯酚的浓度为 50 mg/L,降解后约有 21% 的苯酚残留,则降解后废水中苯酚的浓度为 $50 \times 21\% = 10.5$ mg/L,因为比色管中苯酚的浓度范围为 0~1 mg/L,若将降解后的废水稀释 5 倍或 10 倍,则稀释后废水中苯酚的浓度均大于 1 mg/L,若稀释 20 倍,则稀释后废水中苯酚的浓度为 0.525 mg/L,介于 0~1 mg/L,故需将降解后的废水稀释 20 倍后再进行比色。

答案:(1)蛋白胨、苯酚 (2)增加 稀释涂布 琼脂 (3)③ (4)0、0.2、0.4、0.6、0.8 20

25.(15 分)下表是某种微生物培养基的配方表,请据表回答下列问题:

牛肉膏	蛋白胨	NaCl	琼脂	水
0.5 g	1 g	0.5 g	2 g	200 mL

(1)此培养基的组成成分有五种,其中蛋白胨提供的营养物质是_____。

- (2)在培养基制备过程中,各种成分熔化后分装前,必需的操作是_____。
- (3)微生物培养最基本的要求是无菌操作。液体培养基应选用的灭菌方法是_____ (填“高压蒸汽灭菌”或“干热灭菌”),不选另外一种的原因是_____。
- _____。巴氏消毒法与煮沸消毒法相比,其优点是_____。
- (4)用稀释涂布平板法统计菌落数目时,最好选择菌落数在_____的平板进行计数。若统计出在一稀释倍数为 10^5 的平板上的平均菌落数为 30 个,所用稀释液的体积为 0.2 mL,则每毫升样品中的细菌数为_____个。
- (5)纯化菌株时,通常使用的划线工具是_____。划线的某个平板经培养后,第一划线区域的划线上都不间断地长满了菌落,第二划线区域的第一条线上无菌落,其他划线上有菌落。可能造成划线无菌落的失误操作有_____。
- _____。

解析:(1)蛋白胨可以为微生物提供碳源、氮源和维生素等。(2)配制培养基时为保证配制完成后无杂菌污染,各种成分在熔化后分装前必须先调节 pH,然后再灭菌。(3)液体培养基常用高压蒸

汽灭菌法进行灭菌,而干热灭菌法主要针对耐高温且需要保持干燥的物品,若选干热灭菌法来给液体培养基灭菌,会使培养基中的水分蒸发。与煮沸消毒法相比,巴氏消毒法既可以在较低温度下杀死大部分病菌,又能保持物品中营养物质损失较少和风味不变。(4)使用稀释涂布平板法统计活菌数目时,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。若统计出在稀释倍数为 10^5 的平板上的平均菌落数为 30 个,所用稀释液的体积为 0.2 mL,则每毫升样品中的细菌数为 $30 \div 0.2 \times 10^5 = 1.5 \times 10^7$ 个。(5)纯化菌株时,通常使用的划线工具是接种环。划线的某个平板经培养后,第一划线区域的划线上都不间断地长满了菌落,第二划线区域所划的第一条线上无菌落,其他划线上有菌落。可能造成划线无菌落的失误操作有接种环灼烧后未冷却,将菌种杀死;划线未从第一区域末端开始。

答案:(1)碳源、氮源、维生素 (2)调节 pH 再灭菌 (3)高压蒸汽灭菌 干热灭菌法针对耐高温且需要保持干燥的物品,若选干热灭菌法会使培养基中的水分蒸发 达到消毒目的的同时,营养物质损失较少 (4)30~300 1.5×10^7 (5)接种环 接种环灼烧后未冷却;划线未从第一区域末端开始

第 2 章

细胞工程

第 1 节 植物细胞工程

第 1 课时 植物细胞工程的基本技术

学习任务目标

- 1.运用结构与功能观,说出植物组织培养和植物体细胞杂交的原理。
- 2.采用模型与建模、归纳与概括的方法,说明植物组织培养和植物体细胞杂交的流程。
- 3.学习使用实验器具,能依据实验步骤,通过合作交流,共同完成菊花的组织培养操作。

问题式预习

一、细胞工程的概念

原理和方法	细胞生物学、分子生物学和发育生物学
操作水平	细胞器、细胞或组织水平
目的	获得特定的细胞、组织、器官、个体或其产品

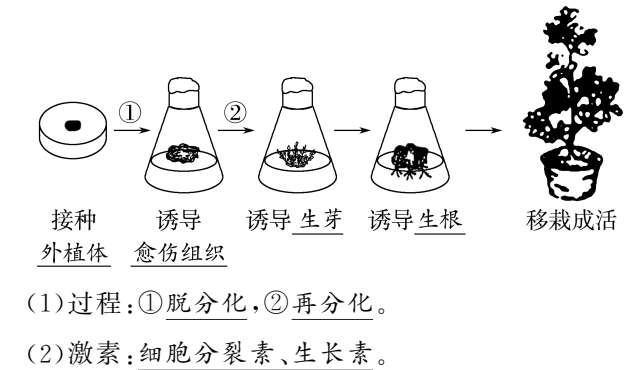
二、细胞的全能性

- 1.概念: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.细胞不能表现全能性的原因:特定的时间和空间条件下,细胞中的基因会选择性表达。

三、植物组织培养技术

- 1.原理:细胞的全能性。
- 2.概念
- (1)对象:离体的植物器官、组织或细胞等。
- (2)场所:人工配制的培养基。
- (3)结果:形成完整植株。

3.流程

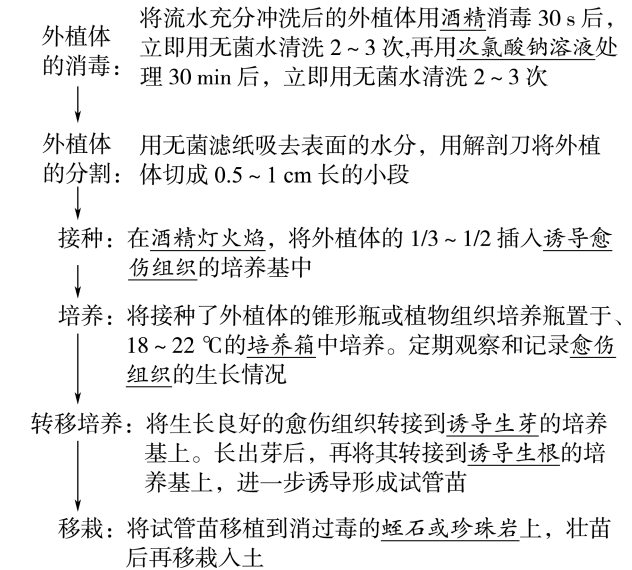


四、菊花的组织培养

1.实验原理

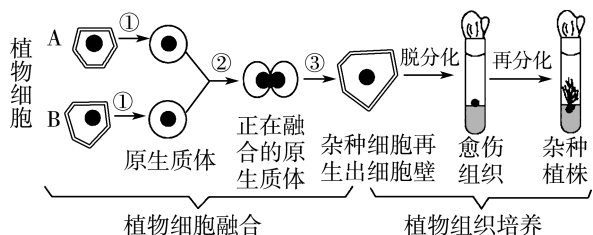
- (1)植物细胞一般具有全能性。在一定的激素和营养等条件的诱导下,已经分化的细胞可以经过脱分化,即失去其特有的结构和功能,转变成未分化的细胞,进而形成不定形的薄壁组织团块,这称为愈伤组织。它能重新分化成芽、根等器官,该过程称为再分化。
- (2)植物激素中生长素和细胞分裂素是启动细胞分裂、脱分化和再分化的关键激素,它们的浓度、比例等都会影响植物细胞的发育方向。将愈伤组织接种到含有特定激素的培养基上,就可以诱导其再分化成胚状体,长出芽和根,进而发育成完整的植株。

2.方法步骤



五、植物体细胞杂交技术

1. 过程



(1)过程①:用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁。

(2)过程②:用物理法或化学法诱导原生质体融合,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^{2+} —高 pH 融合法等。

(3)过程③:再生出新的细胞壁。

2. 概念

(1)原料:不同来源的植物体细胞。

(2)过程:在一定条件下融合成杂种细胞。

(3)结果:培育成新植物体。

3. 意义:打破生殖隔离,实现远缘杂交育种。

教材开发

1.[教材 P35“探究·实践”]愈伤组织分化出芽或根对培养基中生长素和细胞分裂素的用量的比例有何要求?

提示:细胞分裂素用量多先长出芽,生长素用量多先长出根。

2.[教材 P38 图 2-4]将图中的 A 和 B 两种细胞去除细胞壁后诱导融合,若只考虑两两融合,可以形成哪几种融合细胞? 符合要求的杂种细胞是哪一种?

提示:可以形成 AA、AB、BB 3 种杂种细胞。符合要求的是 AB。

概念辨析

1.一般情况下,分化程度越高的细胞其全能性越低。

(√)

2.无论脱分化还是再分化,过程中均需提供光照。

(×)

3.愈伤组织是外植体通过脱分化和再分化后形成的。

(×)

4.植物组织培养过程中生长素和细胞分裂素的比值始终不变。

(×)

5.利用物理法或化学法可以直接将两个植物细胞诱导融合。

(×)

6.细胞融合时不仅形成杂种细胞,还形成同种细胞融合的细胞。

(√)

7.用酶解法获得的植物原生质体失去了细胞全能性。

(×)

任务型课堂

任务一

植物组织培养

[探究活动]

植物组织培养技术已经是一种比较成熟的生物技术,植物的体细胞或生殖细胞均可以通过植物组织培养技术培养为新的个体。下图是植物组织培养过程示意图,据图探究下列问题:

外植体 → 愈伤组织 → 长出丛芽 → 生根 → 移栽成活

探究 1.进行组织培养时,哪些需要消毒? 哪些需要灭菌?

提示:双手、超净工作台、外植体需要消毒;培养基和所有器械需要灭菌。

探究 2.在植物组织培养过程中,诱导愈伤组织的培养基、诱导生芽的培养基和诱导生根的培养基的成分有什么不同?

提示:三种培养基的成分中生长素和细胞分裂素的比例不同。

探究 3.诱导愈伤组织期间一般不需要光,后续培养过程中,为什么每日要给予适当时间和强度的光照?

提示:后续培养过程中,给予适当时间和强度的光照的目的是诱导叶绿素的形成,进一步形成叶绿体进行光合作用。

[评价活动]

1.人参是名贵的中药材。研究人员利用植物组织培养技术,实现了人参的快速繁殖,流程如下图所示。下列叙述正确的是 ()



A.①过程需对外植体进行消毒以抑制细胞变异

B.②过程不会发生基因的选择性表达

C.③④过程所用的培养基的植物激素比例相同

D.⑤过程中存在细胞的分裂、生长、分化和凋亡

解析:①过程是接种外植体的过程,该过程需要消毒以实现无菌操作,A 错误;②过程是脱分化过

程,脱分化过程中也有基因的选择性表达,B 错误;
③过程和④过程分别是诱导生芽和诱导生根的过程,两个过程所用植物激素的比例不同,C 错误;⑤过程是形成新植株的过程,该过程中存在细胞的分裂、生长、分化和凋亡,D 正确。

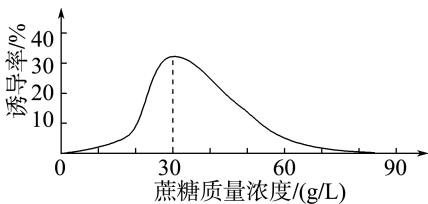
2.植物组织培养技术的过程一般为无菌培养物的建立→诱导愈伤组织→生芽生根培养→试管苗移栽及鉴定。下列相关叙述错误的是 ()

- A.为获得无菌培养物,外植体要消毒处理后才可接种培养
- B.将愈伤组织接种到含有特定激素的培养基上可诱导其再分化成胚状体
- C.降低培养基中生长素和细胞分裂素的比值,有利于诱导生芽
- D.组培苗锻炼时采用蛭石作为栽培基质的原因是蛭石带菌量低且营养丰富

D 解析:植物组织培养过程中应注意无菌操作,为获得无菌培养物,外植体要经过表面消毒处理后,才能进行培养,所用的培养基必须彻底灭菌,A 正确;将愈伤组织接种到含有特定激素的培养基上,可诱导其再分化成胚状体,B 正确;生长素和细胞分裂素的比值低时,有利于芽的形成,抑制根的分化,C 正确;组培苗锻炼时采用蛭石作为栽培基质的原因是蛭石比较松软,持水性也较好,有利于幼苗根和叶片的生长,D 错误。

3.月季因花色艳丽、芬芳迷人而被称为“花中皇后”,可用植物组织培养技术快速繁殖月季。请回答下列问题:

- (1)植物组织培养的实验操作流程:制备固体培养基、____、接种、培养、移栽。
- (2)在配制培养基时,需要计算用量,对母液进行稀释,将分装好的培养基进行____灭菌。
- (3)下图为培养基中蔗糖质量浓度对月季叶愈伤组织诱导率的影响。



- ①蔗糖质量浓度为____时,最有利于愈伤组织的形成,原因是_____。
- ②外植体形成愈伤组织的过程称为_____。
- ③蔗糖质量浓度为 90 g/L 时,无愈伤组织形成的原因最有可能是_____。

解析:(1)植物组织培养的实验操作流程是制备固体培养基、外植体消毒、接种、培养、移栽。(2)在配制培养基时,需要计算用量,然后根据各种母液的浓缩倍数对其进行稀释以配制培养基。(3)依题图分析可知,①蔗糖质量浓度为 30 g/L 时,诱导率最高,最有利于愈伤组织的形成,原因是该浓度的蔗糖溶液既能较好地调节培养基的渗透压,又能为细胞提供充足的碳源(和能源)。②外植体形成愈伤组织的过程称为脱分化。③蔗糖质量浓度为 90 g/L 时,无愈伤组织形成的原因最有可能是培养基渗透压过大,导致细胞因渗透失水而死亡。

答案:(1)外植体消毒 (2)高压蒸汽 (3)①30 g/L 该浓度的蔗糖既能较好地调节培养基的渗透压,又能为细胞提供充足的碳源(和能源) ②脱分化 ③培养基渗透压过大,导致细胞因渗透失水而死亡

任务总结

(1)细胞脱分化与再分化的比较

比较内容	脱分化	再分化
过程	外植体→愈伤组织	愈伤组织→幼苗
形成体特点	排列疏松、不定形的薄壁组织团块	有根、茎
需要条件	①离体; ②适宜的营养; ③生长素/细胞分裂素的比例适中; ④不需光照	①离体; ②适宜的营养; ③生长素/细胞分裂素的比例高或低诱导生根或生芽; ④光照

(2)植物激素在组织培养中的作用

生长素/细胞分裂素	作用效果
比值高时	利于生根
比值低时	利于生芽
比值适中	促进愈伤组织形成

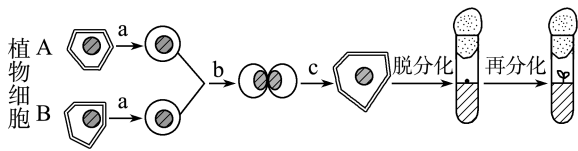
(3)组织培养的特别提醒

- ①组织培养成功的关键是避免微生物的污染,所有实验用具要严格灭菌,接种过程要进行严格的无菌操作。
- ②培养基中生长素和细胞分裂素的比例对器官的生成起决定作用。
- ③培养试管苗时先进行生芽培养,再进行生根培养,试管苗培养要在光照条件下进行。

任务二 植物体细胞杂交

[探究活动]

下图是植物体细胞杂交流程示意图。据此探究下列问题：



探究 1.a 过程使用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁利用了酶的什么特性？

提示：酶的专一性。

探究 2.植物体细胞杂交过程中，杂种植株属于哪种变异类型？属于什么植物？

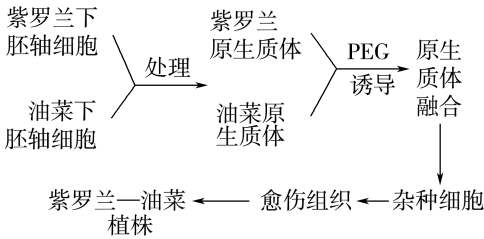
提示：杂种植株的变异类型属于染色体数目变异。杂种植株的染色体数目通常是两亲本细胞染色体数目之和，杂种植株属于异源多倍体植物。

探究 3.植物体细胞杂交过程中，得到的杂种植株是否可育？

提示：判断是否可育需看同源染色体能否正常联会。植物体细胞杂交得到的杂种植株中，若同源染色体能正常联会，则可育，否则不可育。

[评价活动]

1.紫罗兰花色丰富、抗虫性强、种子富含亚麻酸。为了让油菜具有紫罗兰的诸多优良性状，科研人员进行了下图所示实验。下列叙述错误的是（ ）



- A.制备原生质体需将植物组织切块用含纤维素酶和果胶酶的等渗或略高渗溶液处理
- B.细胞融合依赖生物膜的流动性，获得的融合原生质体需放在无菌水中以防杂菌污染
- C.由愈伤组织到杂种植株培养过程中，需调整生长素与细胞分裂素比例以诱导根、芽分化
- D.获得杂种植株后，可借助抗原—抗体杂交、病虫感染实验进行新性状表达的鉴定

B 解析：用酶解法制备原生质体时，需先用较高渗透压的溶液处理植物细胞，使细胞失水，处于微弱

的质壁分离状态，然后用纤维素酶和果胶酶催化去除细胞壁，获得原生质体，A 正确；细胞融合依赖于生物膜的流动性，但获得的原生质体（没有细胞壁）不能放在无菌水中，以防原生质体吸水涨破，B 错误；由愈伤组织到杂种植株培养过程中，需调整生长素与细胞分裂素比值以诱导根、芽分化，其中诱导生根时生长素与细胞分裂素的比值较高，而诱导芽分化时两者比值较低，C 正确；获得杂种植株后，可借助抗原—抗体杂交、病虫感染实验进行新性状表达的鉴定，其中前者属于分子水平的鉴定，后者属于个体生物学水平的鉴定，D 正确。

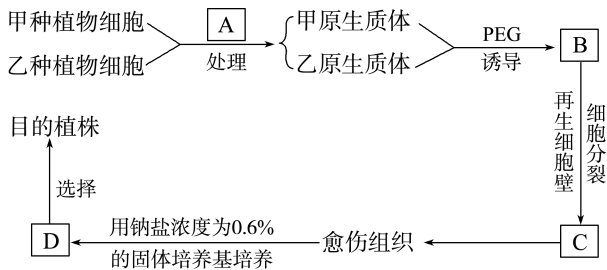
- 2.东方草莓具有抗寒特性，但仅在 7~9 月结果；安娜草莓可四季结果，但不耐寒。科研小组以上述两种草莓为材料，利用植物体细胞杂交技术培育抗寒的四季草莓，实验过程中还探究了不同浓度的 PEG 对两种草莓细胞的促融效果，实验变量及结果如下表所示。下列说法不正确的是（ ）

PEG 的浓度	20%	25%	30%	35%	40%
两种草莓细胞的融合率	0.68%	2.97%	6.03%	4.63%	2.80%

- A.诱导细胞融合前应用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁
- B.由表中实验结果可知高浓度的 PEG 会抑制原生质体的融合
- C.可通过细胞体积大小等指标从杂交体系中筛选出融合原生质体
- D.杂种细胞形成愈伤组织后需要更换新的培养基以诱导愈伤组织形成试管苗

B 解析：植物细胞由于有细胞壁的存在不能直接融合，需要用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁，A 正确；该实验无空白对照，不能看出高浓度的 PEG 会抑制原生质体融合，B 错误；通过细胞体积大小、有无某特定细胞器等可初步筛选杂种原生质体，C 正确；植物不同发育阶段对培养基的要求不同，杂种细胞形成愈伤组织后需要更换新的培养基以诱导愈伤组织形成试管苗，D 正确。

- 3.通过植物细胞工程技术，利用甲、乙两种植物的各自优势（甲耐盐、乙高产），培育高产耐盐的杂种植株。请完善下列实验流程并回答问题：



(1)植物细胞工程技术是育种的新方法,下列说法正确的是 ()

- A.图中 A 酶为纤维素酶和果胶酶
- B.图中的 B 为杂种细胞,标志融合成功
- C.图中“C→愈伤组织”的过程为再分化
- D.整个过程中都需要一定时间和一定强度的光照

(2)由 C 形成植株的过程利用了_____技术,愈伤组织形成 D 需要经过_____过程。整个培养过程要在_____的条件下进行。

(3)已知甲、乙植物分别为四倍体、二倍体,则“甲—乙植株”属于_____倍体植株。

(4)该技术获得的目的植株是否一定能表现出高产耐盐的优势? 说明你的理由。

解析:(1)由植物细胞变成原生质体,需要去掉细胞壁,细胞壁的主要成分是纤维素和果胶,酶具有专一性,所以用纤维素酶和果胶酶处理细胞壁,A 正确;两个原生质体经 PEG 诱导后融合,融合成功的标志是再生出细胞壁,B 错误;“C→愈伤组织”的过程为脱分化,C 错误;植物组织培养的脱分化阶段不需要一定时间和一定强度的光照,再分化阶段需要,D 错误。(2)C 细胞是杂种细胞,形成植株需要利用植物组织培养技术,经历细胞的脱分化过程和再分化过程。该过程中涉及培养基培养过程,所以无菌操作非常重要。(3)“甲—乙植株”是由二倍体和四倍体融合形成的,属于异源六倍体植株。(4)植物体细胞杂交虽然克服了远缘杂交不亲和的障碍,但植物体细胞杂交还存在许多问题没有解决,如让杂种植株表达出两种植物的优良性状还比较困难。

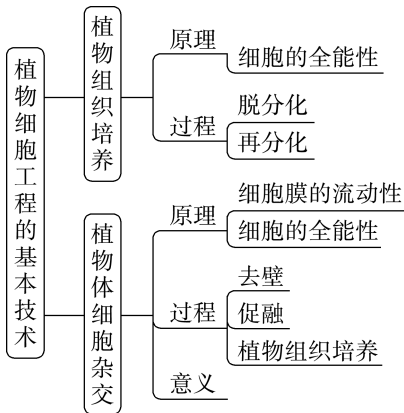
答案:(1)A (2)植物组织培养 再分化 无菌 (3)六 (4)不一定,因为植物体细胞杂交还存在许多问题没有解决,如让杂种植株表达出两种植物的优良性状还比较困难。

任务总结

植物体细胞杂交过程中的注意事项

- (1)用于植物体细胞杂交的培养基中要添加蔗糖溶液且浓度略大于植物细胞质浓度,不仅能为原生质体提供营养,还能维持一定的渗透压,使原生质体保持正常的形态。
- (2)体细胞(分别为 A、B)融合后培养基中主要有 5 种细胞类型(A、B、AA、BB、AB),其中融合细胞类型有 3 种(AA、BB、AB),而真正符合要求的是 AB,因此要对融合细胞进行筛选。
- (3)从生殖类型上看,植物体细胞杂交技术没有生殖细胞的形成和结合,属于无性生殖;变异类型是染色体数目变异,形成的是异源多倍体;因为含有两个亲本的遗传物质,所以理论上应该具有两个亲本的遗传性状。
- (4)植物体细胞杂交过程属于无性生殖,遗传物质的传递不遵循孟德尔遗传规律。
- (5)植物细胞融合前,需用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁。

► 提质归纳



课后素养评价(五)

基础性·能力运用

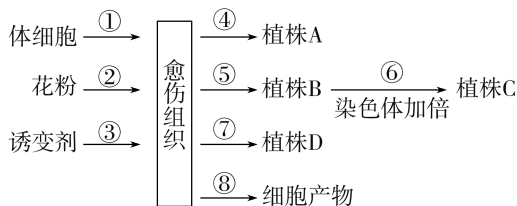
知识点1 植物组织培养技术

1. 以下不能说明细胞全能性的实验是 ()

- A. 菊花花瓣细胞培育出菊花新植株
- B. 紫色糯性玉米种子培育出植株
- C. 转入抗虫基因的棉花细胞培育出植株
- D. 番茄与马铃薯体细胞杂交后培育出植株

B 解析: 细胞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。种子本身就是一个幼体, 种子培育成植株是幼体生长、发育的过程, 并不能体现细胞具有全能性。

2. 愈伤组织是一种高度液泡化的无定形的薄壁组织团块, 在植物细胞工程中有着多种应用, 如下图所示。下列说法错误的是 ()



- A. ④⑤⑦过程均经历了再分化
- B. ⑧过程需利用液体培养基对愈伤组织细胞进行扩大培养
- C. 二倍体植株的花粉通过②⑤⑥过程获得的植株C是纯合子
- D. 通过③⑦过程得到的植株D即为性状优良的新品种

D 解析: ④⑤⑦过程为由愈伤组织到植株A、B、D的过程, 经历了再分化, A正确; 利用愈伤组织获得细胞产物一般采用液体培养基进行扩大化培养, B正确; 二倍体植株的花粉只有一个染色体组, 通过②⑤⑥过程使染色体数目加倍获得的C是纯合子, C正确; 用诱变剂处理愈伤组织依据的原理是基因突变, 由于基因突变具有不定向性, 因而获得的植株D不一定是性状优良的新品种, D错误。

3. 植物组织培养过程中的脱分化是指 ()

- A. 植物体的分生组织通过细胞分裂产生新细胞的过程
- B. 未成熟的种子经过长期培养, 长出幼苗的过程
- C. 植物的器官、组织或细胞, 通过离体培养产生愈伤组织的过程
- D. 取植物的枝芽培育成一株新植物的过程

C 解析: 植物细胞脱分化就是让已分化的细胞, 经过诱导后, 失去其特有的结构和功能, 而转变为未分化的细胞, 进而形成愈伤组织的过程, C正确。

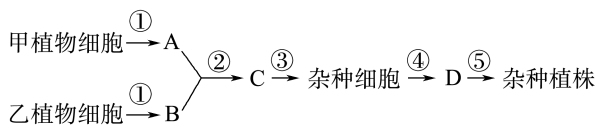
4. 下列有关菊花组织培养的叙述, 错误的是 ()

- A. 对外植体需要消毒处理, 对培养基需要高压蒸汽灭菌处理
- B. 产生愈伤组织是细胞脱分化的结果, 受基因选择性表达的调控
- C. 要先诱导生根后再转接到诱导生芽培养基上进一步形成试管苗
- D. 幼苗要先移植到消过毒的蛭石或者珍珠岩等环境下生活一段时间

C 解析: 用酒精对外植体进行消毒处理, 培养基需要高压蒸汽灭菌处理, A正确; 离体的植物细胞、组织或器官经过脱分化过程形成愈伤组织, 脱分化受基因选择性表达的调控, B正确; 将生长良好的愈伤组织转接到诱导生芽的培养基上培养, 先长出芽后再将其转接到诱导生根的培养基上, 进一步诱导形成试管苗, C错误; 将幼苗先移植到消过毒的蛭石或者珍珠岩等环境中, 待其长壮后再移栽入土, D正确。

知识点2 植物体细胞杂交技术

5. 酸性土壤是pH小于7的土壤的总称, 包括红壤、黄壤、砖红壤、赤红壤等。酸性土壤在世界范围内分布广泛, 在农业生产中占有重要地位。下图表示利用耐酸植物甲(4N)和高产植物乙(2N)培育高产耐酸杂种植物的过程, 图中序号表示过程或处理手段, 字母表示细胞、细胞结构或组织名称。下列叙述正确的是 ()



- A. ①过程用到的酶是纤维素酶, A、B表示原生质层
- B. ②过程可以使用PEG或灭活的病毒诱导
- C. ③过程得到的杂种细胞含有3个染色体组
- D. ④⑤过程使用的培养基需加入生长素和细胞分裂素, 但加入的比例不同

D 解析: ①过程是用酶解法去除植物细胞壁, 用到的酶是纤维素酶和果胶酶, A、B表示原生质体, A错误; ②过程可以使用聚乙二醇(PEG)融合法或离心法等诱导原生质体融合, 灭活病毒诱导法是诱导动物细胞融合的方法, 不能用此方法诱导植物原生质体融合, B错误; ③过程得到的杂种细胞含有两种细胞的遗传物质, 故有 $4+2=6$ 个染色体组, C错误; 决定植物④脱分化和⑤再分化的关键因素是植物激素的种类和比例, 特别是生长素和细胞分裂素, 它们的协同作用在组织培养过程中非常重要,

加入的比例不同,植物细胞的发育方向就不同,D正确。

- 6.在植物细胞工程中,当原生质体融合成一个细胞后,需要诱导产生细胞壁,参与这一过程的细胞器是 ()

A.叶绿体、高尔基体

B.线粒体、高尔基体

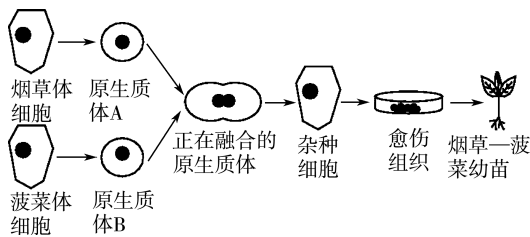
C.叶绿体、线粒体

D.线粒体、内质网

B 解析:细胞壁的形成过程与高尔基体密切相关,因为高尔基体产生的许多小囊泡聚集形成了细胞壁的前体,线粒体在此过程中提供能量,B正确。

综合性·创新提升

- 7.通过植物体细胞杂交可以获得“烟草—菠菜”杂种植株。下图为培育杂种植株过程示意图,下列操作不正确的是 ()



- A.在融合之前去除两种细胞的细胞壁
B.原生质体先进行脱分化处理再融合
C.原生质体融合后筛选杂种细胞继续培养
D.诱导杂种细胞形成愈伤组织,再分化成植株

B 解析:在进行植物体细胞杂交时,融合之前去除两种细胞的细胞壁,获得具有活力的原生质体,A正确;原生质体融合后筛选杂种细胞继续培养,杂种细胞经脱分化形成愈伤组织,B错误,C正确;诱导杂种细胞形成愈伤组织,再分化成植株,D正确。

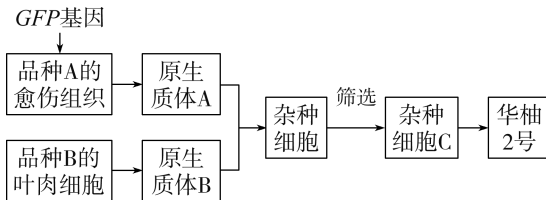
- 8.科学家把天竺葵的原生质体和香茅草的原生质体进行诱导融合,培育出的驱蚊草含有香茅醛,能散发出一种特殊的气味达到驱蚊且对人体无害的效果。下列关于驱蚊草培育的叙述中,错误的是 ()

- A.驱蚊草的培育属于细胞工程育种,其优点是能打破生殖隔离,实现远缘杂交
B.驱蚊草培育过程要用到纤维素酶、果胶酶、PEG等试剂或离心法、电融合法等方法
C.驱蚊草培育过程是植物体细胞杂交,不同于植物组织培养,无愈伤组织和试管苗形成
D.驱蚊草不能通过天竺葵和香茅草杂交而获得是因为不同物种间存在生殖隔离

C 解析:驱蚊草是把天竺葵的原生质体和香茅草的原生质体诱导融合培育成的,采用的植物体细胞杂交技术属于植物细胞工程,优势是打破物种间的生殖隔离,实现远缘杂交育种,A、D正确;植物细胞具有细胞壁,要用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁,得到原生质体,然后采用物理或化学的方法诱导不同的原生质体实现膜融合,B正确;从杂种细胞到

杂种植株,必须采用植物组织培养技术,经过脱分化和再分化等阶段,有愈伤组织、胚状体和试管苗的形成,C错误。

- 9.胞质杂种是指两个原生质体融合产生的杂种细胞,其中一个细胞的细胞核消失后,两个原生质体的细胞质杂交得到的个体。科研人员利用雄性不育的品种A与可育的品种B通过植物体细胞杂交技术获得了雄性不育的胞质杂种——华柚2号,制备过程如下图所示,其中GFP(绿色荧光蛋白)基因转入了品种A的细胞核基因组中。经检测,华柚2号的细胞核和叶绿体基因来自品种B,线粒体基因来自品种A,下列说法错误的是 ()

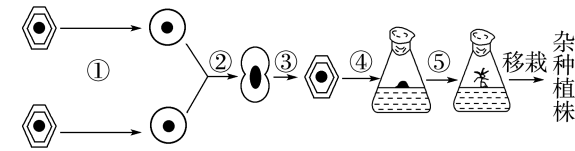


- A.制备原生质体时需用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁
B.聚乙二醇可用于诱导原生质体A和B的融合
C.华柚2号的获得说明控制雄性不育的基因可能位于线粒体中
D.应筛选发绿色荧光的杂种细胞C经植物组织培养技术获得华柚2号

D 解析:制备原生质体时需用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁,A正确;诱导植物原生质体融合可用聚乙二醇融合法,B正确;雄性不育的胞质杂种华柚2号的细胞核和叶绿体基因来自品种B,线粒体基因来自品种A,融合后品种A的细胞核消失,控制雄性不育的基因可能位于线粒体中,C正确;GFP(绿色荧光蛋白)基因转入了品种A的细胞核基因组中,而融合后的华柚2号不含品种A的细胞核,因此发绿色荧光的杂种细胞应被淘汰,D错误。

- 10.野生马铃薯品种的植株具有较强的抗病、抗虫、抗盐碱、抗寒能力,但块茎不能食用。某专家做实验研究,用野生马铃薯与普通马铃薯的体细胞进行杂交,培育出了生活能力强的杂交系马铃薯。据

图分析回答问题：



- (1) ①为利用酶解法去除细胞壁获得原生质体的过程，其中“酶解”所用的酶应该包括_____。
- (2) ②过程需要用到聚乙二醇(PEG)，其目的是_____。
- (3) 请用文字和箭头表示出④→⑤技术过程的实验流程：_____。此过程是_____的表现。
- (4) 通常在培养基上经过 24~48 h 培养，大部分原生质体会再生出细胞壁。可以取样，通过_____实验来鉴别细胞壁是否已经再生。

(5) 请说明运用植物体细胞杂交法最大的好处：_____。

解析：(1) 细胞壁主要由纤维素和果胶组成，可以用纤维素酶和果胶酶将其水解。(2) 在细胞融合时常常用聚乙二醇(PEG)作为诱导剂，诱导原生质体融合。(3) ④→⑤是杂种细胞经过脱分化、再分化形成幼苗的过程，这是植物细胞全能性的表现。(4) 有细胞壁的植物细胞可以进行细胞的质壁分离与复原实验。(5) 植物体细胞杂交不通过有性生殖，可以克服有性生殖远缘杂交不亲和的障碍，培育出兼有两物种品质的优良物种。

答案：(1) 纤维素酶、果胶酶 (2) 诱导原生质体融合 (3) 融合细胞 $\xrightarrow{\text{脱分化}}$ 愈伤组织 $\xrightarrow{\text{再分化}}$ 幼苗 植物细胞具有全能性 (4) 植物细胞的质壁分离与复原 (5) 可使本来存在生殖隔离的物种进行杂交，培育出兼有两物种品质的优良物种

第 2 课时 植物细胞工程的应用

学习任务目标

1. 采用归纳与概括、演绎与推理等方法，说明生物工程与技术的原理及其与社会之间的关系。
2. 基于植物组织培养技术在生产实践中的应用，说明植物细胞工程对生产的影响。

问题式预习

一、植物繁殖的新途径

1. 快速繁殖

快速繁殖	概念	快速繁殖优良品种的植物组织培养技术
	特点	① 无性繁殖，保持优良品种的遗传特性； ② 高效、快速地实现种苗的大量繁殖； ③ 可实现工厂化生产

2. 作物脱毒

作物脱毒	原因	无性繁殖过程中，病毒在作物体内逐年积累，就会导致作物产量降低，品质变差
	方法	选择植物无毒的茎尖组织培养获得脱毒苗。原因是植物顶端分生区附近的病毒极少，甚至无病毒

二、作物新品种的培育

1. 单倍体育种

- (1) 取材：花药(花粉)。
- (2) 过程：花药 $\xrightarrow{\text{离体培养}}$ 单倍体植株 $\xrightarrow[\text{染色体加倍}]{\text{人工诱导}}$ 纯合植株。
- (3) 优点
- ① 极大地缩短育种年限，节约了大量的人力和物力。

- ② 进行体细胞诱变育种和研究遗传突变的理想材料。
- (4) 应用
- ① 我国培育出世界上第一个单倍体作物新品种——单育1号烟草。
- ② 与常规育种结合，育成了水稻、玉米、油菜、甘蓝和甜椒等作物的新品种。

2. 突变体的利用

- (1) 产生：在植物的组织培养过程中，由于培养细胞一直处于不断增殖的状态而易受到培养条件和诱变因素(如射线、化学物质等)的影响而产生突变。
- (2) 利用：从产生突变的个体中筛选出对人们有用的突变体，进而培育成新品种。如：抗花叶病毒的甘蔗、抗盐碱的烟草等。

三、细胞产物的工厂化生产

1. 次生代谢物

- (1) 定义：不是(填“是”或“不是”)植物基本的生命活动所必需的产物。
- (2) 种类：小分子有机化合物，如：酚类、萜类和含氮化合物等。
- (3) 作用：在植物抗病、抗虫等方面发挥作用，也是很多药物、香料和色素的重要来源。

2. 植物细胞培养

(1) 含义: 指在离体条件下对单个植物细胞或细胞团进行培养使其增殖的技术。

(2) 优势: 不占用耕地, 几乎不受季节、天气等的限制, 对社会、经济、环境保护具有重要意义。

(3) 应用: 生产紫杉醇、紫草宁、人参皂苷等。

教材开发

1. [教材 P41“相关信息”] 初生代谢与次生代谢有何区别?

提示: 初生代谢是生物生长和生存所必需的代谢活动, 因此在整个生命过程中它一直进行着; 次生代谢不是生物生长所必需的, 一般在特定的组织或器官中, 并在一定的环境和时间条件下才进行。

2. [教材 P41 图 2-8] 画出细胞产物工厂化生产的流程

图, 并说出提取细胞产物应培养到的阶段。

提示:



若要提取细胞产物, 应培养到愈伤组织阶段。

概念辨析

1. 作物脱毒依据的原理是植物顶端成熟区附近几乎无病毒。 (×)
2. 二倍体植株的花粉经脱分化与再分化后得到稳定遗传的植株。 (×)
3. 单倍体育种是通过培养花药或花粉获得植株的育种方法。 (×)
4. 紫草宁是从紫草细胞中提取的一种药物和色素, 具有抗菌、消炎和抗肿瘤等活性。 (√)

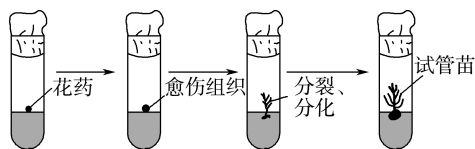
任务型课堂

任务

植物细胞工程的应用

[探究活动]

下图表示基因型为 AaBb 的水稻的花药通过无菌操作, 接入试管后, 在一定条件下形成试管苗的培育过程。已知花药壁细胞属于体细胞。据图探究下列问题:



探究 1. 试管苗可能出现的基因型有几种?

提示: 基因型为 AaBb 的水稻可产生 4 种花粉, 花药壁细胞也可经植物组织培养形成试管苗, 因此试管苗的基因型有 AaBb、AB、Ab、aB、ab 共 5 种。

探究 2. 一般常采用什么方法使试管苗细胞中的染色体数目加倍? 可否处理试管苗所结的种子?

提示: 用秋水仙素处理单倍体的芽尖, 抑制纺锤体形成, 从而使染色体数目加倍。不能处理试管苗的种子, 因为试管苗为单倍体, 高度不育, 难以得到其种子。

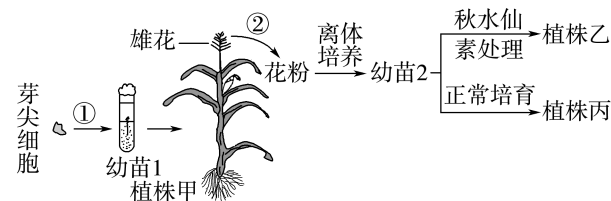
探究 3. 如果你是研究人员, 通过该过程没有获得优良高产新品种, 你应该怎么办?

提示: 可以诱变处理愈伤组织, 从突变体中筛选出优良高产新品种。

[评价活动]

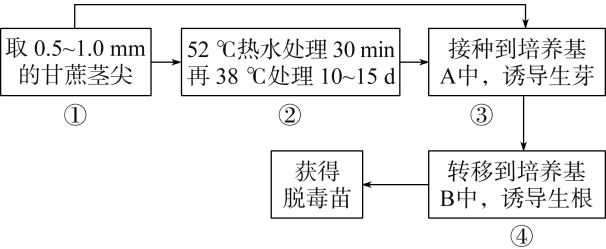
1. 下图为利用玉米 ($2n=20$) 的幼苗芽尖细胞 (基因型

AaBb) 进行实验的流程示意图。下列分析错误的是 ()



- A. 在正常情况下, 植株甲的基因型是 AaBb
 - B. 植株丙是由花粉发育而来的单倍体, 基因型可能有 4 种
 - C. 获得幼苗 1 和 2 的过程可体现出植物体细胞和生殖细胞的全能性
 - D. 秋水仙素能抑制纺锤体的形成, 则植株乙的体细胞可能都含有四个染色体组
- D 解析:** ①过程为植物组织培养, 基因型未发生改变, 植株甲的基因型仍是 AaBb, A 正确; 植株丙是由花粉发育而来的单倍体, 基因型可能有 AB、Ab、aB、ab 4 种, B 正确; 获得幼苗 1 的过程体现了植物体细胞的全能性, 获得幼苗 2 的过程体现了植物生殖细胞的全能性, C 正确; 秋水仙素抑制纺锤体的形成, 使单倍体植株乙的体细胞染色体加倍, 含两个染色体组, D 错误。

2. 下图为培育甘蔗脱毒苗的两条途径, 研究发现经②过程获得的幼苗脱毒效果更好。下列叙述错误的是 ()



- A.上述过程属于植物细胞工程技术的应用
- B.若不考虑变异,获得的脱毒苗的基因型与外植体所在植株完全相同
- C.②过程的作用是使组织中的病毒在图示处理温度下部分或全部失活
- D.过程③和④所用培养基中植物激素的配比相同

D 解析:题图中脱毒苗的培育过程属于植物细胞工程技术的应用,A 正确;获得脱毒苗的过程属于有丝分裂,因此若不考虑变异,其基因型与外植体所在植株完全相同,B 正确;病毒成分主要是核酸和蛋白质,高温会使蛋白质失活,因此②过程的作用是使组织中的病毒在图中处理温度下部分或全部失活,C 正确;过程③和④所用培养基中生长素和细胞分裂素的含量和比例不同,D 错误。

3.(2023·山东卷)利用植物细胞培养技术在离体条件下对单个细胞或细胞团进行培养使其增殖,可获得植物细胞的某些次生代谢物。下列说法正确的是 ()

- A.利用该技术可获得某些无法通过化学合成途径得到的产物
- B.植物细胞体积小,故不能通过该技术进行其产物的工厂化生产
- C.次生代谢物是植物所必需的,但含量少,应选择产量高的细胞进行培养
- D.该技术主要利用促进细胞生长的培养条件提高单个细胞中次生代谢物的含量

A 解析:若植物细胞的某些次生代谢物不能或难以通过化学合成途径得到,则可通过植物细胞培养技术获得,A 正确;植物细胞体积小,可以利用植物细胞培养技术,在离体条件下对单个细胞或细胞团

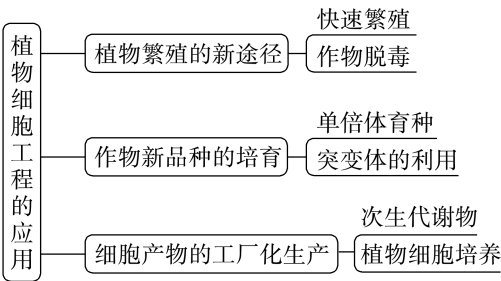
进行培养使其大量增殖,获得大量植物细胞的某些次生代谢物,故可通过该技术进行植物细胞产物的工厂化生产,B 错误;次生代谢物不是植物生长所必需的,C 错误;细胞产物的工厂化生产主要是利用促进细胞分裂的培养条件,增加细胞数量,以从细胞群中获得次生代谢物,并不能提高单个细胞中次生代谢物的含量,D 错误。

任务总结

植物组织培养与植物细胞培养的比较

项目	植物组织培养	植物细胞培养
利用原理	细胞的全能性	细胞增殖
培养基	固体培养基	液体培养基
培养对象	离体的植物器官、组织、细胞或原生质体	由愈伤组织分散得到的悬浮细胞
培养过程	外植体 脱分化→愈伤组织 再分化→芽、根→植物幼苗	愈伤组织→分散成悬浮细胞→继续培养→细胞次生代谢物
培养目的	植物幼苗	细胞的次生代谢物
联系	植物组织培养是植物细胞培养的基础,它们都属于植物细胞工程的范畴	

▶ 提质归纳



课后素养评价(六)

基础性·能力运用

知识点 1 植物繁殖的新途径

1.马铃薯利用块茎进行无性生殖,种植的世代多了以后往往会感染病毒而减产,为此农户都希望得到无病毒的幼苗进行种植。获得无病毒幼苗的最佳办法是 ()

- A.选择优良品种进行杂交
- B.进行远缘植物体细胞杂交
- C.利用茎尖进行组织培养
- D.人工诱导基因突变

C 解析:马铃薯种植的世代多了以后往往因感染病毒而减产,这不是遗传物质变化造成的,因此不需要考虑根据遗传变异的原理进行育种。植物顶端分生区附近(如茎尖)几乎不含病毒,可以通过组织培养获得脱毒苗。

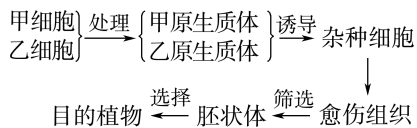
2. 下列属于植物的快速繁殖技术的是 ()

- A. 兰花的芽尖组织培育成兰花幼苗
- B. 水稻种子萌发并长成新个体
- C. 扦插的葡萄枝条长成新个体
- D. 柳树芽发育成枝条

A 解析:植物的快速繁殖技术是快速繁殖优良品种的植物组织培养技术,也叫微型繁殖技术。水稻种子萌发并长成新个体、柳树芽发育成枝条均属于个体发育;扦插的葡萄枝条长成新个体属于无性繁殖中的营养繁殖。

知识点 2 作物新品种的选育

3. 细胞工程在动植物育种、药物提取、药物生产等领域的应用十分广泛。下图为植物细胞工程育种的流程,下列叙述正确的是 ()



- A. 甲、乙原生质体融合体现了生物膜的选择透过性
- B. 诱导原生质体融合的物理法包括 PEG 融合法、高 Ca^{2+} —高 pH 融合法等
- C. 甲、乙原生质体诱导融合成功的标志是杂种细胞再生出细胞膜
- D. 培育出杂种目的植物的关键性植物激素是生长素和细胞分裂素

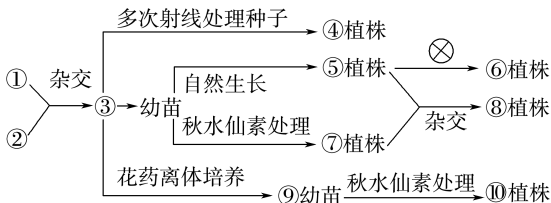
D 解析:甲、乙原生质体融合体现了生物膜的流动性,A 错误;诱导原生质体融合的物理法包括离心法和电融合法等,PEG 融合法是化学法,B 错误;甲、乙原生质体诱导融合成功的标志是杂种细胞再生出细胞壁,C 错误;培育出杂种目的植物的关键性植物激素是生长素和细胞分裂素,两者是启动细胞分裂、细胞分化的关键性激素,D 正确。

4. 下列不属于单倍体育种优点的是 ()

- A. 缩短育种年限
- B. 得到稳定遗传的优良品种
- C. 节约人力、物力
- D. 突变率高

D 解析:与常规的杂交育种方法相比较,单倍体育种明显缩短了育种年限,节约了人力、物力,A、B、C 不符合题意。突变率高是诱变育种的优点,D 符合题意。

5. 下图表示利用二倍体植株①和②进行育种的过程,下列分析正确的是 ()



- A. ①②③⑤⑥过程育种方法的优点是明显缩短育种年限
- B. 秋水仙素能抑制着丝粒的分裂,使染色体数目加倍
- C. ⑤⑦为同一个物种,杂交后能产生可育后代
- D. ③→⑨过程得到单倍体幼苗,用到了植物组织培养技术

D 解析:①②③⑤⑥过程育种方法是杂交育种,其缺点是育种年限较长,A 错误;秋水仙素能抑制纺锤体的形成,使染色体数目加倍,而不影响着丝粒的分裂,B 错误;二倍体植株⑤和四倍体植株⑦杂交得到三倍体植株⑧,植株⑧在减数分裂过程中会因同源染色体联会紊乱而不能产生可育配子,从而表现为高度不育,故⑤⑦不是同一个物种,C 错误;③→⑨过程用花药离体培养来获得单倍体幼苗,用到了植物组织培养技术,D 正确。

知识点 3 细胞产物的工厂化生产

6. 下列关于细胞产物的工厂化生产的叙述,错误的是 ()

- A. 细胞产物的工厂化生产是植物细胞工程的重要用途之一
- B. 培养过程中需要脱分化形成愈伤组织,然后悬浮培养愈伤组织细胞
- C. 培养的细胞收集后一般要破碎提取有效成分
- D. 培养的愈伤组织需要经过再分化产生特定的组织细胞后才能产生特定的细胞产物

D 解析:细胞产物的工厂化生产是植物细胞工程的重要用途之一,A 正确;培养过程中需要脱分化形成愈伤组织,然后悬浮培养愈伤组织细胞,B 正确;培养的细胞收集后一般要破碎提取有效成分,C 正确;培养的愈伤组织不需要再分化就能产生特定的细胞产物,D 错误。

7. 植物细胞工程包括植物组织培养、植物体细胞杂交等技术,在快速繁殖、作物育种及提高作物产量等方面有广泛应用。下列叙述不正确的是 ()

- A. 植物组织培养技术可以实现人参皂苷、紫杉醇等细胞产物的工厂化生产

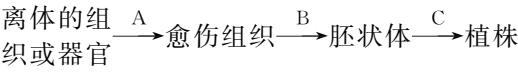
- B.利用植物组织培养技术培育脱毒苗,获得抗病的新品种
- C.杂种细胞再生细胞壁时,需在与细胞液浓度相当的缓冲液中进行
- D.植物体细胞杂交技术克服了生物远缘杂交不亲和的障碍

B 解析:利用植物组织培养技术可以实现细胞产

物的工厂化生产,这是植物组织培养技术的应用之一,A 正确;利用植物组织培养技术培养的脱毒苗,病毒极少,甚至无病毒,但不一定具有抗病能力,B 错误;杂种细胞再生细胞壁时,需要在与细胞液浓度相当的缓冲液中进行,以免细胞过度吸水或失水,C 正确;植物体细胞杂交技术最大的优点就是克服生物远缘杂交不亲和的障碍,D 正确。

综合性·创新提升

8.植物组织培养的过程如下图所示。请分析并回答问题:



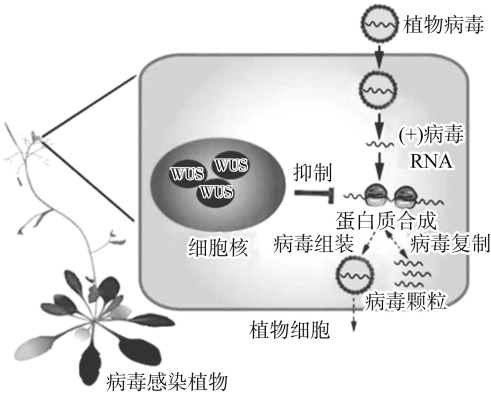
- (1)愈伤组织是由离体的组织或器官通过 A _____ 过程获得的,B、C 过程是通过细胞的 _____ 实现的。
- (2)胚状体根据来源不同,可以分为体细胞胚和花粉胚。
- ①用花药离体培养可获得花粉胚,同种植物的花粉胚与体细胞胚在染色体数目上的主要区别是 _____。
- ②用 _____ 处理二倍体植物的花粉胚,能获得可育的植株,该过程是 _____ 育种中不可缺少的步骤。
- ③一定条件下培养离体细胞可形成体细胞胚,进而发育成完整的植株,其根本原因是每个细胞都含有 _____,这一过程体现了 _____。

解析:(1)由离体组织或器官获得愈伤组织的过程是脱分化过程,由愈伤组织通过再分化和培养可获得新的植株,这一过程不仅有细胞的分裂过程,也有细胞的分化过程。(2)二倍体的花粉胚细胞内含一个染色体组,由其发育成的植株高度不育,若要获得可育植株,需要对花粉胚进行染色体数目加倍处理,如用秋水仙素处理,这样的育种方式称为单倍体育种。

答案:(1)脱分化 分裂和分化 (2)①花粉胚细胞中的染色体数目是体细胞胚的一半 ②秋水仙素 单倍体 ③本物种的全套基因(或全套遗传信息) 植物细胞的全能性

9.束顶病毒是香蕉的严重病害之一,生产上常用感病植株的茎尖作外植体以获得脱毒苗。“茎尖脱毒”是迄今为止清除植物体内病毒最有效的生物技术,但其深层机理一直未被揭示。我国科学家研究发现植物茎尖无法被病毒侵染,是因为存在于茎尖的

植物干细胞内免疫病毒关键因子——WUS 蛋白的作用,其作用机制如下图所示。请分析回答下列问题:



- (1)“茎尖脱毒”技术属于植物细胞工程中 _____ 技术在生产实践上的应用。
- (2)培养前,需对茎尖进行 _____ 处理。写出培育香蕉脱毒苗的基本步骤: _____。
- (用文字和箭头表示)。
- (3)为提高香蕉脱毒苗培育的成功率,科研人员进行了相关实验,结果如表所示。请写出该实验对香蕉脱毒苗培育的启示: _____。

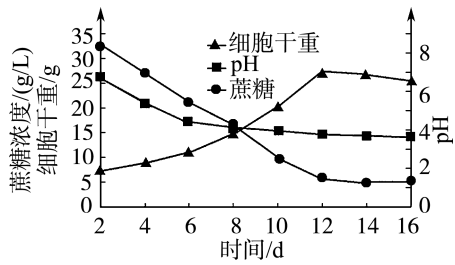
茎尖预处理	成活茎尖数	成活率/%	脱毒茎尖数	脱毒率/%
未低温保存	30	93.75	8	26.67
超低温保存	33	55.00	20	60.61

(4)干细胞的特点是 _____。当植物受到病毒侵染时,植物干细胞内的 WUS 蛋白表达量会 _____。WUS 蛋白的作用机制显示,它可以 _____,从而减少病毒的增殖和传播。

解析:(1)“茎尖脱毒”技术属于植物组织培养技术在生产实践上的应用。(2)获得脱毒苗需对培养的茎尖进行消毒处理。培育香蕉脱毒苗的基本步骤:取茎尖组织经脱分化培养获得愈伤组织,接种在再分化培养基上,经再分化长出芽、根等,获得试管苗,再经筛选、鉴定,炼苗后获得脱毒苗。(3)分析表格可知,对茎尖超低温保存,可提高脱毒率,因此为获得较好的脱毒效果,培育香蕉脱毒苗时,可以先将离体的茎尖进行超低温保存,然后再进行组织培养。(4)干细胞具有分裂能力和分化潜能。根据题图可知,当植物受到病毒侵染时,植物干细胞内的WUS蛋白表达量会增加。WUS蛋白可以抑制病毒蛋白质的合成,从而导致病毒颗粒不能组装。

答案:(1)植物组织培养 (2)消毒 茎尖组织
脱分化→愈伤组织→再分化→芽、根等→试管苗→筛选鉴定→脱毒苗 (3)培育香蕉脱毒苗时,可以先将离体的茎尖进行超低温保存,然后再进行组织培养 (4)具有分裂能力和分化潜能(或具有自我更新能力及分化潜能) 增加 抑制病毒蛋白质的合成(或抑制病毒的mRNA与宿主细胞的核糖体的结合)

10.为了获得植物次生代谢物,先用植物外植体获得愈伤组织,然后在液体培养基中悬浮培养。请回答下列问题:



(1)在愈伤组织悬浮培养时,细胞干重、蔗糖浓度和pH的变化如上图所示。细胞干重在12 d后下降的原因有_____ ;培养液中蔗糖的作用是_____、_____。

(2)多倍体愈伤组织细胞产生的次生代谢物量常高于二倍体。二倍体愈伤组织细胞经_____处理,会产生染色体数目加倍的细胞。为检测愈伤组织细胞染色体数目,压片前常用纤维素酶和_____酶解离愈伤组织。若愈伤组织细胞(染色体数为 $2n$)经诱导处理后,观察到染色体数为 $8n$ 的细胞,对此现象的合理解释是_____、_____、_____。

解析:(1)随着蔗糖的消耗,营养供应减少,同时,细胞代谢产物、废物增加,使pH降低(偏酸),不利于细胞生长。培养基中的蔗糖具有提供能源、调节渗透压的作用。(2)用秋水仙素或低温处理都可诱导细胞染色体数目加倍。用纤维素酶和果胶酶处理细胞壁,可以使细胞之间易于分离(解离)。愈伤组织细胞(染色体数为 $2n$)诱导多倍体时,诱导后染色体数加倍为 $4n$ 的体细胞,其在有丝分裂后期,着丝粒分裂,染色体数目暂时为 $8n$;或是诱导后染色体数加倍为 $8n$ 的体细胞,其在有丝分裂中期,染色体数目暂时为 $8n$ 。

答案:(1)蔗糖浓度下降,pH降低 提供能源 调节渗透压 (2)秋水仙素(或低温) 果胶 经加倍到 $4n$ 的细胞处于有丝分裂后期 经加倍到 $8n$ 的细胞处于有丝分裂中期

第2节 动物细胞工程

第1课时 动物细胞培养

学习任务目标

- 1.运用结构与功能观等观念,理解动物细胞培养的条件。
- 2.采用归纳与概括、演绎与推理等方法,说明动物细胞的培养过程。
- 3.对干细胞应用于治疗人类疾病等社会热点议题进行科学的评价。

问题式预习

一、动物细胞工程

常用技术 { 动物细胞培养(动物细胞工程的基础)
动物细胞融合
动物细胞核移植

二、动物细胞培养

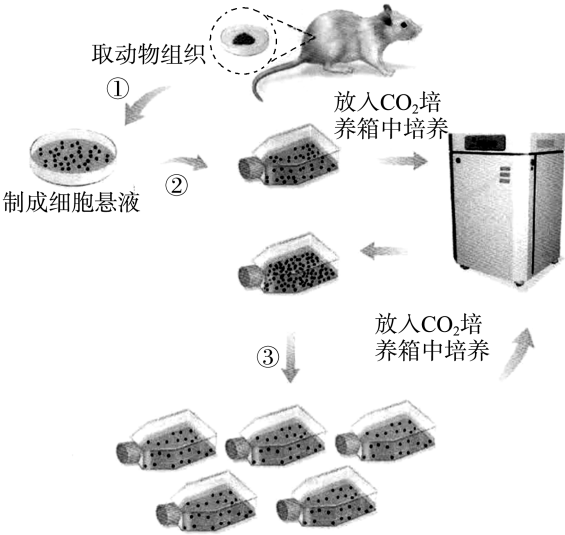
1.概念:从动物体中取出相关的组织,将它分散成单个细胞,然后在适宜的培养条件下,让这些细胞生长和增殖的技术。

2.地位:动物细胞培养是动物细胞工程的基础。

3.条件

- (1)营养 { 营养物质:糖类、氨基酸、无机盐、维生素等
血清:补充培养液中尚未研究清楚的成分
- (2)无菌、无毒的环境:培养液和所有培养用具灭菌处理,无菌环境下进行操作,定期更换培养液,清除代谢物。
- (3)温度、pH和渗透压 { 温度:哺乳动物多以 $(36.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 为宜
pH:7.2~7.4
渗透压
- (4)气体环境 { O_2 :细胞代谢所必需的
 CO_2 :维持培养液的 pH

4.动物细胞培养的过程



- (1)过程①处理方法有用机械的方法或用胰蛋白酶、胶原蛋白酶等处理。
- (2)过程②为原代培养,培养的动物细胞有两类:一类悬浮在培养液中生长繁殖;另一类贴附于某些基质表面生长繁殖。

(3)进行过程③时,悬浮培养的细胞直接用离心法收集;贴壁细胞需要重新用胰蛋白酶等处理,然后用离心法收集。

(4)过程③为传代培养,进行过程③的原因主要有细胞密度过大、有害代谢物积累、营养物质缺乏和接触抑制等。

三、干细胞培养及其应用

1.干细胞的种类、来源和功能

种类	来源	功能或应用
胚胎干细胞	早期胚胎	具有分化为成年动物体内的任何一种类型的细胞,并进一步形成机体的所有组织和器官甚至个体的潜能
成体干细胞	成体组织或器官内,包括骨髓中的造血干细胞、神经系统中的神经干细胞和睾丸中的精原干细胞等	只能分化成特定的细胞或组织,不具有发育成完整个体的能力
诱导多能干细胞(iPS细胞)	体外诱导成纤维细胞(T细胞、B细胞)产生	能分化形成各种功能的细胞,用于治疗疾病

2.应用:可以分化形成各种功能细胞,通过移植用于治疗疾病。

教材开发

1.[教材 P44 正文]细胞贴壁和接触抑制现象的含义分别是什么?

提示:细胞贴壁是指体外培养的细胞贴附在某些基质表面生长的现象;接触抑制是指当贴壁细胞分裂生长到表面相互接触时,细胞停止分裂增殖的现象。

2.[教材 P46“相关信息”]科学家已尝试采用多种方法来制备 iPS 细胞,尝试说出几种获取 iPS 细胞的方法。

提示: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。

概念辨析

1.将动物细胞置于含有 95%O₂ 和 5%CO₂ 混合气体的 CO₂ 培养箱中进行培养。(×)

2. 动物细胞在培养过程中都具有细胞贴壁的现象。 (×)
3. 贴壁细胞用胰蛋白酶处理使之分散成单个细胞, 然后再用离心法收集。 (√)
4. 胚胎干细胞是发现最早、研究最多、应用也最为成熟的一类成体干细胞。 (×)

5. iPS 细胞类似于胚胎干细胞, 又称为诱导多能干细胞。 (√)
6. 神经干细胞可用于治疗帕金森病和阿尔茨海默病等。 (√)

任务型课堂

任务一

动物细胞的培养条件和过程

[探究活动]

在治疗烧伤病人时, 经常采用的方法是取烧伤病人的健康皮肤进行自体移植。但对一个大面积烧伤的病人来说, 自体皮肤非常有限, 使用他人皮肤来源不足, 而且会产生排斥反应。利用细胞培养可以解决这个问题, 在体外进行动物细胞培养, 需要与内环境相似的物质条件。据此探究下列问题:

探究 1. 动物细胞培养需要提供什么样的气体环境? 所需的气体各起什么作用?

提示: 动物细胞培养所需气体主要有 O_2 和 CO_2 。 O_2 是细胞代谢所必需的, CO_2 的主要作用是维持培养液的 pH。

探究 2. 动物细胞培养时, 为什么要在培养基中加入血清等天然成分?

提示: 因为血清中含有多种维持细胞正常代谢和生长的物质, 如蛋白质、氨基酸、未知的促生长因子等。因此动物细胞培养时, 为保证细胞能顺利生长和繁殖, 一般需添加血清等天然成分。

探究 3. 为什么动物细胞培养时有贴壁生长的特性?

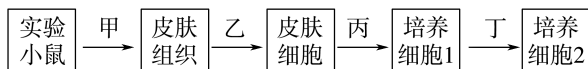
提示: 动物细胞膜上的糖蛋白使细胞具有黏着性。

探究 4. 根据癌细胞的特点思考, 若培养癌细胞, 有没有接触抑制现象?

提示: 癌细胞细胞膜上的糖蛋白较少, 使细胞的黏着性降低, 在适宜的条件下可以无限增殖, 因此培养的癌细胞无接触抑制现象, 在培养瓶中能够生长成多层。

[评价活动]

1. 实验小鼠皮肤细胞培养的基本过程如图所示。下列叙述错误的是 ()



- A. 培养液中往往添加一定量抗生素, 以防止培养过程中被污染

B. 乙过程对皮肤组织可用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理

C. 丙过程属于原代培养, 原代培养的细胞只能悬浮在培养液中生长

D. 丁过程属于传代培养, 培养的皮肤细胞可能会出现接触抑制现象

C 解析: 抗生素具有杀菌作用, 为防止培养液被污染, 可在培养液中加入一定量的抗生素, A 正确; 乙表示将皮肤组织处理分散成单个皮肤细胞, 该过程可用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理, B 正确; 丙过程表示原代培养, 皮肤细胞原代培养的过程中会出现接触抑制和贴壁生长, C 错误; 丁过程是传代培养, 培养的皮肤细胞可能会出现接触抑制现象, 此时需要分瓶培养, D 正确。

2. 下列属于动物细胞培养与植物组织培养区别的是 ()

A. 动物细胞培养基与植物细胞培养基的成分有所不同

B. 动物细胞培养不需要在无菌条件下进行

C. 动物细胞培养可发生遗传物质改变, 而植物组织培养不发生

D. 植物组织培养和动物细胞培养都体现了细胞的全能性

A 解析: 动物细胞培养所用的培养基是液体培养基, 其中通常含有葡萄糖、氨基酸、无机盐、维生素和动物血清等; 植物组织培养所用的培养基是固体培养基, 其中通常含有蔗糖、氨基酸、无机盐和植物激素等, A 正确。动物细胞培养与植物组织培养都需要在无菌条件下进行, B 错误。动物细胞培养与植物组织培养都可能发生遗传物质改变, C 错误。植物组织培养的结果是植物体, 体现了细胞的全能性; 动物细胞培养的结果是细胞, 原理是细胞增殖, 不能体现细胞的全能性, D 错误。

任务总结

(1)动物细胞培养与植物组织培养的区别

项目	动物细胞培养	植物组织培养
原理	细胞的增殖	植物细胞的全能性
选材	动物胚胎或幼龄动物的器官、组织	离体的细胞、组织、器官
培养基	状态	液体
	组成成分	葡萄糖、氨基酸、无机盐、维生素、血清等
		固体
		矿质元素、蔗糖、维生素、植物激素、有机添加物等

续表

项目	动物细胞培养	植物组织培养
细胞全能性	不体现	体现
结果	获得大量细胞或细胞产物	获得植物个体或愈伤组织

(2)原代培养与传代培养的比较

- ①原代培养:细胞悬液第一次在瓶中培养,没有分瓶培养之前的细胞培养;原代培养的细胞核型正常。
- ②传代培养:原代培养的细胞生长到接触抑制时,要用胰蛋白酶等处理,进行分瓶扩大培养,即传代培养;一般情况下,细胞传至10~50代后,出现核型异常。

任务二

干细胞培养及其应用

[探究活动]

干细胞的培养成功是动物细胞培养领域的重大成就之一,干细胞的应用前景广阔,请查阅资料并探究下列问题:

探究 1.胚胎干细胞的来源是什么?为什么可分化为动物体内任何一种组织?

提示:胚胎干细胞来源于早期胚胎。胚胎干细胞具有发育的全能性。

探究 2.iPS 细胞为什么可以解决供体器官不足和器官移植后免疫排斥的问题?

提示:一方面,iPS 细胞通过诱导分化,可以培育出人造器官,从而解决了供体器官不足的问题。另一方面,因为是自身细胞经诱导分化形成的,所以理论上无免疫排斥反应。

[评价活动]

1.南京农业大学的科研人员用动物干细胞研发出我国第一块肌肉干细胞培养肉,该团队使用第六代猪肌肉干细胞,经过约 20 d 培养得到重达 5 g 的培养肉。下列叙述错误的是 ()

- A.动物细胞进行原代培养或传代培养时所用的培养瓶应为松盖培养瓶
- B.在培养过程中通常要通入 5% 的 CO₂,以刺激细胞呼吸
- C.为了保证无菌的环境,要在培养液中加入适量抗生素
- D.胚胎干细胞必须从胚胎中获取,造血干细胞不属于胚胎干细胞

B 解析:进行原代培养或传代培养时,培养过程中

通常采用松盖培养瓶,防止微生物污染,A 正确;培养过程中通入 5% 的 CO₂ 主要是为了维持培养液 pH 的相对稳定,B 错误;为了防止培养过程中杂菌污染,可向培养基中加入适量抗生素,C 正确;胚胎干细胞存在于早期胚胎中,因此必须从胚胎中获取,胚胎干细胞属于全能干细胞,而造血干细胞属于多能干细胞,D 正确。

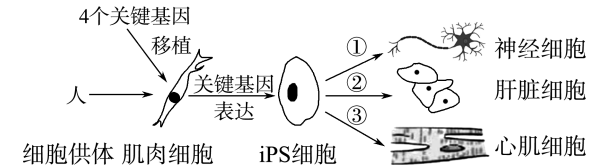
2.人脐带间充质干细胞(hUCMSCs)广泛应用于神经系统、心血管系统和骨骼肌、皮肤创面的再生和修复。科研人员采用含不同浓度血清的培养液培养 hUCMSCs,48 h 后收集各组上清液,用以培养角膜上皮细胞(HCECs),过程及结果如下表所示。下列叙述错误的是 ()

实验步骤	A 组	B 组	C 组	D 组
配制含不同浓度血清的培养液	1%	3%	5%	10%
培养 hUCMSCs 48 h 后,取上清液	进行	进行	进行	进行
用上清液培养 HCECs	进行	进行	进行	进行
24 h 后测吸光度(数值越大代表活细胞数目越多)	0.67	0.68	0.52	0.48

- A.HCECs 增殖需要的氨基酸、葡萄糖主要由上清液提供
- B.用胰蛋白酶处理使 HCECs 分散以检测吸光度
- C.血清浓度越低越有利于获得更多的 HCECs
- D.hUCMSCs 可能产生某种物质调控 HCECs 增殖
- C 解析:根据题意可知,培养 HCECs 的不是血

清,所以 HCECs 增殖所需要的氨基酸、葡萄糖等来自培养 hUCMSCs 48 h 后得到的上清液,A 正确;为检测 HCECs 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,血清浓度较低时,活细胞数目较多,但 A 组和 B 组的血清浓度不同,活细胞数量基本相同,所以并非血清浓度越低,越有利于获得更多的 HCECs,C 错误;利用不同浓度的血清培养 hUCMSCs 得到的上清液来培养 HCECs,和 A、B 两组相比,C、D 两组的活细胞数量更少,其原因可能是 hUCMSCs 在培养过程中产生某种物质调控 HCECs 增殖,D 正确。

3.科学家将 4 个关键基因移植入已分化的肌肉细胞中并表达,使这个细胞成为诱导多能干细胞(iPS 细胞),下图为该实验示意图。下列有关叙述正确的是 ()



- A.应用该技术可缓解器官移植时器官供应不足的问题
- B.iPS 细胞所携带的遗传信息与肌肉细胞相同
- C.关键基因表达使细胞功能趋向专门化,降低了细胞的分化程度
- D.患者的 iPS 细胞分化而来的细胞移植回体内后,仍会发生免疫排斥反应
- A 解析:用 iPS 细胞诱导分化成需要的器官后进行自体移植,可以避免免疫排斥反应,可缓解器官移植时器官供应不足的问题,A 正确,D 错误;将 4

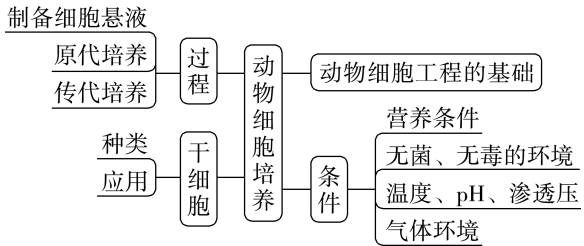
个关键基因移植入已分化的肌肉细胞中并表达,使这个细胞成为多能干细胞(iPS 细胞),可见 iPS 细胞所携带的遗传信息与肌肉细胞不同,B 错误;题图中关键基因表达形成 iPS 细胞,使肌肉细胞变成多能干细胞,没有使细胞功能趋向专门化,C 错误。

任务总结

两类干细胞的比较

名称	胚胎干细胞	成体干细胞
特点	可分化为成年动物体内的任何一种类型的细胞,并有形成机体的所有组织、器官和个体的潜能	具有组织特异性,只能分化成特定的细胞或组织,没有发育成完整个体的能力
来源	早期胚胎	成体组织或器官
举例	早期胚胎细胞	造血干细胞、神经干细胞、精原干细胞
应用	用于器官的移植等	造血干细胞用于治疗造血系统、免疫系统功能障碍;神经干细胞用于治疗神经组织损伤和神经系统退行性疾病

► 提质归纳



课后素养评价(七)

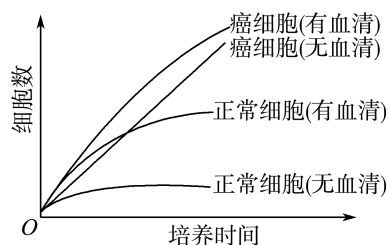
基础性·能力运用

知识点 1 动物细胞培养的条件

- 1.下列关于动物细胞培养的叙述,错误的是 ()
- A.动物细胞培养前和培养过程中常需要用胰蛋白酶、胶原蛋白酶处理
- B.细胞癌变易发生于原代培养向传代培养的过渡过程中
- C.动物细胞培养液中通常含有葡萄糖、氨基酸、无机盐、动物血清等
- D.动物细胞培养应在含 95% 空气和 5% CO₂ 的 CO₂ 培养箱中培养,CO₂ 的作用是维持培养液的 pH

B 解析:动物细胞培养前要用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理将离体组织分散成单个细胞,细胞培养过程中贴满瓶壁的细胞要用胰蛋白酶处理分散成单个细胞继续传代培养,A 正确;细胞癌变易发生于传代培养的过程中,B 错误;动物细胞培养液中通常含有葡萄糖、氨基酸、无机盐、动物血清等,以满足动物细胞对营养的需求,C 正确;动物细胞培养需要将其置于含 95% 的空气和 5% 的 CO₂ 混合气体的 CO₂ 培养箱中培养,CO₂ 的作用是维持培养液的 pH,D 正确。

2. 动物细胞体外培养时,通常要在培养基中补充一定浓度的某些物质。下图是血清对正常细胞和癌细胞培养影响的实验结果。从该图提供的信息不能获得的结论是 ()



- A. 正常细胞与癌细胞的增殖速率相同
B. 有无血清对正常细胞培养的影响不同
C. 培养基中补充血清有助于正常细胞的培养
D. 培养基中是否补充血清对癌细胞的培养影响不大

解析:从题图中曲线可看出,培养基中有无血清对癌细胞的培养影响不大。正常细胞的培养过程中有无血清所获得的细胞数差距较大,有血清的培养基在相同时间内培养得到的细胞数远远多于无血清的培养基所获得的细胞数。癌细胞培养与正常细胞培养获得的细胞数差距比较大,正常细胞达到一定的数目后不再增加,而癌细胞数目能不断增加。

知识点2 动物细胞培养的过程

3. 人造皮肤的构建需要使用动物细胞培养技术,下列相关叙述正确的是 ()

- A. 贴壁细胞在分裂生长到出现接触抑制后会分化成不同类型
B. 只要进行好消毒,动物细胞培养可以在恒温培养箱中进行
C. 进行动物细胞培养时常用胰蛋白酶来分散细胞
D. 体外培养动物细胞所需的基本条件与细胞所处的内环境理化条件是不相同的

解析:贴壁细胞在分裂生长到出现接触抑制后细胞不会生长也不会分化,A 错误;动物细胞培养要保证无菌、无毒的环境,而消毒只能杀死部分微生物,B 错误;一般情况下,进行动物细胞培养时要用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理分散成单个细胞,C 正确;体外培养动物细胞所需的基本条件应该与细胞所处的内环境理化条件类似才有利于细胞的培养,D 错误。

4. 下列关于动物细胞培养的叙述错误的是 ()

- A. 选用的材料一般是幼龄动物的器官或组织,原因是其细胞分裂能力强

- B. 动物细胞培养和植物细胞培养可获得大量细胞,原理均为细胞增殖

- C. 通常将动物组织经处理后在培养瓶中的初次培养称为原代培养

- D. 培养瓶中的细胞都需要定期用胰蛋白酶处理,分瓶后才能继续培养

D 解析:选用的材料一般是幼龄动物的器官或组织,原因是其细胞分裂能力强,A 正确;植物细胞培养和动物细胞培养的原理都是细胞增殖,B 正确;通常将动物组织经处理后的初次培养称为原代培养,C 正确;在进行传代培养时,悬浮培养的细胞直接用离心法收集,贴壁细胞需要重新用胰蛋白酶处理使其分散成单个细胞,然后再用离心法收集,之后将收集的细胞制成悬液,分瓶培养,D 错误。

5. 某生物兴趣小组对一种抗癌新药进行实验时,以动物肝癌细胞为材料,测定抗癌药物对体外培养细胞增殖的影响。请回答下列有关动物细胞培养的问题:

(1)在动物细胞培养时,将细胞所需的营养物质按种类和所需量严格配制而成的培养基称为_____培养基。通常在培养基中还需要加入_____等一些天然成分。细胞培养应在含 5% CO_2 的恒温培养箱中进行, CO_2 的作用是_____。另外,还应该保证被培养的细胞处于_____、_____的环境中。

(2)在细胞生长过程中,当细胞贴壁生长到一定程度时,其生长会受到抑制,这种现象称为_____。

(3)请你帮助兴趣小组的同学分析本实验,实验的自变量是_____。实验组和对照除了自变量不同外,其他处理均应该相同,这是为了遵循实验设计的_____原则。

解析:(1)动物细胞培养时,按细胞所需要的营养物质种类和所需量严格配制而成的培养基,称为合成培养基。由于对细胞所需的营养物质还没有完全搞清楚,因而,在使用合成培养基时,还需要加入血清等天然成分。细胞培养所需的气体中有 CO_2 ,作用是维持培养液的 pH。被培养的细胞必须处于无菌、无毒的环境中,才能保证细胞正常地生长增殖。

(2)动物细胞在分裂过程中有接触抑制的现象。

(3)要测定抗癌药物对体外培养细胞增殖的影响,实验的自变量为抗癌药物的有无。其他无关变量应该相同,否则会干扰实验结果,这种设计遵循的是实验的单一变量原则。

答案:(1)合成 血清 维持培养液的 pH 无菌

无毒 (2)接触抑制 (3)是否加入抗癌药物 单一变量

知识点3 干细胞培养及应用

6.中国科学院和深圳华大生命科学研究院等多家机构的研究者,通过体细胞诱导培养出了类似受精卵发育3天状态的人类全能干细胞。这是目前全球在体外培养的“最年轻”的人类细胞,是再生医学领域的又一颠覆性突破。下列有关干细胞的叙述错误的是 ()

- A.全能干细胞有细胞周期,骨髓造血干细胞分化的红细胞无细胞周期
- B.全能干细胞分化成各种不同的组织细胞是基因选择性表达的结果
- C.神经干细胞分化形成神经细胞的过程体现了细胞的全能性

D.骨髓造血干细胞分化成血小板、白细胞的过程是不可逆的

C 解析:只有连续进行有丝分裂的细胞才具有细胞周期,全能干细胞能进行连续的有丝分裂,具有细胞周期;骨髓造血干细胞分化的红细胞为高度分化的细胞,不具有分裂能力,也没有细胞周期,A正确。细胞分化的实质是基因的选择性表达,因此,全能干细胞分化成各种不同的组织细胞是基因选择性表达的结果,B正确。神经干细胞分化形成的神经细胞的过程没有体现细胞的全能性,细胞全能性指的是细胞经分裂、分化后仍具有产生完整个体或分化成其他各种细胞的能力,C错误。细胞分化具有稳定性,即造血干细胞分化形成血小板、白细胞是不可逆转的,一直到死亡,D正确。

综合性·创新提升

7.物理学家霍金生前被诊断患有肌肉萎缩性侧索硬化症,即“渐冻症”。有研究表明该病是由于突变的基因导致神经元合成了某种毒蛋白,从而阻碍了轴突内营养物质的流动;也有最新研究结果表明,利用诱导多能干细胞(iPS细胞)制作前驱细胞,然后移植给渐冻症实验鼠,能延长其寿命。下列相关描述错误的是 ()

- A.诱导多能干细胞分化的实质是基因的选择性表达,使细胞种类增多
- B.诱导多能干细胞分化成的多种细胞中核酸相同,蛋白质却不完全相同
- C.用正常基因替换控制合成毒蛋白的基因,可以起到良好的治疗作用
- D.植入神经干细胞,使受损的运动功能得到恢复,可以一定程度改善“渐冻症”

B 解析:细胞分化的实质是基因的选择性表达,这会导致细胞种类的增多,A正确;核酸分为两种,DNA和RNA,诱导多能干细胞分化成的多种细胞中DNA相同,mRNA和蛋白质不完全相同,B错误;由题意“该病是由于突变的基因导致神经元合成了某种毒蛋白,从而阻碍了轴突内营养物质的流动”可知,用正常基因将控制合成毒蛋白的基因替换,能起到良好的治疗作用,C正确;由题意“利用诱导多能干细胞(iPS细胞)制作前驱细胞,然后移植给渐冻症实验鼠,能延长其寿命”可知,植入神经

干细胞,使受损的运动功能得到恢复,可以在一定程度改善“渐冻症”,D正确。

8.某研究小组进行药物实验时,以动物肝细胞为材料,测定药物对体外培养细胞的毒性。供培养的细胞有甲、乙两种,甲细胞为肝肿瘤细胞,乙细胞为正常肝细胞。请回答下列有关动物细胞培养的问题:

(1)将数量相等的甲细胞和乙细胞分别置于培养瓶中培养,培养液及其他培养条件均相同。一段时间后,观察到甲细胞数量比乙细胞数量_____。

(2)在两种细胞生长过程中,当乙细胞铺满瓶壁时,其生长_____。药物实验需要大量细胞,两种细胞频繁传代,甲细胞比乙细胞可以传代的次数更_____。若用动物的肝脏组织块制备肝细胞悬液,需用_____消化处理。

(3)已知癌细胞X基因过量表达与肝肿瘤的发生密切相关。要探究一种抗肿瘤药物Y对甲细胞生长的影响,可将甲细胞分为A、B两组,A组细胞培养液中加入_____,B组细胞培养液中加入无菌生理盐水。经培养后,从A、B两组收集等量细胞,通过分别检测X基因在A、B两组细胞中的_____或_____合成水平的差异,确定Y的药效。

解析:(1)因为甲细胞是癌细胞,没有接触抑制现象,所以一段时间后,观察到甲细胞数量比乙细胞数量多。(2)乙细胞铺满瓶壁时,其生长停止,是因为发生了接触抑制。甲细胞比乙细胞可以传代的

次数更多。若用动物的肝脏组织块制备肝细胞悬液,需用胰蛋白酶消化处理,使细胞分散开,以利于培养。(3)A组细胞培养液中加入Y作为实验组。通过分别检测X基因在A、B两组细胞中的转录产

物——mRNA或翻译产物——相应的蛋白质合成水平的差异,确定Y的药效。

答案:(1)多 (2)停止 多 胰蛋白酶 (3)Y mRNA 蛋白质

第2课时 动物细胞融合技术与单克隆抗体

学习任务目标

- 1.运用结构与功能观,理解动物细胞融合的原理和过程。
- 2.采用模型与建模等方法,以文字、图示的形式表示单克隆抗体制备的过程。
- 3.认同生物科技是一把双刃剑,认同动物细胞融合的潜在风险。

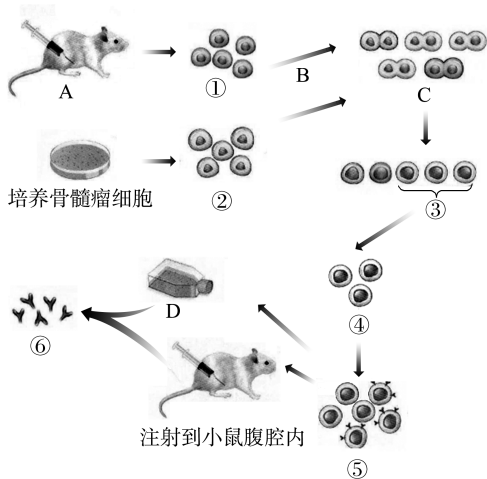
问题式预习

一、动物细胞融合技术

- 1.概念:使两个或多个动物细胞结合形成一个细胞的技术。
- 2.原理:细胞膜具有流动性。
- 3.诱导融合方法:PEG融合法、电融合法和灭活病毒诱导法等。
- 4.意义:突破了有性杂交的局限,使远缘杂交成为可能。

二、单克隆抗体及其应用

- 1.单克隆抗体的制备过程(字母代表操作技术,数字代表细胞或物质名称)



- (1)A操作是注射特定的抗原,目的是可以从小鼠的脾中得到能产生特定抗体的B淋巴细胞。
- (2)杂交瘤技术选择融合的两种细胞为:
①B淋巴细胞,②骨髓瘤细胞。
- (3)过程B和C为诱导细胞融合的过程,获得的细胞③有多种(填“一种”或“多种”)。
- (4)细胞③到细胞④的过程需要用特定的选择培养基进行筛选,只有④杂交瘤细胞才能生长,其他细

胞不能生长。

(5)细胞⑤来源于细胞④(填数字序号),细胞⑤为抗体检测呈阳性的杂交瘤细胞,其分泌的抗体能与特定的抗原结合。

(6)培养杂交瘤细胞的方法是注射到小鼠腹腔或D体外培养,从小鼠腹水或培养液中可提取⑥单克隆抗体。

2.单克隆抗体的应用

- (1)作为诊断试剂。
- (2)用于治疗疾病和运载药物。

教材开发

- 1.[教材 P48“相关信息”]灭活病毒诱导细胞融合的原理是什么?

提示: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。

- 2.[教材 P50 正文]单克隆抗体被广泛用作诊断试剂的原因是什么?

提示:单克隆抗体能准确地识别抗原的细微差异,与特定抗原发生特异性结合,并且可以大量制备,因此被广泛用作诊断试剂。

概念辨析

- 1.植物体细胞杂交和动物细胞融合都利用了细胞膜的流动性。 (√)
- 2.仅考虑细胞两两融合的情况,B淋巴细胞和骨髓瘤细胞经细胞融合后有三种细胞类型。 (√)
- 3.动物体细胞融合后的杂交细胞仍然是二倍体细胞。 (×)

4.将 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞进行诱导融合,培养液中融合后的细胞即为杂交瘤细胞。(×)

5.单克隆抗体诊断试剂提高了诊断的准确性、灵敏性。(√)

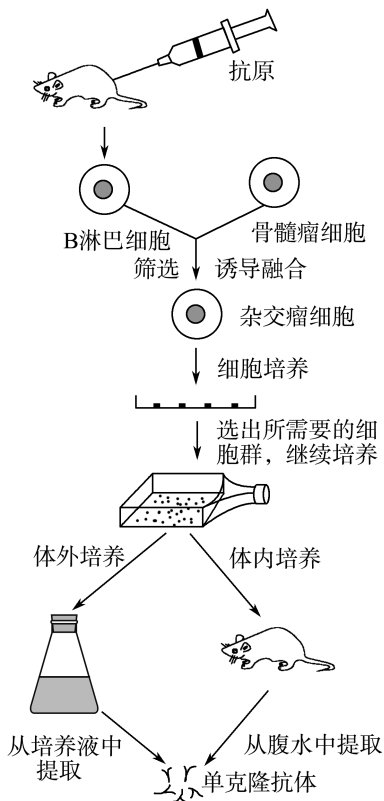
任务型课堂

任务

动物细胞融合和单克隆抗体的制备

[探究活动]

下图为单克隆抗体制备过程示意图。据图探究以下问题:



探究 1.取 B 淋巴细胞前为什么要对动物进行注射特定抗原的处理?

提示:B 淋巴细胞要经过免疫过程,即接触抗原才能增殖分化为有特异性免疫功能的 B 淋巴细胞,产生相应的抗体。

探究 2.仅从细胞两两融合的角度看,B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞经细胞融合后产生的细胞有哪几种类型?产生的原因是什么?

提示:有 3 种类型,B 淋巴细胞—B 淋巴细胞融合的细胞,B 淋巴细胞—骨髓瘤细胞融合的细胞,即杂交瘤细胞,骨髓瘤细胞—骨髓瘤细胞融合的细胞。

探究 3.请写出图中两次筛选的目的。

提示:第一次筛选出杂交瘤细胞,第二次筛选出能产生特定抗体的杂交瘤细胞。

探究 4.制备单克隆抗体用到哪些生物工程技术?

提示:在制备单克隆抗体过程中用到的技术有动物细胞培养技术和动物细胞融合技术。

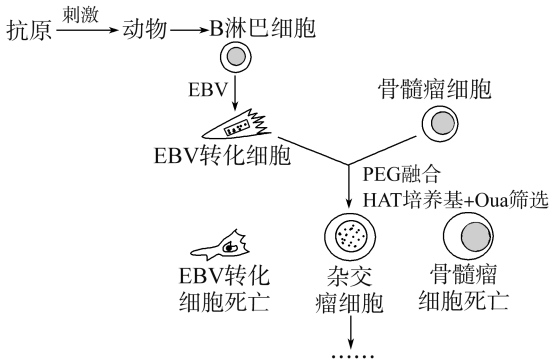
[评价活动]

1.将源自同品系小鼠的癌细胞和正常成纤维细胞融合,所获杂交细胞的后代只要保留成纤维细胞的某些染色体就可表现为正常表型,但若这些染色体丢失则会重新恶变为癌细胞。下列叙述不正确的是 ()

- A.杂交细胞的后代保留的成纤维细胞的某些染色体上有抑制细胞恶性增殖的基因
- B.利用灭活病毒可以诱导动物细胞融合
- C.杂交细胞重新恶变后将失去接触抑制现象
- D.染色体数目的变异会抑制细胞癌变

D 解析:由题干信息“所获杂交细胞的后代只要保留成纤维细胞的某些染色体就可表现为正常表型,但若这些染色体丢失则会重新恶变为癌细胞”可推知,杂交细胞的后代保留的成纤维细胞的某些染色体上有抑制细胞恶性增殖的基因,A 正确;诱导动物细胞融合可以用灭活病毒,B 正确;癌细胞容易扩散和转移,具有无限增殖能力,失去接触抑制现象,杂交细胞重新恶变后将失去接触抑制现象,C 正确;根据题意分析可知,抑制细胞恶性增殖的基因在成纤维细胞的某些染色体上,而不是染色体数目的变异会抑制细胞的癌变,D 错误。

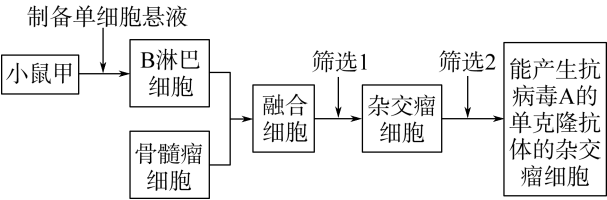
2.为了解决杂交瘤细胞在传代培养中出现来自 B 淋巴细胞染色体丢失的问题,研究者在单克隆抗体的制备过程中增加了一个步骤,如下图所示。除了抗原刺激之外,用 EBV(一种病毒颗粒)感染动物 B 淋巴细胞,并使之成为“染色体核型稳定”的细胞株。这样的细胞株能够在 HAT 培养基中存活,但对乌本苷敏感。下列相关分析不合理的是 ()



- A.杂交瘤细胞染色体丢失可能导致抗体产生能力下降
- B.B淋巴细胞来源于抗原刺激后的动物的淋巴结和脾脏等
- C.骨髓瘤细胞应该无法在 HAT 选择培养基中存活
- D.杂交瘤细胞具有持续产生抗 EBV 抗体的能力

D 解析：杂交瘤细胞染色体丢失可能引起细胞发生变异，进而导致抗体产生能力下降，A 正确；脾、淋巴结和扁桃体是免疫细胞集中分布的场所，因此在制备单克隆抗体的过程中，B 淋巴细胞可以来源于抗原刺激后的动物的淋巴结和脾脏等，B 正确；由题图分析可知，在 HAT 选择培养基中，骨髓瘤细胞无法存活，C 正确；本实验中 EBV 的作用是使 B 淋巴细胞染色体核型更稳定，而不是刺激 B 淋巴细胞分化成浆细胞产生抗体，所以该杂交瘤细胞不具有产生抗 EBV 抗体的能力，D 错误。

3.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)。

解析：(1)结合题干信息分析题图可推断，给小鼠甲注射病毒 A 的目的是让小鼠甲产生免疫反应，以获得能够分泌抗病毒 A 抗体的 B 淋巴细胞。(2)以小

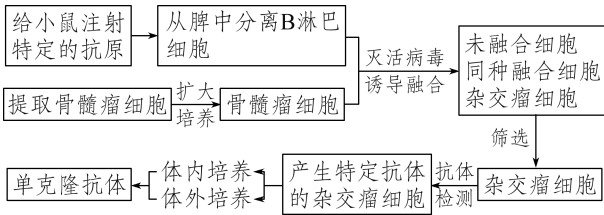
鼠甲的脾脏为材料制备单细胞悬液的主要实验步骤：取小鼠甲脾脏，用机械的方法，或用胰蛋白酶处理，使其分散成单个细胞，加入培养液制成单细胞悬液。(3)分析题图可知，图中筛选 1 所采用的培养基属于选择培养基，使用该培养基进行细胞培养的结果是未融合的亲本细胞和融合的具有同种细胞核的细胞都会死亡，只有融合的杂交细胞才能生存，即由 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合的杂交瘤细胞才能生存。图中筛选 2 所依据的基本原理是抗原与抗体的反应具有特异性。(4)若要使能产生抗病毒 A 的单克隆抗体的杂交瘤细胞大量增殖，可将杂交瘤细胞注射到小鼠腹腔内增殖，也可以将杂交瘤细胞在体外培养。

答案：(1)诱导小鼠甲产生能够分泌抗病毒 A 抗体的 B 淋巴细胞 (2)取小鼠甲脾脏用机械的方法，或用胰蛋白酶处理使其分散成单个细胞，加入培养液制成单细胞悬液 (3)选择培养基 只有杂交瘤细胞能够生存 抗原与抗体的反应具有特异性 (4)将杂交瘤细胞注射到小鼠腹腔内增殖；将杂交瘤细胞在体外培养

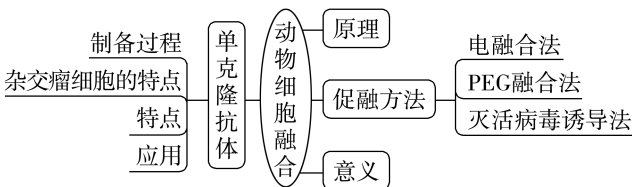
任务总结

(1)植物体细胞杂交与动物细胞融合的比较		
项目	植物体细胞杂交	动物细胞融合
原理	细胞膜的流动性、植物细胞的全能性	细胞膜的流动性
融合前的处理	用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁	用胰蛋白酶或胶原蛋白酶使细胞分散开
诱导融合的手段	物理法：离心法、电融合法等； 化学法：聚乙二醇（PEG）融合法、高 Ca^{2+} —高 pH 融合法等	除物理法和化学法外，还可利用灭活病毒诱导法
结果	获得杂种植株	获得杂交细胞，以产生细胞产品
应用	扩展杂交亲本组合范围，培育新品种	主要是制备单克隆抗体
意义	突破了远缘杂交不亲和的障碍，打破了生殖隔离，扩展了杂交的亲本组合	
相同点	诱导融合的原理相同，方法相似	

(2)单克隆抗体的制备过程



► 提质归纳



课后素养评价(八)

基础性·能力运用

知识点 1 动物细胞融合技术

1.下列关于动物细胞融合技术及意义的叙述,不正确的是 ()

- A.可以利用动物细胞融合技术生产细胞因子
- B.动物细胞融合可打破生殖隔离获得新物种
- C.细胞融合过程与细胞膜的结构特点直接相关
- D.动物细胞融合为制备单克隆抗体开辟了新途径

B 解析:细胞因子由 T 淋巴细胞产生,可以利用 T 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合产生的杂交瘤细胞生产细胞因子,A 正确;动物细胞融合可以突破有性杂交的局限,实现远缘杂交,但无法获得新物种,B 错误;细胞膜的结构特点是细胞膜具有流动性,动物细胞融合过程与细胞膜的流动性直接相关,C 正确;动物细胞融合技术为制备单克隆抗体开辟了新途径,D 正确。

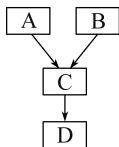
2.下列关于植物体细胞杂交和动物细胞融合的比较,叙述正确的是 ()

- A.动物细胞融合与植物原生质体融合的基本原理相同,诱导融合的方法也完全相同
- B.两者都可以跨越种属间的生殖隔离,突破有性杂交方法的局限,使远缘杂交成为可能
- C.利用植物体细胞杂交技术发展起来的杂交瘤技术,为生产单克隆抗体开辟了新途径
- D.目前科学家终于实现了两个植物物种间的体细胞杂交,得到了同时具有两个物种遗传物质的“超级植物”,并使它们的性状全部得以体现

B 解析:动物细胞融合可用灭活的病毒诱导,而植物原生质体融合则不能使用,A 错误;两者都可以跨越种属间的生殖隔离,使远缘杂交成为可能,B 正确;利用动物细胞融合技术而发展起来的杂交瘤技术,为生产单克隆抗体开辟了新途径,C 错误;生物性状的体现是基因与环境共同作用的结果,“超

级植物”具有两个物种的遗传物质,但两个物种的性状不一定能全部表达,D 错误。

3.模型构建是生命科学教学、研究和学习的一种重要方法。若下图表示动物体细胞融合过程,则 D 可能是 ()



- A.B 淋巴细胞
- B.浆细胞
- C.杂交瘤细胞
- D.骨髓瘤细胞

C 解析:若题图为动物体细胞融合过程,D 是 C 经过筛选得到的,则 D 细胞应该具有增殖能力,且融合的结果是为了达到某种目的。因而该细胞不可能是 B 淋巴细胞,也不可能是浆细胞,因为浆细胞不具有分裂能力;该细胞可能是杂交瘤细胞,不仅能产生抗体,而且还能无限增殖;骨髓瘤细胞属于癌变的细胞,具有无限增殖能力,但并未发生融合,因而不具有人为赋予的某种功能,A、B、D 错误,C 正确。

知识点 2 单克隆抗体及其应用

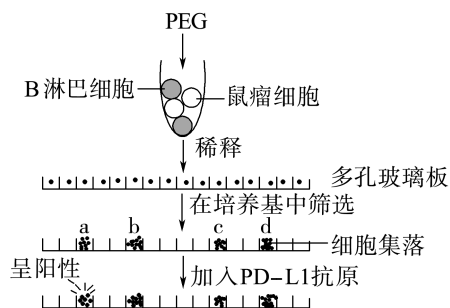
4.单克隆抗体的纯度很高,原因是 ()

- ①每一个 B 淋巴细胞只分泌一种特异性抗体
 - ②一般由一个杂交瘤细胞克隆得到的细胞群遗传特性相同
 - ③单克隆抗体是由单一抗体克隆得到的
 - ④在动物体内 B 淋巴细胞可产生百万种以上的抗体
- A.①③
 - B.①②
 - C.②③
 - D.①④

B 解析:动物在免疫反应过程中,体内产生的特异性抗体种类超过百万种,但是每一个 B 淋巴细胞只

分泌一种特异性抗体，①正确；单克隆抗体中的“克隆”指的是将单一的杂交瘤细胞克隆化培养，一般这样获得的细胞群遗传特性相同，分泌的抗体相同，②正确，④错误；单克隆抗体不是将抗体进行克隆化培养，③错误。

5. 抗 PD-L1 单克隆抗体能与癌细胞膜表面的 PD-L1 特异性结合，因而具有治疗某些癌症的作用。下图是制备抗 PD-L1 单克隆抗体的示意图，下列叙述错误的是（ ）



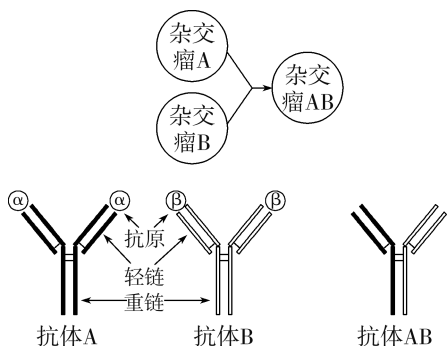
- A. 提取的脾 B 淋巴细胞有多种，是因为一种病原体可以诱导产生多种 B 淋巴细胞

- B. 多孔玻璃板中的细胞为 B 淋巴细胞和鼠瘤细胞的融合细胞
C. 图中细胞集落 a~d 既能大量繁殖，又能产生抗体
D. 图中细胞集落 a 可用于扩大化培养生产抗 PD-L1 单克隆抗体

B 解析：一种病原体上一般会有多个不同的抗原位点，机体进行体液免疫时会产生多种 B 淋巴细胞，A 正确；多孔玻璃板中的细胞有五种——B 淋巴细胞、鼠瘤细胞、B 淋巴细胞和鼠瘤细胞的融合细胞、B 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的融合细胞、鼠瘤细胞和鼠瘤细胞的融合细胞，B 错误；题图中细胞集落 a~d 是经过筛选的杂交瘤细胞，所以既能大量繁殖，又能产生抗体，C 正确；题图中细胞集落 a 与 PD-L1 抗原反应呈阳性，说明该集落的细胞能够产生特异性抗体，可以用于扩大化培养生产抗 PD-L1 单克隆抗体，D 正确。

综合性·创新提升

6. 一种杂交瘤细胞只能产生一种抗体，一分子抗体由两条相同的重链和两条相同的轻链构成。科学家通过动物细胞融合技术，将两株不同的杂交瘤细胞（A 和 B）融合形成双杂交瘤细胞 AB。双杂交瘤细胞能够悬浮在培养基中生长繁殖，产生的双特异性抗体 AB，如下图所示。下列相关说法错误的是（ ）



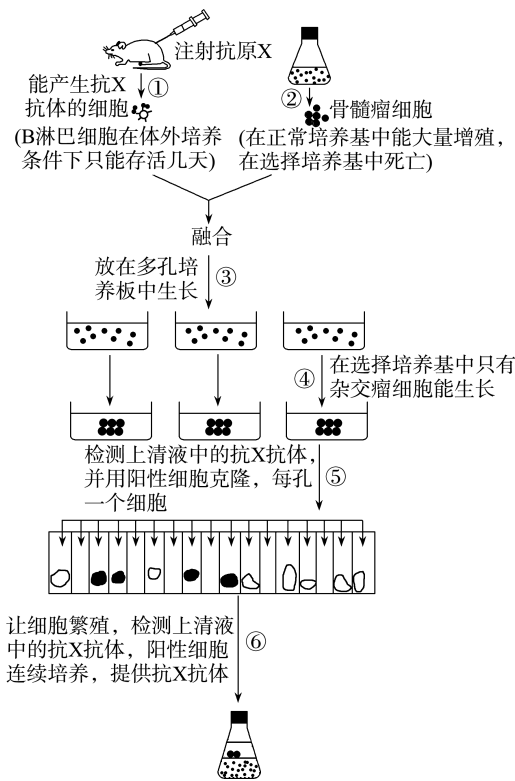
- A. 将杂交瘤细胞 A、B 混合并诱导融合后，利用选择培养基无法筛选出双杂交瘤细胞 AB
B. 双杂交瘤细胞同时识别 α 、 β 抗原后，才能产生双特异性抗体
C. 对培养到一定密度的双杂交瘤细胞进行传代培养时，无须使用胰蛋白酶处理
D. 将杂交瘤细胞注射到小鼠腹腔，腹水能为细胞提供糖类、氨基酸、无机盐、维生素等营养条件

B 解析：单克隆抗体制备过程中，杂交瘤细胞需要进行两次筛选，第一次利用选择培养基筛选出能在特定培养基上生长且能无限增殖的杂交瘤细胞，第二次筛选可用抗原—抗体杂交的方法筛选出产生特异性抗体的杂交瘤细胞，双杂交瘤细胞本身就是由两个杂交瘤细胞融合而成，利用选择培养基无法筛选出双杂交瘤细胞，A 正确；杂交瘤细胞是由已免疫的 B 细胞和骨髓瘤细胞融合而成，无须接触抗原就能产生抗体，B 错误；杂交瘤细胞是悬浮培养的细胞，细胞之间并未接触，若要传代培养，细胞培养液直接离心，去除上清液培养基，加入新鲜培养基分瓶培养即可，C 正确；将杂交瘤细胞注射到小鼠腹水中培养，腹水作为天然培养基，为细胞提供各种生长条件，D 正确。

7. 已知细胞合成 DNA 有 D 和 S 两条途径，其中 D 途径能被氨基蝶呤阻断。人淋巴细胞中有这两种 DNA 合成途径，但细胞一般不分裂增殖。鼠骨髓瘤细胞中尽管没有 S 途径，但细胞能不断分裂增殖。将这两种细胞在含氨基蝶呤的试管中混合，采用物理或化学方法促融，则试管中细胞的种类数和能增殖的细胞种类数分别是（ ）
A. 3 和 1
B. 5 和 3
C. 5 和 1
D. 3 和 3

C 解析:鼠骨髓瘤细胞和人淋巴细胞融合形成 3 种杂交细胞,则试管中共有 5 种细胞,即人淋巴细胞自身融合的细胞、鼠骨髓瘤细胞自身融合的细胞、杂交瘤细胞、未发生融合的人淋巴细胞和鼠骨髓瘤细胞。鼠骨髓瘤细胞能不断分裂增殖,因此鼠骨髓瘤细胞自身融合的细胞、杂交瘤细胞和未发生融合的鼠骨髓瘤细胞能增殖,但由于 D 途径能被氨基蝶呤阻断,故在含氨基蝶呤的试管中未发生融合的鼠骨髓瘤细胞、自身融合的鼠骨髓瘤细胞均不能增殖,只有杂交瘤细胞能增殖。故 C 正确。

8. 下图是制备抗 X 抗体的过程示意图,根据图解回答下列问题:



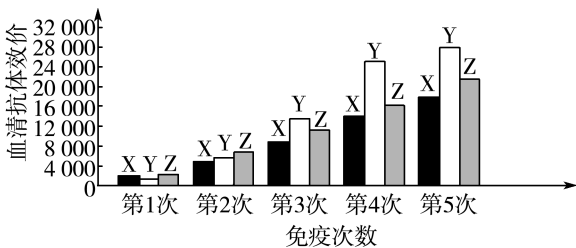
- (1) 给小鼠注射抗原 X 的目的是 _____。
- (2) 由图可看出,单克隆抗体制备过程中运用了 _____ 和 _____ 的动物细胞工程技术手段。
- (3) 图中有两次筛选过程,其中步骤④的目的是筛选出 _____,步骤⑤⑥的目的是筛选出 _____。
- (4) 如需要大量产生这种抗 X 的抗体,应对已获取的能产生单克隆抗体的杂交瘤细胞进行何种方式的培养? _____。

解析:(1)用特定抗原刺激小鼠,小鼠体内便可形成能产生相应抗体的 B 淋巴细胞。(2)从题图可以看

出,单克隆抗体的制备运用了动物细胞融合和动物细胞培养技术。(3)在单克隆抗体制备过程中,由于从小鼠体内提取的 B 淋巴细胞可能有多种以及细胞融合的方式有多种,会产生多种融合细胞以及多种杂交瘤细胞,因此需多次筛选。从题图可看出,步骤④是用选择培养基筛选出杂交瘤细胞,步骤⑤⑥是筛选出能产生抗 X 抗体的杂交瘤细胞。(4)培养杂交瘤细胞的方法有体内培养和体外培养。前者的优点是培养条件简单,无须配制培养液;后者的优点是可在短期内获得大量单克隆抗体。

答案:(1)获得能产生相应抗体的 B 淋巴细胞 (2)动物细胞融合 动物细胞培养 (3)杂交瘤细胞 能产生抗 X 抗体的杂交瘤细胞 (4)可进行体外培养,需要配制相应的培养液,控制好 pH 和温度等(也可将杂交瘤细胞注射到小鼠腹腔内)

9. 某研究者用抗原(A)分别免疫 3 只同种小鼠(X、Y 和 Z),每只小鼠免疫 5 次,每次免疫一周后测定各小鼠血清抗体的效价(能检测出抗原—抗体反应的血清最大稀释倍数),结果如下图所示。



若要制备杂交瘤细胞,需取免疫后小鼠的 B 淋巴细胞(染色体数目为 40 条),并将该细胞与体外培养的小鼠骨髓瘤细胞(染色体数目为 60 条)按一定比例加入试管中,再加入聚乙二醇诱导细胞融合,经筛选培养及抗体检测,得到不断分泌抗 A 抗体的杂交瘤细胞。回答下列问题:

- (1) 制备融合所需的 B 淋巴细胞时,所用免疫小鼠的血清抗体效价需达到 16 000 以上,则小鼠最少需要经过 _____ 次免疫后才能有符合要求的。达到要求后的 X、Y、Z 这 3 只免疫小鼠中,最适合用于制备 B 淋巴细胞的是 _____ 小鼠,理由是 _____。
- (2) 细胞融合实验完成后,融合体系中除含有未融合的细胞和杂交瘤细胞外,可能还有 _____。

(仅考虑细胞之间的两两融合)。体系中出现多种类型细胞的原因是_____。

(3)杂交瘤细胞中有_____个细胞核,染色体数目最多是_____条。

解析:(1)由题图看出,到第4次免疫时,Y和Z的血清抗体效价已达到要求,即16 000以上,而前3次免疫后,3只小鼠的血清抗体效价均未达到要求。从第3次开始,Y小鼠的血清抗体效价最高,所以Y小鼠最适合用于制备B淋巴细胞。(2)仅考虑细胞之间的两两融合,该融合体系中有5种类型的细

胞:2种未融合型(B淋巴细胞、骨髓瘤细胞),3种融合型(B淋巴细胞+B淋巴细胞、骨髓瘤细胞+骨髓瘤细胞、B淋巴细胞+骨髓瘤细胞),由此可看出细胞融合具有随机性。(3)杂交瘤细胞是B淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合形成的,有1个细胞核,核内染色体数为 $40+60=100$ 条,有丝分裂后期的染色体数目加倍为200条。

答案:(1)4 Y Y小鼠的血清抗体效价最高 (2)B淋巴细胞相互融合形成的细胞、骨髓瘤细胞相互融合形成的细胞 细胞融合是随机的,且融合率达不到100% (3)1 200

第3课时 动物体细胞核移植技术和克隆动物

学习任务目标

- 1.采用归纳与概括等方法,说明动物体细胞核移植技术过程。
- 2.遵循正确的伦理道德,认同禁止生殖性克隆人。

问题式预习

一、动物细胞核移植技术

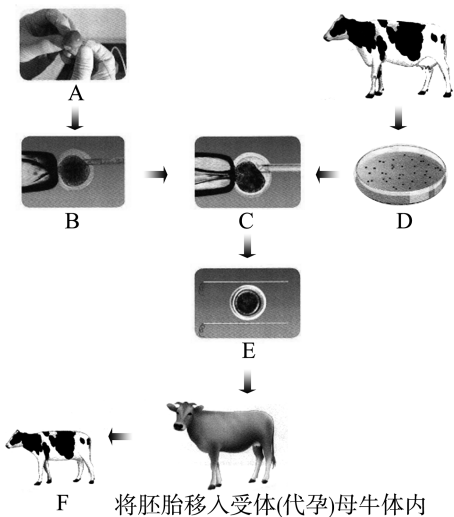
1.概念

- (1)供体:动物一个细胞的细胞核。
- (2)受体:去掉细胞核的卵母细胞。
- (3)结果:形成重组细胞并发育成新胚胎,最终发育成动物个体。

2.种类:胚胎细胞核移植和体细胞核移植。两者中难度较高的是体细胞核移植。

3.原理:动物细胞核具有全能性,细胞膜具有流动性。

4.过程



(1)过程A为采集卵母细胞,该细胞需要体外培养

到MⅡ期。

(2)过程B为显微操作去核的过程,过程C将供体细胞注入去核的卵母细胞。

(3)过程D选取供体高产奶牛的体细胞进行培养。

(4)过程E为通过电融合法,形成重构胚的过程,用物理或化学方法激活,使其完成细胞分裂和发育进程。

(5)过程F产生的犍牛与供体高产奶牛的遗传物质基本相同。

二、体细胞核移植技术的应用前景及存在的问题

1.应用前景

(1)畜牧生产方面:加速家畜遗传改良进程,促进优良畜群繁育。

(2)医药卫生领域

①转基因克隆动物作为生物反应器,生产珍贵的医用蛋白。

②转基因克隆动物的细胞、组织或器官可以用于异种移植。

③人的核移植胚胎干细胞经诱导分化,形成相应的细胞、组织或器官后,可用于组织器官的移植,避免发生免疫排斥反应。

(3)用于了解胚胎发育及衰老过程。

(4)用克隆动物做疾病模型,使人们更好地追踪研

究疾病的致病机制和开发药物。

(5)保护濒危物种方面:保护濒危物种,增加濒危物种的存活数量。

2. 存在的问题

(1)体细胞核移植技术的成功率非常低。

(2)绝大多数克隆动物存在健康问题,表现出遗传和生理缺陷等。

教材开发

1.[教材 P52“相关信息”]减数分裂Ⅱ中期(MⅡ期)卵母细胞中的“核”是真正的细胞核吗?

提示:不是。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。

2.[教材 P54“相关信息”]目前动物细胞核移植技术中普遍使用的去核方法是什么?此外还有哪些方法?

提示: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,此外还有梯度离心、紫外线短时间照射和化学物质处理等方法。

概念辨析

- 1.动物细胞核移植技术的理论基础是动物细胞核的全能性。 (√)
- 2.动物体细胞核移植过程中,通过电融合法使两细胞融合,供体核进入卵母细胞,形成重构胚。 (√)
- 3.克隆猕猴需要使用成熟卵母细胞作为核移植的受体。 (×)
- 4.克隆一批遗传背景相同的动物,可以通过它们之间的对比来分析致病基因。 (√)

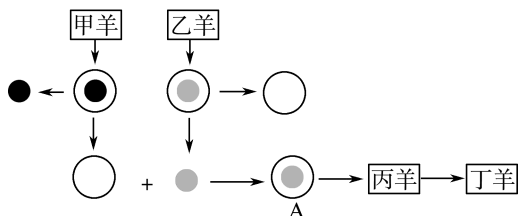
任务型课堂

任务

动物细胞核移植技术

[探究活动]

下图为克隆羊培育过程示意图,据图探究下列问题:



探究 1.进行核移植时,为何选用去核的卵母细胞?

提示:卵母细胞比较大,容易操作;卵母细胞的细胞质多,营养物质丰富,含有促进细胞核全能性表达的物质。

探究 2.体细胞核移植的过程中电融合法和电刺激法的作用分别是什么?

提示:电融合法是让供体细胞和去核卵母细胞融合,电刺激法用来激活重构胚。

探究 3.通过体细胞核移植产生丁羊是有性生殖还是无性生殖?

提示:通过体细胞核移植产生丁羊没有经过生殖细胞的结合,属于无性生殖。

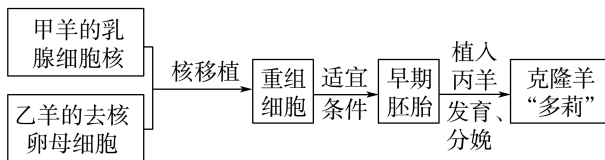
探究 4.为什么通过核移植技术获得的动物与供核动物性状不完全相同?

提示:①克隆动物绝大部分 DNA 来自供体细胞核,但其核外线粒体中的 DNA 来自受体卵母细胞。

②性状是基因与环境共同作用的结果,供核动物生活的环境与克隆动物生活的环境不会完全相同,其性状也不可能完全相同。③在个体发育过程中有可能发生基因突变,产生供核动物没有的性状。

[评价活动]

1.下图为克隆羊“多莉”的培育过程示意图,下列相关叙述错误的是 ()



- A.克隆羊“多莉”的性状主要与甲羊一致,因其细胞核基因来自甲羊
- B.此过程说明高度分化的动物细胞具有全能性
- C.乙羊的去核卵母细胞为重组细胞的基因表达提供了细胞内的环境条件
- D.克隆羊“多莉”的培育过程中采用的生物技术有核移植和胚胎移植

B 解析:由于遗传物质主要存在于细胞核中,克隆羊“多莉”的细胞核来自甲羊,因此“多莉”的主要性状与甲羊一致,A 正确;此过程说明高度分化的动物细胞的细胞核具有全能性,B 错误;乙羊的去核卵母细胞为重组细胞的基因表达提供了细胞内的环境条件,C 正确;克隆羊“多莉”的培育过程中用到了核移植和胚胎移植等技术,D 正确。

2.科学家培育克隆羊时,使用了三种细胞核的供体细胞,分别将这些细胞核移入去核卵母细胞的细胞质中,形成重组细胞,发育成重构胚,这些重构胚的发育情况如下:

细胞核的供体 细胞类型	妊娠数/受体母羊数
乳腺上皮细胞	1/13
胚胎成纤维细胞	4/10
早期胚胎细胞	14/27

据此分析错误的是 ()

- A.早期胚胎细胞作为细胞核的供体细胞的妊娠成功率最高
- B.克隆羊的遗传信息与供核细胞完全相同
- C.体细胞核移植难度高于胚胎细胞核移植
- D.重构胚的性别与去核卵母细胞的细胞质无关

B 解析:分析题中表格数据可知,早期胚胎细胞作为细胞核的供体细胞的妊娠成功率最高,A 正确;克隆羊的培育用到了动物体细胞核移植技术,克隆羊的细胞核遗传信息来自细胞核的供体细胞,而细胞质的遗传信息来自去核的卵母细胞,所以其遗传信息并不与供核细胞完全相同,B 错误;分析题中表格数据可知,体细胞(乳腺上皮细胞)核移植难度高于胚胎细胞(胚胎成纤维细胞、早期胚胎细胞)核移植,C 正确;性别由细胞核中的性染色体组成决定,与去核卵母细胞的细胞质无关,D 正确。

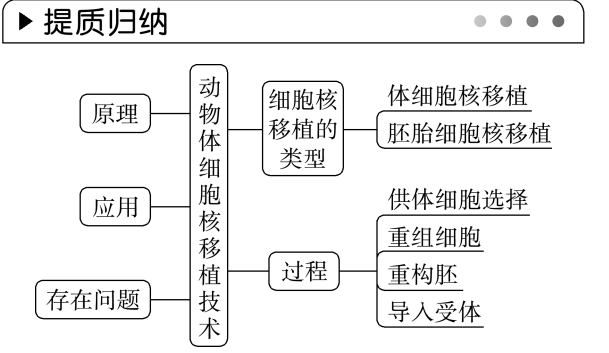
3.被誉为“中国克隆先驱”的童第周教授和美籍华人牛满江教授在 20 世纪 60 年代就开展了鱼类的核移植工作。他们取出鲤鱼囊胚期胚胎的细胞核,放入鲫鱼的去核受精卵中,部分异核卵发育成了“杂种鱼”,它们的口须和咽区像鲤鱼,而脊椎骨的数目像鲫鱼,侧线鳞片数为中间类型。下列相关叙述正确的是 ()

- A.“杂种鱼”的出现反映出动物细胞具有全能性
- B.“杂种鱼”与克隆猴的培育过程中都需要将胚胎移入受体体内
- C.“杂种鱼”的性状说明生物体有些性状受细胞质基因的控制
- D.本实验也可选择鲫鱼的去核体细胞作受体细胞

C 解析:“杂种鱼”的出现反映了动物细胞核具有全能性,不能反映动物细胞具有全能性,A 错误;克隆猴的培育过程中需要将胚胎移入受体母猴体内,“杂种鱼”的卵在体外孵化,不需要将胚胎移入母体内,B 错误;“杂种鱼”的某些性状与提供去核受精卵的鲫鱼相同,说明生物体有些性状受细胞质基因的控制,C 正确;本实验不能选择鲫鱼的去核体细胞作受体细胞,因为受精卵细胞的细胞质中可能含有某些促进细胞核发挥全能性的物质,而体细胞中没有,D 错误。

任务总结

- 动物体细胞核移植技术的几点提醒
- (1)为了确保核移植形成的克隆动物的核遗传物质全部来自具有优良性状的动物提供的细胞核,在供体细胞的细胞核移植到受体细胞内之前,必须将受体细胞的核遗传物质去掉。
 - (2)细胞融合的原理是细胞膜具有流动性,而克隆动物的形成则利用了动物细胞核的全能性。
 - (3)涉及的生物技术:动物细胞培养技术、核移植技术等。其中,核移植是核心技术。
 - (4)动物细胞核移植技术可以分为胚胎细胞核移植和体细胞核移植,因为胚胎细胞的全能性比体细胞的高,所以胚胎细胞核移植更容易实现。
 - (5)动物细胞核移植技术,体现了动物细胞核的全能性而非细胞的全能性。
 - (6)克隆属于无性繁殖,产生新个体的性别、绝大多数性状与供核亲本一致。
 - (7)通过核移植技术获得的动物与供核动物性状不完全相同的原因:
 - ①克隆动物线粒体中的 DNA 来自去核卵母细胞;
 - ②性状受环境的影响;
 - ③在个体发育的过程中有可能发生基因突变等。



课后素养评价(九)

基础性·能力运用

知识点1 体细胞核移植及其过程

1. 可以通过细胞核移植的方法获得克隆动物, 下列说法正确的是 ()

- A. 克隆动物只具有一个亲本的遗传物质
- B. 细胞核移植实验的成功说明动物细胞具有全能性
- C. 该实验需要将细胞核移植到去核的卵母细胞内形成重组细胞
- D. 体细胞克隆比胚胎细胞克隆容易

C 解析: 克隆动物的核遗传物质来自供核亲本, 细胞质遗传物质来自提供卵母细胞的亲本, A 错误; 细胞核移植实验的成功说明动物细胞核具有全能性, B 错误; 该实验需要将细胞核移植到去核的卵母细胞内形成重组细胞, 利用卵母细胞的细胞质激发细胞的分裂、分化, C 正确; 体细胞分化程度大, 比胚胎细胞克隆困难, D 错误。

2. 核移植的受体细胞是 MⅡ 期卵母细胞, 下列有关说法错误的是 ()

- A. MⅡ 期卵母细胞的细胞质中含有促进细胞核全能性表达的物质
- B. MⅡ 期卵母细胞体积比较大, 操作起来相对容易
- C. 可以把供体细胞直接注入去核的卵母细胞中
- D. MⅡ 期卵母细胞对克隆动物的遗传特性没有任何影响

D 解析: 选用 MⅡ 期卵母细胞作为受体细胞的原因: ① 体积大, 易于操作; ② 可为发育提供充足的营养; ③ 细胞质中存在激发细胞核全能性表达的物质, A、B 正确。直接把供体细胞注入去核的卵母细胞中也是可以的, 并且这样可以减少对细胞核的损伤, 更有利于重组细胞的分裂, C 正确。细胞质中的遗传物质来自 MⅡ 期卵母细胞, 其会对克隆动物的遗传特性产生一定的影响, D 错误。

3. 将甲绵羊体细胞的细胞核移入乙绵羊的去核卵母细胞中, 体外培养至早期胚胎, 再植入丙绵羊的子宫内继续发育, 出生的小绵羊即为“克隆绵羊”。此克隆绵羊 ()

- A. 基因型与甲相同, 性别一定与甲不同
- B. 基因型与乙相同, 性别一定与乙相同

C. 基因型与丙相同, 性别一定与丙不同

D. 基因型与甲相同, 性别一定与甲相同

D 解析: 克隆绵羊的诞生过程为甲绵羊体细胞的细胞核+乙绵羊的去核卵母细胞→重组细胞→重构胚→胚胎移植→丙绵羊(代孕母体)的子宫→克隆绵羊。克隆绵羊的遗传物质几乎都来自供核个体(甲绵羊), 所以其基因型、性别应都与甲绵羊相同, D 正确。

4. 现有 A 和 B 两个肉牛品种, A 品种牛的细胞组成可表示为 A 细胞核、A 细胞质, B 品种牛的细胞组成则表示为 B 细胞核、B 细胞质。请据此回答下列问题:

(1) 如果要获得一头克隆牛, 使其细胞由 A 细胞核和 B 细胞质组成, 基本步骤是从 A 品种牛体内取出体细胞, 进行体外培养, 然后再从培养细胞中取出 _____ 注入 B 品种牛的 _____ 卵母细胞中, 经过某些刺激和培养后, 可形成胚胎, 该胚胎被称为 _____, 将该胚胎移入代孕母牛的 _____ 中, 通过培育可得到克隆牛。

(2) 该克隆牛的产生说明 _____ 具有全能性。该克隆牛的性状主要表现 _____ 品种牛的特征。由 A、B 两品种杂交得到的牛与克隆牛相比, 杂交牛细胞核的遗传物质来自 _____ 个亲本, 细胞质来自 _____ 性亲本, 克隆牛和杂交牛的遗传物质组成 _____ (填“相同”或“不同”)。

解析: (1) 动物克隆采用的是动物体细胞核移植技术, 也就是把动物体细胞的细胞核移入去核的卵母细胞中, 然后经过某些刺激和培养后可形成重构胚, 再将该胚胎移入代孕母牛的子宫中可使胚胎发育成克隆动物。(2) 克隆动物的成功培育说明了动物细胞核具有全能性。克隆动物的遗传特性和细胞核供体基本一致。杂交牛的获得属于有性生殖, 子代的遗传物质来自双亲。

答案: (1) 细胞核 去核 重构胚 子宫 (2) 动物细胞核 A 两 雌 不同

知识点2 体细胞核移植技术的应用前景及存在的问题

5. 体细胞核移植技术在畜牧业、医药卫生以及其他领域有着广阔的应用前景。下列关于体细胞核移植

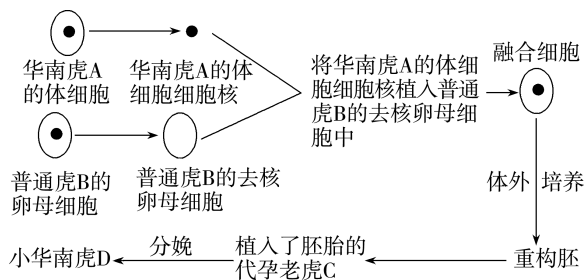
技术的应用前景及存在问题的叙述中,错误的是

()

- A.利用体细胞核移植技术培育的转基因克隆动物可以作为生物反应器,生产珍贵的医用蛋白
- B.以患者作为供体培育的人核移植胚胎干细胞诱导形成的组织、器官等,可避免免疫排斥反应
- C.体细胞核移植技术发展到今天,已经相当成熟,成功率较高
- D.有研究者指出,绝大多数克隆动物存在健康问题,如体型过大、脏器缺陷和免疫失调等

C 解析:利用体细胞核移植技术培育的转基因克隆动物可以作为生物反应器,生产珍贵的医用蛋白,A正确;以患者作为供体培育的人核移植胚胎干细胞诱导形成的组织、器官等,可避免免疫排斥反应,B正确;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;有研究者指出,绝大多数克隆动物存在健康问题,如体型过大、脏器缺陷和免疫失调等,D正确。

- 6.华南虎是原产于中国的老虎品种,已有近30年没有野生华南虎出现的报告,野生华南虎也被一些专家认为已经濒临灭绝。科学工作者尝试用普通老虎完成体细胞克隆华南虎的研究,下图是其培育过程,请据图回答下列问题:



(1)克隆华南虎的遗传性状与_____ (填字母序号)虎基本一致。

(2)A、B、C 3只虎哪一只没有提供遗传物质?_____。

(3)克隆华南虎的过程是否遵循孟德尔的遗传定律?为什么?_____。

(4)有人设想将虎的体细胞与牛的体细胞进行融合,以获得新物种“虎—牛”。你认为依据目前的生物技术和理论能否实现这一设想?_____,原因是_____。

解析:(1)由克隆华南虎的过程可知,华南虎A提供细胞核,普通虎B提供细胞质,所以克隆虎D的遗传性状与供核的华南虎A更接近。(2)老虎C只提供胚胎发育的场所,没有提供遗传物质给克隆虎D。(3)核移植过程没有经过两性生殖细胞的结合,属于无性生殖,没有减数分裂方式的出现,不遵循孟德尔遗传定律。(4)高度分化的动物细胞全能性受到限制,因此无论是高度分化的动物体细胞,还是不同种动物体细胞融合后的杂交细胞,其全能性均无法体现。

答案:(1)A (2)老虎C (3)不遵循,克隆属于无性生殖,而孟德尔的遗传定律仅在有性生殖的减数分裂过程中适用 (4)不能 高度分化的动物细胞全能性受到限制,虎和牛的体细胞杂交后得到的杂交细胞不能正常发育成完整个体

综合性·创新提升

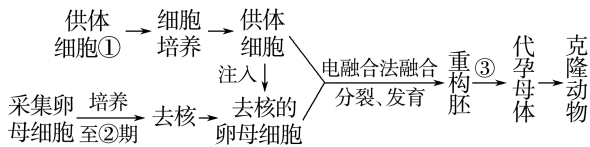
- 7.科学家采集了一只睡眠紊乱症状明显的 *BMAL1* (生物节律基因)敲除猴的体细胞,通过体细胞核移植技术,获得了5只克隆猴——这是国际上首次成功构建一批遗传背景一致的生物节律紊乱猕猴模型。下列相关叙述错误的是 ()

- A.体细胞核移植技术的原理是动物细胞核具有全能性
- B.5只克隆猕猴细胞核基因与核供体细胞完全一致
- C.体细胞核移植时可用取自新鲜卵巢的卵母细胞直接作为受体细胞

D.该研究可弥补实验猕猴繁殖周期长、单胎数量少的不足

C 解析:体细胞核移植技术的原理是高度分化的动物细胞的细胞核具有全能性,A正确;克隆猕猴细胞核基因型与核供体细胞完全一致,细胞质基因来源于受体细胞,B正确;取自新鲜卵巢的卵母细胞需培养到MⅡ期,才能作为受体细胞,C错误;克隆猕猴的培育可在短时间内实现猕猴的大量繁殖,可弥补实验猕猴繁殖周期长、单胎数量少的不足,D正确。

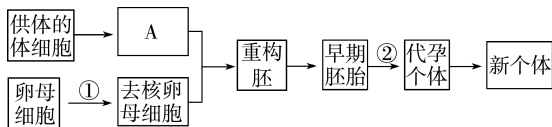
8. 下图表示核移植与克隆动物的相关过程, 有关叙述不正确的是 ()



- A. 选择去核卵母细胞的主要原因是其细胞质可使体细胞核全能性表达
- B. 图示过程说明高度分化的动物细胞仍具有发育的全能性
- C. 采集的卵母细胞培养到的②时期表示 M II 期
- D. 动物细胞培养过程中添加 5%CO₂ 的目的是维持培养液的 pH

B 解析: 选用去核卵母细胞的主要原因是其细胞质中含有使细胞核全能性表达的物质, A 正确; 供体细胞核移入去核卵母细胞中, 能发育成克隆动物, 这只能说明已分化的动物细胞的细胞核具有全能性, B 错误; 采集的卵母细胞培养到的②时期表示 M II 期, C 正确; 动物细胞需要在 95% 空气和 5% CO₂ 的混合气体环境中培养, 其中添加 5% CO₂ 的目的是维持培养液的 pH, D 正确。

9. 下图表示通过核移植等技术获得某种克隆哺乳动物(二倍体)的流程。



回答下列问题:

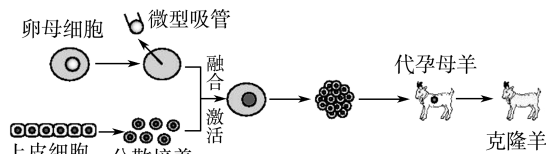
- (1) 图中 A 表示正常细胞核, 染色体数为 $2n$, 则其性染色体的组成可为 _____。过程①表示去除细胞核, 该过程一般要在卵母细胞培养至适当时期再进行, 去核时常采用 _____ 的方法。
- (2) 经过多次传代后, 供体细胞中 _____ 的稳定性会降低。因此, 选材时必须关注传代次数。
- (3) 若获得的克隆动物与供核动物性状不完全相同, 从遗传物质的角度分析其原因是 _____。
- (4) 与克隆羊“多莉”培育成功一样, 其他克隆动物的成功获得也证明了 _____。

解析: (1) 核移植过程中, 供体的体细胞中性染色体

组成可为 XX 或 XY; 去核时常采用显微操作的方法。(2) 细胞培养过程中, 经过多次传代培养, 细胞中遗传物质的稳定性会降低。(3) 因为卵母细胞的细胞质中的遗传物质会对克隆动物的性状产生影响, 所以克隆动物与供核动物的性状不完全相同。(4) 克隆动物的成功获得证明了已分化的动物体细胞的细胞核具有全能性。

答案: (1) XX 或 XY 显微操作 (2) 遗传物质 (3) 卵母细胞的细胞质中的遗传物质会对克隆动物的性状产生影响 (4) 动物已分化的体细胞的细胞核具有全能性

10. 下图是克隆羊的培育流程图, 根据所学知识回答下列问题:



- (1) 培育克隆羊时用到的卵母细胞可以从屠宰场收集, 并在体外培养到 _____。
- (2) 从供体羊中取上皮细胞, 用 _____ 处理, 然后进行分散培养。培养过程一般在 _____ 中进行, 整个过程必须保证细胞处于 _____ 的环境中, 所需营养物质要与体内基本相同。
- (3) 去核的卵母细胞与供体细胞通过电融合法融合, _____ 进入受体卵母细胞, 形成重构胚。重构胚需要用物理或化学的方法进行激活, 使其完成 _____ 进程。

解析: (1) 核移植时, 卵母细胞需在体外培养到 M II 期。(2) 动物细胞培养时, 需用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理组织使其分散成单个细胞; 动物细胞培养过程必须保证细胞处于无菌、无毒的环境中, 且一般在 CO₂ 培养箱中进行培养。(3) 去核的卵母细胞与供体细胞通过电融合法融合, 供体核进入受体卵母细胞, 形成重构胚, 重构胚需要用物理或化学的方法进行激活, 使其完成细胞分裂和发育进程。

答案: (1) M II 期 (2) 胰蛋白酶(或胶原蛋白酶) CO₂ 培养箱 无菌、无毒 (3) 供体核 细胞分裂和发育

专项提升课 动物细胞工程

核心目的

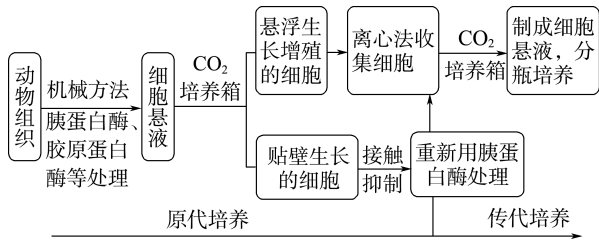
- 1.识记动物细胞培养的条件和特点:记住动物细胞培养需要满足的条件及其作用,能描述原代培养和传代培养的操作方法,以及贴壁生长和接触抑制现象。
- 2.掌握动物细胞融合的方法和单克隆抗体制备过程:与植物细胞融合方法相比,灭活病毒诱导法是动物细胞特有的融合方法。单克隆抗体制备过程中的两次筛选目的不同,第一次筛选,可筛选出B淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合的杂交瘤细胞;第二次筛选,可筛选出既能迅速大量繁殖,又能产生特定抗体的杂交瘤细胞。
- 3.明确核移植的原理和操作:动物体细胞核移植的原理是动物细胞的细胞核具有全能性,而不是动物细胞具有全能性。一般选择MⅡ期的卵母细胞作为受体。克隆动物的性状与提供细胞核的供体基本相同。

一、动物细胞培养的条件和过程

1.动物细胞培养的条件

营养物质	无机物:无机盐、微量元素等; 有机物:糖类、氨基酸、促生长因子、维生素、血清等
无菌、无毒的环境	①对培养液和所有培养用具进行灭菌处理; ②所有操作在无菌环境下进行; ③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
温度、pH和渗透压	①温度:哺乳动物多以(36.5±0.5)℃为宜; ②pH:适宜pH为7.2~7.4; ③渗透压:动物细胞生长需要适宜的渗透压
气体环境	①O ₂ 是细胞代谢所必需的,CO ₂ 的主要作用是维持培养液的pH; ②采用培养皿或松盖培养瓶置于有95%空气和5%CO ₂ 的混合气体的CO ₂ 培养箱中进行培养

2.动物细胞培养过程



对点训练

- 1.下列动物细胞培养过程中属于原代培养的是 ()
 - A.把组织分散成单个细胞的过程
 - B.从机体取得组织分散后立即进行培养的过程
 - C.出现接触抑制现象后取下的细胞的培养过程
 - D.哺乳动物细胞在培养基中的悬浮生长过程

B 解析:用胰蛋白酶使组织分散成单个细胞的过程,可以是原代培养,也可以是传代培养,A错误;原代培养是指从动物体取得的组织用胰蛋白酶分

散成单个细胞后立即培养,直到细胞出现接触抑制为止,因此从机体取得组织分散后立即进行培养的过程是原代培养,B正确;出现接触抑制现象后,取下的细胞的培养过程是传代培养,C错误;哺乳动物细胞培养过程中具有贴壁生长的特点,D错误。

- 2.中国科学院的研究人员将人的多能干细胞通过体细胞诱导培养出全能干细胞(相当于受精卵发育3天的状态),使得“成年”版本的细胞逆向转化为具有更多可能性的“婴儿期”版本的细胞。该全能干细胞比囊胚期细胞(相当于受精卵发育5~6天的状态)具有更强的发育潜力,是目前全球体外培养的“最年轻”的人类细胞。下列说法错误的是 ()
 - A.培养全能干细胞时需将其置于含有95%空气和5%CO₂的混合气体的CO₂培养箱中
 - B.多能干细胞具有分化成多种细胞或组织的潜能,但不具有发育成完整个体的能力
 - C.囊胚的内细胞团将发育成胎盘和胎膜
 - D.病人利用自身全能干细胞诱导得到的器官进行移植可以更好地避免免疫排斥反应

C 解析:培养全能干细胞过程中,需将其置于含95%空气和5%CO₂的混合气体的CO₂培养箱中,CO₂的主要作用是维持培养液的pH,A正确;多能干细胞具有分化成多种细胞或组织的潜能,但不具有发育成完整个体的能力,B正确;囊胚分为内细胞团和滋养层,其中内细胞团将来发育成胎儿的各种组织,滋养层将来发育为胎膜和胎盘,C错误;自体移植不会引起免疫排斥问题,病人利用自身全能干细胞诱导得到的器官进行移植可以更好地避免免疫排斥反应,D正确。

二、动物细胞融合技术与单克隆抗体

1.动物细胞融合技术

- (1)理论基础:细胞膜的流动性。

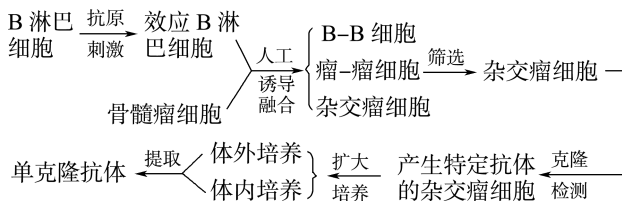
(2)诱导方法:PEG 融合法、电融合法和灭活病毒诱导法等。

(3)优点:细胞融合技术突破了有性杂交的局限,使远缘杂交成为可能。目前,种间、属间、科间,甚至动物和植物之间的细胞融合已获得成功。

2.单克隆抗体

(1)单克隆抗体的制备

①过程



②杂交瘤细胞的特点:既能迅速大量繁殖,又能产生单一抗体。

(2)单克隆抗体的优点:特异性强、灵敏度高、产量大。

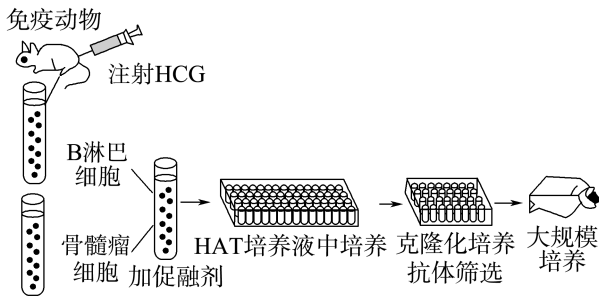
(3)单克隆抗体的应用

①作为诊断试剂:准确识别各种抗原的细微差异,与特定抗原发生特异性结合,并且可以大量制备。

②用于治疗疾病和运载药物:制成抗体—药物偶联物。

对点训练

3.人绒毛膜促性腺激素(HCG)是女性怀孕后胎盘滋养层细胞分泌的一种糖蛋白,制备抗 HCG 单克隆抗体可用于早期妊娠的诊断。下图是抗 HCG 单克隆抗体制备流程示意图,下列叙述错误的是()



A.制备抗 HCG 单克隆抗体过程中用到的动物细胞工程技术有动物细胞培养和动物细胞融合

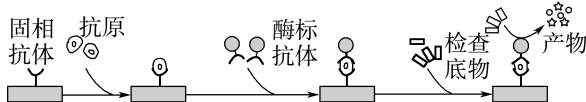
B.将纯化的 HCG 注入小鼠体内是为了从产生免疫反应小鼠的脾脏中获得能产生特定抗体的 B 淋巴细胞

C.图中使用的 HAT 培养液具有选择作用,可以让能合成抗 HCG 抗体的细胞大量增殖

D.在小鼠腹水中收集抗 HCG 单克隆抗体时,需要注射免疫抑制剂,使小鼠易于接纳杂交瘤细胞

C 解析:制备单克隆抗体过程中要用动物细胞培养技术培养 B 淋巴细胞、骨髓瘤细胞和杂交瘤细胞,用动物细胞融合技术将 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合成杂交瘤细胞,A 正确;在制备单克隆抗体过程中,首先要将纯化的 HCG 注入小鼠体内,其目的是从产生免疫反应小鼠的脾脏中获得能产生特定抗体的 B 淋巴细胞,B 正确;题图中利用 HAT 培养液的目的是筛选出杂交瘤细胞,但筛选出的杂交瘤细胞不一定能产生抗 HCG 抗体,C 错误;可将杂交瘤细胞注射到小鼠腹腔内增殖,从小鼠腹水中收集抗 HCG 单克隆抗体,此过程需要注射免疫抑制剂,降低小鼠的免疫能力,使小鼠易于接纳杂交瘤细胞,D 正确。

4.双抗体夹心法(如下图)是医学上常用的定量检测抗原的方法,利用细胞工程技术制备的单克隆抗体能增强该过程的有效性,下列相关叙述正确的是()



A.将相关抗原注射到小鼠体内,可从小鼠脾脏中获得所需的单克隆抗体

B.固相抗体和酶标抗体均能与抗原结合,这是由于两者结构相同

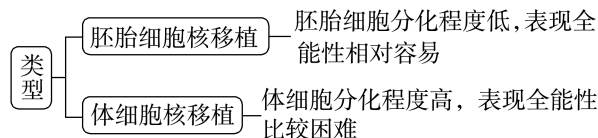
C.加入酶标抗体的目的是通过测定酶反应产物量来判断待测抗原量

D.该方法与只使用一种单克隆抗体相比,能增加识别抗原的种类

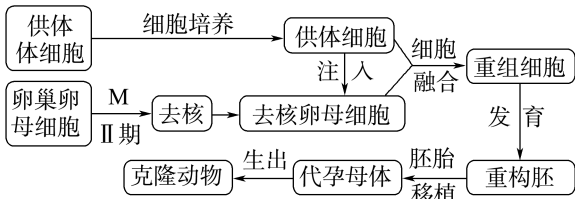
C 解析:将相关抗原注射到小鼠体内,可从小鼠脾脏中获得能产生相应抗体的 B 淋巴细胞,而单克隆抗体是由杂交瘤细胞产生的,A 错误;据题图可知,固相抗体和酶标抗体分别与抗原的不同部位结合,说明两者的结构不同,B 错误;加入酶标抗体的目的是通过酶的催化作用,检测底物含量,可通过酶反应产物量来测定待测抗原量,C 正确;据题图可知,该方法没有增加识别抗原的种类,D 错误。

三、动物体细胞核移植技术

1.哺乳动物核移植类型

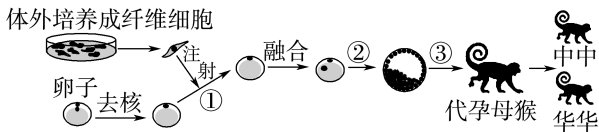


2.体细胞核移植的过程



对点训练

5.中国科学院研究团队对雌性猕猴进行克隆,成功获得“中中”和“华华”两姐妹,突破了现有技术无法体细胞克隆非人灵长类动物的世界难题,为建立人类疾病的动物模型、研究疾病机理、研发诊治药物带来光明前景。下图为“中中”和“华华”培育的流程,相关叙述不正确的是 ()

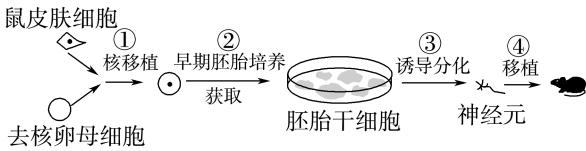


- A.该过程属于无性繁殖,体现了动物细胞的细胞核具有全能性
- B.②和③过程是动物胚胎的体外培养过程,需无菌、无毒环境
- C.图中的卵子实际上是次级卵母细胞
- D.“中中”和“华华”的性别由成纤维细胞的遗传物质决定

B 解析:题图过程没有经过精卵的结合,属于无性繁殖过程,重组细胞能发育成完整个体说明动物细胞的细胞核具有全能性,A 正确;②过程是动物胚胎的体外培养过程,③过程是动物胚胎移植过程,B 错误;题图中的卵子实际上是处于减数分裂Ⅱ时期

的次级卵母细胞,C 正确;“中中”和“华华”是由重组细胞发育而来的,其细胞核内的遗传物质来自成纤维细胞,因此性别由成纤维细胞的遗传物质决定,D 正确。

6.为研究治疗性克隆技术能否用于帕金森病的治疗,科研人员利用帕金森病模型鼠进行如图实验,下列相关叙述错误的是 ()



- A.过程①得到的细胞,其 DNA 主要来自鼠皮肤细胞
- B.过程③的关键是利用特定条件诱导胚胎干细胞相关基因表达
- C.过程②获取的胚胎干细胞具有细胞大、细胞核小但核仁明显的特征
- D.过程④对受体小鼠来说植入的神经元不会发生免疫排斥反应

C 解析:过程①是细胞核移植,由于 DNA 主要分布在细胞核内,故得到的细胞的 DNA 主要来自鼠皮肤细胞,A 正确;过程③是诱导胚胎干细胞分化成神经元细胞,细胞分化的实质是基因的选择性表达,故此过程的关键是利用特定条件诱导胚胎干细胞相关基因表达,B 正确;过程②获取的胚胎干细胞在形态上表现为体积较小、细胞核大、核仁明显,C 错误;由于重组细胞的核来自鼠自身的皮肤细胞,故过程④对受体小鼠来说植入的神经元不会发生免疫排斥反应,D 正确。

第 3 节 胚胎工程

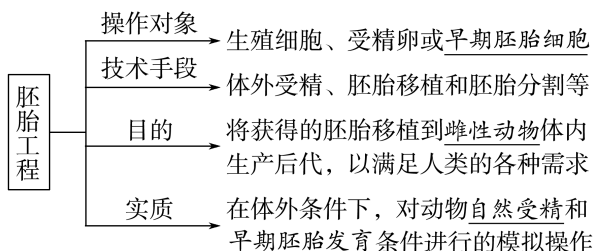
第 1 课时 胚胎工程的理论基础

学习任务目标

- 1.运用结构与功能观等观念,说明精子和卵细胞的形成过程。
- 2.采用归纳与概括、模型与建模等方法,以文字和图示的形式说明受精和胚胎早期发育的过程。

问题式预习

一、胚胎工程的概念



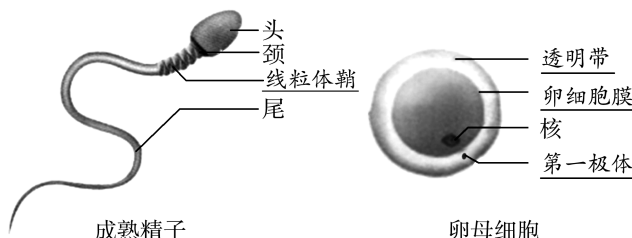
二、胚胎工程的理论基础

1. 受精

(1) 概念: 精子与卵子结合形成合子(受精卵)的过程。

(2) 场所: 哺乳动物的受精在输卵管内完成。

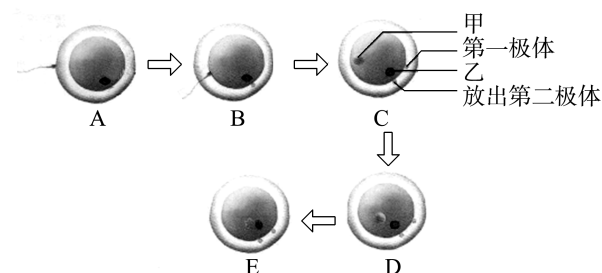
(3) 准备阶段



①精子的获能: 在雌性动物的生殖道内完成。

②卵子的准备: 发育至 M II 期。

(4) 受精过程



①过程 A 为精子与卵子相遇, 精子释放 多种酶, 溶解卵细胞膜外的结构, 穿越透明带。

②过程 B 为精子的细胞膜与卵细胞膜融合, 透明带发生生理反应, 阻止后来的精子进入透明带。

③过程 C 为精子入卵后, 卵细胞膜发生生理反应, 拒绝其他精子进入卵内。

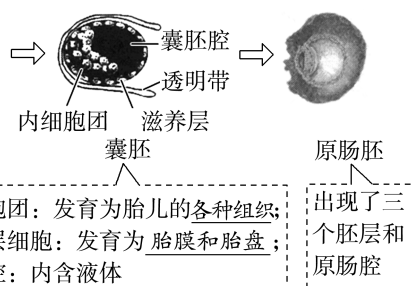
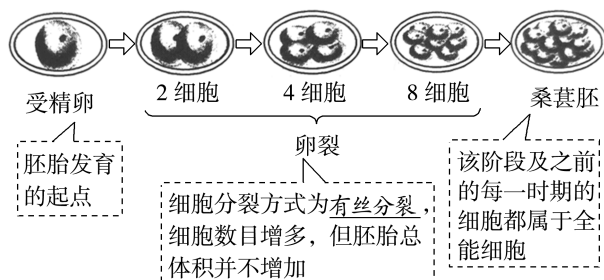
a. 精子变化: 精子的核膜破裂形成新的核膜, 比原来精子的核大(填“大”“相等”或“小”), 称为[甲]雄原核。

b. 卵子变化: 卵子完成减数分裂 II, 排出第二极体后, 形成[乙]雌原核。

④过程 D 为雌雄原核相向移动, 核膜消失, 这个含有两个染色体组的合子为受精卵。

⑤过程 E 受精结束, 受精卵开始发育。

2. 胚胎早期发育



教材开发

1. [教材 P56“相关信息”]使精子获能的方法有哪些?

提示: 使精子获能的方法有直接利用雌性动物的生殖道使精子获能; 将精子培养在人工配制的获能液中使其获能等。

2. [教材 P58“相关信息”]在实际胚胎工程操作中, 以什么作为受精的标志?

提示: 常以观察到两个极体或者雌、雄原核作为受精的标志。

3. [教材 P59“思考·讨论”]将体外培养的胚胎移植到子宫时, 对于小鼠、绵羊、猪、马、牛, 各应选择至少发育到什么阶段的胚胎?

提示: 小鼠选择桑葚胚; 绵羊选择 16 细胞; 猪选择 4~6 细胞; 马选择囊胚; 牛选择 8~16 细胞。

概念辨析

1. 在自然条件下, 受精在子宫中完成。 (×)

2. 精子获能液常见的有效成分有肝素、 Ca^{2+} 载体等。 (√)

3. 当精子入卵后, 透明带立即发生生理反应, 阻止后来的精子进入。 (×)

4. 卵裂期细胞的体积随分裂次数增加而不断增大。 (×)

5. 卵裂期胚胎中细胞数目和有机物总量在不断增加。 (×)

任务型课堂

任务一

受精作用

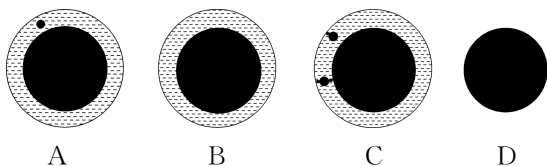
1. 下列有关哺乳动物受精作用的叙述, 错误的是

()

- A. 刚刚排出的精子要在雌性动物生殖道内发生相应生理变化才能获得受精的能力
- B. 精子变形过程中线粒体聚集到尾的基部, 精子穿越透明带等结构需要多种酶
- C. 卵子在输卵管内发育到 M II 期时才具备受精的能力
- D. 精子触及卵细胞膜的瞬间卵细胞膜发生生理反应

D 解析: 刚刚排出的精子要在雌性动物生殖道内发生相应生理变化才能获得受精的能力即精子获能, A 正确; 精子变形过程中线粒体聚集到尾的基部, 精子穿越透明带等结构需要多种酶, B 正确; 卵子在输卵管内发育到 M II 期时才具备受精的能力, C 正确; 精子触及卵细胞膜的瞬间透明带发生生理反应, D 错误。

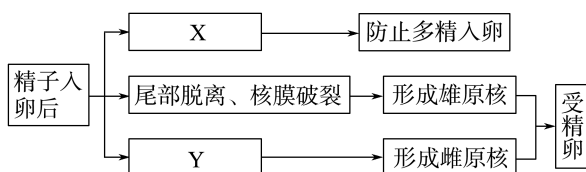
2. 下列细胞中, 哪一个代表发生了受精作用? ()



C 解析: 在哺乳动物体内受精过程中, 当在卵细胞膜和透明带的间隙观察到两个极体时, 说明卵子已经完成了受精, 这是判断卵子是否受精的重要标志, C 正确。

3. 下图表示精子入卵后, 发生(或引起)的一系列变化及形成受精卵的过程。下列叙述不正确的是

()



A. 图中 X 指卵细胞膜发生生理反应, Y 指卵子的减数分裂 II

B. 经图中 Y 过程只形成了雌原核

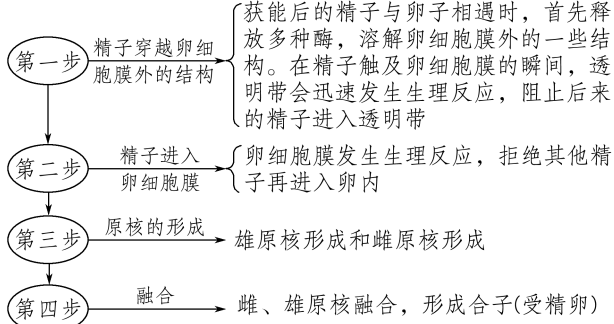
C. 精子入卵主要指精子的头部外膜与卵细胞膜融合

D. 精子入卵后精子的尾部留在外面, 并在溶酶体的作用下自溶

B 解析: 精子入卵后, 卵细胞膜立即发生生理反应, 拒绝其他精子再进入卵内, 在受精过程中卵子完成减数分裂 II, 排出第二极体, 形成雌原核, A 正确, B 错误; 精子入卵主要指精子的头部外膜与卵细胞膜融合, C 正确; 精子入卵后, 精子的尾部留在外面并在溶酶体的作用下自溶, D 正确。

任务总结

(1) 受精作用的过程



(2) 获能与受精的易错提醒

- ① 成熟的精子必须获能后才有受精能力。
- ② 卵子只有在减数分裂 II 完成后, 才能完成精子和卵子的核融合过程。
- ③ 受精的标志 ≠ 受精完成的标志: 受精的标志是在透明带和卵细胞膜之间观察到两个极体; 而受精完成的标志是雌、雄原核的融合。

任务二

胚胎早期发育

〔探究活动〕

下图表示受精卵发育的几个重要时期, 据图探究下列问题:



探究 1.胚胎发育过程中,全能性最高的阶段、开始分化的阶段分别是什么时期?

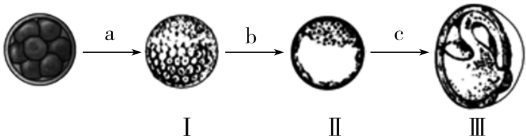
提示:受精卵;囊胚。

探究 2.胚胎发育卵裂阶段细胞中有机物、DNA 的含量和细胞体积有什么变化? 为什么?

提示:卵裂阶段细胞中有机物减少,每个细胞中 DNA 的含量基本不变,细胞体积减小。从受精卵到囊胚阶段总体积不增加,但细胞数目增多,所以每个细胞体积减小;伴随细胞分裂,细胞数目增多,总 DNA 含量增多,但每个细胞中 DNA 含量保持相对稳定;该过程中有机物总量减少,因为一直呼吸消耗但不从外界吸收。

[评价活动]

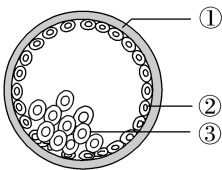
1.下图表示哺乳动物早期胚胎发育的过程,下列相关叙述正确的是 ()



- A. I 时期为桑葚胚,该时期的细胞具有发育的全能性
- B.过程 a 和 b 为卵裂,细胞数目增多,有机物的含量增多
- C.Ⅲ时期透明带破裂,胚胎伸展出来发生孵化
- D.细胞分化从Ⅲ时期开始,然后贯穿于动物的整个生命历程

A 解析: I 时期为桑葚胚,含有的所有细胞都是全能细胞,该时期的细胞具有发育的全能性,A 正确;过程 a 表示卵裂形成桑葚胚,过程 b 表示桑葚胚形成囊胚,这两个过程细胞均需要消耗能量,故胚胎中有机物的含量均减少,B 错误;Ⅱ囊胚的扩大会导致透明带的破裂,胚胎伸展出来,这一过程叫孵化,C 错误;细胞分化从Ⅱ囊胚时期开始,贯穿于动物的整个生命历程,D 错误。

2.下图为哺乳动物受精卵发育过程中某一时期的示意图,下列叙述正确的是 ()



- A.图中的细胞还没有分化,图中①②③依次为透明带、滋养层、内细胞团
- B.此图为卵裂期,胚胎的总体积并未增加,有机物的总量减少

C.高等哺乳动物个体发育中的细胞分化开始于原肠胚期,终止于生命结束

D.胚胎从①中伸展出来的过程叫作孵化

D 解析:题图为受精卵发育的囊胚期胚胎,此时期细胞已出现分化,A 错误;题图处于囊胚期,胚胎的总体积并未增加,有机物的总量减少,B 错误;细胞分化贯穿于高等哺乳动物的整个生命历程,开始于囊胚期,终止于生命结束,C 错误;胚胎从①透明带中伸展出来的过程叫作孵化,D 正确。

3.关于桑葚胚和囊胚的比较,下列说法错误的是 ()

- A.桑葚胚的各细胞结构功能基本相同
- B.囊胚期细胞出现了分化,但遗传物质未发生改变
- C.囊胚期细胞分化是由遗传物质突变引起的
- D.囊胚期内细胞团和滋养层细胞的差异不是由 DNA 复制上的差异引起的,而是由转录上的差异引起的

C 解析:桑葚胚时期细胞还没有发生分化,所以该时期的各细胞结构功能基本相同,A 正确;细胞分化的实质是基因的选择性表达,而分化过程中遗传物质未发生改变,B 正确,C 错误;囊胚期时,细胞分化形成内细胞团和滋养层细胞,两种细胞的差异是由于基因的选择性表达,即由转录上的差异引起的,而不是由 DNA 复制上的差异引起的,D 正确。

任务总结

(1)胚胎早期发育过程

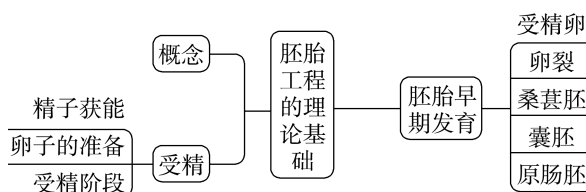
发育过程	胚胎特点
受精卵	受精卵形成后立即在输卵管内进行有丝分裂,开始发育
卵裂	细胞在透明带中进行有丝分裂,细胞数量不断增加,胚胎的总体积并不增加
桑葚胚	细胞数目约为 32 个,每个细胞都具有全能性
囊胚	①细胞开始出现分化(内细胞团将来发育成胎儿的各种组织,滋养层细胞将来发育为胎膜和胎盘); ②出现囊胚腔; ③透明带破裂,胚胎从中伸展出来(即孵化)
原肠胚	①分化出内胚层、中胚层和外胚层三个胚层; ②出现原肠腔

(2)卵裂期胚胎发育过程中物质和体积变化的规律

①有机物:胚胎没有和母体建立联系,不能从母体获取有机物,而呼吸消耗一直进行,因此有机物总量减少。

- ②细胞数目和体积：胚胎总体积不变或略有减小，但细胞数目增多，每个细胞体积减小。
- ③DNA 含量：伴随细胞分裂，细胞数目增多，总 DNA 含量增多，但每个细胞中核 DNA 含量保持相对稳定。

► 提质归纳



课后素养评价(十)

基础性·能力运用

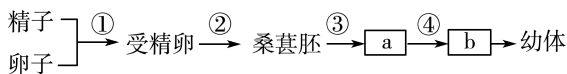
知识点 1 受精

1. 下列关于受精过程的叙述，错误的是 ()

- A. 获能后的精子与卵子相遇后，释放多种酶以溶解卵细胞膜
- B. 卵子需发育到 MⅡ 期才能受精
- C. 精子细胞膜与卵细胞膜相互融合，精子入卵
- D. 雄原核形成的同时，卵子完成减数分裂Ⅱ

A 解析：获能后的精子与卵子相遇后，释放多种酶以溶解卵细胞膜外的一些结构，并借助自身的运动接触卵细胞膜，A 错误；卵子需发育到 MⅡ 期时，才具备与获能的精子受精的能力，B 正确；精子的细胞膜与卵细胞膜相互识别并融合，精子入卵，C 正确；雄原核形成的同时，卵子完成减数分裂Ⅱ，并排出一个极体，D 正确。

2. 下图为受精作用及胚胎发育过程示意图，a、b 代表两个发育时期。下列叙述正确的是 ()



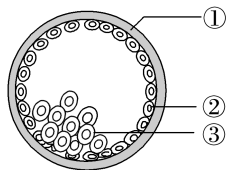
- A. 受精卵的 DNA 一半来自精子
- B. a、b 分别是原肠胚和囊胚
- C. ②过程细胞的核质比逐渐变小
- D. ④过程细胞的基因表达发生了差异

D 解析：受精卵的细胞质 DNA 几乎全部来自卵子，而细胞核 DNA 一半来自精子，一半来自卵子，故来自精子的 DNA 不到一半，A 错误；a、b 分别是囊胚和原肠胚，B 错误；②为卵裂过程，该过程中细胞体积变小，细胞的核质比逐渐变大，C 错误；④过程中发生了细胞分化，而细胞分化的实质是基因的选择性表达，因此该过程细胞的基因表达发生了差异，D 正确。

知识点 2 胚胎早期发育

3. 下图是高等哺乳动物胚胎发育过程中某一阶段示

意图，下列叙述错误的是 ()



- A. 该图中，①②③依次为透明带、滋养层、内细胞团
- B. ②将来发育为胎盘、胎膜，③将来发育为胎儿的各种组织

C. 选择此时期的胚胎进行分割时要注意对③进行均等分割

D. 细胞分化开始于胚胎发育过程中的原肠胚期，终止于个体生命结束时

D 解析：题图是胚胎发育过程中囊胚期示意图，①②③依次为透明带、滋养层、内细胞团，A 正确；②为滋养层，将来发育为胎儿的胎膜和胎盘，③为内细胞团，将来发育成胎儿的各种组织，B 正确；进行胚胎分割时，应将囊胚期的内细胞团进行均等分割，C 正确；高等哺乳动物的细胞分化开始于胚胎发育的囊胚期，终止于个体生命结束时，D 错误。

4. 下列关于胚胎发育的叙述，错误的是 ()

- A. 卵裂期胚胎总体积不增大或略有减小
- B. 囊胚的滋养层细胞发育为胎儿组织
- C. 桑葚胚胚胎形成致密细胞团
- D. 原肠胚出现外胚层、内胚层和中胚层 3 个胚层

B 解析：卵裂期细胞进行有丝分裂，该阶段细胞数量不断增加，但胚胎的总体积并不增大，或略有减小，A 正确；囊胚的滋养层细胞发育为胎儿的胎盘和胎膜，内细胞团将来发育成胎儿的各种组织，B 错误；胚胎细胞数目达到 32 个左右时，胚胎形成致密的细胞团，形似桑葚，称为桑葚胚，C 正确；随着发育的进行，原肠胚出现外胚层、内胚层和中胚层 3 个胚层，D 正确。

综合性·创新提升

5. 下列有关哺乳动物早期胚胎发育的叙述正确的是 ()

- A. 受精并开始发育的标志是观察到两个极体
 B. 受精卵在输卵管内进行卵裂形成桑葚胚的过程中, 细胞数量增加但胚胎总体积并不增加
 C. 受精卵发育为桑葚胚的过程是在透明带内完成的, 孵化后进入囊胚期阶段
 D. 胚胎发育至原肠胚时期即开始了细胞分化, 随后发育形成三个胚层

B 解析: 在卵细胞膜和透明带之间观察到两个极体, 说明卵细胞已经完成了受精, 这是判断卵子是否受精的重要标志, 不是判断开始发育的标志, A 错误; 形成的受精卵在输卵管内开始进行卵裂, 卵裂过程中, 每个细胞的体积不断缩小, 细胞的总体积基本不变或略有缩小, 故卵裂过程中细胞数量增加但胚胎总体积基本不增加, B 正确; 孵化是指囊胚从透明带中出来, 孵化后进入原肠胚阶段, C 错误; 细胞分化开始于囊胚时期, D 错误。

6. 哺乳动物胚胎早期发育阶段有一部分原始生殖细胞(PGCs), 经过分裂和长距离迁移最终进入发育而未分化的生殖嵴。随着生殖嵴向睾丸或卵巢方向分化, PGCs 也相应地向精子或卵子分化, 经过一系列复杂的过程最终成为精子或卵子。下列有关说法错误的是 ()

- A. 精子需要获能才能与卵子受精
 B. 生殖嵴分化的方向可能取决于 PGCs 中的染色体组成
 C. 生殖嵴中的 PGCs 发育为精子包括减数分裂、精细胞变形等过程
 D. 精子入卵后, 透明带立即发生反应, 阻止其他精子入卵

D 解析: 精子需要成熟和获能后才能与达到 M II 期的卵子受精, A 正确; 分析题干可知, 生殖嵴的分化具有双向性, 既可以分化为睾丸, 也可以分化为卵巢, 故生殖嵴分化的方向可能取决于 PGCs 中的染色体组成, 与染色体上的基因的选择性表达有关, B 正确; 生殖嵴中的 PGCs 发育为精子需要经过减数分裂形成精细胞和经过精细胞变形等过程, C 正确; 精子入卵后, 卵细胞膜会发生生理反应, 阻止其他精子的进入, 这是防止多精入卵受精的一个重

要屏障, 而透明带发生反应阻止其他精子入卵则发生在精子触及卵细胞膜的瞬间, D 错误。

7. 中科院动物所和福州大熊猫研究中心合作, 通过将大熊猫的细胞核植入兔子去核后的卵母细胞中, 在世界范围内最早克隆出一批大熊猫早期胚胎, 这表明我国的大熊猫人工繁殖研究再次走在世界前列。下列有关克隆大熊猫胚胎的叙述, 不正确的是 ()

- A. 在形成早期胚胎的过程中, 依次经历了卵裂、桑葚胚、囊胚、原肠胚等几个阶段
 B. 兔子卵母细胞质的作用是激发大熊猫细胞核的全能性
 C. 克隆出的早期胚胎中, 各细胞间具有相同的遗传信息
 D. 在形成早期胚胎的过程中, 尚未出现细胞的分化

D 解析: 在胚胎发育过程中, 囊胚期时就出现了细胞的分化, D 错误。

8. 图 1 为某高等动物生命史示意图, 图 2 表示图 1 中某阶段部分过程, 请据图回答下列问题:

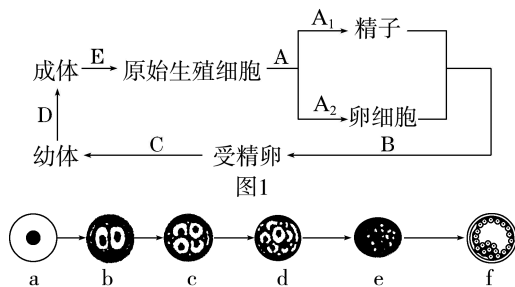


图1

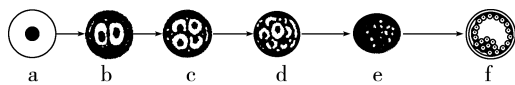


图2

(1) 图 1 中 A 过程表示 _____, 若 A 过程能使生物产生变异, 则原因之一是该过程的四分体时期同源染色体中的非姐妹染色单体间发生了 _____, 出现基因重组。

(2) 就子细胞的情况而言, A₂ 过程不同于 A₁ 过程表现在 _____。

(3) 图 2 是图 1 中 _____ (填字母) 阶段的部分过程, 该过程表示 _____。

(4) 图 2 中的 a 是经过图 1 中的 _____ (填字母序号) 过程形成的, 该过程大体包括 _____、_____、_____ 等几个过程。

(5) 图 2 中 a 至 f 的过程, 细胞发生的生命历程有 _____。

其中,d 中细胞进行分裂的方式是_____。

解析:根据图 1 变化可知,A 表示减数分裂,B 表示受精作用,C 表示胚胎发育,D 表示胚后发育。根据图 2 可知,a 表示受精卵,b 到 f 表示卵裂(有丝分裂)形成囊胚的过程。

答案:(1)减数分裂 互换 (2)一个卵原细胞经 A₂ 过程最后得到的子细胞中有 1 个卵子和 3 个极体 (3)C 胚胎发育 (4)B 精卵识别 精子与卵细胞膜接触 精卵细胞膜融合 (5)分裂、分化、衰老、凋亡 有丝分裂

第 2 课时 胚胎工程技术及其应用

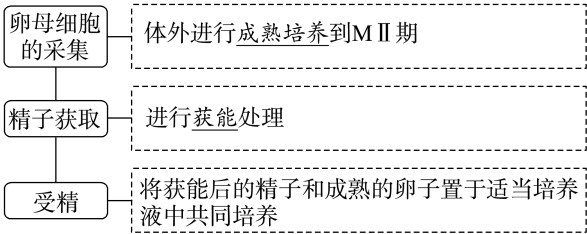
学习任务目标

- 1.采用归纳与概括、模型与建模等方法,说明体外受精和胚胎移植的过程。
- 2.认同体外受精、胚胎移植和胚胎分割技术在生产实践中的应用。

问题式预习

一、体外受精

1.过程



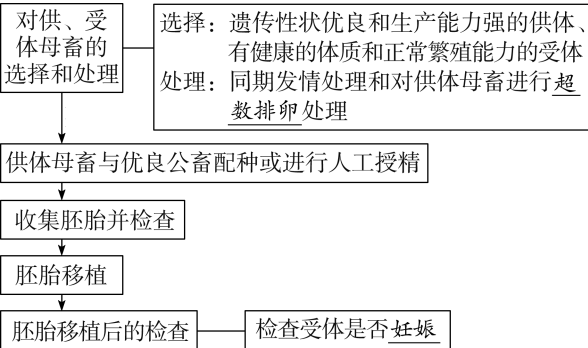
2.意义

- (1)提高动物繁殖能力的有效措施。
- (2)为胚胎移植提供可用的胚胎。

二、胚胎移植

1.概念:将通过体外受精及其他方式得到的胚胎,移植到同种的、生理状态相同的雌性动物体内,使之继续发育为新个体的技术。

2.过程

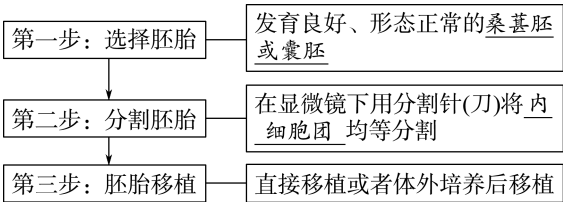


3.胚胎移植的意义

- (1)充分发挥雌性优良个体的繁殖潜力。
- (2)大大缩短了供体本身的繁殖周期。
- (3)对供体施行超数排卵处理后,增加后代数量。

三、胚胎分割

- 1.材料:应选择发育良好、形态正常的桑葚胚或囊胚。
- 2.实质:胚胎分割可增加动物后代的数量,其实质是动物的无性繁殖(或克隆)。
- 3.操作要求:对囊胚阶段的胚胎进行分割时,要注意将内细胞团均等分割。
- 4.操作程序



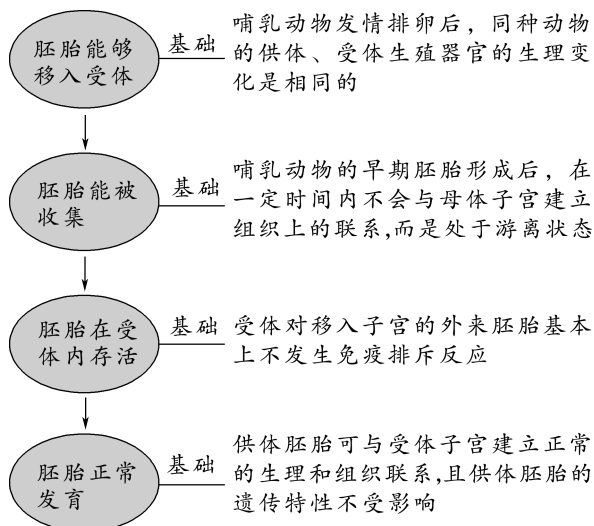
5.意义

- (1)可以促进优良动物品种的繁殖,产生的遗传性状相同(填“相同”或“不同”)的后代是进行遗传学研究的宝贵材料。
- (2)在胚胎移植前,进行性别鉴定、遗传病筛查等,对于人工控制动物性别、动物繁育健康后代具有重要意义。

教材开发

- 1.[教材 P62“相关信息”]如何让优良母牛超数排卵?
提示:注射促性腺激素,可以诱发卵巢排出比自然情况下更多的成熟卵子。
- 2.[教材 P62“思考·讨论”]请简述胚胎移植的生理学基础。

提示:



概念辨析

1. 在胚胎移植中, 对供体母畜要进行超数排卵处理, 对供体、受体要进行同期发情处理。 (√)
2. 胚胎分割时应选取发育良好、形态正常的囊胚或原肠胚。 (×)
3. 利用胚胎分割技术可以获得两个基因型完全相同的胚胎。 (√)
4. 在对囊胚进行分割时, 要将滋养层细胞均等分割。 (×)
5. 在做 DNA 分析、鉴定性别时, 要取内细胞团处的细胞。 (×)

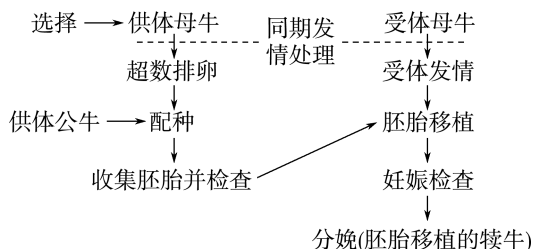
任务型课堂

任务

胚胎工程技术及应用

[探究活动]

胚胎移植是胚胎工程中的核心技术, 下图表示胚胎移植的操作流程, 据此探究下列问题:



探究 1. 图中供体牛和受体牛的选择标准是什么?

提示: 供体应该是遗传性状优良和生产能力强的良种母牛和良种公牛, 受体是有健康的体质和正常繁殖能力的母牛。

探究 2. 如何让供体母牛和受体母牛同期发情?

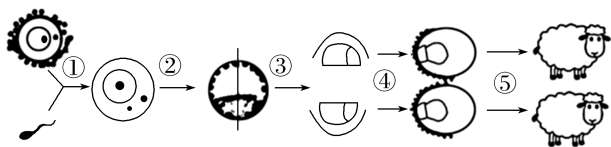
提示: 注射孕激素使二者同期发情, 注射促性腺激素使供体母牛超数排卵。

[评价活动]

1. 下列关于胚胎工程的叙述, 错误的是 ()
 - A. 对桑葚胚或囊胚进行分割处理, 可培育基因型相同的两个新个体
 - B. 采用胚胎分割技术可获得同卵双胎或多胎
 - C. 胚胎移植时, 供体和受体母畜都必须具备优秀的遗传性能
 - D. 胚胎分割可以看作动物的无性繁殖或者克隆的方法之一
- C 解析:** 由于来自同一个胚胎的后代具有相同的

遗传物质, 因此对桑葚胚或囊胚进行分割处理, 可培育基因型相同的两个新个体, A 正确; 来自同一个胚胎的后代具有相同的遗传物质, 因此采用胚胎分割技术可获得同卵双胎或多胎, 可看作动物的无性繁殖或克隆的方法之一, B、D 正确; 胚胎移植时, 由于后代的细胞核基因来源于供体, 所以供体母畜必须具备优秀的遗传性能, 但受体母畜不需要具备优秀的遗传性能, C 错误。

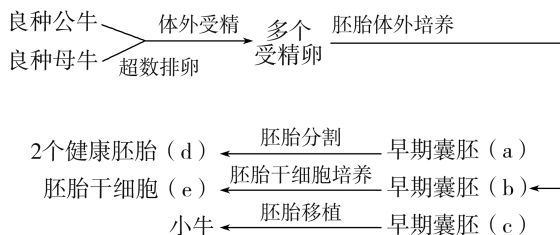
2. 羊奶的脂肪颗粒体积为牛奶的三分之一, 更有利于人体吸收, 并且羊奶中的维生素及微量元素含量明显高于牛奶。下图表示研究人员利用胚胎工程培育产奶量高的优质奶羊的过程, 下列相关说法正确的是 ()



- A. 通过图中①~⑤过程培育的奶羊和克隆羊的原理相同
 - B. 不同生物进行⑤过程的时间不同, 最迟可以选择原肠胚时期
 - C. 移植前进行胚胎性别鉴定, 选择雄性进行移植
 - D. ⑤的成功与供体和受体的生理状态的一致性密切相关
- D 解析:** 通过题图中①~⑤过程培育的奶羊和克

隆羊的原理不同,A 错误;不同生物进行⑤胚胎移植过程的时间不同,但都不能晚于囊胚期,B 错误;由于只有雌性个体能产奶,因此移植前进行性别鉴定,应该选择雌性胚胎进行移植,C 错误;胚胎移植的成功与供体和受体的生理状态的一致性密切相关,因为只有供体和受体具有一致的生理环境才能保证胚胎的成活率,D 正确。

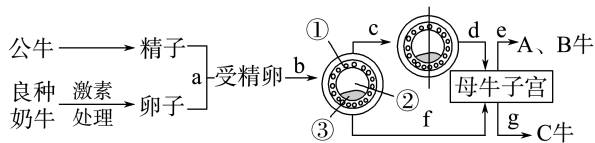
3.胚胎工程中各种胚胎操作技术如下图所示。下列分析正确的是 ()



- A.从良种公牛体内获得的精子可以直接与 MⅡ 期的卵子结合受精
B.早期囊胚 a、b、c 基因型相同,但发育得到的个体表型不一定相同
C.d 可直接移植给受体,获得小牛的途径属于无性生殖
D.胚胎移植时因防止代孕牛对胚胎产生免疫排斥反应,因此需要使用免疫抑制剂

解析:从良种公牛体内获得的精子在体外获能后才可以与培养到 MⅡ 期的卵母细胞结合受精,A 错误;据图可知,三种早期囊胚由不同受精卵发育而来,故 a、b、c 细胞核中的遗传物质不一定相同,B 错误;d 是经过胚胎分割形成的两个健康的胚胎,可直接移植给受体,该过程属于无性生殖,C 正确;受体对移入子宫的外来胚胎基本上不发生免疫排斥反应,不需要注射免疫抑制剂,D 错误。

4.下图是科学家采用不同方法培育良种牛的过程,a~g 为操作过程,请据图回答有关问题:



- (1)图中用到的生物技术有 _____ (写出两种)等。
(2)图中用到的激素是 _____,其目的是获得更多的卵母细胞,经受精后可得到多个早期胚胎。
(3)c 过程名称为 _____,一般是对发育到 _____

_____ (阶段)的早期胚胎进行处理,再植入到受体内。在对囊胚阶段的胚胎进行分割时,应注意将③ _____ 均等分割,以免影响胚胎的恢复和进一步发育。

(4)用于移植的胚胎除图中所示外还有 _____ (一项即可)等来源。

解析:(1)题图中应用的生物技术较多,b 是早期胚胎培养,c 是胚胎分割,d、f 为胚胎移植。(2)用促性腺激素处理良种奶牛,可促使其超数排卵,这样可以获得更多的卵母细胞。(3)c 过程为胚胎分割,对发育到桑葚胚或囊胚阶段的早期胚胎进行胚胎分割处理,再植入受体内,可获得遗传物质完全相同的两个新个体。在操作过程中,要注意将囊胚阶段的内细胞团均等分割,否则会影响胚胎的恢复和进一步发育。(4)用于移植的胚胎除可通过胚胎分割获得外,也可来自核移植的胚胎。

答案:(1)胚胎分割、胚胎移植、胚胎的早期培养(写出两种即可) (2)促性腺激素 (3)胚胎分割 桑葚胚或囊胚 内细胞团 (4)核移植的胚胎(合理即可)

任务总结

(1)胚胎工程中的几点提醒

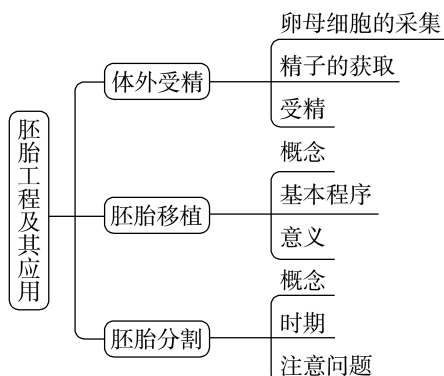
- ①移植的胚胎在受体内存活的基础是受体对外来胚胎基本上不发生免疫排斥反应。
- ②雌性动物发情排卵后,不管是否妊娠,在一段时间内,同种动物的供体、受体生殖器官的生理变化是相同的。
- ③胚胎移植中对供体进行两次处理:同期发情处理和超数排卵处理。
- ④胚胎移植过程中的两次检查:第一次对收集的胚胎进行质量检查;第二次对受体母畜是否妊娠进行检查。
- ⑤胚胎分割的最佳时期是桑葚胚期或囊胚期;若选择在囊胚期进行分割,必须保证内细胞团均等分割,且分割份数不能过多,以保证分割后胚胎的恢复和进一步发育。
- ⑥同一胚胎经分割移植形成的后代具有相同的遗传物质,该过程中没有进行减数分裂、有性生殖。

殖细胞的形成、有性生殖细胞的结合,属于无性繁殖或克隆。

(2)移植胚胎的来源及生殖方式的判断方法

- ①核移植→早期胚胎培养,属于无性繁殖。
- ②体外受精→早期胚胎培养,属于有性生殖。
- ③体内受精→收集胚胎→胚胎移植,属于有性生殖。
- ④胚胎分割→早期胚胎培养或胚胎移植,属于无性生殖。

► 提质归纳



课后素养评价(十一)

基础性·能力运用

知识点 1 体外受精

1. 下列关于小鼠体外受精及胚胎发育的叙述,错误的是 ()

- A. 小鼠在特定条件下饲养,注射相关激素有促进超数排卵的作用
- B. 将成熟的卵母细胞与新采集的精子同时放在获能液中培养利于受精
- C. 注射到小鼠囊胚腔中的胚胎干细胞可以参与个体器官的发育
- D. 分割的胚胎细胞有相同的遗传物质,发育成的个体也会有形态学差异

B 解析: 小鼠在特定条件下饲养,注射促性腺激素有促进超数排卵的作用,A 正确;处于 MⅡ 期的卵母细胞具有受精功能,可以和在获能液中获能的精子受精,B 错误;注射到小鼠囊胚腔中的胚胎干细胞可以分化形成各种组织,因此可以参与个体器官的发育,C 正确;分割的胚胎细胞有相同的遗传物质,但生物性状还受环境因素的影响,因此发育成的个体也会有形态学差异,D 正确。

知识点 2 胚胎移植

2. 请根据试管牛的生产流程图回答问题:



(1) ①②过程分别表示 _____、_____。

(2) 对供体母牛的要求是 _____,通常母牛每次只排出一枚卵母细胞。

(3) 生产上常用 _____ 期的胚胎进行 ② 过程。

解析: (1) 由题图可知,①②过程分别表示体外受精、胚胎移植。(2) 培育试管动物首先选择遗传性状优良、生产能力强的母畜。(3) 等胚胎发育到桑葚胚或囊胚期时进行胚胎移植。

答案: (1) 体外受精 胚胎移植 (2) 遗传性状优良、生产能力强 (3) 桑葚胚或囊胚

知识点 3 胚胎分割

3. 下列关于胚胎分割技术的说法,错误的是 ()

- A. 可以对胚胎进行任意数目的等分,移植后均可正常发育
- B. 被分割的胚胎应该是发育良好的桑葚胚或囊胚
- C. 胚胎分割是进行动物克隆的方法之一
- D. 来自同一胚胎的后代具有相同的遗传物质

A 解析: 胚胎分割是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,不可以对胚胎进行任意数目的等分,且胚胎分割的份数越多,成功率越低,A 错误;桑葚胚和囊胚期的内细胞团全能性高,即其中的每一个细胞都具有发育的全能性,因此,被分割的胚胎应该是发育良好的桑葚胚或囊胚,B 正确;结合胚胎分割的概念可知,来自同一胚胎的后代具有相同的遗传物质,因此胚胎分割是进行动物克隆的方法之一,C 正确;同一个胚胎中的细胞都是由同一个受精卵经过有丝分裂产生的,因此胚胎中的细胞都具有相同的遗传物质,据此可知,来自同一胚胎的后代具有相同的遗传物质,D 正确。

综合性·创新提升

4.牛胚胎移植实验的主要流程如下图所示,下列相关叙述正确的是 ()

①供体超数排卵→②配种→③胚胎收集

↓

子代小牛←⑤胚胎移植←④_____

- A.①过程需要注射有关激素,目的是直接获得更多的卵原细胞并完成减数分裂
B.③过程以哺乳动物早期胚胎与子宫建立了组织上的联系为前提
C.④过程是“对胚胎进行正常繁殖”,可移植的胚胎应发育到桑葚胚或囊胚阶段
D.⑤过程成功率的高低主要决定于供体、受体生理状况是否一致

D 解析:①过程需要注射促性腺激素,目的是进行超数排卵,但所获得的是还未完成减数分裂的卵母细胞,A错误;③胚胎收集的基础是哺乳动物早期胚胎处于游离状态,B错误;④过程是“对胚胎进行质量检查”,可移植的胚胎应发育到桑葚胚或囊胚阶段,C错误;⑤过程成功率的高低主要决定于供体、受体生理状况是否一致,D正确。

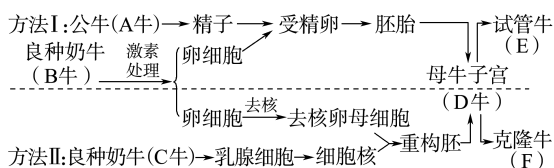
5.2022年10月,第一头南方奶牛良种“胚胎牛”诞生于温州泰顺。具体培育过程如下:从4万多头奶牛中,选出遗传性能优良的“供体”牛,让其超数排卵;经优质公牛冻精植入体内受精,获取一定量的胚胎;将胚胎移植到其他受体母牛体内,从而获得很多具备高产潜力的奶牛。下列叙述错误的是 ()

- A.供体和受体的选择一般要求是同种雌性物种,需进行同期发情处理
B.让优质母牛超数排卵的方法是在适当时期注射外源促性腺激素
C.冷冻保存优质公牛精液时,需克服降温过程中结冰水结冰而造成的损伤
D.胚胎移植之前,可用分子生物学的方法对胚胎进行性别鉴定

C 解析:只有同种雌性物种才能使胚胎移植成功,经过同期发情处理,使供、受体生殖器官的生理变化相同,为胚胎提供相同的生殖环境,A正确;外源促性腺激素能促进优质母牛排出更多卵子,B正确;冷冻保存优质公牛精液时,需克服降温过程中自由

水结冰而造成的损伤,C错误;胚胎移植之前,可用分子生物学的方法对胚胎进行性别鉴定,如利用SRY-PCR法,用位于Y染色体上的性别决定基因(SRY)的一段碱基作引物,用胚胎细胞中的DNA为模板,进行PCR扩增,最后用SRY特异性探针检测扩增产物进行检测,D正确。

6.为了加快优良种牛的繁殖速度,科学家采用了以下两种方法,请根据图示信息,回答下列问题:



(1)繁殖E牛时,采集的精子要先进行_____处理,之后精子接触卵细胞膜,并进一步与卵结合,完成受精。

(2)培育克隆牛F时使用的不同于试管牛E的生物技术是_____,试管牛E的生殖方式属于_____。

(3)对重构胚发育成的囊胚采用_____技术,可获得更多基因型完全相同的E牛,该技术具体操作时的注意要点是_____。

(4)用来促进B牛多排卵的激素可能是_____分泌的促性腺激素。

解析:(1)繁殖E牛时,采集的精子要先进行获能处理,否则不能参与受精。(2)由题图可知,试管牛E和克隆牛F的培育过程中均用到了动物细胞培养(早期胚胎培养)、胚胎移植技术,而培育克隆牛F时还利用了核移植技术。试管牛E的形成存在精子和卵细胞的受精作用,因此试管牛E的生殖方式属于有性生殖。(3)对重构胚发育成的囊胚采用胚胎分割技术,可获得更多基因型完全相同的E牛,该技术具体操作时的注意要点是将内细胞团均等分割,可避免影响分割后胚胎的恢复和进一步发育。(4)垂体分泌的促性腺激素可促进良种母畜超数排卵,因此用来促进B牛多排卵的激素是垂体分泌的促性腺激素。

答案:(1)获能 (2)核移植 有性生殖 (3)胚胎分割 将内细胞团均等分割 (4)垂体



单元活动构建

单元活动 运用细胞工程的原理、技术，解决生产生活实际问题

「单元任务」

任务内容	
任务一	利用植物细胞工程解决作物脱毒、紫杉醇工厂化生产、育种等问题
任务二	利用动物细胞工程技术解决器官或组织移植中的免疫排斥等问题
任务三	利用胚胎工程技术解决优良种畜的大量繁殖等问题

「任务导引」

紫杉醇是红豆杉属植物体产生的一种次生代谢物，能与微管蛋白聚合体相互作用，抑制纺锤丝的形成，从而阻碍了肿瘤细胞的分裂，因此可用于治疗多种癌症，尤其对常规化疗无效的卵巢癌和乳腺癌能起到明显的治疗作用。获取紫杉醇的传统方法是从红豆杉的树皮和树叶中提取，从 36 棵 60 年生的大树的树皮中仅能提取到大约 1 g 紫杉醇。野生红豆杉属于珍稀濒危植物，生长速度较慢，直径 20 cm 的树需生长 10 年，而目前紫杉醇的年需求量达到 500 kg。为解决紫杉醇的产量问题，可以筛选出高产紫杉醇的细胞，利用植物细胞工程技术来实现紫杉醇的工厂化生产。

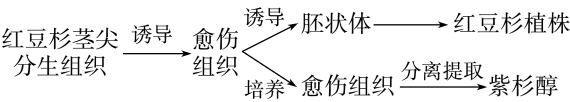
除利用植物细胞工程技术实现细胞产物的工厂化生产外，动物细胞工程及胚胎工程也能解决很多生产生活中的实际问题，主要表现为以下方面：

- (1)生产单克隆抗体和细胞因子，靶向治疗等；
- (2)培养干细胞治疗白血病等恶性肿瘤；
- (3)生产特殊蛋白质和多肽药物，治疗疾病等；
- (4)生产特殊器官和组织，为器官组织移植提供材料；
- (5)培育试管婴儿，解决不孕不育问题；
- (6)胚胎移植和胚胎分割可以解决优良种畜的大量繁殖等问题。

「任务突破」

任务一	利用植物细胞工程解决作物脱毒、紫杉醇工厂化生产、育种等问题
-----	-------------------------------

活动 1 为拯救红豆杉，同时获得紫杉醇，科研小组设计了如下图所示的实验流程：



请回答下列问题：

(1)利用红豆杉茎尖分生组织进行组织培养，得到完整植株的根本原因是什么？

答案：茎尖分生组织细胞含有该种生物的全部遗传信息。

(2)欲利用细胞产物的工厂化生产手段来解决紫杉醇短缺的问题，请你结合图示，简单阐述一下基本思路。

答案：利用植物组织培养技术，将细胞培养成愈伤组织，再大量培养愈伤组织细胞，从中提取紫杉醇。

活动 2 马铃薯是一种分布广泛、适应性强、产量高、营养价值丰富的粮食和经济作物，培育脱毒和抗毒的马铃薯品种是解决马铃薯质量退化和产量下降的有效方法。培养马铃薯脱毒苗时，外植体宜选用茎尖(填“茎尖”或“叶片”)，原因是茎尖等分生区病毒极少甚至无病毒；依据的主要原理是植物细胞的全能性。

任务二	利用动物细胞工程技术解决器官或组织移植中的免疫排斥等问题
-----	------------------------------

活动 1 为避免发生免疫排斥，对大面积烧伤病人进行皮肤移植时，可通过动物细胞培养技术培养自体细胞来构建人造皮肤。有些研究人员利用体细胞核移植技术培养免疫匹配的移植器官，具体思路是将病人体细胞核移入去核卵母细胞中得到重组细胞，激活重构胚并发育成一个新的胚胎，从发育至囊胚时期

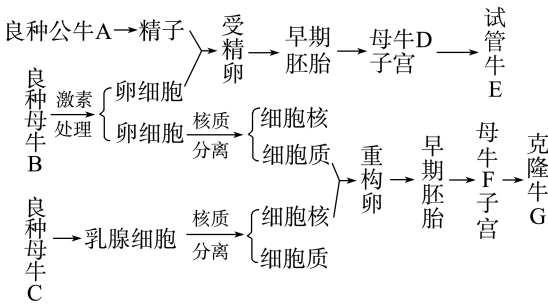
的内细胞团中分离出胚胎干细胞,从而诱导胚胎干细胞分化出免疫匹配的组织或器官。

活动 2 安巴韦单抗注射液(BR II -196)及罗米司韦单抗注射液(BR II -198)是我国自主研发的单克隆抗体,联合用于治疗新型冠状病毒感染者,效果显著。制备新冠单克隆抗体过程中,提取已免疫的 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合,经 HAT 培养基筛选获得杂交瘤细胞;由于同一种抗原可能激活多个 B 淋巴细胞,还需继续筛选才能获得目的细胞株。新冠单抗能准确结合新型冠状病毒,是因为单克隆抗体具有的特点是特异性强、灵敏度高(答两点)等。

任务三

利用胚胎工程技术解决优良种畜的大量繁殖等问题

活动 1 长期以来优良种畜的繁殖速度始终是限制畜牧养殖业发展的瓶颈,而随着细胞工程技术和胚胎工程技术的日趋成熟,优良种畜的快速繁殖难题得到了解决。下面是科学家快速繁殖良种奶牛的两种方法,请据图回答问题:



(1)培养出的克隆牛 G 几乎是良种母牛 C 的复制品,这是为什么?

答案:控制生物性状的遗传物质主要存在于细胞核中,克隆牛 G 的细胞核来自良种母牛 C。

(2)为大量获得试管牛 E,可将早期胚胎进行分割后移植,分割所选的胚胎应是发育正常的桑葚胚或囊胚,分割时要注意将囊胚的内细胞团均等分割,以保证分割后的胚胎能正常发育。

活动 2 北部白犀牛曾经广泛分布于非洲,但由于猖獗的盗猎和自然栖息地的丧失,它们的个体数量不断减少。2018 年 3 月,世界上最后一头雄性北部白犀牛去世,该物种只剩下两头雌性。然而在此之前,研究人员已设法保存了北部白犀牛的精子。回答下列问题:

(1)若通过胚胎工程对北部白犀牛进行繁殖,则操作步骤应为:对仅存的两头雌性个体注射促性腺激素进行超数排卵处理→体外受精→早期胚胎培养→胚胎移植→妊娠检查→产生白犀牛后代。

(2)早期胚胎能够在受体体内存活的生理基础是受体对移入子宫的外来胚胎基本不发生免疫排斥反应。

「活动达标」

1.利用植物细胞培养生产的紫草宁是世界上首例药用植物细胞工程产品。下列关于植物细胞工程的说法,正确的是 ()

- A.植物细胞培养的目的主要是获得植物生长和生存所必需的次生代谢物
- B.植物组织培养时,应对外植体进行灭菌处理,以防止培养基及愈伤组织被污染
- C.在培养愈伤组织时加入细胞融合的诱导剂,可直接获得染色体加倍的细胞
- D.叶肉细胞往往带病毒且细胞的全能性较低,故培育脱毒植物适宜选茎尖而不选叶片

D 解析:植物细胞培养的主要目的是通过大规模的细胞培养,获得人类所需的细胞次生代谢物,但细胞次生代谢物不是植物细胞生长和生存所必需的,A 错误;植物组织培养时,应对外植体进行消毒处理,对培养基进行灭菌处理,这样可以防止杂菌污染,B 错误;在培养愈伤组织时加入细胞融合的诱导剂,不能直接获得染色体加倍的细胞,因为植物细胞具有细胞壁,阻止了原生质体的融合,C 错误;叶肉细胞往往带病毒且细胞的全能性较低,而茎尖的病毒极少,甚至无病毒,而且全能性较高,故培育脱毒植物适宜选茎尖而不选叶片,D 正确。

2.一个抗原往往有多个不同的抗原决定簇,一个抗原决定簇只能刺激机体产生一种抗体,由同一抗原刺激产生的不同抗体统称为多抗。将非洲猪瘟病毒衣壳蛋白 p72 注入小鼠体内,可利用该小鼠的免疫细胞制备抗 p72 的单抗,也可以从该小鼠的血清中直接分离出多抗。下列说法正确的是 ()

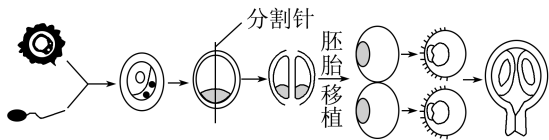
- A.注入小鼠体内的抗原纯度对抗体纯度的影响比对多抗纯度的影响大
- B.单抗制备过程中通常将分离出的浆细胞与骨髓瘤细胞融合

- C.利用该小鼠只能制备出一种抗 p72 的单抗
D.p72 部分结构改变后会出现原单抗失效而多抗仍有效的情况

D 解析:单抗的制作过程需要筛选,而多抗不需要筛选,抗原纯度越高,产生的多抗纯度越高,因此抗原纯度对单抗纯度的影响比多抗纯度的影响小,A 错误;单抗制备过程中通常将经过免疫的 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合,B 错误;非洲猪瘟病毒衣壳蛋白 p72 上有多种抗原决定簇,一个抗原决定簇只能刺激机体产生一种抗体,所以向小鼠体内注入 p72 后,可以刺激小鼠产生多种抗 p72 的单抗,C 错误;p72 部分结构改变只改变了部分抗原决定簇,因此由这部分抗原决定簇产生的抗体失效,但因为还存在由其他抗原决定簇刺激机体产生的抗体,所以多抗仍有效,D 正确。

- 3.下图为经体外受精、胚胎分割和胚胎移植培育优良奶牛的过程示意图。下列相关说法正确的是

()



- A.体外受精所需的成熟卵子可以从母体卵巢中直接获取,但在受精前要对精子进行获能处理
B.进行胚胎分割时,应选择发育到原肠胚时期的胚胎进行操作
C.胚胎分割的方法只能用分割针在显微镜下将胚胎均等分割成若干份
D.移植后的胚胎能在受体子宫中存活的生理基础是受体子宫对外来胚胎几乎不发生免疫排斥反应

D 解析:从卵巢中获取的卵子必须在体外培养到 MⅡ 期时,才能与获能精子结合得到受精卵,A 错误;进行胚胎分割时,应选择发育到桑葚胚或囊胚时期的胚胎进行操作,B 错误;不同阶段的胚胎进行胚胎分割时,可采用的方法有一定的差别,若胚胎处于卵裂期可以采用酶解法或机械法,若处于囊胚期则只能运用机械法分割,C 错误;受体母牛必须和供体牛属于同一物种,移植后的胚胎能在受体子宫中存活的生理基础是受体子宫对外来胚胎基本不发生免疫排斥反应,D 正确。

- 4.图 1 是从动物体内获得相关组织,分散成单个细胞后,模拟体内环境,使其继续生长、增殖的技术过程图解,图 2 是利用胚胎工程培育“试管牛”的基本过程图解。请据图回答问题:

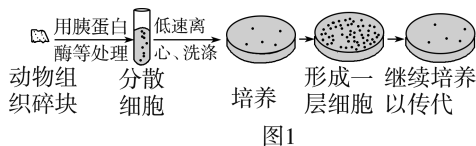


图1

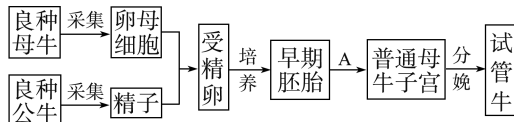


图2

- (1)动物细胞工程的基础是_____,此过程在无菌条件下,取出动物组织块剪碎,用培养液漂洗。然后用_____酶等处理,形成分散的悬浮细胞。动物细胞培养过程中,将细胞分散开培养的原因:一是_____;二是能保证细胞内有害代谢产物的及时排出。
- (2)动物细胞培养和植物组织培养的原理和目的不同:动物细胞培养的原理是_____,目的是获得大量的细胞;植物组织培养的原理是_____,目的是获得新个体。
- (3)受精卵是胚胎发育的开端,图中的卵母细胞需达到_____期时,才具备受精的能力,而精子需经过_____过程才能和卵子结合。
- (4)若要获得遗传物质完全相同的两个新个体,可对发育到_____阶段的早期胚胎进行胚胎分割,在胚胎进行分割时,要注意将内细胞团均等分割。图 2 中过程 A 称为_____,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。在操作前要对良种母牛和普通母牛用激素进行_____处理。
- (5)胚胎工程是指对动物的胚胎进行人为操作和处理以获得目标个体的技术,下列关于利用胚胎工程培育优质奶牛的叙述正确的是 ()
- A.体外受精与体内受精不同的是体外受精前精子需要获能,而体内受精前精子不需要获能
B.经培养,可移植的胚胎发育到原肠胚阶段更好
C.受精卵发育成早期胚胎所需营养主要来源于营养液
D.胚胎移植能发挥优良母畜的繁殖能力,迅速扩大优良畜种的数量,加速优良畜种的推广应用

解析:(1)动物细胞工程的基础是动物细胞培养,动物细胞培养时需要用胰蛋白酶处理,使其分散成单个细胞。动物细胞培养过程中,细胞需要与培养液进行物质交换,为了保证细胞所需要的营养供应和细胞内有害代谢产物的及时排出,需要将细胞分散开培养。(2)动物细胞培养的原理是细胞增殖,目的是获得大量的细胞;植物组织培养的原理是细胞的全能性,目的是获得新个体。(3)体外受精时,卵母细胞需要培养到减数分裂Ⅱ期时,才具备受精能力。精子需经过获能处理过程才能和卵子结合。(4)对早期胚胎进行分割可获得遗传物质完全相同的两个新个体。胚胎分割的时期一般是桑葚胚或囊胚时期。对囊胚进行分割时需要将内细胞团均等分割。过程A属于胚胎移植,实质是早期胚胎在

相同生理环境条件下空间位置的转移。为了提高移植胚胎的成活率,需要对良种母牛(供体)和普通母牛(受体)用激素进行同期发情处理。(5)体外受精和体内受精前精子都需要获能,体内受精时精子在雌性生殖道内完成获能过程,A错误;可移植的胚胎应发育到桑葚胚或囊胚阶段,B错误;受精卵发育成早期胚胎所需营养主要来源于受精卵,C错误;通过胚胎移植技术可以充分发挥优良母畜的繁殖能力,迅速扩大优良畜种的数量,加速优良畜种的推广应用,D正确。

答案:(1)动物细胞培养 胰蛋白 能保证细胞所需要的营养供应 (2)细胞增殖 细胞的全能性 (3)减数分裂Ⅱ 获能 (4)桑葚胚或囊胚 胚胎移植 同期发情 (5)D

第2章质量评估

(时间:90分钟,分值:100分)

第I卷(共40分)

一、选择题(本题共20小题,每小题2分,共40分)

1.植物细胞工程包括植物组织培养、植物体细胞杂交等技术,具有广泛的应用前景和实用价值。下列对这些操作或应用描述错误的是 ()

- A.可用PEG诱导植物细胞融合,再生出细胞壁是融合成功的标志
- B.利用植物组织培养技术可大量获得人参皂苷干粉,且已投入规模化生产
- C.植物培养基中常用的植物生长调节剂一般可以分为生长素类、细胞分裂素类和赤霉素类
- D.获取植物原生质体时,需在蔗糖浓度高于细胞液浓度的缓冲液中进行,以使细胞发生质壁分离便于观察

D 解析:植物细胞(或原生质体)融合可用PEG进行诱导,融合成功的标志是再生出细胞壁,A正确;利用植物组织培养技术可以大量获得人参皂苷干粉,并且这一技术已投入规模化生产,B正确;植物生长调节剂在植物组织培养中具有极其重要的作用,根据其功能特点可分为生长素类、细胞分裂素类和赤霉素类,C正确;获取植物原生质体时,除使

用纤维素酶和果胶酶外,还要在蔗糖浓度与细胞液浓度相当的缓冲液中进行,以免细胞过度吸水或失水,此时原生质体已无细胞壁,无法观察到质壁分离,D错误。

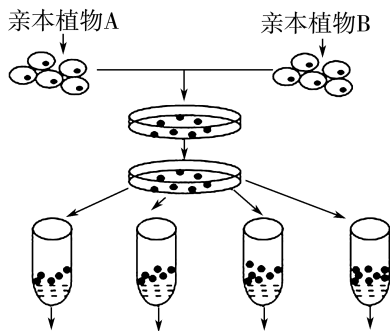
2.下列关于细胞工程的叙述中,错误的是 ()

- A.从紫草的愈伤组织中提取紫草宁、利用细胞工程培育“番茄—马铃薯”杂种植株都利用了植物组织培养技术
- B.在进行组织培养时,由根尖细胞形成愈伤组织的过程中,可能会发生细胞脱分化、染色体变异或基因突变,而不可能发生细胞分化和基因重组
- C.试管婴儿实质上就是体外受精和胚胎移植的“产物”,但无法使不能产生精子或卵细胞的夫妇得到自己的孩子
- D.动物细胞融合与植物体细胞杂交相比,诱导融合的方法、所用的技术手段、所依据的原理均相同,都能形成杂种个体

D 解析:凡是过程中涉及离体细胞培育成个体的技术都利用了植物组织培养,由植物组织培养成愈伤组织也需要植物组织培养,A正确;根尖细胞形成愈伤组织的过程是细胞脱分化的过程,细胞会通过有丝分裂方式增殖,可能会发生染色体变异或基

因突变,但不会发生细胞分化和基因重组,B正确;不能产生精子或卵细胞的夫妇无法利用生殖细胞完成体外受精获得试管婴儿,C正确;动物细胞融合与植物体细胞杂交相比基本原理相同,融合方法也类似,但是动物细胞融合技术中有灭活的病毒进行诱导的方法,而植物体细胞杂交技术中没有此方法,而且目前动物细胞融合还没有培育出杂交个体,D错误。

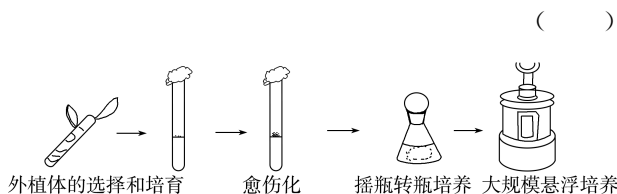
3. 下图为植物细胞融合后再生出新植株的部分过程示意图。请据图分析,以下叙述不正确的是()



- A. 使植物细胞形成原生质体阶段的关键技术是使用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁
B. 植物细胞融合一般要用聚乙二醇(PEG)等诱导剂进行诱导
C. 原生质体融合成为一个新的杂种细胞的标志是出现新的细胞核
D. 亲本植物A的细胞与亲本植物B的细胞两两融合后的细胞类型有3种

C 解析:植物体细胞杂交前首先要用纤维素酶和果胶酶去除植物细胞的细胞壁以得到原生质体,A正确;诱导植物原生质体融合时,常用聚乙二醇等诱导剂进行诱导,B正确;原生质体融合成为一个新的杂种细胞的标志是再生出新的细胞壁,C错误;亲本植物A的细胞和亲本植物B的细胞两两融合后形成3种类型的融合细胞,D正确。

4. 下图表示工厂化生产紫杉醇的过程,对红豆杉愈伤组织进行液体悬浮培养分离出单细胞,再用组成为“普通培养基+0.5 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ BA(BA是一种细胞分裂素)+25 g·L⁻¹蔗糖”的培养液培养获得大量红豆杉细胞。下列叙述错误的是()



- A. 培养液中添加的“NAA+BA”可以促进愈伤组织细胞增殖
B. 选取红豆杉树皮作外植体更容易获得紫杉醇
C. 紫杉醇可能不是红豆杉细胞基本生命活动所必需的物质
D. 外植体使用及整个培养过程中需要保证严格的无菌环境

B 解析:“普通培养基+0.5 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ BA+25 g·L⁻¹蔗糖”的培养液培养红豆杉愈伤组织获得大量红豆杉细胞,说明培养液中添加的“NAA+BA”可以促进愈伤组织细胞增殖,A正确;除了幼嫩枝条外,其余树皮均为死细胞积累而成,所以选取红豆杉树皮作外植体不容易获得活细胞,就更不容易得到紫杉醇,B错误;通过对红豆杉细胞进行培养可以获得紫杉醇,说明紫杉醇是红豆杉细胞外分泌的物质,不是红豆杉细胞基本生命活动所必需的物质,C正确;外植体使用及整个培养过程中需要保证严格的无菌环境,以免被杂菌污染,造成培养细胞大面积死亡或产物被转化,D正确。

5. 下列生物技术与相应的实验目的,配对不正确的是()

- A. 胚胎分割移植——获得遗传特性相同的后代
B. 培养茎尖分生组织——获得抗病毒的植物苗
C. 植物组织培养——获得克隆植物
D. 用适宜浓度的生长素浸泡插条基部——提高扦插枝条的成活率

B 解析:胚胎分割移植得到的胚胎来自同一个胚胎,遗传物质相同,A正确;通过茎尖分生组织培养可获得脱毒苗,不能获得抗病毒的植物苗,B错误;植物组织培养的原理是植物细胞的全能性,属于无性繁殖,C正确;生长素可以促进扦插枝条生根,从而提高成活率,D正确。

6. 图1表示科学家利用番茄叶细胞和马铃薯叶细胞杂交培育“番茄—马铃薯”植株的过程,图2表示利用生物技术制备抗X单克隆抗体的过程。下列说法不正确的是()

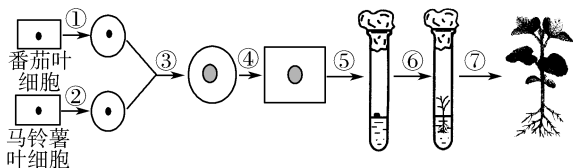


图1

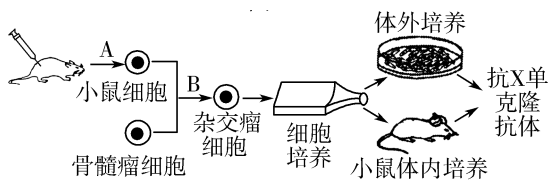


图2

- A.图 1 中两种细胞融合成功的标志是再生出新的细胞壁
- B.图 1 中由⑤到⑥的过程中必须更换培养基
- C.单克隆抗体的制备过程利用了骨髓瘤细胞无限增殖的特点
- D.植物体细胞杂交技术和动物细胞融合技术完全相同

D 解析：植物细胞融合成功的标志是融合细胞再生出新的细胞壁，A 正确；图 1 中⑤到⑥是脱分化到再分化的过程，在这个过程中，形成愈伤组织之后，愈伤组织要转接到分化培养基上进行培养，因此必须要更换培养基，B 正确；单克隆抗体的制备利用了(免疫的)B 淋巴细胞可以产生抗体和骨髓瘤细胞能无限增殖的特点，C 正确；植物体细胞杂交技术的第一步是去除细胞壁，但动物细胞融合不需要这一步，D 错误。

- 7.改变培养基中 IAA(生长素)与 KT(一种人工合成的细胞分裂素类调节剂)的比例,可改变烟草愈伤组织的分化方向,如表所示。下列相关叙述正确的是 ()

激素添加量 /(mg · L ⁻¹)	IAA	3	3	0.03	—
	KT	0.2	0.02	1	0.2
生长状况		愈伤组织	生根	茎、叶分化	无生长

- A.愈伤组织分化成为根、茎和叶的过程叫脱分化
- B.培养基中添加 IAA 可以促进生长和生根
- C.只要培养基中添加 KT,细胞就能分裂
- D.培养基中添加的 IAA 与 KT 的比值较高时,有利于茎、叶的形成

B 解析：愈伤组织分化成为根、茎和叶的过程叫再分化，A 错误；培养基中添加 IAA 可以促进生长和生根，B 正确；根据表中数据可知，不添加 IAA，仅添加 0.2 mg · L⁻¹ KT 时，愈伤组织不生长，C 错误；根据表中数据可知，培养基中添加的 IAA 与 KT 的比值较低时，有利于茎、叶的形成，D 错误。

- 8.试管婴儿、试管苗和克隆羊均属于生物工程技术的杰出成果,下列叙述正确的是 ()

- A.都属于无性生殖,能保持母本性状
- B.都不会发生基因重组和变异
- C.都充分体现了体细胞的全能性
- D.都运用了细胞工程的技术

D 解析：试管苗和克隆羊属于无性生殖,可发生变异,但不发生基因重组;试管苗体现了体细胞的全能性,克隆羊体现了动物体细胞核的全能性;试管婴儿属于有性生殖,可以发生基因重组和变异。

- 9.某研究小组在《科学》杂志上发表论文,称他们利用成年猪的动脉血管细胞和能够模拟胚胎环境的新型生物反应器,成功地在实验室培育出新的动脉血管。这种血管的外形和功能都与真的血管一样。这一研究成果是生物组织培养工程领域的重大进展。下列关于该技术的叙述中,不正确的是 ()

- A.该技术属于动物细胞工程的范畴
- B.该技术的关键是要激发血管细胞的全能性
- C.该技术的基础是动物细胞培养技术
- D.该技术的关键是要激发血管细胞发育成血管的潜能

B 解析：这项技术是以动物细胞培养为基础的,属于动物细胞工程的范畴,A、C 正确;这项技术形成的是动脉血管,不需要激发血管细胞的全能性,B 错误;这项技术的关键是要激发血管细胞发育成血管的潜能,D 正确。

- 10.下列关于单克隆抗体制备与植物体细胞杂交的说法中,正确的是 ()

- A.单克隆抗体制备与植物体细胞杂交的基本原理相同
- B.单克隆抗体制备与植物体细胞杂交诱导细胞融合的方法相同
- C.单克隆抗体制备与植物体细胞杂交在细胞融合前处理过程相同
- D.单克隆抗体制备与植物体细胞杂交都需要筛选且筛选目的相同

D 解析：单克隆抗体的制备是利用杂交瘤细胞既能无限增殖、又能产生特定抗体的原理进行的,而植物体细胞杂交的原理是细胞膜的流动性和植物细胞的全能性,A 错误。单克隆抗体制备过程中,诱导细胞融合可用灭活的病毒,而植物体细胞杂交时不能用灭活的病毒来诱导植物原生质体的融合,B 错误。单克隆抗体制备在细胞融合前的处理是注射特定抗原,免疫处理正常小鼠;而植物体

细胞杂交在细胞融合前是用酶解法去除细胞壁,获得原生质体,C 错误。单克隆抗体制备需筛选杂交瘤细胞,植物体细胞杂交需要筛选杂种细胞,故二者筛选的目的相同,D 正确。

11. 据报道,2022 年 6 月 10 日,世界首例克隆北极狼在北京诞生,这是在野生濒危动物保护和繁育方面新的尝试和突破。为克隆北极狼提供细胞核的供体细胞来自哈尔滨极地公园引进的一只名为“玛雅”的野生雌性北极狼的皮肤样本,而去核的卵母细胞来自一只发情期比格犬,代孕母体则是另一只比格犬。这样,该克隆北极狼就有了分工明确的三位“妈妈”。下列相关叙述错误的是

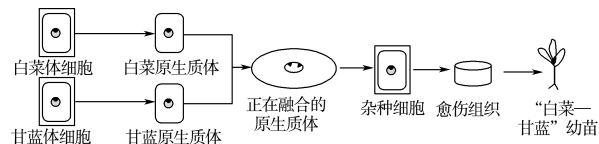
()

- A. 世界首例克隆北极狼的性别是雌性
- B. 克隆北极狼的培育说明细胞核是细胞的“控制中心”
- C. 克隆北极狼的遗传物质来自三位“妈妈”
- D. 克隆北极狼的细胞核来自“玛雅”

C 解析: 细胞核是遗传信息库,控制着细胞的代谢和遗传,名为“玛雅”的野生雌性北极狼提供细胞核,所以克隆北极狼的性别是雌性,A 正确;据题意可知,该克隆北极狼是由名为“玛雅”的野生雌性北极狼的皮肤细胞的细胞核与比格犬的去核的卵母细胞重组形成一个重组细胞,移入另一只比格犬子宫内所生出的,该克隆北极狼的细胞核中遗传物质来自名为“玛雅”的野生雌性北极狼,细胞质中的遗传物质来自提供去核的卵母细胞的比格犬,遗传物质不会来自代孕母体,该克隆北极狼的性状与“玛雅”相似,据此可以说明细胞核是细胞的“控制中心”,B、D 正确,C 错误。

12. 下面是“白菜—甘蓝”杂种植株培育过程示意图。下列叙述正确的是

()



- A. 如将纯种的白菜和甘蓝的卵细胞分别制成原生质体,按相同的方法操作也可得到与图示相同基因型的杂种植株
- B. 可以通过观察在 0.3 g/mL 蔗糖溶液中是否发生质壁分离来判断白菜原生质体的死活
- C. 该培养过程中可能发生细胞分化、染色体变异、基因突变

D. 植物组织培养和动物细胞培养的培养基、培养目的不完全相同,但诱导细胞或原生质体融合的方法完全相同

C 解析: 如将纯种的白菜和甘蓝的卵细胞分别制成原生质体,按相同的方法操作所得的杂种植株的基因只有图示的一半,因此其基因型与图示得到的杂种植株的基因型不同,A 错误;植物原生质体不含细胞壁,即使具有活性,在 0.3 g/mL 蔗糖溶液中也不会发生质壁分离,B 错误;该培养过程中会发生细胞分裂和分化,而细胞分裂的方式是有丝分裂,可能会发生染色体变异或基因突变,C 正确;植物组织培养和动物细胞培养的培养基、培养目的不完全相同,诱导原生质体或细胞融合的方法也不完全相同,后者有一种特有的诱导细胞融合的方法——灭活病毒诱导法,D 错误。

13. 下列关于动物细胞工程和胚胎工程的叙述,错误的是

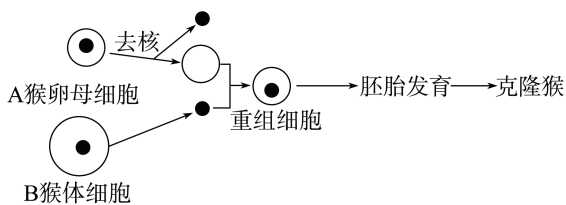
()

- A. 体外受精时,对精子要进行获能处理,卵母细胞也需要培养至减数分裂 I 时期
- B. 动物细胞培养的培养液中一般需要添加动物血清等天然成分
- C. 胚胎移植时胚胎的遗传特性不会因受体而改变
- D. 试管动物和克隆动物都需要利用动物细胞培养技术,前者属于有性生殖,后者属于无性繁殖

A 解析: 体外受精时,卵母细胞需要培养至 M II 期,A 错误。动物细胞培养的培养液中通常要加入动物血清等天然成分,B 正确。胚胎移植时移入受体的供体胚胎的遗传特性不受受体影响,C 正确。试管动物是由受精卵发育来的,属于有性生殖;克隆动物是通过核移植技术实现的,不经过两性生殖细胞的结合,故属于无性繁殖,D 正确。

14. 下图表示我国科学家培育克隆猴的基本步骤,下列相关叙述错误的是

()



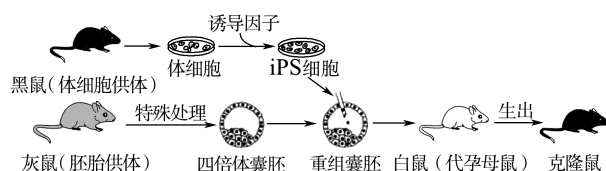
- A. 待重组细胞发育至桑葚胚阶段即可进行胚胎移植
- B. 对 A 猴注射适量性激素可获得较多的卵母细胞

C. 试管猴和克隆猴都需要将猴卵母细胞培养至 M II 期

D. 克隆猴的成功培育说明高度分化的动物体细胞核具有全能性

B 解析: 待重组细胞发育至桑葚胚(或囊胚)阶段即可进行胚胎移植, A 正确; 用促性腺激素对 A 猴进行超数排卵处理, 可获得较多的卵母细胞, B 错误; 不管试管猴(体外受精)还是克隆猴(核移植技术), 都要将采集到的卵母细胞培养到 M II 期才可使用, C 正确; 克隆猴培育成功说明动物体细胞核具有全能性, 即高度分化的动物体细胞核具有全能性, D 正确。

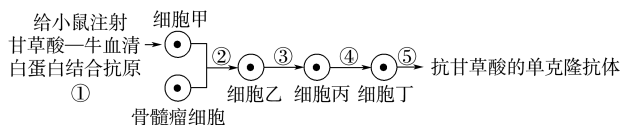
15. 我国科学家利用体细胞诱导产生多能干细胞(iPS 细胞), 并将其注射到无法发育到成体阶段的四倍体囊胚中, 最终获得克隆鼠。经鉴定证实克隆鼠确实由 iPS 细胞发育而来, 并可繁殖后代。实验流程见下图, 下列分析正确的是 ()



A. 克隆鼠的遗传物质来自黑鼠和灰鼠
B. 过程中应在培养液中添加适量的抗生素防止病毒感染
C. 本实验使用到体外受精和胚胎分割等技术
D. 诱导多能干细胞技术可应用于组织器官移植

D 解析: 由于灰鼠的四倍体囊胚无法发育到成体阶段, 所以克隆鼠是由鼠体细胞诱导产生的 iPS 细胞发育而来, 其遗传物质来自黑鼠, A 错误; 过程中应在培养液中添加适量的抗生素防止杂菌污染, B 错误; 本实验使用到了细胞融合、多能干细胞移植、体外胚胎培养、胚胎移植等技术, 并没有使用到体外受精和胚胎分割技术, C 错误; 多能干细胞具有分化出多种细胞组织的潜能, 可以经过诱导发育成特定器官, 用于组织器官移植, D 正确。

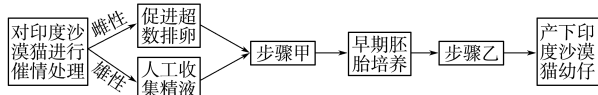
16. 甘草酸是中药甘草中的主要活性成分。为了快速检测甘草酸, 科研人员利用细胞工程技术制备了抗甘草酸的单克隆抗体, 其基本操作过程如图所示。下列相关叙述不正确的是 ()



A. 过程①注射相应抗原后应立即从小鼠脾脏中提取细胞甲
B. 过程②诱导细胞融合, 利用了细胞膜的流动性
C. 过程③④的筛选方法不同, 细胞丙、丁的遗传物质相同
D. 过程⑤无论在体内还是体外进行, 细胞丁都可大量增殖

A 解析: 过程①注射相应抗原后应经过一段时间, 使小鼠产生相应的 B 淋巴细胞后, 再从小鼠脾脏中提取细胞甲; 过程②诱导细胞融合利用了细胞膜的流动性; 过程③筛选杂交瘤细胞, 过程④筛选能产生特定抗体的杂交瘤细胞, 二者的筛选方法不同; 过程⑤无论在体内还是在体外进行, 细胞丁都可大量增殖。

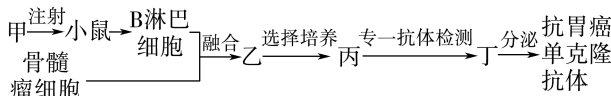
17. 印度沙漠猫是一种珍稀猫科动物。通过胚胎工程技术, 可以让家猫代孕繁育印度沙漠猫, 主要步骤如下图所示。下列相关叙述正确的是 ()



A. 步骤甲、乙分别是指受精、胚胎移植
B. 诱导超数排卵所注射的激素能作用于全身细胞
C. 受精卵发育成早期胚胎所需营养主要来源于培养液
D. 为避免代孕猫对植入胚胎产生排斥反应, 应注射免疫抑制剂

A 解析: 由题图可知, 步骤甲为体外受精, 步骤乙为胚胎移植, A 正确; 诱导超数排卵所用的激素是促性腺激素, 只作用于性腺, B 错误; 受精卵发育成早期胚胎所需营养主要来源于受精卵, C 错误; 代孕猫一般不会对植入胚胎产生排斥反应, 不需要注射免疫抑制剂, D 错误。

18. 下图为人体抗胃癌单克隆抗体的制备过程。下列叙述错误的是 ()

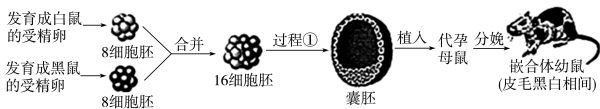


A. 甲是能与人体抗胃癌抗体特异性结合的抗原
B. 细胞融合获得乙的原理和植物原生质体融合的原理都是细胞膜具有流动性

- C.用特定选择培养基对乙进行筛选,融合细胞均能生长,未融合细胞均不能生长
D.丙需进行克隆化培养和抗体检测,多次筛选后可获得能分泌所需抗体的丁

C 解析:图示为制备人体抗胃癌单克隆抗体,因此甲是能与人体抗胃癌抗体特异性结合的抗原,A正确;细胞融合获得乙的原理和植物原生质体融合的原理基本相同,都是细胞膜具有流动性,B正确;用特定选择培养基对乙进行筛选,未融合的亲本细胞和融合的具有同种核的细胞都会死亡,只有杂交瘤细胞能生长,C错误;丙需进行克隆化培养和抗体检测,多次筛选后可获得能分泌所需抗体的丁,D正确。

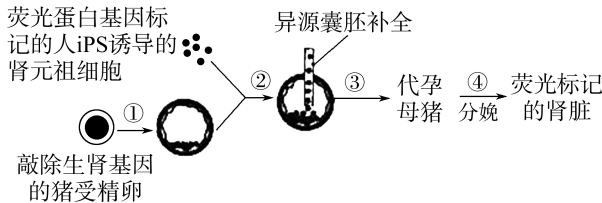
- 19.嵌合体在免疫学上的含义是指一个机体身上有两种或两种以上染色体组成不同的细胞系同时存在,彼此能够耐受,不产生排斥反应,相互间处于嵌合状态。下图表示构建嵌合体小鼠的实验,下列叙述错误的是 ()



- A.卵裂期的细胞数目不断增加,但胚胎总体积并不增加
B.胚胎在囊胚阶段开始分化,其中的滋养层细胞将发育成胎膜和胎盘
C.嵌合体幼鼠的一个细胞中同时有白鼠和黑鼠的基因
D.囊胚中分离的胚胎干细胞经诱导可发育成多种组织

C 解析:卵裂期的胚胎中细胞数目不断增加,但胚胎的总体积并不增加或略有缩小,A正确;胚胎在囊胚阶段开始分化,其中的滋养层细胞发育成胎膜和胎盘,B正确;嵌合体幼鼠是由两种受精卵合并(但没有融合)发育而来的,故一个细胞中只有白鼠或黑鼠的基因,不会两种基因同时存在,C错误;囊胚中分离的胚胎干细胞是指囊胚中的内细胞团细胞,经诱导能发育成各种组织,D正确。

- 20.研究人员欲采用“异源囊胚补全法”将人源 iPS 细胞培育出的肾元祖细胞导入囊胚,后移植到去除生肾区既存的肾元祖细胞的母猪体内,培育出 100%人源 iPS 细胞来源的肾单位并实际应用于移植医疗(如下图所示)。下列说法正确的是 ()



- A.培育人源肾元祖细胞需向 iPS 细胞培养液中加入生长素
B.过程②需要将荧光蛋白基因标记的人源肾元祖细胞植入囊胚的内细胞团
C.过程③操作之前需对代孕母猪进行超数排卵和同期发情处理
D.该技术培育的人源肾脏不必考虑肾移植个体之间的遗传差异

B 解析:生长素属于植物激素,培育人源肾元祖细胞不能向 iPS 细胞培养液中加入生长素,A错误;内细胞团具有全能性,过程②需要将荧光蛋白基因标记的人源肾元祖细胞植入囊胚的内细胞团,从而保证人源肾元祖细胞的正常发育,B正确;过程③操作之前需对代孕母猪进行同期发情处理,使其处于与供体相同的生理状态,但不需要进行超数排卵处理,C错误;该技术培育的人源肾脏依然需要考虑肾移植个体之间的遗传差异,因为该方法获得的肾脏可能含有囊胚的细胞发育的部分,D错误。

第 II 卷(共 60 分)

二、非选择题(本题共 5 小题,共 60 分)

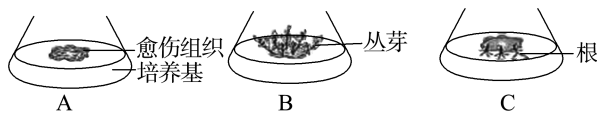
- 21.(12 分)甲、乙两名同学分别以某种植物的绿色叶片和白色花瓣为材料,利用植物组织培养技术繁殖该植物。回答下列问题:

(1)以该植物的绿色叶片和白色花瓣作为外植体,在一定条件下进行组织培养,均能获得试管苗,其原理是_____。

(2)甲、乙同学在诱导愈伤组织所用的培养基中,均加入一定量的蔗糖,蔗糖水解后可得到_____。若要用细胞作为材料进行培养获得幼苗,该细胞应具备的条件是_____ (填“具有完整的细胞核”“具有叶绿体”或“已转入抗性基因”)。

(3)图中 A、B、C 所示的是不同的培养结果,该不同结果的出现主要是由培养基中两种激素用量的不同造成的,这两种激素是_____。

A 中的愈伤组织是叶肉细胞经_____形成的。



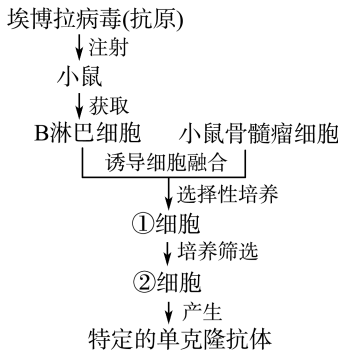
(4)若该种植物是一种杂合体的名贵花卉,要快速获得与原植株基因型和表型都相同的该种花卉,可用组织培养方法繁殖。在培养时,_____ (填“能”或“不能”)采用经减数分裂得到的花粉粒作为外植体,原因是_____。

解析:(1)绿色叶片和白色花瓣是细胞分化的结果,遗传物质并没有改变,所以以该植物的绿色叶片和白色花瓣作为外植体,在一定条件下进行组织培养,均能获得试管苗,其原理是绿色叶片和白色花瓣的细胞具有全能性。(2)蔗糖是植物组织培养所必需的营养物质,可以为植物组织培养提供能源物质、调节渗透压,甲、乙同学在诱导愈伤组织所用的培养基中,均加入一定量的蔗糖,蔗糖水解后可得到葡萄糖和果糖;若要用细胞作为材料进行培养获得幼苗,该细胞必须具有全能性,因此应具备的条件是具有完整的细胞核。(3)图中A、B、C出现不同结果的主要原因是培养基中添加的细胞分裂素和生长素的用量比例不同;A中的愈伤组织是叶肉细胞经脱分化形成的。(4)不能采用经减数分裂得到的花粉粒作为外植体,原因是对杂合体的植株来说,其体细胞的基因型相同,而通过减数分裂形成的花粉粒,由于等位基因分离,非同源染色体上的非等位基因自由组合等原因,花粉粒的基因型与体细胞的基因型不同,所以用花粉粒进行组织培养得到的花卉基因型不同于原植株。

答案:(1)绿色叶片和白色花瓣细胞都具有全能性,在一定条件下能发育成完整的植株 (2)葡萄糖、果糖 具有完整的细胞核 (3)细胞分裂素、生长素 脱分化 (4)不能 对杂合体的植株来说,其体细胞的基因型相同,而花粉粒的基因型与体细胞的基因型不同,用花粉粒进行组织培养得到的花卉基因型不同于原植株

22.(8分)某电影中出现的“拉曼拉病毒”的原型是埃博拉病毒,主人公注射的疫苗是具有抗埃博拉病毒功能的血清。下图是制备单克隆抗体的流程

图。请回答下列问题:



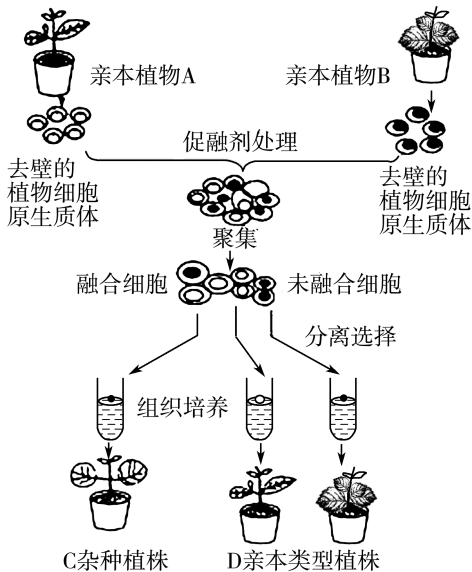
(1)图中从产生免疫反应的小鼠体内得到了抗_____的抗体,说明小鼠体内已形成了相应的B淋巴细胞。设法将B淋巴细胞和小鼠骨髓瘤细胞融合,融合的方法除与植物相同的融合方法外,还可以使用_____。

(2)图中经选择性培养的①_____细胞,还需进行克隆化培养和_____检测,经多次筛选,就可获得足够数量的②细胞。

解析:(1)分析题图可知,对小鼠注射埃博拉病毒诱导小鼠产生抗埃博拉病毒的抗体;动物细胞融合的诱导方法有化学方法,如聚乙二醇融合法;生物方法,如灭活病毒诱导法;物理方法,如电融合法。(2)题图中经选择性培养的①杂交瘤细胞,还需进行克隆化培养和抗体检测,经多次筛选,就可获得足够数量的②细胞。

答案:(1)埃博拉病毒 灭活病毒诱导法 (2)杂交瘤 抗体

23.(14分)下图为A、B两物种间体细胞杂交示意图,请回答下列问题:



(1)去除细胞壁而不损伤细胞可用_____、_____处理。在用促融剂处理时,使用的促融

剂主要有_____。

(2)融合细胞中可能包括_____种类型,其中杂种细胞的遗传物质组成是_____。

(3)由杂种细胞经人工诱导培养,经_____分裂增加细胞数目并不断分化,逐渐发育成C植株。该植株的性状与D亲本类型植株的性状区别是_____。

(4)整个培养过程应用了细胞工程的_____和_____两大技术,培育杂种植株的意义是_____。

解析:(1)因为植物细胞壁的主要成分是纤维素和果胶,根据酶的专一性,用纤维素酶和果胶酶去除植物细胞壁获得原生质体。在促进细胞融合时通常用化学方法即加入促融剂PEG。(2)融合的细胞可能会有A—A、B—B和A—B 3种类型,而杂种细胞的遗传物质应是A和B植物的遗传物质之和。(3)杂种细胞经过人工诱导培养,通过有丝分裂使细胞数目增加,同时通过细胞分化而发育成C杂种植株,其拥有A和B两种植物的性状,而D植株只有亲本类型的表型。(4)整个过程涉及了细胞工程中的植物体细胞杂交和植物组织培养技术,体细胞杂交培育出杂种植株的意义是打破生殖隔离,实现远缘杂交。

答案:(1)纤维素酶 果胶酶 PEG(或聚乙二醇)
(2)3 A和B植物的遗传物质之和 (3)有丝
具有A和B两种植物的性状 (4)植物体细胞
杂交 植物组织培养 打破生殖隔离,实现远缘
杂交

24.(10分)胚胎工程是指对动物早期胚胎或配子所进行的多种显微操作和处理技术。请回答下列有关胚胎工程的问题:

(1)采集卵母细胞时,为了使雌性供体排出更多的卵子,可用_____激素处理。采集的精子需要经过_____处理后,才能与卵子进行受精。

(2)在胚胎移植过程中,为了使胚胎在移植前后所处的生理环境保持一致,需要对供、受体雌性动物进行_____处理。利用胚胎分割技术可使获得的后代具有相同的遗传物质,所以胚胎分割可以看作动物_____的方法之一。在对囊胚阶段的胚胎进行分割时,要注意将_____均等分割。

解析:(1)给雌性供体注射促性腺激素,可使其排出更多的卵子。获能后的精子可与卵子完成受精。(2)在胚胎移植过程中,对所选择的供、受体雌性动物进行同期发情处理,可使胚胎在移植前后所处的生理环境保持一致。来自同一胚胎的后代具有相同的遗传物质,所以胚胎分割可以看作动物无性繁殖或克隆的方法之一。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割,否则会影响分割后胚胎的恢复和进一步发育。

答案:(1)促性腺 获能 (2)同期发情 无性繁殖(或克隆) 内细胞团

25.(16分)红豆杉因其次生代谢物紫杉醇具有的高抗癌活性而备受关注。为了获得紫杉醇,可以先用植物外植体获得愈伤组织,然后在生物反应器中悬浮培养。请回答下列问题:

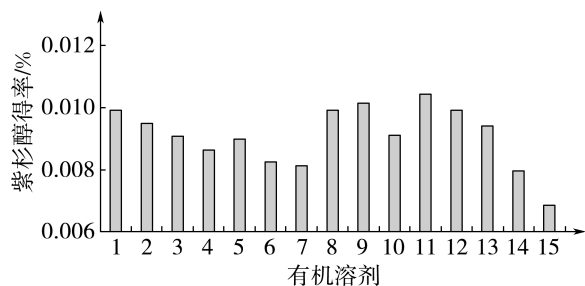
(1)以该植物的幼茎、树皮、针叶作为外植体,在一定条件下进行组织培养,均能获得试管苗,其原理是_____。

研究发现用幼嫩茎段比成年老枝更易产生愈伤组织,且时间早,诱导率高,原因是_____。

(2)植物组织培养离不开激素的诱导,其中激素的_____和_____都会影响植物细胞发育的方向;在利用红豆杉生产紫杉醇的过程中,不需要换瓶操作,这主要是因为_____。

(3)与从红豆杉树皮中直接提取相比,通过茎段组织培养获得的愈伤组织细胞悬浮培养生产紫杉醇的优点是_____。

(4)不同有机溶剂及其组合作为浸提溶剂对紫杉醇得率的影响如下图所示。



注:1.甲醇;2.乙醇;3.丙酮;4.二氯甲烷;5.乙酸乙酯;6.甲醇、乙醇;7.甲醇、丙酮;8.甲醇、二氯甲烷;9.甲醇、乙酸乙酯;10.乙醇、丙酮;11.乙醇、二氯甲烷;12.乙醇、乙酸乙酯;13.丙酮、二氯甲烷;14.丙酮、乙酸乙酯;15.二氯甲烷、乙酸乙酯。

从溶剂单独和混合提取效果的角度分析,可得出
的结论有_____。

解析:(1)植物的幼茎、树皮、针叶的细胞都具有全能性,在一定条件下能发育成完整的植株。研究发现用幼嫩茎段比成年老枝更易产生愈伤组织,且时间早,诱导率高,原因是幼嫩茎段细胞分化程度较低。(2)植物组织培养离不开激素的诱导,其中激素的种类和浓度都会影响植物细胞发育的方向;在利用红豆杉生产紫杉醇的过程,是通过培养愈伤组织细胞而获得细胞次生代谢物,因此不需要改变培养液中不同激素的浓度配比,所以在培养过程中不需要换瓶操作。(3)与从红豆杉树皮中直接提取相比,通过茎段组织培养获得的愈伤组织细胞悬浮培养生产紫杉醇的优点是可以生

物反应器中大规模培养细胞,并且通过控制培养条件使培养细胞合成大量紫杉醇。(4)由柱形图分析可知,单一溶剂作为提取紫杉醇的浸提溶剂时,甲醇的提取效果最佳;溶剂混合浸提时,乙醇、二氯甲烷作为浸提溶剂提取紫杉醇效果最好。

答案:(1)幼茎、树皮、针叶的细胞都具有全能性,在一定条件下能发育成完整的植株 幼嫩茎段细胞分化程度低 (2)种类 浓度 不需要改变培养液中不同激素的浓度配比 (3)可以在生物反应器中大规模培养细胞,并且通过控制培养条件使培养细胞合成大量紫杉醇 (4)单一溶剂作为提取紫杉醇的浸提溶剂时,甲醇的提取效果最佳;溶剂混合浸提时,乙醇、二氯甲烷作为浸提溶剂提取紫杉醇效果最好

第 1~2 章滚动检测

(时间:90 分钟,分值:100 分)

第 I 卷(共 40 分)

一、选择题(本题共 20 小题,每小题 2 分,共 40 分)

1.葡萄酒开启后,敞口时间稍长或将余酒倒回酒瓶中,贮存温度在 30 ℃左右,葡萄酒会缓慢“变成”葡萄醋。下列相关叙述错误的是 ()

- A.酿造葡萄酒和葡萄醋所利用微生物的主要区别是有无以核膜为界限的细胞核
- B.酿造葡萄酒和葡萄醋所利用的微生物都能通过线粒体进行有氧呼吸
- C.把葡萄酒缓慢“变成”葡萄醋的微生物可能来自空气
- D.葡萄酒“变成”葡萄醋是因为乙醇在醋酸菌的有氧呼吸作用下生成了醋酸

B 解析:酿造葡萄酒所需的菌种是酵母菌,属于真核生物,酿造葡萄醋所需的菌种是醋酸菌,属于原核生物,真核生物与原核生物的主要区别是有无以核膜为界限的细胞核,A 正确;酿制葡萄醋所需的菌种是醋酸菌,属于原核生物,原核生物无线粒体,B 错误;把葡萄酒缓慢“变成”葡萄醋的微生物是醋酸菌,醋酸菌可能来自空气,C 正确;葡萄酒“变成”葡萄醋是因为乙醇在醋酸菌的作用下生成了醋

酸——当缺少糖源时,醋酸菌可以将乙醇变为乙醛,再将乙醛变为乙酸,D 正确。

2.下图是利用微生物制作果酒、果醋的流程示意图,请据图判断下列说法中,正确的是 ()

挑选葡萄 → 冲洗 → 榨汁 → A → 乙酸发酵 → 果醋

- A.制作果酒时,先去除烂籽粒和枝梗,再用清水冲洗掉污物
- B.榨汁前,榨汁机和发酵瓶都需要用体积分数为 70% 的盐酸消毒
- C.A 过程是酒精发酵,A 结束后只需适当升高温度就能产生果醋
- D.导致发酵产物不同的重要因素是温度、时间、菌种等

D 解析:制作果酒时,应该先用清水冲洗掉污物,再去除烂籽粒和枝梗,A 错误;榨汁机和发酵瓶等要清洗干净,并用 70% 的酒精消毒,B 错误;A 过程是酒精发酵,A 过程完成后,除了需要提高一定的温度,还要通入氧气,才能产生果醋,C 错误;根据流程图可知,导致发酵产物不同的重要因素是温度、时间、菌种等,D 正确。

3.可用于检验果酒发酵产物的是 ()
①酸性重铬酸钾溶液

②碱性重铬酸钾溶液

③澄清石灰水

④斐林试剂

A. ①④

B. ①③

C. ②③④

D. ①③④

B 解析:果酒发酵产物有酒精和 CO_2 , 所以用于检验的物质分别是酸性重铬酸钾溶液和澄清石灰水。

4.“筛选”是生物学中培育生物新类型常用的手段。

下列做法不可能筛选成功的是 ()

A. 在无氮培养基上筛选圆褐固氮菌

B. 在不含精氨酸的培养液中筛选能合成精氨酸的微生物

C. 用含青霉素的培养基筛选酵母菌

D. 用不含碳源的培养基筛选根瘤菌

D 解析:固氮菌能利用空气中的 N_2 , A 不符合题意; 只有能合成精氨酸的微生物才能在不含精氨酸的培养基上生长, B 不符合题意; 青霉素可抑制细菌细胞壁的形成, 而对酵母菌无抑制作用, C 不符合题意; 根瘤菌是异养型微生物, 在不含碳源的培养基上不能生长, D 符合题意。

5. 用平板划线法或稀释涂布平板法纯化大肠杆菌时

()

①可以用相同的培养基

②都需要使用接种针进行接种

③都需要在酒精灯火焰旁进行接种

④都可以用来计数活菌

A. ②④

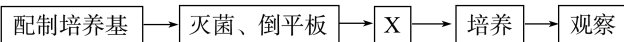
B. ③④

C. ①③

D. ①②

C 解析:平板划线法和稀释涂布平板法可以使用相同的培养基, ①正确; 平板划线法采用接种环进行操作, 而稀释涂布平板法采用涂布器进行操作, ②错误; 纯化时, 要进行无菌操作, 需要在酒精灯火焰旁接种, 避免空气中的微生物混入培养基, ③正确; 平板划线法不能用于计数活菌, ④错误。

6. 幽门螺杆菌具有活性很高的脲酶, 调查幽门螺杆菌感染可采用尿素呼气试验, 用幽门螺杆菌的数量表示感染情况。现从待测人员体内采集样本并制成菌液后, 按下图步骤进行分离培养, 下列叙述正确的是 ()



A. 灭菌之前应先将平板的 pH 调节至中性或弱酸性

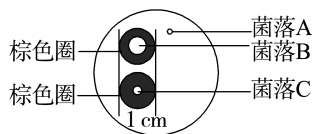
B. 图中 X 步骤可以使用平板划线法或稀释涂布平板法

C. 目的菌接种到培养基后应立即将倒置的平板放入 $30\sim 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温箱中

D. 培养基中加入的酚红指示剂使平板上有的菌落周围出现红色透明圈

D 解析:幽门螺杆菌生活在人体胃液中, 胃液为酸性环境 (pH 为 1.5 左右), 因此灭菌之前应先将培养基的 pH 调节至酸性, A 错误; 根据题意可知, 用幽门螺杆菌的数量表示感染情况, 因此题图接种方法应能统计幽门螺杆菌的数量, 图中 X 步骤为接种, 需用稀释涂布平板法才能计数, B 错误; 目的菌接种到培养基后, 待涂布的菌液被培养基吸收后, 才能将平板倒置, C 错误; 幽门螺杆菌含有脲酶, 脲酶将尿素分解成氨, 氨会使培养基的 pH 升高, 因此如果在培养基中加入酚红指示剂, 若有幽门螺杆菌, 则菌落周围会出现红色透明圈, D 正确。

7. L-天冬酰胺酶由细菌和真菌合成, 可分解天冬酰胺释放出氨, 然后与奈斯勒试剂反应呈棕色。为筛选获得 L-天冬酰胺酶高产菌株, 设计了如下固体培养基, 其主要成分有牛肉膏、蛋白胨、水、NaCl、琼脂、奈斯勒试剂, 实验结果如下图。下列叙述错误的是 ()



A. 根据实验结果可知, 接种时采用的是稀释涂布平板法

B. 应选择菌落 C 作为高产 L-天冬酰胺酶菌株进行大量培养

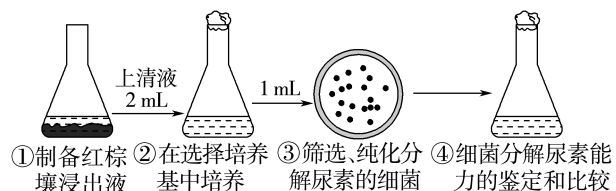
C. 该培养基从功能来看属于选择培养基, 其中充当氮源的成分是牛肉膏

D. 无菌技术还可以避免操作者被有害微生物感染, 实验结束后的培养基不能直接丢弃

C 解析:从接种结果来看, 菌落分布较为均匀, 应该采用的是稀释涂布平板法, A 正确; 菌落 B 和菌落 C 周围棕色圈的直径相同, 但 C 的菌落直径更小, 因此菌落 C 的单个细胞产生的 L-天冬酰胺酶更多, 应选择菌落 C 作为高产 L-天冬酰胺酶菌株进行大量培养, B 正确; 培养基中加入了奈斯勒试剂, 若微生物能产生 L-天冬酰胺酶, 则菌落周围会出现棕

色圈,因此该培养基从功能来看属于鉴别培养基,其中充当氮源的成分是牛肉膏和蛋白胨,C 错误;无菌技术可用来防止实验室的培养物被其他外来微生物污染,还可以避免操作者被有害微生物感染,在实验结束后为避免环境污染,培养基在丢弃前要进行灭菌处理,D 正确。

- 8.下图为研究人员从红棕壤中筛选高效分解尿素细菌的示意图,下列叙述错误的是 ()



- A.步骤③纯化分解尿素的细菌的原理是将聚集的细菌分散,以获得单细胞形成的菌落
B.配制步骤②、③的培养基都要进行严格灭菌
C.步骤④挑取③中不同种的菌落分别接种,比较细菌分解尿素的能力
D.步骤③采用涂布平板法接种,并需向牛肉膏蛋白胨培养基中加入尿素

D 解析:在以尿素为唯一氮源的培养基上,利用涂布分离法将聚集的细菌分散,以获得单细胞形成的菌落是纯化分解尿素的细菌的原理,A 正确;配制步骤②、③的培养基时,为防止杂菌污染,应进行严格灭菌,B 正确;经过③筛选、纯化得到了能分解尿素的细菌,但不同细菌分解尿素的能力不同,因此需要挑取③中的不同种的菌落接种于④中,比较细菌分解尿素的能力,C 正确;要筛选出能分解尿素的细菌,所选用的培养基要以尿素为唯一氮源,但牛肉膏和蛋白胨中都含有氮源,因此步骤③所用的培养基中不能含有牛肉膏、蛋白胨,D 错误。

- 9.土壤中的解磷细菌能分泌磷酸酶或有机酸,溶解并吸收利用磷酸钙,某企业从土壤中分离纯化并发酵生产解磷细菌菌肥,发酵液中解磷细菌浓度达到 2×10^8 个/mL 时发酵结束,分装入库。投放市场前应抽检活菌浓度,下列叙述正确的是 ()

- A.从土壤中分离解磷细菌的培养基以磷酸钙为唯一的磷源
B.可挑取发酵液中单菌落进行进一步纯化培养
C.解磷细菌菌肥发酵生产的中心环节是接种及分离提纯产物

D.抽检活菌浓度时,取 0.1 mL 发酵液稀释 1×10^4 倍后用涂布平板法计数

A 解析:解磷细菌能分泌磷酸酶或有机酸,溶解并吸收利用磷酸钙,故可在培养基中加入磷酸钙,以其为唯一磷源,以达到从土壤中分离出解磷细菌的目的,A 正确;单菌落是由单个细胞在固体培养基上形成的菌落,液体培养基中无法形成菌落,B 错误;发酵生产包含菌种的选育、扩大培养,培养基的配制,灭菌,接种,发酵,产品的分离、提纯等环节,其中中心环节是发酵,C 错误;投放市场前需抽检发酵液中活菌浓度,而发酵结束时,发酵液中解磷细菌浓度达到 2×10^8 个/mL,若取 0.1 mL 发酵液稀释 1×10^4 倍,则稀释液中解磷细菌的浓度为 2×10^3 个/mL,用涂布平板法计数时会由于稀释倍数不够,导致解磷菌不够分散,影响菌落数的统计,D 错误。

- 10.随着科技的发展和人们对生命科学的深入探索,生物科学技术会为人类的繁荣进步做出更大的贡献。下列关于生物科学技术的叙述正确的是 ()

- A.在植物体细胞杂交中,可采用质壁分离实验检测制备的原生质体的活性情况
B.在生产单克隆抗体的过程中,不需要考虑 B 淋巴细胞和骨髓瘤细胞之间的免疫排斥
C.利用动物体细胞核移植的方法得到克隆动物是培育新物种的一种方式

D.“试管婴儿”涉及体内受精和胚胎移植等技术

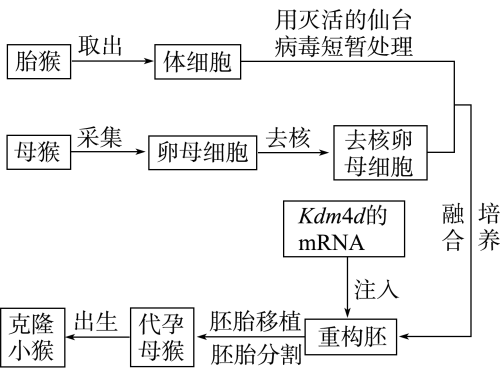
B 解析:在植物体细胞杂交中,去掉细胞壁才能获得原生质体,因此不能采用质壁分离实验检测制备的原生质体的活性情况,A 错误;免疫排斥是机体对“非己”成分(主要为异体细胞、组织或器官)通过特异性免疫应答使其破坏的过程,细胞之间不存在免疫排斥,B 正确;通过核移植技术得到克隆动物属于无性繁殖,不能培育新物种,C 错误;“试管婴儿”涉及体外受精和胚胎移植等技术,D 错误。

- 11.供体的胚胎移植到受体后,游离的胚胎在发育过程中形成胎盘与受体相连,并通过胎盘与受体的

- 血液进行物质交换。以下说法错误的是 ()
- A.受体的作用是为供体胚胎提供发育的条件
 - B.受体与胚胎血型应相同,否则会发生免疫排斥反应
 - C.受体和供体的遗传物质不需要相同
 - D.胚胎的遗传特性不受受体影响

B 解析:受体为供体胚胎提供发育的条件,A 正确;受体对移入子宫的外来胚胎基本上不发生免疫排斥反应,B 错误;受体不一定需要与供体具有相同的遗传物质,C 正确;受体不会改变胚胎的遗传特性,D 正确。

- 12.体细胞克隆猴培育过程中,组蛋白甲基化不利于胚胎的发育和妊娠。为提高胚胎发育率,科研人员将 *Kdm4d* 的 mRNA 注入了重构胚,具体培育流程如下图所示。下列有关叙述正确的是 ()



- A.从母猴卵巢中采集的卵母细胞可以直接作为核移植的受体
- B.使用免疫抑制剂处理代孕母猴才能保证移入的胚胎能在子宫中发育
- C.胚胎分割需均等分割桑葚胚的内细胞团,以免影响胚胎发育
- D.*Kdm4d* 的 mRNA 翻译产生的蛋白质可能会催化组蛋白的去甲基化

D 解析:从卵巢中取出的卵母细胞需要培养到 MII 期,才能作为核移植的受体细胞,A 错误;受体对移入子宫的外来胚胎基本上不发生免疫排斥反应,因此不需要注射免疫抑制剂,B 错误;胚胎分割需均等分割囊胚的内细胞团,以免影响胚胎发育,C 错误;组蛋白甲基化不利于胚胎的发育和妊娠,为提高胚胎发育率,科研人员将 *Kdm4d* 的 mRNA 注入了重构胚,故 *Kdm4d* 的 mRNA 翻译

产生的蛋白质可能会催化组蛋白的去甲基化,D 正确。

- 13.2022 年 3 月 22 日,中科院与合作伙伴在《自然》杂志上发表了一项重量级世界首创研究成果,能够将人的多能干细胞转化为全能性的 8 细胞期胚胎样细胞,即相当于受精卵发育 3 天状态的全能干细胞。该研究成果可能使个体化器官再生成为现实,为全世界数百万需要器官移植的患者带来了希望。下列有关全能性的叙述,错误的是 ()
- A.受精卵和人体早期胚胎细胞具有全能性
 - B.上述转化过程发生了细胞分化,体现了动物细胞核具有全能性
 - C.细胞具有全能性的原因是细胞含有个体发育的全部或全套基因
 - D.多能干细胞能够发育为机体多种组织,但一般不认为该过程体现细胞全能性

B 解析:受精卵和人体早期胚胎细胞都有发育成完整个体的潜能,具有全能性, A 正确;细胞的全能性是指已经分化的细胞仍然具有发育成完整个体或分化成其他各种细胞的潜能和特性,上述多能干细胞能够发育为机体的多种组织细胞,没有形成完整的个体,没有体现其全能性,B 错误,D 正确;细胞内含有个体发育所需的全部或全套基因是细胞具有全能性的内在因素,C 正确。

- 14.铁皮石斛是一种珍稀的药用植物和名贵的室内观赏植物,铁皮石斛自然繁殖力极低,常规繁殖又较困难,科研人员以铁皮石斛无菌苗茎段为外植体,对不同基本培养基在提高铁皮石斛在组织培养中的诱导率、增殖率和生根率方面进行了研究,以实现铁皮石斛的快速繁殖,部分结果如下表所示。下列相关叙述错误的是 ()

不同基本培养基对铁皮石斛芽诱导和增殖的影响

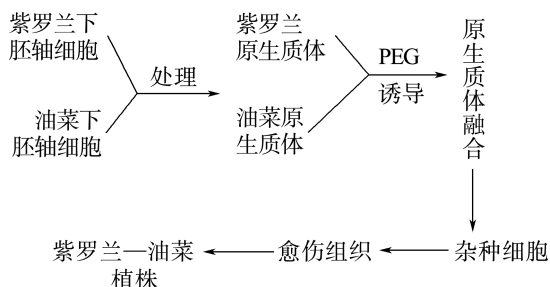
基本培养基	起始芽数	增殖后芽数	增殖率/%	健壮度
N6	170	765	354.74B * *	+++
B5	168	975	498.90A	+++
MS	163	638	296.02C	++
KC	136	388	181.80D	+

注:+(细弱),++(生长一般),+++ (饱满,健壮)
* * 同一列不同字母者表示相互间比较差异达到极显著水平。

- A.在培养过程中形成的愈伤组织是无菌苗茎段通过细胞分化而来
- B.该繁殖技术既能提高繁殖速度,又能保持植物原有的遗传特性
- C.除对不同基本培养基进行了研究,还应对植物生长调节剂种类及比例等进行研究
- D.4种基本培养基对铁皮石斛芽诱导效果,相互之间的比较差异极显著,其中B5的增殖效果最好

A 解析:在培养过程中形成的愈伤组织是无菌苗茎段通过脱分化过程恢复分裂能力经过细胞分裂而来,A错误;该繁殖技术依据的原理是植物细胞的全能性,是无性繁殖的手段,该方法既能提高繁殖速度,又能保持植物原有的遗传特性,B正确;植物生长调节剂种类及比例会影响组织培养中愈伤组织的生长和发育情况,因此该实验除对不同基本培养基进行了研究,还应对植物生长调节剂种类及比例等进行研究,以研究它们对诱导生芽的影响,C正确;4种基本培养基对铁皮石斛芽诱导效果,相互之间的比较差异极显著,其中B5的增殖效果最好,芽的增殖率最大,且苗的健壮度也高,D正确。

- 15.紫罗兰($2n=14$)花色丰富、抗虫性强、种子富含亚麻酸。为了让油菜($2n=38$)具有紫罗兰的诸多优良性状,科研人员进行了下图所示实验。下列叙述错误的是 ()



- A.制备原生质体时,可使植物细胞处于微弱的质壁分离状态后再用酶解法处理
- B.原生质体融合依赖膜的流动性,融合的原生质体形成细胞壁后再进行有丝分裂
- C.原生质体融合后,可以利用选择培养基从混合细胞群体中筛选出所需杂种细胞

- D.从杂种细胞到幼苗形成的过程只能说明植物细胞的细胞核具有全能性

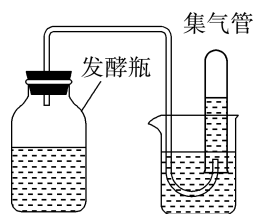
D 解析:酶解法制备原生质体时,需先用较高渗透压的溶液处理植物细胞,使细胞处于微弱的质壁分离状态,然后用酶消化去除细胞壁,获得原生质体,A正确;原生质体融合的基本原理是细胞膜具有流动性,融合的原生质体只有在重新形成细胞壁后,才可进行有丝分裂,B正确;原生质体融合后,可以利用选择培养基从混合细胞群体中筛选出所需杂种细胞,C正确;由植物细胞到完整个体的过程能说明植物细胞具有全能性,D错误。

- 16.名为“我的皮肤”的生物活性绷带自从在英国诞生后,给皮肤烧伤病人带来了福音。该活性绷带的原理是先采集一些细胞样本,再让其在特殊的膜片上增殖。5~7天后,将膜片敷在患者的伤口上,膜片会将细胞逐渐“释放”到伤口,并促进新生皮肤层生长,达到加速伤口愈合的目的。下列有关叙述错误的是 ()

- A.获得“我的皮肤”所用的技术属于动物细胞工程
- B.人的皮肤烧伤后会因人体第二道防线的破坏而导致免疫力下降
- C.种植在膜片上的细胞样本最好选自患者本人
- D.膜片能否把细胞顺利“释放”到伤口,加速患者自身皮肤愈合与细胞膜上的HLA有关

B 解析:根据题意,“我的皮肤”的获得技术属于动物细胞工程中的动物细胞培养,A正确;人的皮肤烧伤后会因人体第一道防线的破坏而导致免疫力下降,B错误;种植在膜片上的细胞样本最好选自患者本人,以避免发生免疫排斥反应,C正确;人类白细胞抗原(HLA)是人类主要组织相容性复合物,作为不同个体免疫细胞相互识别的标志,因此膜片能否把细胞顺利“释放”到伤口,加速患者自身皮肤愈合与细胞膜上的HLA有关,D正确。

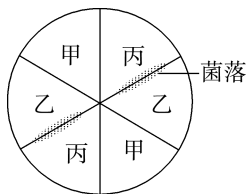
- 17.下图为苹果酒的发酵装置示意图,下列叙述正确的是 ()



- A. 发酵过程中酒精的产生速率越来越快
 B. 集气管中的气体是酵母菌无氧呼吸产生的 CO_2
 C. 发酵过程中酵母菌种群呈“J”形增长
 D. 若发酵液表面出现菌膜, 最可能的原因是发酵瓶漏气

D 解析: 发酵过程中由于营养物质的消耗、有害代谢产物的积累及 pH 的改变, 酒精的产生速率逐渐减慢, A 错误; 集气管中的气体是酵母菌有氧呼吸和无氧呼吸产生的 CO_2 , B 错误; 发酵过程中酵母菌种群先呈“S”形增长, 而后随着酒精浓度的增大, 酵母菌数量逐渐减少, C 错误; 由于醋酸菌是好氧微生物, 若发酵液表面出现菌膜, 则可能是发酵瓶漏气引起的, D 正确。

18. 生长图形法是一种测定微生物营养需求的简便方法。为探究某嗜热菌所需生长因子的种类, 研究小组把该菌的悬浮液与不含任何生长因子但含有其他必需营养物质的培养基混合后倒入平板, 然后在平板上划分数区, 将甲、乙、丙三种生长因子分别添加到不同区域, 培养结果如下图所示。下列说法错误的是 ()

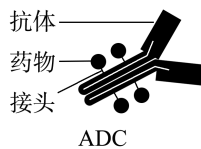


- A. 倒入平板后直接培养可判断培养基有无污染
 B. 倒入平板后培养基需要进行灭菌处理
 C. 图示结果表明该菌需要生长因子乙和丙
 D. 生长图形法不可用于微生物的计数

B 解析: 倒入平板后直接培养, 可判断培养基有无污染, A 正确; 制备培养基时, 先灭菌再倒平板, B 错误; 图中菌落生活在乙、丙区域之间, 说明该菌的生长同时需要乙和丙, C 正确; 不同菌种所需生长因子不同, 可利用生长图形法筛选菌种, 但不能用于微生物计数, D 正确。

19. 下图是科研人员将药物与单克隆抗体连接形成的抗体—药物偶联物(ADC)的示意图, 它由抗体、接头和小分子药物三部分组成, 能实现对肿瘤细胞的选择性杀伤。例如用于治疗乳腺癌的 Kadcyla

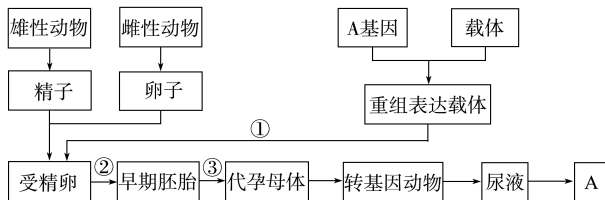
是由阿多曲妥单抗和药物美坦新偶联的 ADC。下列叙述错误的是 ()



- A. 单克隆抗体由杂交瘤细胞以胞吐方式释放体现了细胞膜的流动性
 B. 药物美坦新识别并杀伤乳腺癌细胞体现了抗原—抗体的特异性结合
 C. ADC 中接头稳定性偏低会导致药物分子容易脱落对正常细胞造成损伤
 D. ADC 设计需综合考虑抗体选择、药物分子大小及其细胞毒性等问题

B 解析: 单克隆抗体由免疫过的 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞形成的杂交瘤细胞合成并分泌, 分泌过程为胞吐过程, 分泌过程体现了细胞膜的流动性, A 正确; 药物美坦新并不具有识别作用, 单克隆抗体才具有识别作用, B 错误; 由图可知, ADC 中接头的作用是连接药物分子, 其稳定性偏低可能会导致药物分子脱落, 进而与正常细胞接触, 造成正常细胞的损伤, C 正确; ADC 设计需考虑抗体选择, 选择能与靶细胞(器官)结合的抗体, 需考虑药物分子大小及其细胞毒性等问题, 使药物分子能被顺利带到靶细胞内发挥作用, 且对正常细胞无显著毒性, D 正确。

20. 研究人员仿照制备乳腺生物反应器的思路, 制备了一种膀胱生物反应器, 用其获得人体特殊功能蛋白 A 的基本过程如下图所示。下列有关叙述正确的是 ()



- A. 步骤①和②所代表的操作分别是显微注射、体外受精
 B. 诱导雌性动物超数排卵所饲喂的激素只能作用于特定细胞

- C.通过超数排卵获得的卵子可直接与获能的精子进行体外受精
D.早期胚胎培养过程中通常在培养液中通入 8% 的 CO_2 用来维持培养液的 pH

C 解析:受精卵的全能性最大,利用受精卵作为重组表达载体的宿主细胞常采用①显微注射的方法将载体注入,继而对受精卵进行早期胚胎的培养(②),A 错误;诱导雌性动物超数排卵的激素是促性腺激素,该激素是由垂体分泌的,属于蛋白质(多肽类)激素,不能饲喂,只能注射,否则会被分解,B 错误;通过超数排卵获得的卵子可直接与获能的精子进行体外受精,原因是卵子已在输卵管中发育至 MⅡ期,C 正确;早期胚胎培养过程中通常在培养液中通入 5% 的 CO_2 的作用是维持培养液的 pH,D 错误。

第 II 卷(共 60 分)

二、非选择题(本题共 5 小题,共 60 分)

21.(14 分)图 1 是传统发酵技术的部分制作装置及操作步骤示意图;图 2 为果酒与果醋发酵装置示意图。回答下列问题:

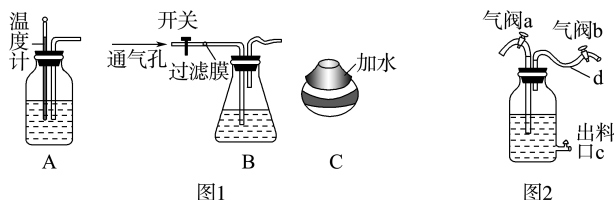


图1

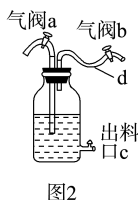


图2

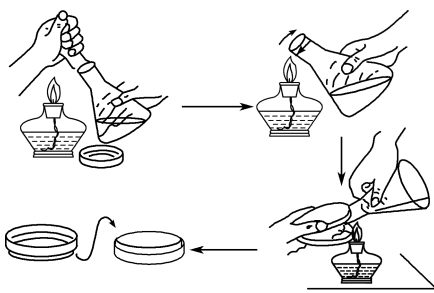
- (1)A 和 B 装置中,适用于果醋制作的是 _____,判断的理由是 _____。
(2)进行果酒制作时,A 装置中的发酵液不能装满,从微生物代谢的角度分析,其目的是 _____,该发酵需要的温度条件是 _____ $^{\circ}\text{C}$ 。
(3)图 1 中 C 装置是制作 _____ 的装置,其中在发酵坛盖沿上加水的目的是 _____。
(4)用 _____ 对图 2 装置进行 _____ 后,再装入葡萄汁,将发酵装置放在 $18\sim 30^{\circ}\text{C}$ 的环境中,每天拧开气阀 b 多次,排出发酵过程产生的大量 _____。图 2 装置中 d 处设计成弯曲形状的目的是 _____。

- (5)产生酒精后,在发酵液中加入醋酸菌,然后将装置放在 _____ $^{\circ}\text{C}$ 的环境中,适时打开图 2 中气阀 _____ 向发酵液中充气。充气的原因是 _____。

解析:(1)A 装置属于密封装置,B 装置有通气孔,A 和 B 装置中,适用于果醋制作的是 B 装置,因为醋酸菌是好氧细菌,发酵过程中需不断通气,以满足制作果醋时醋酸菌对氧气的需求。(2)A 装置中的发酵液不能装满,因为果酒制作初期,酵母菌要进行有氧呼吸产生能量以满足自身大量繁殖所需,酵母菌酒精发酵需要的温度条件是 $18\sim 30^{\circ}\text{C}$ 。(3)C 装置是制作泡菜的装置,其中在发酵坛盖沿上加水的目的是增强密封性,创造无氧环境。(4)发酵装置要清洗干净,并用体积分数为 70% 的酒精消毒,再装入葡萄汁,将发酵装置放在 $18\sim 30^{\circ}\text{C}$ 环境中发酵,发酵过程中由于酵母菌无氧呼吸会产生二氧化碳,因此需要每天拧开气阀 b 多次,排出发酵过程产生的大量二氧化碳。装置中 d 处设计成弯曲形状利用了巴斯德的鹅颈瓶的原理,可以防止排气时空气中微生物的污染(防止杂菌污染)。(5)醋酸菌的最适生长温度为 $30\sim 35^{\circ}\text{C}$,因此要将装置放在 $30\sim 35^{\circ}\text{C}$ 的环境中。醋酸菌是好氧菌,在将酒精变为醋酸时需要氧气,因此要适时向发酵装置中充气,需要打开气阀 a 通入空气。

答案:(1)B 醋酸菌是好氧细菌,B 装置可不断通气,以满足制作果醋时醋酸菌对氧气的需求
(2)满足酵母菌进行有氧呼吸时对氧气的需求 $18\sim 30$ (3)泡菜 增强密封性,创造无氧环境
(4)体积分数为 70% 的酒精 消毒 CO_2 防止排气时空气中杂菌的污染 (5) $30\sim 35$ a 醋酸菌是好氧细菌,将酒精转变为乙酸需要 O_2

22.(12 分)运用所学知识回答下列与生物技术与工程相关的问题:



(1)微生物培养中的无菌技术主要包括_____。

(2)上图为例倒平板操作过程,操作时要待培养基_____时,在_____附近进行。制备固体培养基时,要待平板冷凝后,将平板倒置,其主要目的是_____。

(3)生产中通常用葡萄作原材料制作果汁、果酒及果醋。

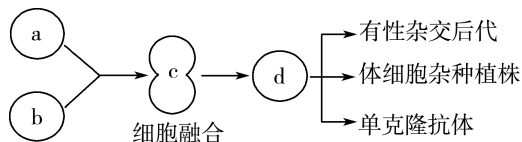
①果醋的制作需要醋酸菌。醋酸菌是一种好氧细菌,只有当氧气充足时,才能进行旺盛的生理活动。当氧气充足、缺少糖源时醋酸菌将乙醇变为_____,再进一步转变为_____。

②从发酵条件看,果酒和果醋的制作过程的不同之处主要是_____。

解析:(1)微生物培养中的无菌技术主要包括消毒和灭菌两种。(2)倒平板时需要待培养基的温度冷却到 50°C 左右,在酒精灯火焰附近进行,主要是为了防止操作过程中杂菌的污染。培养时将平板倒置的目的是防止培养皿皿盖上的水珠滴入培养基造成污染。(3)①在氧气充足、缺少糖源时醋酸菌会将乙醇转变为乙醛,再进一步转变为乙酸。②从发酵条件看,果酒制作利用的是酵母菌的无氧呼吸,果醋制作利用的是醋酸菌的有氧呼吸,即果酒制作需无氧条件,果醋制作需要充足的氧气。

答案:(1)消毒和灭菌 (2)冷却至 50°C 左右 酒精灯火焰 防止培养皿皿盖上的水珠滴入培养基造成污染 (3)①乙醛 乙酸 ②果酒制作需无氧条件,果醋制作需要充足的氧气

23.(14分)细胞融合技术有着广泛的应用。下图为细胞融合的简略过程,据图回答相关问题:



(1)若 a、b 分别是基因型为 $yyRr$ 和 $YYrr$ 两个玉米品种的花粉,且这两对基因分别位于两对同源染色体上。科学家分别将它们的花粉除去细胞壁,然后诱导其融合,再把这些融合细胞进行培

养,培育出了玉米新品种。这两个品种的花粉可用化学诱导剂_____诱导融合,这些融合细胞经过脱分化形成_____,再经培养可以得到_____种不同于亲本基因型的玉米新品种。

(2)若 a、b 表示番茄和马铃薯两种植物的体细胞,请据图回答问题:

①在“番茄—马铃薯”的培育过程中,运用了植物细胞工程中的_____技术,植物体细胞融合完成的标志是_____。

②a、b 细胞融合之前,要用到的酶是_____,酶处理后得到_____。

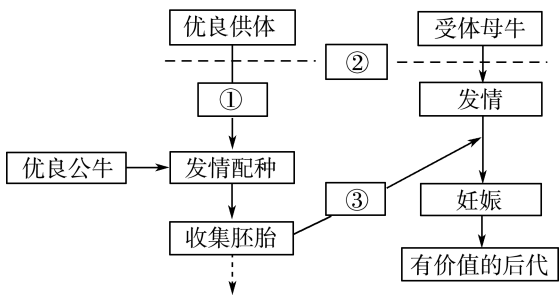
(3)若 a、b 分别为骨髓瘤细胞和已免疫的 B 淋巴细胞,为了能充分发挥上述两种细胞各自的特点,经特殊处理,在促细胞融合因子的作用下,使两种细胞发生融合,形成图中的 d 细胞。由 d 细胞产生的抗体与普通血清抗体相比较,具有_____等特点。

解析:(1)诱导细胞融合时可用的化学诱导剂是聚乙二醇(PEG);根据亲本的基因型为 $yyRr$ 和 $YYrr$ 可知,两个玉米品种产生的花粉有 3 种,即 yR 、 yr 、 Yr ,共可产生 6 种基因型的融合细胞,即 $yyRR$ 、 $yyrr$ 、 $YYrr$ 、 $YyRr$ 、 $Yyrr$ 、 $yyRr$;这些融合细胞经过脱分化形成愈伤组织,再经培养可以得到 4 种不同于亲本基因型的玉米新品种,即 $yyRR$ 、 $yyrr$ 、 $YyRr$ 、 $Yyrr$ 。(2)①在“番茄—马铃薯”的培育过程中,运用了植物细胞工程中的植物体细胞杂交技术,植物体细胞融合完成的标志是再生出细胞壁。②植物细胞融合之前,需要用纤维素酶和果胶酶处理,目的是去除其细胞壁,得到原生质体。(3)若 a、b 分别为骨髓瘤细胞和已免疫的 B 淋巴细胞,在促细胞融合因子的作用下,使两种细胞发生融合,形成图中的 d 杂交瘤细胞,其产生的抗体与普通抗体相比,具有特异性强、灵敏度高,并可大量制备等特点。

答案:(1)聚乙二醇(PEG) 愈伤组织 4

(2)①植物体细胞杂交 再生出细胞壁 ②纤维素酶和果胶酶 原生质体 (3)特异性强、灵敏度高,并可大量制备

24.(10 分)下图为牛胚胎移植示意图,请据图回答下列问题:



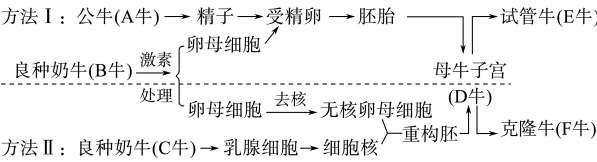
(1)图中,过程①是_____,过程②是_____,过程③是_____。哺乳动物发情排卵后,不管是否妊娠,在一段时间内,同种动物的供、受体生殖器官的生理变化是_____ (填“相同”或“不同”)的,这就为供体的胚胎移入受体提供了相同的生理环境。

(2)配种可通过体外受精的方式完成,此时,卵子需要培养到_____期才成熟;而精子需要_____后才能受精。

解析:(1)分析题图可知,过程①是超数排卵,过程②是同期发情,过程③是胚胎移植。哺乳动物发情排卵后,不管是否妊娠,在一段时间内,同种动物的供、受体生殖器官的生理变化是相同的,这就为供体的胚胎移入受体提供了相同的生理环境。(2)配种可通过体外受精的方式完成,此时,卵子需要培养到 MⅡ 期才成熟;而精子需要获能处理后才能受精。

答案:(1)超数排卵 同期发情 胚胎移植 相同 (2)MⅡ 获能

25.(10 分)为了加快优良种牛的繁殖速度,科学家采用了如图两种方法。请根据图示信息回答下列问题:



(1)试管牛和克隆牛的培育过程中均用到的生物技术有_____。

(2)用来促进 B 牛多排卵的激素可能是_____分泌的促性腺激素。E 牛的性别是_____,产生 F 牛的理论依据是_____,其生殖方式属于_____。

解析:(1)试管牛的培育过程中用到的生物技术有体外受精、动物细胞培养、胚胎移植等;克隆牛的培育过程中用到的生物技术有核移植技术、动物细胞培养、胚胎移植等。(2)促性腺激素是由垂体分泌的。E 牛是试管牛,性别为雌性或雄性;F 牛是克隆牛,其产生的理论依据是动物细胞的细胞核具有全能性,其生殖方式为无性生殖。

答案:(1)动物细胞培养、胚胎移植等 (2)垂体 雌性或雄性 动物细胞的细胞核具有全能性 无性生殖

第 3 章

基因工程

第 1 节 重组 DNA 技术的基本工具

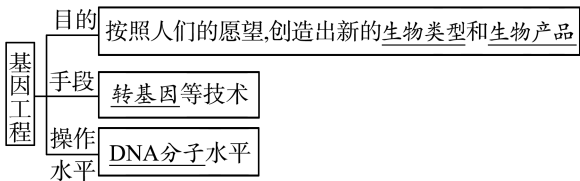
学习任务目标

- 1.运用结构与功能观说明基因工程的工具的特点。
- 2.采用比较与分类、模型与建模等科学方法,说明限制酶、DNA 连接酶等酶的异同。
- 3.参与讨论基础理论和技术发展如何催生基因工程。

问题式预习

一、基因工程及其诞生和发展

1.基因工程的概念



2.基因工程的诞生和发展

基于基因工程相关的基础理论突破和技术创新事例,判断下列说法是否正确。

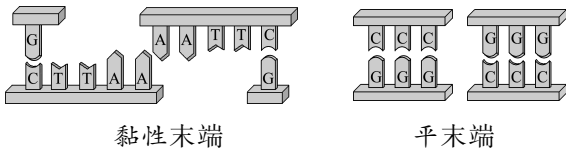
- (1)1953 年,沃森和克里克建立了 DNA 双螺旋结构模型,并用实验证明了 DNA 分子的半保留复制。(×)
- (2)1970 年,科学家在细菌体内发现了第一个限制酶,后来又发现了多种限制酶、DNA 连接酶等。(√)
- (3)基因工程是在生物化学、分子生物学和微生物学等学科的基础上发展起来的。(√)
- (4)1983 年,科学家采用花粉管通道法培育出世界上第一例转基因烟草。(×)
- (5)1984 年,我国科学家朱作言领导的团队培育出世界上第一条转基因鱼。(√)

二、限制性内切核酸酶——“分子手术刀”

- 1.来源:主要来自原核生物。
- 2.特点:具有专一性。

- (1)识别:DNA 分子的特定核苷酸序列。
- (2)切割:特定部位的两个核苷酸之间的磷酸二酯键。

3.结果



三、DNA 连接酶——“分子缝合针”

- 1.作用:将双链 DNA 片段“缝合”起来,恢复被限制酶切开的磷酸二酯键。
- 2.种类

种类	<i>E.coli</i> DNA 连接酶	T4 DNA 连接酶
来源	<u>大肠杆菌</u>	<u>T4 噬菌体</u>
特点	都能将双链 DNA 片段“缝合”起来,但 <i>E.coli</i> DNA 连接酶连接具有平末端的 DNA 片段的效率要远远低于 <u>T4 DNA 连接酶</u>	

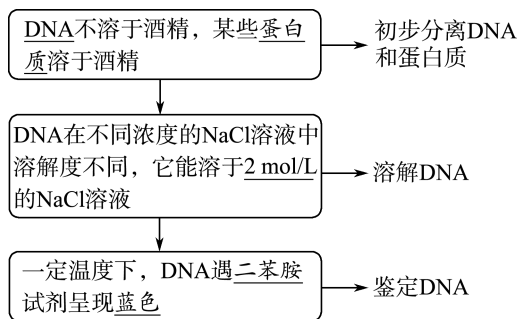
四、基因进入受体细胞的载体——“分子运输车”

- 1.种类:质粒、噬菌体、动植物病毒等。
- 2.常用载体——质粒

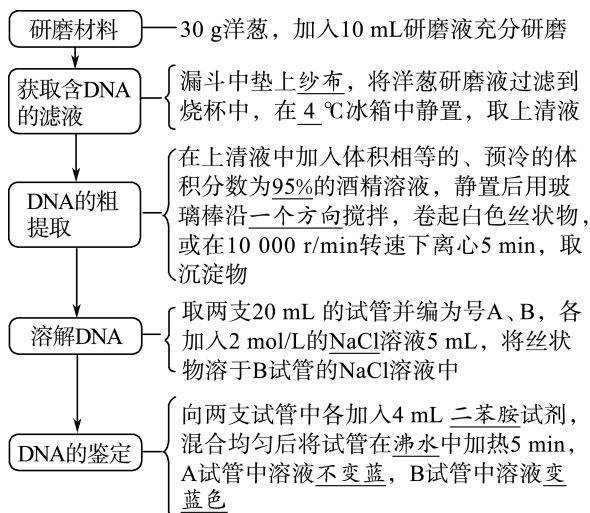
- (1)本质:质粒是一种裸露的、结构简单、独立于真核细胞细胞核或原核细胞拟核 DNA 之外,并具有自我复制能力的环状双链 DNA 分子。
- (2)质粒作为载体的三个特点
 - ①质粒 DNA 分子上有一个至多个限制酶切割位点,供外源 DNA 片段(基因)插入其中。
 - ②携带外源 DNA 片段的质粒进入受体细胞后,能在细胞中进行自我复制,或整合到受体 DNA 上,随受体 DNA 同步复制。
 - ③人工改造的质粒常带有特殊的标记基因,便于重组 DNA 分子的筛选。

五、DNA 的粗提取与鉴定

1. 实验原理



2. 实验步骤



教材开发

1.[教材 P71 旁栏思考]原核生物中存在限制酶的意义是什么？限制酶来源于原核生物，为什么不能切割自身的 DNA 分子？

提示：原核生物中限制酶的作用是切割外源 DNA 以保证自身安全，防止外源 DNA 的入侵。原核生物自身 DNA 分子中不存在该酶的识别序列或识别序列已经被修饰。

2.[教材 P72 旁栏思考]DNA 连接酶和 DNA 聚合酶的作用有何区别？

提示：DNA 连接酶连接的是两个 DNA 片段，而 DNA 聚合酶是把单个的脱氧核苷酸连接到已有的 DNA 片段上。

概念辨析

- 限制酶可以将 DNA 双链切割成两条单链。
(×)
- 同种限制酶既可以切割含目的基因的 DNA 片段又可以切割质粒，因此不具有专一性。
(×)
- 序列-CTAG[↓]-和-G[↓]-GATCC-被限制酶切出的黏性末端相同。
(√)
- T4 DNA 连接酶能催化具有平末端和具有黏性末端的 DNA 片段的连接。
(√)
- 质粒是一种独立于细菌染色体外的双链环状 DNA 分子。
(×)
- 载体必须具有一个或多个限制酶切割位点，以便于目的基因的表达。
(×)
- 载体具有某些标记基因，以使目的基因能够与其结合。
(×)

任务型课堂

任务一

基因工程的工具酶

[探究活动]

重组 DNA 技术是指按照人们的愿望，将一种生物体(供体)的基因与载体在体外进行拼接重组，然后转入另一种生物体(受体)内，在剪切和拼接过程中涉及限制酶和 DNA 连接酶。试探究下列问题：

探究 1.原核生物中限制酶为什么不切割自身的 DNA？

提示：原核生物中不存在该酶的识别序列或识别序列已被修饰。

探究 2.为什么不同生物的基因可以拼接起来？

提示：①DNA 是生物的主要遗传物质；②DNA 的基本组成单位都是四种脱氧核苷酸；③双链 DNA 分子的空间结构都是规则的双螺旋结构。

探究 3.为什么一种生物的基因可以在另一种生物细胞内表达？

提示：①基因是控制生物性状的独立遗传单位；②遗传信息的传递都遵循中心法则阐述的遗传信息流动方向；③生物界共用一套遗传密码。

[评价活动]

1. 以下是几种不同限制酶切割 DNA 分子后形成的部分片段。下列有关叙述错误的是 ()

- | | | | | |
|--------|--------|-----|--------|-----|
| -CTGCA | -G | -TG | -G | -GC |
| -G | -CTTAA | -AC | -CTGCA | -CG |
| ① | ② | ③ | ④ | ⑤ |

- A. 以上 DNA 片段是由 5 种限制酶切割后产生的
B. 若要把相应片段连接起来，应选用 DNA 连接酶

DNA 分子是 $\begin{array}{l} \text{---CTGCAG---} \\ \text{---GACGTC---} \end{array}$

A 解析:题图中①④的末端相同,是由同一种限制酶切割形成的,因此题中 DNA 片段是由 4 种限制酶切割后产生的,A 错误;DNA 连接酶可将具有相同末端的 DNA 片段连接起来,B 正确;题图中①④具有相同的黏性末端,可被 DNA 连接酶连接形成 $\begin{smallmatrix} -\text{CTGCAG}- \\ -\text{GACGTC}- \end{smallmatrix}$,C 正确;由题图可知,①②④属于黏性末端,③⑤属于平末端,D 正确。

$\downarrow$
Spe I 5'-ACTAGT-3'
 $\downarrow$
Eco R V 5'-GATATC-3'
 $\downarrow$
Xba I 5'-TCTAGA-3'
 $\downarrow$
Xho I 5'-CTCGAG-3'
 $\downarrow$
Bam H I 5'-GGATCC-3'

(2) 已知某种限制酶甲的识别序列和切点是 $5' \downarrow \text{GATC} - 3'$ 。上述 5 种限制酶中, 切割相应 DNA 后得到的末端与限制酶甲切割后相同的是 。

解析: (1) 在构建基因表达载体时, 首先会用一定的限制酶切割载体, 使它出现一个切口; 然后用同种限制酶或能产生相同末端的限制酶切割含有目的基因的 DNA 片段; 再利用 DNA 连接酶将目的基因片段拼接到载体的切口处, 这样就形成了一个重组 DNA 分子。(2) 限制酶甲切割后产生的黏性末端为 GATC-3', 而 *Bam*H I 切割后产生的黏性末端也为 GATC-3', 因此, 题图中 5 种限制酶切割相应 DNA 后得到的末端与限制酶甲切割后相同的是 *Bam*H I。(3) 限制酶 *Spe* I、*Xho* I、*Bam*H I、*Xba* I 切割形成的是黏性末端, 限制酶 *Eco*R V 切割形成的是平末端, *E.coli* DNA 连接酶只能将双链 DNA 片段互补的黏性末端之间的磷酸二酯键连接起来, 而 T4 DNA 连接酶可用于连接黏性末端和

(2) *Bam* H I (3) *Spe* I, *Xho* I, *Bam* H I, *Xba* I
Eco R V

(1) 与 DNA 分子有关的几种酶的比较

比较项目	作用底物	作用部位	作用特点	作用结果
限制酶	DNA 分子	磷酸二酯键	切割目的基因及质粒载体,识别特定核苷酸序列,使特定部位的磷酸二酯键断开	形成黏末端或平末端
DNA 连接酶	DNA 分子	磷酸二酯键	将双链 DNA 片段“缝合”起来,恢复磷酸二酯键	形成重组 DNA 分子
DNA 聚合酶	脱氧核苷酸	磷酸二酯键	将单个脱氧核苷酸添加到脱氧核苷酸链上	形成新的 DNA 分子
解旋酶	DNA 分子	氢键	将 DNA 两条链之间的氢键打开	形成单链 DNA 分子

- ①限制酶是一类酶，而不是一种酶。
- ②将一个基因从 DNA 分子上切割下来，需要切两处，同时产生四个黏性末端或平末端。
- ③不同的 DNA 分子用同一种限制酶切割，产生的末端都相同，同一个 DNA 分子用不同的限制酶切割，产生的末端一般不同。
- ④限制酶切割位点应位于标记基因之外，不能破坏标记基因，以便进行检测。
- ⑤原核生物的限制酶不切割自身 DNA 的原因是原核生物中不存在该酶的识别序列或识别序列已经被修饰。

任务二 基因工程中的载体

[探究活动]

单纯的 DNA 片段是很难导入受体细胞的,所以将切割下来的目的基因导入受体细胞需要“分子运输车”的帮助。不是任何“分子运输车”都可以用来作为目的基因导入受体细胞的载体。据此探究下列问题:

探究 1.在证明 DNA 是遗传物质的经典实验中,哪些实验提示外源 DNA 可进入细胞并发挥其功能?

提示:艾弗里的肺炎链球菌转化实验和噬菌体侵染细菌实验。

探究 2.从原核细胞中提取的质粒一般可直接用于基因工程吗?原因是什么?

提示:一般不能直接用于基因工程,因为缺少标记基因等。

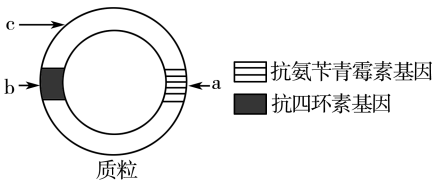
[评价活动]

1.下列有关基因工程中载体的说法,正确的是()

- A.质粒是一种独立于细菌拟核外的链状 DNA 分子
- B.所有的质粒都可以作为基因工程中的载体
- C.质粒载体的复制和表达不遵循中心法则
- D.作为载体的质粒常含有抗生素抗性基因

D 解析:质粒是一种独立于细菌拟核外的环状 DNA 分子,A 错误;天然的质粒不能直接作为载体,基因工程中用到的质粒都是在天然质粒的基础上进行过人工改造的,B 错误;质粒载体的复制和表达遵循中心法则,C 错误;作为载体的质粒常含有抗生素抗性基因,这可以作为标记基因,对重组后的重组 DNA 进行筛选,D 正确。

2.下图是某质粒的结构示意图(a、b、c 代表外源基因可能的插入位点),下表是外源基因插入某位点后含重组质粒的细菌在不同培养基上的生长情况。根据表中提供的细菌的生长情况,推测①②③三种重组细菌的外源基因插入位点,其中正确的一组是()



细菌	在含氨苄青霉素的培养基上生长的情况	在含四环素的培养基上生长的情况
①	能生长	能生长

续表

细菌	在含氨苄青霉素的培养基上生长的情况	在含四环素的培养基上生长的情况
②	能生长	不能生长
③	不能生长	能生长

A.①是 c;②是 b;③是 a

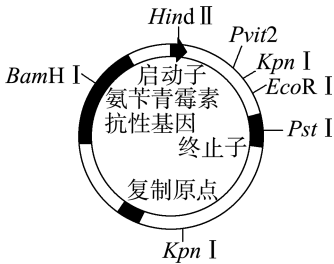
B.①是 a 和 b;②是 a;③是 b

C.①是 a 和 b;②是 b;③是 a

D.①是 c;②是 a;③是 b

A 解析:细菌①在两种培养基上都能生长,说明抗氨苄青霉素基因和抗四环素基因都没有被破坏,外源基因插入位点是 c 点;细菌②在含氨苄青霉素的培养基上能生长,在含四环素的培养基上不能生长,说明抗氨苄青霉素基因没有被破坏,抗四环素基因被破坏了,外源基因插入位点是 b 点;细菌③在含四环素的培养基上能生长,在含氨苄青霉素的培养基上不能生长,说明抗氨苄青霉素基因被破坏了,抗四环素基因没有被破坏,外源基因插入位点是 a 点,A 正确。

3.大多数奶酪的生产需要使用凝乳酶来凝聚固化奶中的蛋白质。传统的凝乳酶制备方法是从未断奶小牛的第四胃的黏膜中提取,此法现已不再使用。现在科学家将编码牛凝乳酶的基因(长度为 1.5 kb)导入大肠杆菌获得工程菌,再通过工业发酵批量生产凝乳酶。下图为所用载体示意图,下表为限制酶的识别序列及切割位点。请回答下列问题:



限制酶	Hind II	Pst I	Kpn I
识别序列	A ↓ AGCTT	CAG ↓ CTG	G ↓ GTACC
限制酶	EcoR I	Pst I	BamH I
识别序列	G ↓ AATTC	CTGC ↓ AG	G ↓ GATCC

(1)构建基因表达载体:为使目的基因与载体正确

连接,在扩增目的基因时,应在其一对引物的 5' 端分别引入 _____ 两种不同限制酶的识别序列。在目的基因和载体连接时,可选用 _____ (填“*E.coli* DNA 连接酶”或“T4 DNA 连接酶”)。

(2)筛选与鉴定:将转化后的大肠杆菌接种在含 _____ 的培养基上进行培养,随机挑取菌落 (分别编号为 1、2、3、4) 培养并提取质粒。

解析:(1)据图可知,目的基因应该插入启动子和终止子之间,图中 *Bam*H I 能破坏标记基因,*Hind* II 能破坏启动子,*Pst* I 能破坏终止子,*Kpn* I 在质粒上不止一个酶切位点,能将终止子切割掉,而 *Pvu* II 2 和 *Eco*R I 位于启动子和终止子之间,因此切割目的基因和质粒时用 *Pvu* II 2 和 *Eco*R I,在引物的 5' 端需要加入的是 *Pvu* II 2 和 *Eco*R I 限制酶序列。*Pvu* II 2 切割后形成的是平末端,*Eco*R I 切割后形成的是黏性末端,*E.coli* DNA 连接酶只能将双链 DNA 片段互补的黏性末端之间的磷酸二酯键连接起来,而 T4 DNA 连接酶可用于连接黏性末端和平末端,因此本题中在目的基因和载体连接时,可选用 T4 DNA 连接酶。(2)据题意可知,该基因表达载体上含有氨苄青霉素抗性基因,因此可将转化后的大肠杆菌接种在含氨苄青霉素的培养基上进行培养并筛选。

答案:(1)*Pvu* II 2 和 *Eco*R I T4 DNA 连接酶

(2)氨苄青霉素

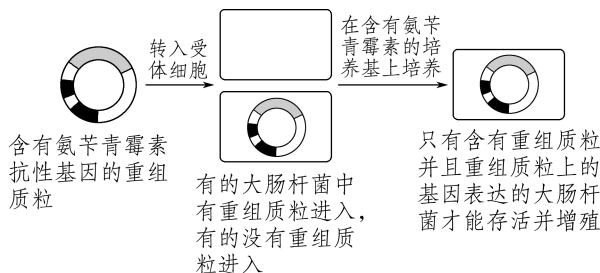
任务总结

(1)标记基因用于重组 DNA 分子筛选的原理

①载体上的标记基因一般是一些抗生素的抗性基因。未转入目的基因的受体细胞没有抵抗相应抗生素的能力。

②含有某抗生素抗性基因的重组质粒导入受体细胞,抗性基因在受体细胞内表达,该受体细胞获得抗性。

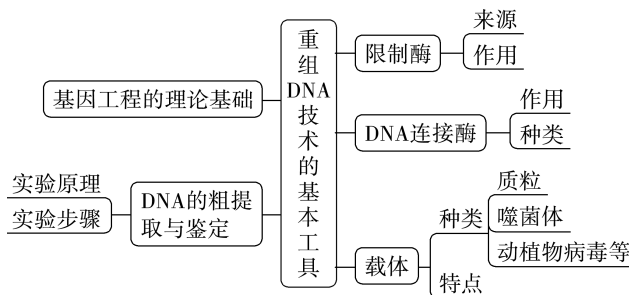
③在含相应抗生素的培养基上,不能生长的是没有抗性的细胞,能生长的是具有抗性的受体细胞。



(2)基因工程载体的易错提醒

基因工程中的载体与细胞膜上物质运输的载体不同,基因工程中的载体是 DNA 分子,能将目的基因导入受体细胞内;膜载体是蛋白质,与细胞膜的选择透过性有关。

► 提质归纳



课后素养评价(十二)

基础性·能力运用

知识点 1 重组 DNA 技术的基本工具

1. 下列关于基因工程所需基本工具的叙述,错误的是 ()

- 用限制酶 *Spe* I (—A[↓]CTAGT—) 切割产生的 DNA 片段和限制酶 *Xba* I (—T[↓]CTAGA—) 切割产生的 DNA 片段不可以相连接
- 用限制酶 *Eco*R V (—GAT[↓]ATC—) 切割产生的 DNA 片段和限制酶 *Sma* I (—CCC[↓]GGG—) 切割产生的 DNA 片段可以相连接
- DNA 连接酶和 DNA 聚合酶连接的是同一种化

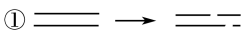
学键,但它们催化的底物不同

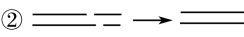
D. 培育转基因抗虫水稻,可以选用质粒或植物病毒作为载体

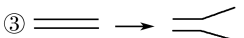
A 解析:用限制酶 *Spe* I 和限制酶 *Xba* I 处理后会获得相同的黏性末端(CTAG—),因此两者切割产生的 DNA 片段可以相连接,A 错误;用限制酶 *Eco*R V 切割产生的 DNA 片段和限制酶 *Sma* I 切割产生的 DNA 片段都是平末端,可以相连接,B 正确;DNA 连接酶和 DNA 聚合酶的作用部位都是 DNA 的磷酸二酯键,但它们催化的底物不同,C 正

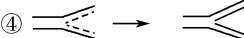
确;培育转基因抗虫水稻,可以选用质粒或植物病毒作为载体,D正确。

2.下图为 DNA 分子在不同酶的作用下所发生的变化,下列选项中能依次表示限制酶、DNA 聚合酶、DNA 连接酶、解旋酶作用顺序的是 ()

①

②

③

④

A.①②③④

B.①②④③

C.①④②③

D.①④③②

C 解析:限制酶可在特定位点对 DNA 分子进行切割,对应题图①;DNA 聚合酶在 DNA 分子复制时将单个脱氧核苷酸连接成脱氧核苷酸链,对应题图④;DNA 连接酶连接 DNA 片段,对应题图②;解旋酶的作用是将 DNA 双链解开,对应题图③,C 正确。

3.下列关于图中黏性末端的说法中,错误的是 ()

AATTC

G

||||

甲

AATTG

C

||||

乙

TTAAG

C

||||

丙

- A.甲、乙、丙黏性末端是由各自不同的限制性内切核酸酶催化产生的
- B.甲、乙的黏性末端,可连接形成重组 DNA 分子,但甲、丙之间不能
- C.DNA 连接酶作用位点在 b 处,催化磷酸基团和脱氧核糖之间形成化学键
- D.切割甲的限制性内切核酸酶不能识别由甲、乙片段形成的重组 DNA 分子

C 解析:切割产生甲的限制酶的识别序列为 GAATTC//CTTAAG,切割产生乙的限制酶的识别序列为 CAATTG//GTTAAC,切割产生丙的限制酶的识别序列为 CTTAAG//GAATTC,由此可见,甲、乙、丙黏性末端是由三种限制酶催化产生的,A 正确;甲、乙的黏性末端相同,因此可在 DNA 连接酶的作用下形成重组 DNA 分子,但甲、丙的黏性末端不同,它们之间不能形成重组 DNA 分子,B 正确;DNA 连接酶催化磷酸基团和脱氧核糖之间形成磷酸二酯键,即作用位点在 a 处,C 错误;切割甲的限制酶的识别序列为 GAATTC//CTTAAG,而甲、乙片段形成的重组 DNA 分子序列为 GAATTG//CTTAAC,因此切割甲的限制酶不能识别由甲、乙片段形成的重组 DNA 分子,D 正确。

4.下列基因工程中有关名词及其具体内容,对应正确的是 ()

选项	A	B
供体	质粒	提供目的基因的生物
“分子手术刀”	限制酶	DNA 连接酶
“分子缝合针”	DNA 连接酶	限制酶
载体	提供目的基因的生物	质粒
受体	大肠杆菌等	大肠杆菌等

选项	C	D
供体	提供目的基因的生物	大肠杆菌等
“分子手术刀”	限制酶	DNA 连接酶
“分子缝合针”	DNA 连接酶	限制酶
载体	质粒	提供目的基因的生物
受体	大肠杆菌等	质粒

C 解析:基因工程中将提供目的基因的生物称为供体,将导入目的基因的生物称为受体,如大肠杆菌等;进行基因操作需要三种工具,即“分子手术刀”——限制酶,“分子缝合针”——DNA 连接酶,常用的载体——质粒,C 正确。

知识点 2 DNA 的粗提取与鉴定

5.大肠杆菌经溶菌酶和洗涤剂处理后,拟核 DNA 就会缠绕在细胞壁碎片上,静置一段时间,质粒分布在上清液中,利用上述原理可初步获得质粒 DNA。下列叙述不正确的是 ()

- A.提取 DNA 时可加入酒精,使溶于酒精的蛋白质等物质溶解
- B.将提取的 DNA 溶于 2 mol/L NaCl 溶液后,可用二苯胺试剂进行鉴定
- C.在提取白色丝状物时,双向搅拌比单向搅拌更有利于获得结构完整的 DNA
- D.溶菌酶能溶解大肠杆菌细胞壁,洗涤剂能瓦解其细胞膜,但对 DNA 没有影响

C 解析:DNA 在冷酒精中溶解度很低,提取 DNA 时加入酒精,是为了让 DNA 析出,蛋白质等物质溶解,A 正确;将提取的 DNA 溶于 2 mol/L NaCl 溶液后,可用二苯胺试剂在沸水浴条件进行鉴定,

DNA 遇二苯胺试剂会呈现蓝色,B 正确;在提取白色丝状物时用玻璃棒轻轻单向搅拌更有利于获得结构完整的 DNA,C 错误;溶菌酶能溶解大肠杆菌细胞壁,洗涤剂能瓦解其细胞膜,但对 DNA 无影响,常用于使其细胞破碎,D 正确。

- 6.在“DNA 的粗提取与鉴定”实验中,下列有关说法正确的是 ()
- A.向洋葱组织中倒入蒸馏水并搅拌可释放核 DNA
- B.利用 DNA 在不同浓度 NaCl 溶液中溶解度的不同可提取 DNA

C.加入预冷的体积分数为 75% 的酒精溶液,静置 2~3 min,溶液中出现的白色丝状物为 DNA

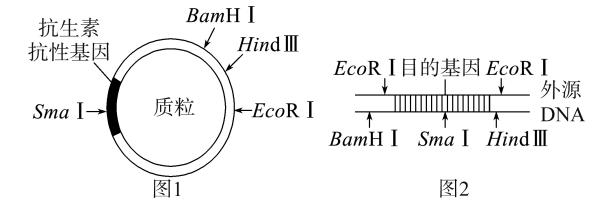
D.DNA 鉴定操作中,只要向溶有 DNA 的 NaCl 溶液中加入 4 mL 的二苯胺试剂,即可出现蓝色

B 解析:向洋葱组织中倒入研磨液,充分研磨可释放核 DNA,加蒸馏水不能使洋葱组织细胞(植物细胞)破裂;加入预冷的体积分数为 95% 的酒精溶液,静置 2~3 min,溶液中出现的白色丝状物为 DNA;在 DNA 鉴定操作中,DNA 遇二苯胺试剂呈蓝色,需在沸水浴条件下完成。

综合性·创新提升

- 7.下表中列出了几种限制酶识别序列及其切割位点,图 1、2 箭头表示相关限制酶切割位点。下列叙述正确的是 ()

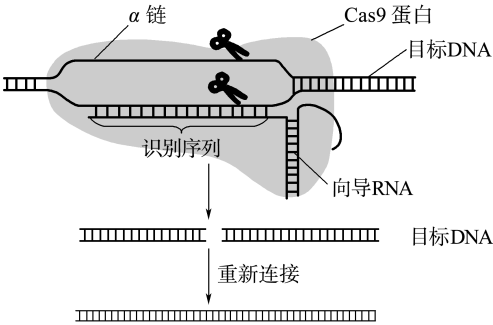
限制酶	识别序列及切割位点
<i>Bam</i> H I	-GGATCC- -CCTAGG-
<i>Hind</i> III	-AAGCTT- -TTCGAA-
<i>Eco</i> R I	-GAATTC- -CTTAAG-
<i>Sma</i> I	-CCCGGG- -GGGCCC-



- A.重组 DNA 技术所用的工具酶是限制酶、DNA 连接酶和载体
- B.只有用同种限制酶切割 DNA 产生的黏性末端才能互补
- C.用图中质粒和外源 DNA 构建重组质粒,可使用 *Sma* I 切割
- D.应该选择限制酶 *Bam* H I 和 *Hind* III 来构建重组质粒
- D 解析:重组 DNA 技术所用的工具酶是限制酶、DNA 连接酶,载体不是酶,A 错误;不同种限制酶切割 DNA 产生的黏性末端也可能互补,B 错误;由于抗生素抗性基因和目的基因内部含有 *Sma* I 的切割位点,故不能使用 *Sma* I 切割目的基因,C 错

误;使用 *Eco* R I 同时处理质粒和外源 DNA,可能会发生质粒或者目的基因的自身环化,故可用 *Bam* H I 和 *Hind* III 两种酶来构建重组质粒,防止自身环化,D 正确。

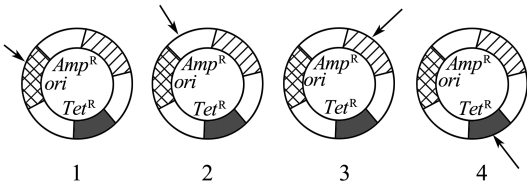
- 8.CRISPR/Cas9 系统基因编辑是一种对靶向基因进行特定 DNA 修饰的技术,其原理是由一个向导 RNA(sgRNA)分子引导 Cas9 蛋白到一个特定的基因位点进行切割。受此机制启发,科学家们通过设计 sgRNA 中碱基的识别序列,即可人为选择 DNA 上的任一目标位点进行切割(如图所示)。CRISPR/Cas9 系统基因编辑技术有时存在编辑对象出错而造成脱靶。下列叙述错误的是 ()



- A.Cas9 蛋白通过破坏目标 DNA 的氢键实现对 DNA 的切割,与解旋酶的作用类似
- B.若脱靶率与 sgRNA 序列的长度有关,则 sgRNA 的序列越短脱靶率越高
- C.利用此技术对目标基因部分 DNA 片段进行切除不可能导致染色体变异
- D.sgRNA 的双链区域的碱基互补配对原则与目标基因的双链区域不同
- A 解析:根据题干信息“由一个向导 RNA (sgRNA)分子引导 Cas9 蛋白到一个特定的基因位点进行切割”,再结合题图可知,具有切割特定位点

功能的分子是 Cas9 蛋白,其类似于限制酶,作用的化学键是磷酸二酯键,A 错误;非基因编辑对象也可能含有与 sgRNA 配对的碱基序列,造成 sgRNA 选错对象与之错误结合而脱靶,所以 sgRNA 的序列长短影响成功率,序列越短,脱靶率越高,B 正确;染色体变异会引起基因的数目或排列顺序改变,而利用此技术对目标基因部分 DNA 片段进行切除属于基因内部碱基对的改变,不改变基因的数目和排列顺序,故不可能导致染色体变异,C 正确;sgRNA 的双链区域的碱基互补配对原则遵循的是 DNA 与 RNA 之间的配对关系,而目标基因的双链区域遵循的是 DNA 之间的配对方式,故两者不同,D 正确。

9.下图是四种不同质粒的示意图,其中 *ori* 为复制必需的序列,*Amp^R* 为氨苄青霉素抗性基因,*Tet^R* 为四环素抗性基因,箭头表示限制酶的切割位点。下列有关叙述正确的是 ()

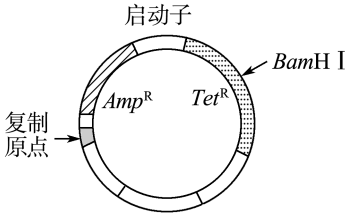


- A.基因 *Amp^R* 和 *Tet^R* 是一对等位基因,常作为基因工程中的标记基因
- B.质粒是指细菌细胞中能自我复制的小型环状 DNA 和动、植物病毒的 DNA
- C.限制酶的作用部位是 DNA 分子上两个特定的核苷酸之间的磷酸二酯键
- D.用质粒 4 将目的基因导入大肠杆菌,该菌能在含四环素的培养基上生长

C 解析:基因 *Amp^R* 和 *Tet^R* 在同一个 DNA 分子上,不是等位基因,A 错误;质粒是指细菌等细胞中能自我复制的小型环状 DNA,动、植物病毒的 DNA 不是质粒,B 错误;限制酶的作用部位是 DNA 分子上两个特定的核苷酸之间的磷酸二酯键,C 正确;质粒 4 被酶切后,氨苄青霉素抗性基因完好,四环素抗性基因被破坏,因此用质粒 4 将目的基因导入大肠杆菌,该菌不能在含四环素的培养基上生长,D 错误。

10.某质粒载体如下图所示,外源 DNA 插入 *Amp^R* 或 *Tet^R* 中会导致相应的基因失活(*Amp^R* 表示氨苄青霉素抗性基因,*Tet^R* 表示四环素抗性基因)。有人将此质粒载体用 *Bam*H I 酶切后,与用 *Bam*H I 酶切获得的目的基因混合,加入 DNA 连接酶进行连接反应,用得到的混合物直接转化大肠杆菌,

结果大肠杆菌有的未被转化,有的被转化。被转化的大肠杆菌有三种,分别是含有环状目的基因、含有质粒载体、含有插入了目的基因的重组质粒的大肠杆菌。回答下列问题:



(1)质粒载体作为基因工程的工具,应具备的基本条件:_____ (答出两点即可)。

(2)如果用含有氨苄青霉素的培养基进行筛选,在上述四种大肠杆菌细胞中,未被转化的和仅含有环状目的基因的细胞是不能区分的,其原因是_____ ;并且 _____ 和 _____ 的细胞也是不能区分的,其原因是 _____ 。

在上述筛选的基础上,若要筛选含有插入了目的基因的重组质粒的大肠杆菌的单菌落,还需使用含有 _____ 的固体培养基。

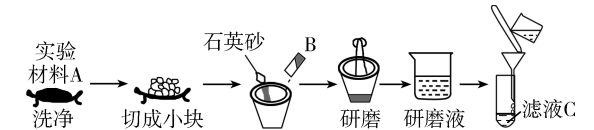
(3)基因工程中,某些噬菌体经改造后可以作为载体,其 DNA 复制所需的原料来自 _____ 。

解析:(1)质粒载体作为基因工程的基本工具之一,应具备的基本条件:能够自我复制、具有标记基因、具有一个至多个限制酶切割位点等。(2)据题意可知,目的基因插入后,导致四环素抗性基因(*Tet^R*)失活,而氨苄青霉素抗性基因(*Amp^R*)仍能行使正常功能。如果用含有氨苄青霉素的培养基进行筛选,题述四种大肠杆菌细胞中,未被转化的和仅含有环状目的基因的细胞因不含氨苄青霉素抗性基因,在该培养基上都不能生长,所以是不能区分的。含有质粒载体和含有插入了目的基因的重组质粒(或含有重组质粒)的细胞,因二者都含氨苄青霉素抗性基因,在该培养基上都能生长,因此也是不能区分的。在上述筛选的基础上,若要筛选含有插入了目的基因的重组质粒的大肠杆菌的单菌落,还需使用含有四环素的固体培养基,因目的基因插入后,导致四环素抗性基因(*Tet^R*)失活,含有插入了目的基因的重组质粒的大肠杆菌在该培养基中不能生长,而含有质粒载体的能正常生长。(3)噬菌体是专门寄生在细菌细胞内的病毒,在噬菌体的 DNA 指导下,利用细菌细胞中的物质来合成噬菌体的组成成分,据此可知,基因工程

中,某些噬菌体经改造后可以作为载体,其 DNA 复制所需的原料来自受体细胞(或宿主细胞)。

答案:(1)能自我复制、具有标记基因等 (2)二者均不含氨苄青霉素抗性基因,在该培养基上均不能生长 含有质粒载体 含有插入了目的基因的重组质粒(或含有重组质粒) 二者均含有氨苄青霉素抗性基因,在该培养基上均能生长 四环素 (3)受体细胞(或宿主细胞)

11.下图表示“DNA 的粗提取与鉴定”实验的相关操作。请据图回答下列问题:



- (1)图中实验材料 A 可以是_____等。
- (2)通过所示步骤得到滤液 C 后,将滤液 C 放置在 4℃ 冰箱中几分钟后,取其上清液,再向上清液中加入体积相等的、预冷的酒精溶液的的目的是_____。
- (3)在“DNA 的粗提取与鉴定”实验中,将含有一定杂质的 DNA 丝状物分别放入体积为 2 mL 的 3

种溶液中,经搅拌后过滤,获得下表所示的 3 种滤液,含 DNA 最少的是滤液_____。

1	研磨液	搅拌研磨后过滤	滤液 D
2	2 mol/L 的 NaCl 溶液	搅拌后过滤	滤液 E
3	预冷的体积分数为 95% 的酒精	搅拌后过滤	滤液 F

(4)DNA 鉴定的原理是_____。

解析:(1)原则上只需要含有 DNA 的生物都可以作为实验材料,故可以选用洋葱、菜花等植物材料提取 DNA。(2)向上清液中加入预冷的酒精溶液可使 DNA 析出,除去溶于酒精的蛋白质。(3)DNA 不溶于冷酒精,滤液 F 中 DNA 含量最少。(4)鉴定 DNA 的原理是在沸水浴的条件下, DNA 遇二苯胺试剂呈现蓝色。

答案:(1)洋葱(或菜花) (2)使 DNA 析出 (3)F (4)在沸水浴条件下, DNA 遇二苯胺试剂呈现蓝色

第 2 节 基因工程的基本操作程序

学习任务目标

- 1.运用结构与功能观等观念理解 PCR 反应过程中的条件设置。
- 2.采用模型与建模、归纳与概括的方法,说明基因工程的基本操作程序。
- 3.针对满足人类生产和生活中的某一需求,尝试提出基因工程方案构想,完成初步设计。

问题式预习

一、目的基因的筛选与获取

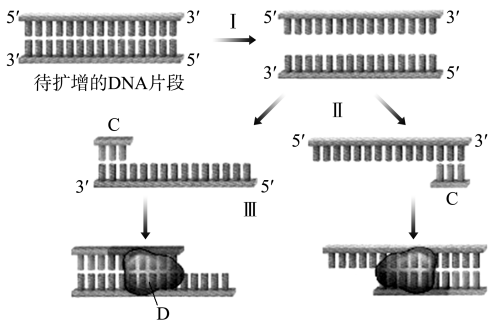
- 1.目的基因:在基因工程的设计和操作中,用于改变受体细胞性状或获得预期表达产物等的基因。
- 2.筛选合适的目的基因的方法:从相关的已知结构和功能清晰的基因中进行筛选。
- 3.利用 PCR 获取和扩增目的基因
 - (1)原理:DNA 半保留复制。
 - (2)DNA 复制所需的基本条件

参与的组分	在 DNA 复制中的作用
解旋酶(体外用高温代替)	打开 DNA 双链
DNA 母链	提供 DNA 复制的模板
4 种脱氧核苷酸	合成 DNA 子链的原料

续表

参与的组分	在 DNA 复制中的作用
DNA 聚合酶	催化合成 DNA 子链
引物	使 DNA 聚合酶能够从引物的 3' 端开始连接脱氧核苷酸

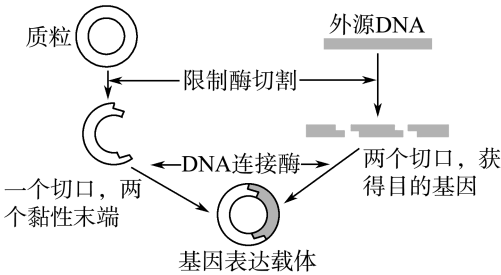
(3)过程



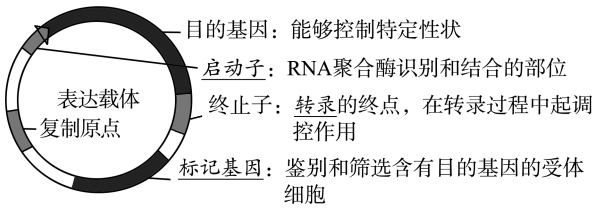
- ①过程Ⅰ为变性，该阶段的温度超过 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，目的是使双链 DNA 解聚为单链。
- ②过程Ⅱ为复性，该阶段的温度为 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右，两条单链 DNA 的 3' 端与 [C] 引物 结合，遵循碱基互补配对原则。
- ③过程Ⅲ为延伸，该阶段的温度为 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右，该过程需要在 [D] 耐高温的 DNA 聚合酶 的催化下，利用 4 种脱氧核苷酸 为原料，根据碱基互补配对原则子链从 5' 端（填“3' 端”或“5' 端”）到 3' 端（填“3' 端”或“5' 端”）延伸合成新的子链 DNA。
- ④仪器：PCR 扩增仪。
- ⑤产物鉴定方法：琼脂糖凝胶电泳。

二、基因表达载体的构建

- 1.目的：使目的基因在受体细胞中稳定存在，并且遗传给下一代；并使目的基因能够表达和发挥作用。
- 2.基因表达载体的构建过程：一般用同种或能产生相同末端的限制酶分别切割载体和含有目的基因的 DNA 片段，再用 DNA 连接酶 把两者连接，形成一个重组 DNA 分子（如下图所示）。



3.基因表达载体的组成及作用



三、将目的基因导入受体细胞

- 1.转化：目的基因进入受体细胞内，并且在受体细胞内维持稳定和表达的过程。
- 2.转化方法
 - (1)导入植物细胞
 - ①花粉管通道法
 - Ⅰ.用微量注射器将含目的基因的 DNA 溶液直接注入子房中。
 - Ⅱ.在植物受粉后的一定时间内，剪去柱头，将 DNA

- 溶液滴加在花柱切面上，使目的基因借助花粉管通道进入胚囊。
 - ②农杆菌转化法
 - Ⅰ.农杆菌的特点：农杆菌能在自然条件下侵染双子叶植物和裸子植物；农杆菌的 Ti 质粒上的 T-DNA 能够整合到所侵染细胞的染色体 DNA 上。
 - Ⅱ.转化方法：将目的基因插入农杆菌 Ti 质粒的 T-DNA 中，让农杆菌侵染植物细胞。
 - (2)导入动物细胞
 - ①常用方法：显微注射技术。
 - ②常用受体细胞：受精卵。
 - (3)导入微生物细胞
 - ①方法：用 Ca^{2+} 处理细胞，使细胞处于一种能吸收周围环境中 DNA 分子的生理状态。
 - ②受体细胞：原核生物（使用最广泛的是大肠杆菌）。
 - ③原核生物的特点：繁殖快、多为单细胞、遗传物质相对较少等。
- 四、目的基因的检测与鉴定
- 1.分子水平的检测（连线）

检测目的	检测方法
①检测转基因生物的 DNA 上是否插入了目的基因	a. PCR 等技术
②检测目的基因是否转录出了 mRNA	
③检测目的基因是否翻译成蛋白质	b. 抗原—抗体杂交
 - 2.个体生物学水平的鉴定：包括抗虫、抗病的接种实验，以确定是否有抗性及其抗性程度。
- 五、DNA 片段的扩增及电泳鉴定
- 1.实验原理
 - (1)PCR 利用了 DNA 的热变性原理，通过调节温度来控制 DNA 双链的解聚与结合。
 - (2)在凝胶中 DNA 分子的迁移速率与凝胶的浓度、DNA 分子的大小和构象等有关。
 - (3)电泳：在一定的 pH 下，DNA 分子中具有的可解离基团可以带上正电荷或负电荷。在电场的作用下，这些带电分子向着与它所带电荷相反的电极移动。
 - (4)PCR 产物的鉴定方法：琼脂糖凝胶电泳。
 - 2.目的要求
 - (1)了解 PCR 和电泳鉴定的基本原理。

(2)尝试进行 PCR 的基本操作并用电泳鉴定 PCR 的产物。

3.方法步骤

(1)DNA 片段的扩增

移液

离心

反应

用微量移液器按照配方或PCR试剂盒中的说明书,在微量离心管中依次加入各组分

将微量离心管放入离心机中,离心约10 s,目的是使反应液集中在管的底部

将装有反应液的微量离心管放入已设置好循环程序的PCR仪中进行反应

循环程序	变性	复性	延伸
预变性	94 ℃,5 min	/	/
30次	94 ℃,30 s	94 ℃,1 min	72 ℃,1 min
最后1次	55 ℃,30 s	55 ℃,30 s	72 ℃,10 min

(2)DNA 片段的电泳鉴定过程

步骤	具体操作
配制琼脂糖溶液	根据待分离 DNA 片段的大小,用电泳缓冲液配制质量分数为 0.8%~1.2%的琼脂糖溶液。在沸水浴或微波炉内加热至琼脂糖熔化。稍冷却后加入核酸染料混匀
制作加样孔	将温热的琼脂糖溶液迅速倒入模具,并插入合适大小的梳子,形成加样孔
加入凝胶	待凝胶溶液完全凝固后,小心拔出梳子,取出凝胶放入电泳槽内
加电泳缓冲液	将电泳缓冲液加入电泳槽中,电泳缓冲液没过凝胶 1 mm 为宜
加混合液	将扩增得到的 PCR 产物与凝胶载样缓冲液(内含指示剂)混合,再用微量移液器将混合液缓慢注入凝胶的加样孔内。留一个加样孔加入指示分子大小的标准参照物
接通电源电泳	根据电泳槽阳极至阴极之间的距离来设定电压,一般为 1~5 V/cm。待指示剂前沿迁移接近凝胶边缘时,停止电泳
观察结果	取出凝胶置于紫外灯下观察和照相

教材开发

1.[教材 P77“相关信息”]Bt 抗虫蛋白能造成害虫死亡,为何对人畜无害?

提示:Bt 抗虫蛋白只有在某类昆虫肠道的碱性环境中才能表现出毒性,而人和牲畜的胃液呈酸性,肠道细胞也没有特异性受体。

2.[教材 P77“相关信息”]为什么 PCR 反应缓冲液中添加 Mg^{2+} ? 引物是什么?

提示:因为真核细胞和细菌的 DNA 聚合酶都需要 Mg^{2+} 激活。引物是一小段能与 DNA 母链的一段碱基序列互补配对的短单链核酸。

3.[教材 P78 图 3-5]PCR 技术为什么需要引物? 利用 PCR 技术扩增目的基因时需要两种引物,原因是什么?

提示:DNA 聚合酶不能从头开始合成 DNA,只能从引物的 3' 端开始连接脱氧核苷酸,合成 DNA。目的基因的两条反向平行的核苷酸链都可作为模板,其碱基序列不同,所以需要两种引物。

概念辨析

- 1.即使目的基因的核苷酸序列是完全未知的,也可用 PCR 技术得到大量目的基因。(×)
- 2.一个目的基因(双链 DNA 片段)在 PCR 仪中经 n 次循环可得到 $(2^n - 1)$ 个目的基因。(×)
- 3.切割含抗虫基因的 DNA 片段和载体必须用同一种限制酶。(×)
- 4.用 Ca^{2+} 处理土壤农杆菌是重组 Ti 质粒导入土壤农杆菌过程中的重要步骤。(√)
- 5.可用较高浓度的盐水浇灌来鉴定棉花植株的耐盐性。(√)

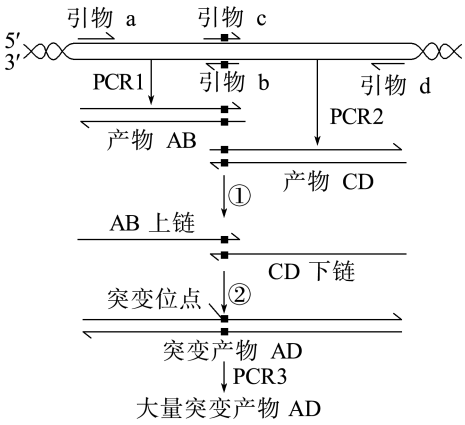
任务型课堂

任务一

目的基因的筛选与获取

1.利用重叠延伸 PCR 技术进行定点突变可以实现对纤维素酶基因的合理性改造,其过程如下图所示。

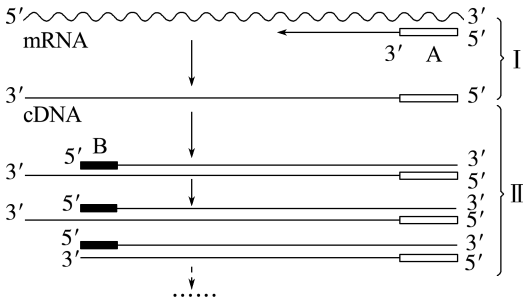
下列分析错误的是 ()



- A.PCR1 过程中的产物 AB 是依赖引物 a 和引物 b 扩增的结果
- B.引物 c 和引物 b 上均含有与模板链不能互补的碱基
- C.①过程需要先加热至 90℃ 以上后再冷却至 50℃ 左右
- D.②过程需要利用引物 a 和引物 d 获得突变产物 AD

D 解析:PCR 技术中 DNA 单链延伸的方向是引物的 5' 端向 3' 端,据此分析可知,PCR1 过程中的产物 AB 是依赖引物 a 和引物 b 扩增的结果,A 正确;根据突变位点的产生可推知,引物 c 和引物 b 上均含有与模板链不能互补的碱基,B 正确;①过程是双螺旋解开,即氢键断裂,可通过先加热至 90℃ 以上完成,而后再冷却至 50℃ 左右使氢键形成,为子链的延伸做准备,C 正确;②过程为子链延伸的过程,该过程需要利用 AB 上链和 CD 下链之间的互补配对实现子链的延伸过程,D 错误。

2.RT-PCR 是将 RNA 逆转录(RT)和 cDNA 的 PCR 相结合的技术,可利用此技术获取目的基因,具体过程如下图所示。以下说法错误的是 ()



- A.设计扩增目的基因的引物时需已知一段目的基因序列
- B.G/C 含量高的引物在与模板链结合时,需要更高的温度
- C.过程 I 需要加入缓冲液、原料、耐高温的 DNA 聚合酶和引物 A 等
- D.过程 II 拟对单链 cDNA 进行 n 次循环的扩增,理论上需要 2^{n-1} 个引物 B
- C 解析:**引物是一段能与目的基因互补配对的脱氧核苷酸序列,设计扩增目的基因的引物时需已知一段目的基因序列,A 正确;G/C 之间有三个氢键,G/C 含量高时稳定性高,所以需要更高的温度,B 正确;过程 I 是逆转录过程,所以需要加入缓冲液、原料、逆转录酶和引物 A 等,C 错误;过程 II 拟对单链 cDNA 进行 n 次循环的扩增,根据 DNA 的半保留复制可知理论上需要 2^{n-1} 个引物 B,D 正确。

任务总结

PCR 技术与体内 DNA 复制的比较

项目		PCR 技术	体内 DNA 复制
区别	解旋方式	DNA 在高温作用下变性解旋	解旋酶催化
	场所	细胞外(在 PCR 扩增仪内)	细胞内(主要在细胞核内)
	酶	耐高温的 DNA 聚合酶	解旋酶、DNA 聚合酶等
	温度条件	需控制温度,在较高温度下进行	细胞内温和条件
	合成的对象	DNA 片段或基因	DNA 分子
联系		均需要模板;需要 4 种脱氧核糖核苷酸作为原料;子链延伸方向均为 5' 端到 3' 端	

任务二

基因表达载体的构建

[探究活动]

探究 1.通过 PCR 技术获取足够量的目的基因后,能直接导入受体细胞吗?为什么?

提示:不能。若将目的基因直接导入受体细胞,目的基因可能会被受体细胞分解或无法进行复制,不

能稳定遗传和表达。

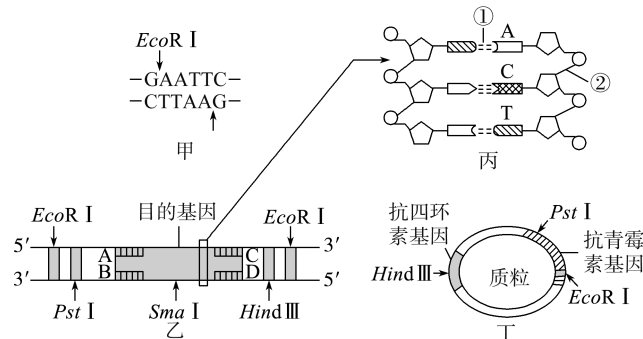
探究 2.基因表达载体的基本组成有哪几部分?
提示:目的基因、启动子、终止子、标记基因等。

探究 3.构建基因表达载体时,与单酶切相比,双酶切有哪些优点?

提示:①双酶切法可以保证插入外源片段的方向正确;②双酶切法可以防止载体、目的基因的自身环化,提高重组率。

[评价活动]

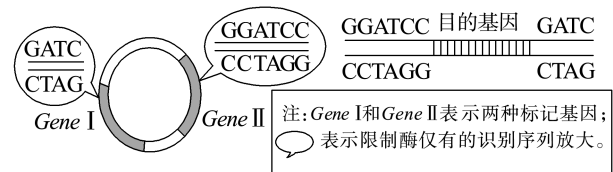
1.基因表达载体的构建是基因工程的核心。图甲表示限制酶 *EcoR* I 的识别序列;图乙表示目的基因及限制酶切点,A、B、C、D为四种引物;图丙表示目的基因上的 DNA 片段;图丁表示质粒。下列相关叙述错误的是 ()



- A.选引物 A、D 进行该目的基因的扩增
- B.不能同时用 *Pst* I 和 *Hind* III 切割目的基因和质粒
- C.限制酶的作用部位是图丙中的②
- D.从图丁中可以看出,质粒是一种环状的 DNA 分子

A 解析:由图乙可知,DNA 复制只能从 5' 端到 3' 端,因此构建基因表达载体前利用 PCR 技术扩增目的基因时,A、B、C、D 四种引物中应选取 B 和 C 作为引物,A 错误;不能同时用 *Pst* I 和 *Hind* III 切割质粒,否则会导致质粒上无抗性基因,无法检测目的基因是否插入,B 正确;限制酶的作用部位是图丙中的②磷酸二酯键,C 正确;从图丁中可以看出,质粒是一种环状的 DNA 分子,D 正确。

2.我国科学家成功地将与植物花青素代谢相关的基因 (*An*) 导入矮牵牛中,使其花朵呈现出自然界没有的颜色变异,大大提高了其观赏价值。下图为 *An* 基因两端的序列和质粒中相关的序列,已知限制酶 I 的识别序列和切点是-G↓GATCC-,限制酶 II 的识别序列和切点是-↓GATC-。下列相关叙述错误的是 ()



- A.构建基因表达载体时需要使用限制酶 I 切割质粒
- B.新品种矮牵牛所呈现的颜色变异来源于基因重组
- C.*An* 基因在矮牵牛植株的所有细胞内都表达
- D.*Gene* I、II 的上游和下游需具有启动子和终止子

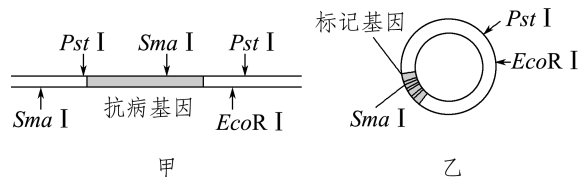
C 解析:由题干信息可知,限制酶 I 的识别序列和切点是-G↓GATCC-,限制酶 II 的识别序列和切点是-↓GATC-,限制酶 II 能识别并切割限制酶 I 的识别序列,使用限制酶 II 能将质粒切割成两段,所以切割质粒时,只能用限制酶 I,A 正确;由题干信息可知,我国科学家将与植物花青素代谢相关的基因 (*An*) 导入矮牵牛中,属于转基因技术,因此新品种矮牵牛所呈现的颜色变异来源于基因重组,B 正确;*An* 基因在矮牵牛植株的特定细胞内才表达,C 错误;质粒作为运载体,需存在启动子和终止子,D 正确。

任务总结

(1)区分启动子和终止子与起始密码子和终止密码子

启动子和终止子位于 DNA 上,是基因表达载体必需的组成部分;而起始密码子和终止密码子位于 mRNA 上,决定翻译的开始和结束。

(2)图解限制酶的选择原则



- ①不破坏目的基因原则:如图甲中可选择 *Pst* I,而不选择 *Sma* I。
- ②保留标记基因、启动子、终止子、复制原点原则:所选择的限制酶尽量不要破坏上述结构,如图乙中不能选择 *Sma* I。
- ③确保出现相同黏性末端原则:通常选择与切割目的基因相同的限制酶切割质粒,如图中 *Pst* I;为避免目的基因和质粒自身环化和随意连接,也可使用不同的限制酶切割目的基因和质粒,如图甲中也可选择 *Pst* I 和 *EcoR* I 两种限制酶。

任务三 将目的基因导入受体细胞及目的基因的检测与鉴定

[探究活动]

目的基因导入受体细胞后，是否可以稳定维持和表达其遗传特性，只有通过检测和鉴定才能知道。结合教材内容探究以下问题：

探究 1.用农杆菌转化法将目的基因导入植物细胞时，为什么要将目的基因插入农杆菌 Ti 质粒的 T-DNA 片段中？

提示：Ti 质粒的 T-DNA 片段可以整合到受体细胞的染色体上。

探究 2.将目的基因导入动物细胞时，一般选择受精卵作为受体细胞，为什么？

提示：受精卵的全能性较高。

探究 3.将目的基因成功导入受体细胞后应如何检测目的基因是否转录？

提示：用荧光或放射性标记的目的基因单链作为探针，与受体细胞中的 RNA 进行杂交。

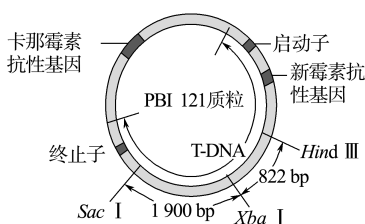
[评价活动]

1.受体细胞不同，将目的基因导入受体细胞的方法也不同，下列受体细胞与导入方法匹配错误的一项是（ ）

- A.棉花细胞——花粉管通道法
- B.大肠杆菌——Ca²⁺ 处理法
- C.羊受精卵——农杆菌转化法
- D.大豆细胞——农杆菌转化法

C 解析：花粉管通道法是我国科学家独创的一种十分简便经济的方法，我国的转基因抗虫棉就是用此种方法获得的，A 正确；Ca²⁺ 处理法能使大肠杆菌细胞的生理状态发生改变，使之处于易于吸收周围环境中 DNA 分子的生理状态，所以将目的基因导入微生物细胞，常采用 Ca²⁺ 处理法，B 正确；农杆菌转化法的受体细胞一般是双子叶植物和裸子植物，将目的基因导入羊受精卵常用显微注射法，C 错误；将目的基因导入大豆（双子叶植物）细胞可采用农杆菌转化法，D 正确。

2.植株在干旱、低温等逆境中，脱水素（具有一定抗旱胁迫和耐冷冻能力的蛋白质）被诱导表达，脱水素基因编码区共含 678 个碱基对。科学家利用如图所示 PBI 121 质粒，以及 Xba I 和 Sac I 两种限制酶，运用农杆菌转化法，将脱水素基因导入草莓试管苗叶片细胞，再经植物组织培养获得脱水素基因过量表达的转基因草莓植株。下列叙述错误的是（ ）



A.重组质粒利用 Sac I 和 HindⅢ 切割后能得到 1 500 bp 片段，则表明目的基因正确插入质粒

B.组织培养过程中，培养基需添加卡那霉素以便筛选转基因植株

C.可以利用 PCR 技术鉴定目的基因是否整合到草莓染色体的 DNA 上

D.转基因草莓植株批量生产前需进行抗干旱、耐冷冻实验

B 解析：由于重组质粒上移除 1 900 bp 而补充了脱水素基因的 678 个碱基对，加上未移除的 822 bp，所以用 Sac I 和 HindⅢ 切割重组质粒后，可得到 822+678=1 500 bp 的新片段，据此可确定目的基因正确插入了质粒，A 正确；题中提供的限制酶切割位点都不在卡那霉素抗性基因之中，所以无论是否插入了目的基因，卡那霉素抗性基因都可以表达，添加卡那霉素起不到筛选转基因植株的作用，B 错误；PCR 技术是进行 DNA 扩增的技术，需要一段引物来进行扩增，依照脱水素基因的核酸序列设计一段引物，若能进行扩增，说明转入目的基因成功，C 正确；植株批量生产前，需要在个体水平上进行抗干旱、耐冷冻实验，以确保转基因植物中的脱水素基因正常表达出了蛋白质并发挥了作用，使植物表现为抗干旱、耐冷冻，D 正确。

任务总结

将目的基因导入受体细胞的常用方法

受体细胞种类	植物细胞	动物细胞	微生物细胞
常用方法	农杆菌转化法	显微注射法	Ca ²⁺ 处理法
受体细胞	一般为体细胞	受精卵	原核细胞
转化过程	目的基因插入农杆菌 Ti 质粒的 T-DNA 上→导入植物细胞→整合到受体细胞的染色体 DNA 上→表达	将含目的基因的表达载体提纯→取卵（受精卵）→显微注射→受精卵发育→获得具有新性状的动物	用 Ca ²⁺ 处理细胞→表达载体与处理后的细胞混合→细胞吸收 DNA 分子→重组的基因表达载体导入

任务四

DNA 片段的扩增及电泳鉴定

[探究活动]

利用 PCR 可以在体外进行 DNA 片段的扩增,扩增产物可通过电泳进行鉴定,思考并回答下列两个问题:

探究 1.待所有组分都加入后,离心管盖子盖严的目的是什么?

提示:离心管盖子盖严的目的是防止实验中盖子脱落或液体外溢。

探究 2.为什么要离心?在离心前一般要用手轻轻弹击离心管侧壁,这样做的目的是什么?

提示:离心的目的是使反应液集中在离心管底部,提高反应效率。离心前一般要用手轻轻弹击离心管侧壁,这样做的目的是使反应液混合均匀。

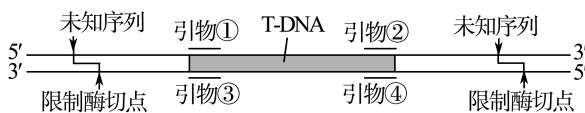
[评价活动]

1.关于“DNA 片段的扩增及电泳鉴定”实验,下列叙述正确的是 ()

- A.PCR 仪实质上就是一台能自动调控温度的仪器,但在使用时需根据扩增的 DNA 片段以及引物的情况人工设定合适的温度
- B.PCR 反应体系中的 10 倍浓缩的扩增缓冲液中含有 Mg^{2+} 、4 种脱氧核糖核苷酸等成分
- C.为避免外源 DNA 等因素的污染,PCR 实验中使用的微量离心管、枪头、蒸馏水和移液器等在使用前都必须进行高压灭菌处理
- D.电泳时,电泳缓冲液不能没过凝胶,防止凝胶加样孔中的电泳样液流出

A 解析:PCR 仪实质上就是一台能自动调控温度的仪器,但在使用时需根据扩增的 DNA 片段以及引物的情况人工设定合适的温度,用于完成 DNA 的扩增,A 正确;PCR 反应体系的主要成分包含:扩增缓冲液(含 Mg^{2+})、水、4 种脱氧核糖核苷酸、模板 DNA、耐高温的 DNA 聚合酶和引物,B 错误;为避免外源 DNA 等因素的污染,PCR 实验中使用的微量离心管、枪头、蒸馏水等在使用前都必须进行高压灭菌处理,移液器不需要高压灭菌处理,C 错误;电泳时,电泳缓冲液以没过凝胶 1 mm 为宜,D 错误。

2.农杆菌 Ti 质粒上的 T-DNA 可以转移并随机插入被侵染植物的染色体 DNA 中。研究者将下图中被侵染植物的 DNA 片段连接成环,并以此环为模板进行 PCR,扩增出 T-DNA 插入位置两侧的未知序列,以此可确定 T-DNA 插入的具体位置。下列相关叙述错误的是 ()



A.PCR 技术依据的原理是 DNA 半保留复制

B.选择图中的引物②③组合可扩增出两侧的未知序列

C.若扩增 n 次,则共消耗 $2^{n+1}-2$ 个引物

D.常采用琼脂糖凝胶电泳来鉴定 PCR 的产物

B 解析:PCR 扩增技术依据的原理是 DNA 半保留复制,A 正确;DNA 的两条链反向平行,子链从引物的 3' 端开始延伸,利用图中的引物①④组合可扩增出两侧的未知序列,B 错误;若扩增 n 次,可得到 2^n 个 DNA 分子,有 2^{n+1} 条链,除去初始的 DNA 两条模板链,则共消耗 $2^{n+1}-2$ 个引物,C 正确;常采用琼脂糖凝胶电泳来鉴定 PCR 的产物,D 正确。

3.科学家将海鱼的抗冻蛋白基因利用 PCR 方法扩增,下图 1 是扩增的目的基因的示意图。为了寻找合适的载体,科学家对某载体用 *EcoR* I 和 *Sma* I 两种限制酶进行酶切后,再利用琼脂糖凝胶电泳得到图 2 所示图谱(其中 1 号泳道是标准 DNA 样品,2 号、3 号、4 号分别是 *EcoR* I 单独处理、*Sma* I 单独处理、两种酶共同处理后的电泳结果)。下列说法正确的是 ()

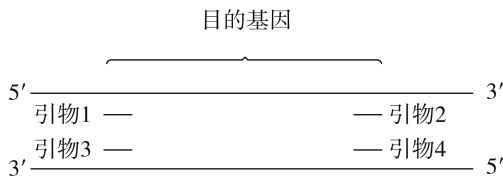


图1

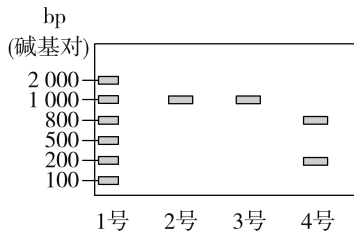


图2

A.应选用引物 1 和引物 4 对目的基因进行扩增

B.扩增 5 次后有 32 个等长的目的基因片段

C.DNA 分子经过染色可在自然光下观察得到图 2 所示图谱

D.由图 2 可知该载体 DNA 分子中两种限制酶的酶切位点各有一个

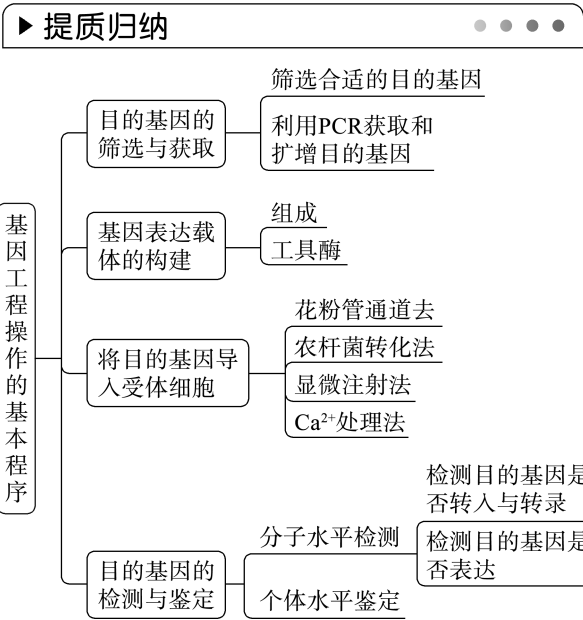
D 解析:DNA 聚合酶只能从引物的 3' 端开始延伸 DNA 链,因此应选用引物 2 和引物 3 对目的基因进行扩增,A 错误;DNA 分子在 PCR 仪中经过 5

次循环后会产生 $2^5=32$ 个 DNA 分子,其中只有 2 个 DNA 分子含有最初的模板链,另仅含有第一次复制产生的单链参与形成的 DNA 分子有 8 个,因此经过 5 次复制产生等长的目的基因片段有 $32-10=22$ 个,B 错误;琼脂糖凝胶电泳染色剂在自然光下很难看到,除非条带很亮,一般在紫外灯下观察,C 错误;当仅用一种限制酶切割载体时,图中的 2 号、3 号仅产生一种长度的 DNA 片段,说明该 DNA 分子中两种限制酶的酶切位点各有一个,D 正确。

任务总结

- DNA 片段的扩增及电泳鉴定的注意事项
- (1)为避免外源 DNA 等因素的污染,PCR 实验中使用的微量离心管、枪头、蒸馏水等在使用前必须进行高压灭菌处理。
- (2)缓冲液和酶应分装成小份,并在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存。使用前,将所需试剂从冰箱拿出,放在冰块上缓慢融化。

- (3)在向微量离心管中添加反应组分时,每吸取一种试剂后,移液器上的枪头都必须更换。
- (4)在进行操作时,一定戴好一次性手套。



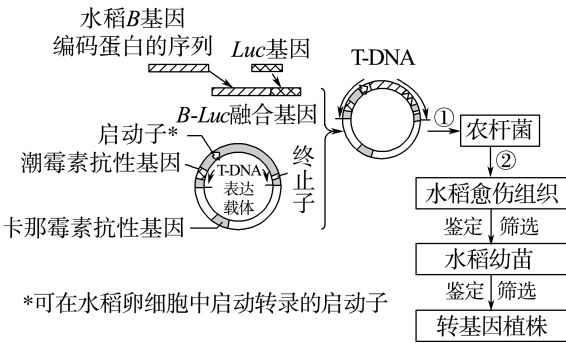
课后素养评价(十三)

基础性·能力运用

知识点 基因工程的基本操作程序

- 1.生物化学、分子生物学、微生物学等学科的理论基础和相关技术的发展催生了基因工程,下列有关基因工程的基本操作程序的叙述错误的是 ()
- A.受体植物受粉后将 DNA 溶液滴加到花柱切面,可使目的基因沿花粉管通道进入囊胚
- B.随着转化方法的突破,用农杆菌侵染水稻、玉米等单子叶植物也取得了成功
- C.用 PCR 扩增目的基因时,反应缓冲液中一般要添加 Mg^{2+} 来激活耐高温的 DNA 聚合酶
- D.当载体中诱导型启动子的诱导物存在时,可以激活或抑制目的基因的表达
- A 解析:植物受粉一段时间后剪去柱头,将含有目的基因的 DNA 溶液滴加在花柱切面上,使目的基因借助花粉管通道进入胚囊,而不是囊胚,A 错误;随着转化方法的突破,用农杆菌侵染水稻、玉米等单子叶植物也取得了成功,B 正确;用 PCR 扩增目的基因时,反应缓冲液中一般要添加 Mg^{2+} 来激活耐高温的 DNA 聚合酶,C 正确;启动子是 RNA 聚合酶识别和结合的位点,能启动转录过程,因此当载体中诱导型启动子的诱导物存在时,可以激活或抑制目的基因的表达,D 正确。

- 2.已知 B 基因存在于水稻基因组中,其仅在体细胞和精子中正常表达,在卵细胞中不进行转录。研究人员将 B 基因编码蛋白的序列与 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导入水稻愈伤组织中,示意图如下。下列说法正确的是 ()



- A.B-Luc 融合基因的形成需要 DNA 连接酶的催化
- B.构建 B 基因编码蛋白的 cDNA 文库,只能从水稻体细胞中提取全部 RNA 进行逆转录操作
- C.B 基因在水稻卵细胞中不转录,据图推测其可能的原因是卵细胞中该基因的终止子无法启动转录

D.将随机断裂的 *B* 基因片段制备成探针进行 DNA 分子杂交实验可对获得的转基因植株进行鉴定筛选

A 解析:将两个基因连接起来需要使用 DNA 连接酶,A 正确;构建 *B* 基因编码蛋白的 cDNA 文库,可以从水稻体细胞或精子中提取全部 RNA 进行逆转录操作,B 错误;*B* 基因在水稻卵细胞中不转录,据图推测其可能的原因是卵细胞中该基因的启动子无法启动转录,C 错误;随机断裂的 *B* 基因片段不具有特异性,用其制备的探针不能用于鉴定是否含有目的基因,D 错误。

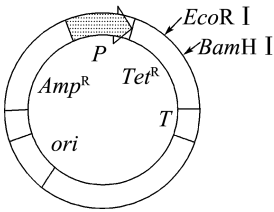
3.对禽流感的确诊,先用 PCR 技术将标本基因扩增,然后利用基因探针,测待测标本与探针核酸的碱基异同。下图中 P 表示禽流感病毒探针基因在凝胶中的电泳标记位置,M、N、Q、W 是四份送检样本在测定后的电泳标记位置。最有可能确诊为禽流感的样本是 ()

P	M	N	Q	W
—	—	—	—	
—	—		—	—
—		—	—	—
—	—		—	—
	—	—		—
	—	—		—

A.M B.N C.Q D.W

C 解析:相同的 DNA 应具有相同的电泳图谱,禽流感病毒探针基因在凝胶中的电泳标记位置应与禽流感患者的最相似,因此选 C。

4.下图为某基因工程中利用的质粒简图,小箭头所指分别为限制性内切核酸酶 *EcoR* I、*Bam* H I 的切割位点,*Amp*^R 为氨苄青霉素(抗生素)抗性基因,*Tet*^R 为四环素(抗生素)抗性基因,*P* 为启动子,*T* 为终止子,*ori* 为复制原点。已知目的基因的两端分别有包括 *EcoR* I、*Bam* H I 在内的多种酶的切割位点。据图回答下列问题:



(1)在基因工程中常用的工具有三种:一是用于切取 DNA 分子的_____,二是将目的基因与载体拼接的_____,三是作为载体的质粒。

(2)将含有目的基因的 DNA 与经特定的酶切后的载体(质粒)进行拼接形成重组 DNA,理论上讲,重组 DNA 可能有“_____”“_____”“_____”三种,其中有效的(所需要的)重组 DNA 是“_____”。因此还需要对这些拼接产物进行分离提纯。

(3)利用图示的质粒拼接形成的三种拼接产物(重组 DNA)与无任何抗药性的原核宿主细胞接种到含四环素的培养基中,能生长的原核宿主细胞所含有的拼接产物(重组 DNA)是“_____”。

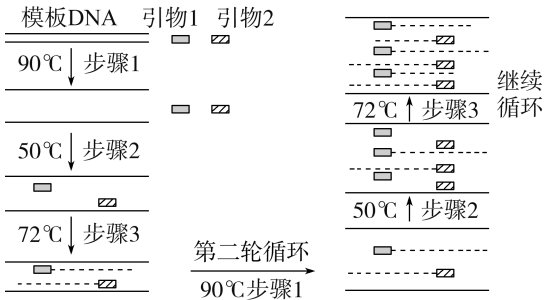
解析:(1)在基因工程中常用的工具有三种,一是用于切取 DNA 分子的限制酶(限制性内切核酸酶);二是将目的基因与载体连接的 DNA 连接酶;三是作为载体的质粒。(2)用同一种限制酶将含有目的基因的 DNA 和质粒分别切开,产生的黏性末端相同,进行拼接形成的重组 DNA,理论上讲,可能有“目的基因—目的基因”“目的基因—载体”和“载体—载体”三种。其中人们所需要的重组 DNA 是“目的基因—载体”。(3)由题图可以看出,两种限制酶的切割位点都在四环素抗性基因中,两种限制酶都能破坏四环素抗性基因,因此用该质粒拼接形成的三种拼接产物(重组 DNA)与无任何抗药性的原核宿主细胞接种到含四环素的培养基中,能生长的原核宿主细胞所含有的拼接产物应是“载体—载体”(仍有四环素抗性基因)。

答案:(1)限制酶(限制性内切核酸酶) DNA 连接酶 (2)目的基因—目的基因 目的基因—载体 载体—载体 目的基因—载体 (3)载体—载体

综合性·创新提升

5. 金属硫蛋白(MT)是一类广泛存在的金属结合蛋白,某研究小组计划通过 PCR 技术扩增目的基因,构建转基因工程菌,用于重金属废水的净化处理。PCR 扩增过程示意图如下,引物 1 和引物 2 分别与 MT 基因两端的序列互补。下列表述正确的是

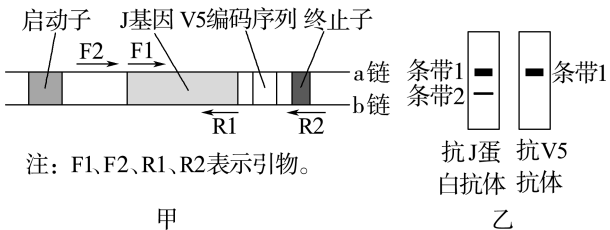
()



- A. 引物 1 和引物 2 的序列相同,且序列已知
B. 步骤 1 需要解旋酶,步骤 2 需要耐高温的 DNA 聚合酶,步骤 3 需要 DNA 连接酶
C. 为方便构建重组质粒,可在引物中设计适当的限制性内切核酸酶切割位点
D. n 个循环后,扩增出的所需要的目的基因的分子数为 2^n 个

C 解析:PCR 中,根据一段模板 DNA 序列,设计互补的核苷酸链作引物,故引物 1 和引物 2 的序列不相同,A 错误;PCR 的第一步是高温加热使 DNA 变性,也就是 DNA 的解旋,因为有高温破坏氢键,所以不需要解旋酶的参与,故步骤 1 不需要解旋酶,步骤 3 不需要 DNA 连接酶,B 错误;构建重组质粒,首先要用限制酶切割含目的基因的 DNA 片段和质粒,所以位于目的基因两端的引物中需要增加适当的限制性内切核酸酶切割位点,C 正确; n 个循环后,扩增出的 DNA 分子数是 2^n 个,但符合需要的目的基因的分子数少于 2^n 个,D 错误。

6. (2023·山东卷)科研人员构建了可表达 J-V5 融合蛋白的重组质粒并进行了检测,该质粒的部分结构如图甲所示,其中 V5 编码序列表达标签短肽 V5。



(1) 与图甲中启动子结合的酶是_____。除

图甲中标出的结构外,作为载体,质粒还需具备的结构有_____ (答出 2 个结构即可)。

(2) 构建重组质粒后,为了确定 J 基因连接到质粒中且插入方向正确,需进行 PCR 检测,若仅用一对引物,应选择图甲中的引物_____。已知 J 基因转录的模板链位于 b 链,由此可知引物 F1 与图甲中 J 基因的_____ (填“a 链”或“b 链”)相应部分的序列相同。

(3) 重组质粒在受体细胞内正确表达后,用抗 J 蛋白抗体和抗 V5 抗体分别检测相应蛋白是否表达以及表达水平,结果如图乙所示。其中,出现条带 1 证明细胞内表达了_____,条带 2 所检出的蛋白_____ (填“是”或“不是”)由重组质粒上的 J 基因表达的。

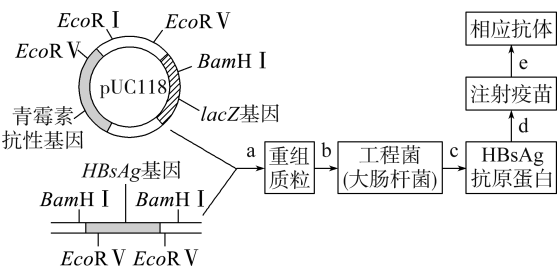
解析:(1) 基因表达载体的构建中启动子是为了启动下游基因的表达,表达首先需要转录,因此 RNA 聚合酶识别和结合的部位才是转录的起始。作为运载体一定要具备的条件:①要有限制酶的切割位点;②要有标记基因(如抗性基因),以便于重组后重组子的筛选;③能在宿主细胞中稳定存在并复制;④是安全的,对受体细胞无害,而且要易从供体细胞中分离出来。图中甲有启动子和终止子等,因此质粒还需具备的结构有限制酶的切割位点、标记基因、复制原点等。(2) 若单纯扩增 J 基因,只能表明受体细胞含有 J 基因,不能反映其插入位置及方向,因此不能选择 F1 和 R1 的组合。若存在 J 基因与上游片段相连的模板,或 J 基因与下游片段(如 V5 编码序列)相连的模板,都可以作为 J 基因连接到质粒中的证据,因此扩增区域应至少包括 J 基因和 J 基因的上游序列,或 J 基因和 J 基因的下游序列。据此,确定基因连接到质粒中有 3 种引物组合:F2 和 R1;F1 和 R2;F2 和 R2。若选择引物 F2 和 R2,由于 J 基因正接、反接的扩增区域长度不变,普通电泳无法区分两种结果,因此不能选择这个组合。所以确定 J 基因插入方向正确有 2 种引物组合:F2 和 R1;F1 和 R2。b 是模板链,而根据图上启动子和终止子的位置可知转录方向是图上从左向右,对应的模板链(b 链)方向应该是 $3' \rightarrow 5'$,非模板链(a 链)是 $5' \rightarrow 3'$ 。考虑到 DNA 复制的方向是子

链的 5'→3',引物基础上延伸的方向肯定是 5'→3',所以引物结合的单链其方向是 3'→5'。图中 F1 是前引物,在左侧,所以其配对的单链是 3'→5'的 b 链,故其序列应该与 a 链相应部分的序列相同。

(3)据图乙可知,用抗 J 蛋白抗体和抗 V5 抗体分别检测,均出现条带 1,说明条带 1 是 J-V5 融合蛋白。抗 J 蛋白抗体检测出现条带 2,抗 V5 抗体检测不出出现条带 2,说明条带 2 所检出的蛋白不是由重组质粒上的 J 基因表达的。

答案:(1)RNA 聚合酶 限制酶切割位点、标记基因、复制原点等 (2)F2 和 R1 或 F1 和 R2 a 链 (3)J-V5 融合蛋白 不是

7.接种乙肝疫苗是预防人体感染乙肝病毒的最有效方法。下图表示乙肝基因工程疫苗的生产和使用过程。pUC118 质粒中的 lacZ 基因可使细菌在加入化合物 X-gal 的培养基上长出蓝色菌落;若无该基因,菌落呈白色。(图中三种限制酶切割后产生的黏性末端不同)



(1)据图判断,获取 HBsAg 基因选择的限制酶是 _____,利用 PCR 技术扩增 HBsAg 基因时,需要在反应体系中添加的有机物质是 _____、模板 DNA、4 种脱氧核糖核苷酸和 _____,扩增过程可以在 PCR 扩增仪中完成。

(2)下列①~④表示基因工程疫苗研制的步骤,其中步骤①是 _____;图中过程 b 包含下列步骤的 _____。

- ① _____
- ②重组 DNA 分子导入大肠杆菌
- ③获取 HBsAg 基因
- ④HBsAg 基因与载体的连接

(3)根据所选的限制酶的方案,图中在选定的培养基上长出蓝色菌落的大肠杆菌,肯定含有的基因是 _____。

- ①HBsAg 基因
- ②lacZ 基因
- ③青霉素抗性基因

(4)图中 HBsAg 抗原蛋白与相应抗体的基因表达

过程,不同的是 _____。

- A.基因所来源的物种
- B.翻译出的氨基酸序列
- C.氨基酸对应遗传密码子表
- D.转录出的 mRNA 碱基序列

(5)基因工程疫苗比传统灭活或减毒的疫苗更安全,试从疫苗的结构特点解释原因: _____

解析:(1)由题图可知,图中 EcoRV 会破坏目的基因,只用 BamHI 就可以获取 HBsAg 基因,故需选择的限制酶是 BamHI。利用 PCR 技术扩增 HBsAg 基因时,需要在反应体系中添加的有机物质是引物、模板 DNA、4 种脱氧核糖核苷酸和耐高温的 DNA 聚合酶。(2)结合题干分析可知,基因工程疫苗研制的步骤:③获取 HBsAg 基因,④HBsAg 基因与载体的连接,②重组 DNA 分子导入大肠杆菌,故步骤①是筛选含 HBsAg 基因的大肠杆菌;图中过程 b 是获得工程菌,即包含选项中的②重组 DNA 分子导入大肠杆菌和①筛选含 HBsAg 基因的大肠杆菌。(3)根据题意“pUC118 质粒中的 lacZ 基因可使细菌在加入化合物 X-gal 的培养基上长出蓝色菌落;若无该基因,菌落呈白色”可知,若在选定的培养基上长出蓝色菌落的大肠杆菌,肯定含有的基因是②lacZ 基因,③青霉素抗性基因与其连在一起也一定含有,而重组质粒会破坏 lacZ 基因,故能长出蓝色菌落的大肠杆菌一定不含 HBsAg 基因,故选②③。(4)基因表达包含了转录和翻译,抗原蛋白 HBsAg 和抗体属于两种不同的蛋白质,由不同的基因转录,故基因所来源的物种、DNA 转录出的 mRNA 碱基序列、翻译出的氨基酸序列都不同,但所有生物共用一套密码子表,C 错误,A、B、D 正确。(5)与传统的灭活或减毒疫苗相比,基因工程疫苗安全性较高,是因为传统疫苗需要灭活或减毒,若灭活不彻底,接种者可能患乙肝;基因工程疫苗不具有病毒结构,不会出现病毒增殖和感染。

答案:(1)BamHI 引物 耐高温的 DNA 聚合酶 (2)筛选含 HBsAg 基因的受体细胞 ②① (3)② ③ (4)ABD (5)传统疫苗需要灭活或减毒,若灭活不彻底,接种者可能患乙肝;基因工程疫苗不具有病毒结构,不会出现病毒增殖和感染

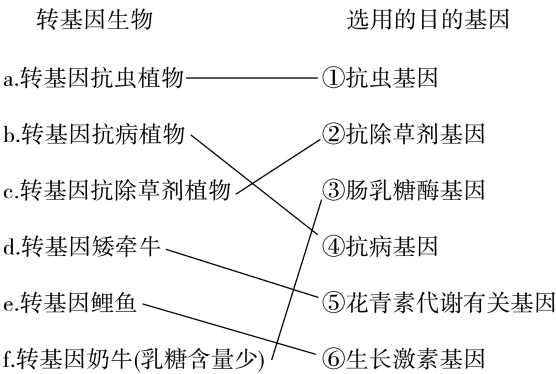
第3节 基因工程的应用

学习任务目标

- 1.采用归纳与概括的方法,说出基因工程在农牧业、医药卫生和食品工业等方面的应用。
- 2.基于基因工程的原理和应用实例,理性看待基因工程在生产和生活中的应用。

问题式预习

一、基因工程在农牧业方面的应用(连线)



二、基因工程在医药卫生领域的应用

- 1.对微生物或动植物的细胞进行基因改造
 - (1)目的:使它们能够生产药物。
 - (2)药物种类:细胞因子、抗体、疫苗和激素等。
- 2.让哺乳动物批量生产药物——乳腺生物反应器或乳房生物反应器
 - (1)措施:将药用蛋白基因与乳腺中特异表达的基因的启动子等调控元件重组在一起。
 - (2)受体细胞:哺乳动物的受精卵。
 - (3)导入方法:显微注射法。

3.建立移植器官工厂

在器官供体的基因组中导入某种调节因子,以抑制抗原决定基因的表达,或设法除去抗原决定基因,再结合克隆技术,培育出不会引起免疫排斥反应的转基因克隆动物器官。

三、基因工程在食品工业方面的应用

1.氨基酸

利用基因工程生产合成阿斯巴甜的原料天冬氨酸和苯丙氨酸。

2.酶

利用转基因生物制备生产奶酪的凝乳酶;利用转基

因生物生产加工转化糖浆的淀粉酶;利用转基因生物生产加工烘烤食品的脂肪酶等。

3.维生素

教材开发

- 1.[教材 P88 正文]从环境保护角度出发,分析与普通棉相比,转基因抗虫棉在害虫防治方面的优越性。

提示:减少了化学农药的使用量,降低了环境污染。
- 2.[教材 P89 正文]为提高动物的生长速率,需将外源生长激素基因导入动物体内,应该选择的受体细胞是什么?请说明理由。

提示:受精卵。受精卵体积较大,操作较容易,营养物质含量丰富,全能性较高,能保证发育成的个体中所有细胞都含有外源生长激素基因。
- 3.[教材 P90 正文]培育转基因奶牛利用乳腺生物反应器生产药用蛋白,需用到什么基因的启动子?

提示:需要乳腺中特异表达的基因的启动子。

概念辨析

- 1.为培育抗除草剂的作物新品种,导入抗除草剂基因时只能以受精卵为受体。(×)
- 2.基因工程在农业上的应用主要是培育高产、品质优良和具有抗逆性的农作物。(√)
- 3.基因工程能提高动物的生长速率是由于动物体内外源生长激素基因的表达。(√)
- 4.用基因工程方法从大肠杆菌和酵母菌细胞内获得的干扰素结构和功能完全相同。(×)
- 5.利用外源基因在乳腺细胞中表达,可让哺乳动物批量生产药物。(√)

任务型课堂

任务

基因工程的应用

[探究活动]

对微生物或动植物的细胞进行基因改造,使它们能够生产药物,是目前基因工程取得较多实际应用成果的领域。结合基因工程的操作步骤,回答下列问题:

探究 1.为了生产药物,常把药用蛋白基因构建的表达载体导入大肠杆菌或酵母菌细胞中构建工程菌,选用细菌或酵母菌作为受体细胞的优点有哪些?

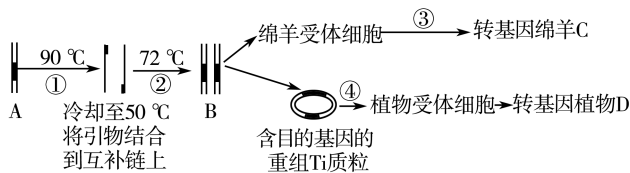
提示:细菌和酵母菌遗传物质相对较少,目的基因受到受体细胞的影响较小;多为单细胞,繁殖快,可以在短时间内得到大量目的基因表达的产物。

探究 2.继哺乳动物乳腺生物反应器研发成功后,膀胱生物反应器的研究也取得了成功。科学家培育出一种转基因小鼠,其膀胱上皮细胞可以合成人的生长激素并分泌到尿液中。在研制膀胱生物反应器时,将药用蛋白基因导入小鼠受体细胞,常用的受体细胞是受精卵。膀胱生物反应器与乳腺生物反应器有什么相同点和不同点?

提示:相同点是收集药用蛋白较容易,且不会对动物造成伤害。不同点是乳腺生物反应器必须是处于生殖期的雌性动物才可生产药用蛋白,而膀胱生物反应器则是任何生长期的雌、雄动物均可生产。

[评价活动]

1.下图表示利用生物技术获得生物新品种的过程,下列有关说法错误的是 ()



A. A→B 过程中一般用 4 种脱氧核苷酸为原料,并加入两种引物

B. A→B 过程利用了 DNA 复制原理,需要使用耐高温的 DNA 聚合酶

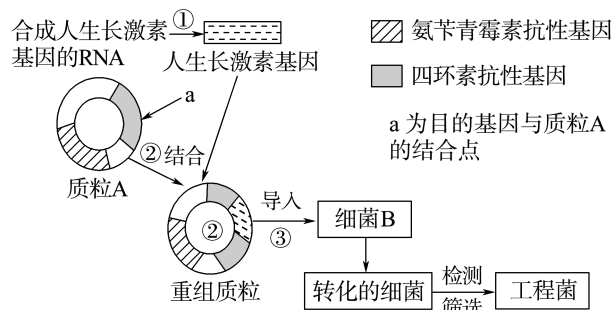
C. B→C 为转基因绵羊的培育过程,常选用的受体细胞是卵母细胞

D. B→D 为转基因植物的培育过程,其中④过程常用的方法是农杆菌转化法

C 解析:A→B 表示利用 PCR 技术获得目的基因,该过程的产物是 DNA,因此,该过程中一般用 4 种脱氧核苷酸为原料,并加入两种引物,A 正确;A→

B 表示利用 PCR 技术获得目的基因,该过程利用了 DNA(双链)复制原理,需要使用耐高温的 DNA 聚合酶,B 正确;B→C 为转基因绵羊的培育过程,常选用的受体细胞是受精卵(全能性最高),C 错误;B→D 为转基因植物的培育过程,其中④过程为将目的基因导入受体细胞的过程,由于受体细胞是植物细胞,因此,该过程常采用的方法是农杆菌转化法,D 正确。

2.科学家将人的生长激素基因与某种细菌(不含抗生素抗性基因)的 DNA 分子进行重组,该基因在转化的细菌中成功表达,如下图所示。下列叙述错误的是 ()



A.过程①合成人生长激素基因的过程需要用到逆转录酶

B.过程③是将重组质粒溶于缓冲液后与经 Ca^{2+} 处理的细菌 B 混合

C.成功导入了重组质粒的细菌 B 在含有氨苄青霉素的培养基上不能生长

D.可采用抗原—抗体杂交技术检测工程菌中生长激素基因是否成功表达

C 解析:过程①合成人生长激素基因的过程是逆转录过程,需要用到逆转录酶,A 正确;过程③是将重组质粒导入细菌 B 中,用 Ca^{2+} 处理后的细菌 B 会成为感受态细胞,容易吸收周围溶液中的重组质粒,B 正确;成功导入了重组质粒的细菌 B,因目的基因插入质粒后,破坏了四环素抗性基因,所以在含有四环素的培养基上不能生长,但在含有氨苄青霉素的培养基上能生长,C 错误;检测生长激素基因是否成功表达可采用抗原—抗体杂交技术,D 正确。

3.我国是世界最大的棉花消费国,棉花生产量稳居世界第二。科研小组利用基因工程技术将某抗虫基因转入棉花成功培育出抗虫棉,该技术所用的质粒与含抗虫基因的 DNA 上相关限制酶的酶切位点分别如图 1、图 2 所示(不同限制性内切核酸酶的识别序列和酶切位点如下表所示)。回答下列问题:

限制性内切核酸酶名称	识别的碱基序列和酶切位点
<i>Bam</i> H I	G↓GATCC
<i>Bcl</i> I	T↓GATCA
<i>Sau</i> 3A I	↓GATC
<i>Hind</i> III	A↓AGCTT

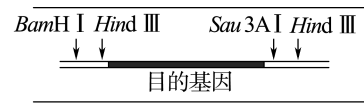


图1

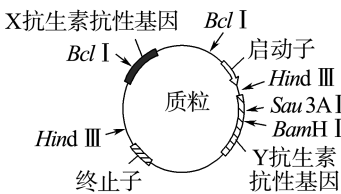


图2

- (1)利用 PCR 技术扩增抗虫基因时,一个基因连续扩增 4 次,共需要 _____ 个引物,设计引物序列的主要依据是 _____。
- (2)图 2 质粒的作用是 _____,质粒中没有标注出来的基本结构是 _____。
- (3)用图中的目的基因和质粒构建抗虫棉基因表达载体时,科研人员分别选用限制酶 *Bam* H I 切割质粒,限制酶 *Bam* H I 和 *Sau* 3A I 切割含目的基因的 DNA 片段。
- ①研究发现,含目的基因的 DNA 片段完全酶切后,反应管中有 _____ 种 DNA 片段,得到含目的基因的 DNA 片段末端碱基序列是 _____。
- ②科研人员将上述限制酶切割的质粒与目的基因混合,加入 DNA 连接酶后,成功导入受体细胞,然后分别用含 X、Y 抗生素的两种培养基对受体细胞进行筛选,结果发现,部分受体细胞在两种培养基上均不能存活,试分析其原因是 _____。
- ③某同学认为,在构建抗虫棉基因表达载体的过程

中,可采用限制酶 *Hind* III 切割质粒和含目的基因的 DNA 片段。请对该同学的观点做简要评价: _____。

(4)生产上常将获得的转基因抗虫棉与普通棉花混合播种,其目的是 _____。

解析:(1)利用 PCR 技术扩增抗虫基因时,所形成的子代 DNA 分子中,除了来自最初亲本的两条链不含引物,其他新合成的链上均含有引物,所以一个基因连续扩增 4 次,共需要 $2^4 \times 2 - 2 = 30$ 个引物。设计引物序列的主要依据是已知的抗虫基因两端的部分核苷酸序列。(2)题图 2 质粒的作用是作为运载体,将目的基因送入受体细胞,作为运载体的质粒中应含有启动子、终止子、一个至多个限制酶切割位点、复制原点和标记基因等,题图中没有标注出来的基本结构是复制原点。(3)①根据目的基因上限制酶切点的位置可知,选用限制酶 *Bam* H I 和 *Sau* 3A I 切割含目的基因的 DNA 片段,可形成含目的基因的片段,以及两段不含目的基因的片段,即反应管中有 3 种 DNA 片段,根据限制酶的识别序列以及图 1 中的酶切位点可知,得到含目的基因的 DNA 片段末端碱基序列是 $\begin{matrix} \text{GATCC-} \\ \text{G-} \end{matrix}$ 和 $\begin{matrix} \text{-} \\ \text{-CTAG} \end{matrix}$ 。②由于质粒与目的基因结合时,目的基因发生了自身环化,没有与质粒结合,自身又不含 X、Y 抗生素抗性基因,导入受体细胞后致使部分受体细胞不含 X、Y 抗生素抗性基因,在两种培养基上均不能存活。③该观点不合理,由于目的基因需要插入质粒的启动子和终止子之间才能成功表达,质粒上存在两个限制酶 *Hind* III 的酶切位点,其中一个酶切位点不在启动子和终止子之间,不能使目的基因成功表达,而且用一种酶切割目的基因和质粒容易造成其自身环化,不利于基因表达载体的构建,所以在构建抗虫棉基因表达载体的过程中,不能用限制酶 *Hind* III 切割质粒和含目的基因的 DNA 片段。(4)生产上常将转基因抗虫棉与普通棉花混合播种,使害虫中敏感性个体有较多的生存机会,从而降低害虫种群抗性基因频率的增长速率。

答案:(1)30 抗虫基因两端的部分核苷酸序列 (2)将目的基因送入受体细胞 复制原点 (3)①3 $\begin{matrix} \text{GATCC-} \\ \text{G-} \end{matrix}$ 和 $\begin{matrix} \text{-} \\ \text{-CTAG} \end{matrix}$ ②质粒与目的基因结合时,目

的基因发生了自身环化,没有与质粒结合,导致受体细胞没有 X、Y 抗生素抗性基因 ③该观点不合理,目的基因需要插入质粒的启动子和终止子之间才能成功表达,质粒上存在两个限制酶 *Hind*Ⅲ 的酶切位点,其中一个酶切位点不能使目的基因成功表达,而且用一种酶切割目的基因和质粒容易造成其自身环化,不利于基因表达载体的构建 (4)降低害虫种群中抗性基因频率的增长速率

任务总结

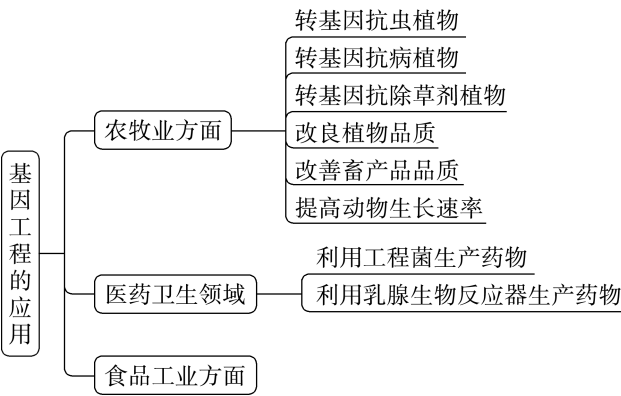
乳腺生物反应器与工程菌生产药物的比较

项目	乳腺生物反应器	工程菌生产药物
基因结构	动物基因的结构与人类基因的结构基本相同	细菌或酵母菌等生物的基因结构与人类基因结构有较大差异
基因产物	与天然蛋白质完全相同	细菌细胞内缺少内质网、高尔基体等细胞器,合成的蛋白质可能不具有生物活性
受体细胞	动物的受精卵	微生物细胞

续表

项目	乳腺生物反应器	工程菌生产药物
导入目的基因的方法	显微注射法	Ca ²⁺ 处理法
生产条件	不需严格灭菌,温度等外界条件对其影响不大	需严格灭菌,严格控制工程菌所需的温度、pH、营养物质浓度等外界条件
产物提取	从动物乳汁中提取,相对简单	从微生物细胞中提取,相对复杂

► 提质归纳



课后素养评价(十四)

基础性·能力运用

知识点 基因工程的应用

1. 下列关于基因工程应用的叙述,错误的是 ()

- A. 转基因抗病植物的培育可有效提高栽培作物的产量
- B. 动物基因工程通常涉及基因工程、动物细胞培养、胚胎移植等技术
- C. 将降解或抵抗某种除草剂的基因导入作物,可培育出抗除草剂的作物品种
- D. 可利用基因工程技术生产重组人干扰素,治疗细菌感染性疾病

D 解析:将某些病毒的抗病基因导入植物中,利用植物组织培养技术,培育转基因抗病植物,有效提高栽培作物的产量,A 正确;动物基因工程通常涉及基因工程(目的基因的获取和转移)、动物细胞培养、胚胎移植(将桑葚胚或囊胚期的胚胎移植到代孕母体内)等技术,B 正确;植物细胞的全能性较高,将降解或抵抗某种除草剂的基因导入植物体细

胞或受精卵中,可培育出抗除草剂的作物品种,C 正确;用于治疗细菌感染性疾病的是抗生素而非干扰素,干扰素被广泛用于治疗病毒感染性疾病,D 错误。

2. 在某种生物中检测不到绿色荧光,将水母绿色荧光蛋白基因转入该生物体内后,结果可以检测到绿色荧光。由此可知 ()

- A. 该过程运用了基因突变原理
- B. 绿色荧光蛋白基因在该生物体内得到了表达
- C. 该生物与水母有很近的亲缘关系
- D. 改变绿色荧光蛋白基因的 1 个碱基对,就不能检测到绿色荧光

B 解析:将水母绿色荧光蛋白基因转入该生物体内属于基因工程技术,原理是基因重组,A 错误;绿色荧光蛋白基因表达产生了绿色荧光蛋白,从而能检测到绿色荧光,B 正确;所有生物共用一套密码子,因此水母基因能在该生物体内表达不能证明

二者的亲缘关系,C 错误;由于密码子的简并,改变后转录形成的密码子决定的氨基酸种类可能相同,其基因控制合成的蛋白质可能相同,有可能检测到绿色荧光,D 错误。

3. 科学家通过基因工程的方法,能使马铃薯块茎含有人奶蛋白。以下有关该项基因工程应用的叙述,错误的是 ()

- A. 采用逆转录的方法可得到目的基因
- B. 基因非编码区对于目的基因在块茎中的表达是不可缺少的
- C. 马铃薯的叶肉细胞可作为受体细胞
- D. 用不同种限制酶分别处理质粒、含有目的基因的 DNA,一定产生不同的黏性末端

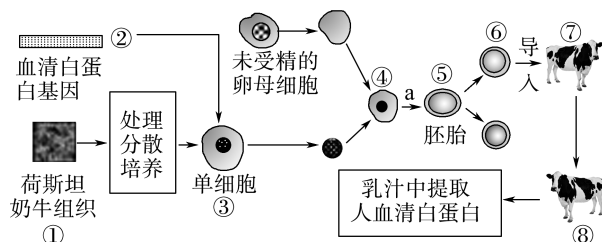
D 解析:获取真核生物的目的基因一般采用逆转录法,A 正确;基因非编码区对编码区的转录有调控作用,所以对于目的基因在块茎中的表达是不可缺少的,B 正确;马铃薯的叶肉细胞可作为受体细胞,导入外源基因后采用植物组织培养技术将其培育成转基因植株,C 正确;不同种限制酶也能产生相同的黏性末端,D 错误。

4. 将乙肝抗原基因导入酵母菌中,通过发酵能大量生产乙肝疫苗。下列叙述正确的是 ()

- A. 目的基因在酵母菌中表达出抗体
- B. 目的基因的表达需要线粒体提供能量
- C. 构建基因表达载体时需用限制性内切核酸酶和 DNA 聚合酶
- D. 受体菌内目的基因的转录和翻译发生在同一场所

B 解析:目的基因成功导入酵母菌后可以表达出乙肝抗原,即乙肝疫苗,而不是表达出抗体,A 错误;目的基因通过转录和翻译过程表达出产物,需要消耗能量,能量可以由线粒体提供,B 正确;构建基因表达载体时需要的是限制性内切核酸酶和 DNA 连接酶,C 错误;由于受体菌酵母菌属于真核生物,故目的基因的转录发生在细胞核,翻译发生在细胞质,二者发生的场所不同,D 错误。

5. 人血清白蛋白(HSA)在临床上的需求量很大,通常从人血中提取。但由于艾滋病病毒(HIV)等人类感染性病原体造成的威胁与日俱增,使人们对血液制品顾虑重重。应用基因工程和克隆技术,将人的血清白蛋白基因转入奶牛细胞中,利用牛的乳汁生产血清白蛋白,既提高了产量,又有了安全保障。下图是利用奶牛乳汁生产人血清白蛋白的过程图解,下列相关叙述正确的是 ()



A. 图中①一般经胃蛋白酶处理可以得到③

B. 在②进入③之前要用限制酶、DNA 连接酶和载体等工具来构建基因表达载体

C. 一般情况下,用雌激素处理良种母牛可以获得更多卵母细胞

D. 在重组细胞中检测到了人血清白蛋白基因,说明目的基因在受体细胞中完成了表达

B 解析:用胰蛋白酶(不能用胃蛋白酶)处理动物组织,可以获取单个细胞,故图中①一般经胰蛋白酶处理可以得到③,A 错误;将目的基因导入受体细胞之前,要构建基因表达载体,需要使用限制酶、DNA 连接酶和载体等工具,B 正确;一般情况下,用外源促性腺激素处理良种母牛可以获得更多卵母细胞,C 错误;重组细胞中检测到人血清白蛋白基因,说明目的基因已导入受体细胞中,但不能说明目的基因在受体细胞中完成了表达,D 错误。

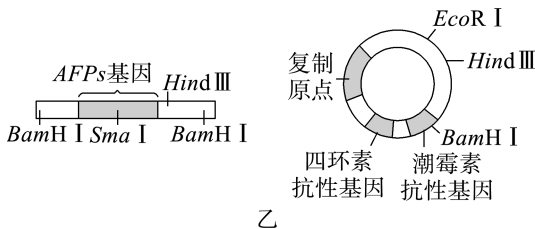
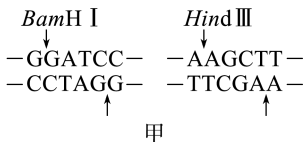
6. 在内源性凝血过程中,凝血因子Ⅷ作为一种辅助因子,参与凝血过程。我国科学家将含有人凝血因子基因的 DNA 片段注射到羊的受精卵中,由该受精卵发育成的羊分泌的乳汁中含有人凝血因子,可用于治疗血友病。下列叙述错误的是 ()

- A. 人的基因在羊的细胞中表达,说明人和羊共用一套遗传密码
- B. 该羊的乳腺细胞和其他体细胞中都可能含有人凝血因子基因
- C. 羊的乳腺细胞中产生人的凝血因子,说明基因和性状的关系是一一对应的
- D. 羊的乳腺细胞产生人的凝血因子是基因选择性表达的结果

C 解析:自然界中的所有生物共用一套遗传密码,A 正确;人凝血因子基因的 DNA 片段注射到羊的受精卵,随受精卵的不断分裂进入子细胞中,因此羊的乳腺细胞和其他体细胞中都可能含有人凝血因子基因,B 正确;基因和性状并不是简单的一一对应关系,一个基因可以影响多个性状,一个性状也可能由多个基因共同控制,C 错误;羊的乳腺细胞产生人的凝血因子,而相关基因在其他细胞中未表达,体现了基因的选择性表达,D 正确。

综合性·创新提升

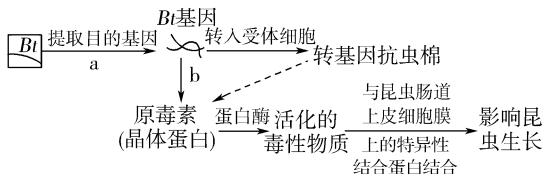
7.番茄作为一种常见的水果蔬菜,近年来在日常生活中的需求量稳中有升。番茄在较低温度下运输或储存的过程中容易出现冻伤的现象,从而影响番茄的口感和品质。科学家利用基因工程技术培育出抗冻的转基因番茄。下图甲表示限制酶 *Bam*H I 和 *Hind*Ⅲ 的识别序列,图乙表示外源 DNA 和质粒上标出的酶切位点及相关基因,其中 *AFP*s 基因为抗冻基因。下列相关叙述错误的是 ()



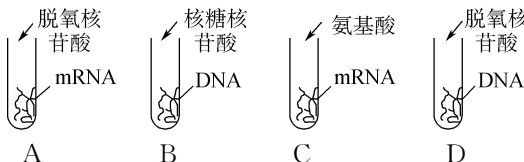
- A.图中的外源 DNA 用 *Bam*H I 切割后,会破坏 4 个磷酸二酯键
- B.获得的 *AFP*s 基因应插入质粒上的启动子与终止子之间
- C.应用 *Bam*H I 和 *Hind*Ⅲ 切割目的基因和质粒,以避免其自连或反接
- D.能在含四环素的培养基上生长的受体细胞中一定都含有 *AFP*s 基因

D 解析: DNA 为双链,每条链都是由脱氧核苷酸脱水缩合形成磷酸二酯键连接而成,在双链的 DNA 中切割出外源 DNA 片段需要破坏 4 个磷酸二酯键,A 正确;获得的 *AFP*s 基因应插入质粒上的启动子与终止子之间,以保证目的基因能够正确的表达,B 正确;为了防止目的基因和质粒自连或反接,应该选择两种限制酶进行切割,在目的基因两端、质粒上分别形成两种黏性末端,结合题图可知应用 *Bam*H I 和 *Hind*Ⅲ,C 正确;导入了重组 DNA 的细胞具有四环素抗性,但仅导入了质粒等情况下细胞也具有四环素抗性,故能在含四环素的培养基上生长的受体细胞中不一定含有 *AFP*s 基因,D 错误。

8.下图为从苏云金杆菌中分离出杀虫晶体蛋白质基因(简称 *Bt* 基因)及形成转基因抗虫植物的图解。请回答下列问题:



(1)在下列含有 ATP 和有关酶的试管中,大量而快捷地获取 *Bt* 基因的最佳方案是图中的 _____。



(2)写出 b 过程的表达式: _____。

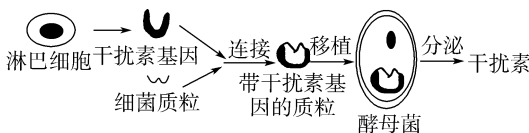
(3)活化的毒性物质应是一种 _____ 分子,活化的毒性物质全部或部分嵌合于昆虫的细胞膜上,使细胞膜产生孔道,导致细胞由于 _____ 平衡的破坏而破裂。

(4)我国在 863 计划资助下开展了 *Bt* 抗虫棉育种等研究,这将对 _____、_____ 和农业可持续发展产生巨大影响。

解析: (1)在体外提供模板(如 *Bt* 基因片段)、能量、相关酶(如耐高温的 DNA 聚合酶)、原料等必需条件下,可用人工方法扩增目的基因(*Bt* 基因)。(2)b 过程即 *Bt* 基因的表达过程,也就是中心法则中的转录和翻译过程。(3)蛋白质(原毒素)在蛋白酶的作用下可被分解为多肽。(4)我国在 863 计划资助下开展了 *Bt* 抗虫棉育种等研究,这将对农业害虫防治、环境保护和农业可持续发展产生巨大影响。

答案: (1)D (2)*Bt* 基因 $\xrightarrow{\text{转录}}$ mRNA $\xrightarrow{\text{翻译}}$ 原毒素 (3)多肽 渗透 (4)农业害虫防治 环境保护

9.干扰素是治疗病毒感染和癌症的药物,成分是一种糖蛋白。过去干扰素需要从血液中提取,每升人血中只能提取 0.05 μ g,所以价格昂贵。现在某生物科技公司用下图所示的方式生产干扰素,试分析其原理和优点。



(1)酵母菌能用 _____ 的方式繁殖,速度很快,能大量生产 _____,不但提高了产量,也降低了成本。

(2)有人尝试将干扰素基因与大肠杆菌的质粒重组,转入大肠杆菌体内后,形成“工程菌”。此种操作能否制备有活性的干扰素? _____,原因是 _____。

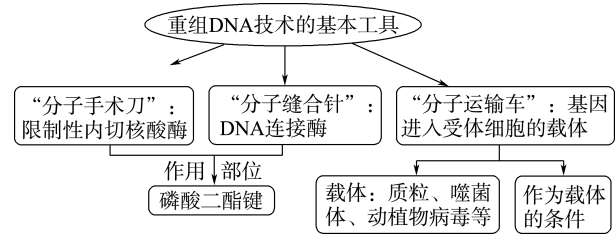
解析:(1)酵母菌能进行出芽生殖,迅速繁殖菌体,因而能大量生产干扰素。(2)由于大肠杆菌是原核生物,无内质网、高尔基体等细胞器,无法合成糖蛋白,因而通常不能用来制备有活性的干扰素。
答案:(1)出芽生殖 干扰素 (2)不能 大肠杆菌是原核生物,无内质网、高尔基体等细胞器,无法合成糖蛋白

专项提升课 基因工程

核心目的

- 1.明确限制酶的选择原则:①不破坏目的基因;②至少保留一个标记基因;③同种限制酶(或同尾酶)切割目的基因、质粒,以保证出现相同黏性末端,若为了避免目的基因、质粒的各自环化及目的基因倒接,则需选用两种限制酶切割目的基因、质粒。
- 2.助力理解新情境:PCR 技术和基因工程的应用很广,试题常以新情境的形式出现,若对引物的设计、限制酶的选择等理解不透,则难以理解试题情境,导致失分。

一、基因工程的基本工具

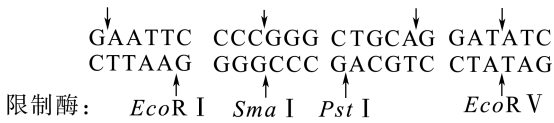


对点训练

1.下表为常用的限制性内切核酸酶(限制酶)及其识别序列和切割位点,由此推断以下说法中,正确的是 ()

限制酶名称	识别序列和切割位点	限制酶名称	识别序列和切割位点
BamH I	G ↓ GATCC	Kpn I	GGTAC ↓ C
EcoR I	G ↓ AATTC	Sau3A I	↓ GATC
Hind I	GTY ↓ RAC	Sma I	CCC ↓ GGG

制酶的切割位点也可以在识别序列的外部,如 *Sau3A I* , *D* 错误。
2.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 种限制性内切核酸酶的切割位点如图所示。



回答下列问题:
(1)常用的 DNA 连接酶有 _____ 和 _____,其中 _____ DNA 连接酶连接具有平末端的 DNA 片段的效率相对较高。上图中 _____ 酶切割后的 DNA 片段具有黏性末端,上图中 _____ 酶切割后的 DNA 片段具有平末端。
(2)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 _____。
(3)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 _____。

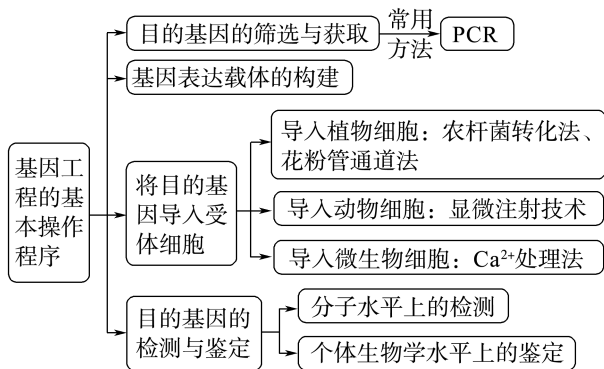
解析:(1)由题图可以看出, *EcoR I* 、 *Sma I* 、 *Pst*

注:Y=C 或 T,R=A 或 G。
A.一种限制酶只能识别一种特定的核苷酸序列
B.限制酶切割后一定形成黏性末端
C.不同的限制酶切割 DNA 分子后可以形成相同的黏性末端
D.限制酶的切割位点在识别序列内部
C 解析:由题图可知,由于 Y=C 或 T,R=A 或 G,因此 *Hind I* 可以识别多种核苷酸序列,A 错误;限制酶切割后可以形成黏性末端或平末端,B 错误;不同的限制酶切割 DNA 分子后可以形成相同的黏性末端,如 *BamH I* 和 *Sau3A I* ,C 正确;限

I、EcoRV切割后分别形成黏性末端、平末端、黏性末端和平末端，*E.coli* DNA 连接酶连接具有平末端的 DNA 片段的效率远远低于 T4 DNA 连接酶。(2)DNA 连接酶催化 DNA 链的 5' 端与另一 DNA 链的 3' 端生成磷酸二酯键。(3)复制原点是在质粒 DNA 上复制起始的一段序列，可以保证质粒在宿主细胞中进行自我复制。质粒上有限制酶切割位点，该位点可被限制酶切开并使外源目的基因插入其中。若质粒 DNA 分子上有某种抗生素抗性基因，则可以用含有该抗生素的培养基培养宿主细胞，能够存活的即为含有质粒载体的宿主细胞。

答案：(1)*E.coli* DNA 连接酶 T4 DNA 连接酶
T4 EcoRI、Pst I Sma I、EcoRV (2)磷酸二酯键 (3)自我复制 限制酶切割位点 用含有该抗生素的培养基培养宿主细胞，能够存活的即为含有质粒载体的宿主细胞

二、基因工程的基本操作程序



对点训练

3.凝乳酶是食品生产中常用的凝结剂，科研人员从动物体内获得了凝乳酶 mRNA，拟利用大肠杆菌通过基因工程生产凝乳酶。据图回答下列问题：

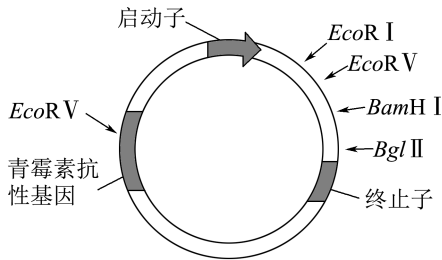


图1

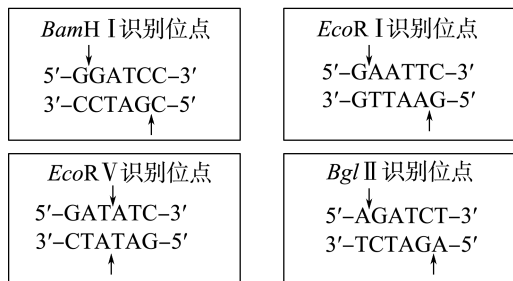


图2

(1)利用凝乳酶 mRNA，在_____酶的作用下，可以得到凝乳酶的 cDNA，进一步通过 PCR 扩增时需要 2 种引物，引物的作用是_____。

(2)图 1 和图 2 是选用的质粒及其几种相关限制酶的识别位点，在构建基因表达载体时，最好选用的限制酶是_____，这样选择的优点是_____。

(3)将构建的重组质粒导入大肠杆菌，需要用 Ca^{2+} 处理，使大肠杆菌处于_____。

(4)将在添加了青霉素的培养基中得到的 4 个大肠杆菌菌落，进行进一步检测，检测结果如图 3 所示，1~4 号菌落需要舍弃的是 1 号和_____。其中舍弃 1 号菌落的理由是_____。

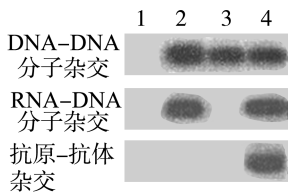


图3

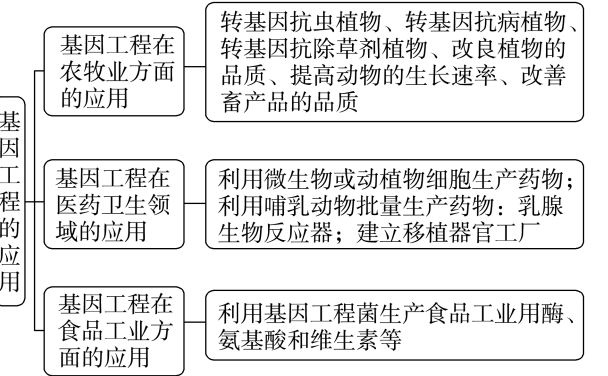
(5)为满足生产上的需要对凝乳酶进行改良，这种技术属于_____工程，该工程改造的对象是_____。

解析：(1)由 mRNA 得到 cDNA，应该通过逆转录酶的作用。进行 PCR 扩增时，需要 2 种引物，引物会与 DNA 聚合酶结合，使 DNA 聚合酶从引物的 3' 端开始连接脱氧核苷酸，即引物会与模板单链结合以延伸子链。(2)首先不能破坏标记基因，所以先排除 *EcoRV*，其次要防止质粒自身环化和目的基因的反向连接(确保目的基因与质粒正向连接)，所以要选择两种限制性内切核酸酶，产生不同的黏性末端，防止其自连，且由题图 2 可知 *Bgl II* 和 *BamH I* 会产生相同的黏性末端，故在构建基因表达载体时，最好选用的限制酶是 *EcoRI* 和 *Bgl II* 或 *EcoRI* 和 *BamH I*。PCR 扩增时，第一个循环扩增出来的新片段很长，第二个循环以新的长片段为模板进行，但新片段的一端是引物开头的，所以第二个循环得到的片段就是我们需要的长度，但只是一条链，所以还不能分离出目的基因，第三个循环以第二个循环得到的新片段为模板，当第三个循环完成时，这个片段就是需要的长度，且是双链。

DNA,故 PCR 过程中至少复制 3 次才可以得到含所需酶切位点的凝乳酶基因。(3)钙离子处理大肠杆菌可以使大肠杆菌细胞膜的通透性增大,使大肠杆菌处于感受态(容易吸收外源 DNA 分子的状态)。(4)在添加了青霉素的培养基中得到的菌落,都含有青霉素抗性基因,但 1 号进行 DNA-DNA 分子杂交没有结果,则说明 1 号菌落未导入目的基因,应舍去;2 号菌落含有目的基因,也可以正常转录,但无法翻译出蛋白质或翻译出的蛋白质无法与受体结合,则舍弃;3 号菌落虽然含有目的基因,但不能与 RNA 进行杂交,说明该目的基因不能正常转录,应舍弃。(5)凝乳酶本质是蛋白质,要对凝乳酶进行改良,这种技术属于蛋白质工程,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,以满足人类的生产和生活的需求。

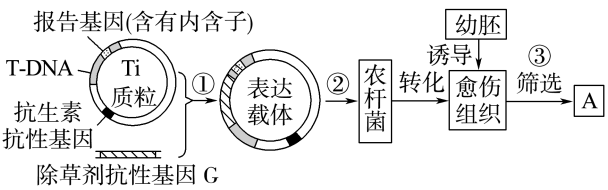
答案:(1)逆转录 与模板单链结合延伸子链(或使 DNA 聚合酶从引物的 3'端开始连接脱氧核苷酸)
(2)*Eco*R I、*Bgl* II 或 *Eco*R I、*Bam* H I 避免标记基因被破坏、质粒自身环化和目的基因的反向连接(确保目的基因与质粒正向连接) 3 (3)感受态 (4)2 号、3 号 目的基因未导入 (5)蛋白质基因

三、基因工程的应用



对点训练

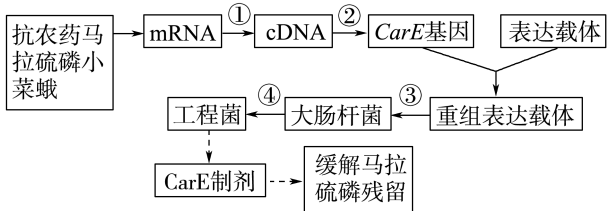
4.下图是培育抗除草剂玉米的技术路线图,含有内含子的报告基因只能在真核生物中正确表达,其产物能催化无色物质 K 呈现蓝色。转化过程中愈伤组织表面常残留农杆菌,会导致未转化的愈伤组织可能在含除草剂的培养基中生长。下列相关叙述正确的是 ()



- A.过程①中除草剂抗性基因插入 T-DNA 中,导致 T-DNA 片段失活
- B.过程②用 Ca^{2+} 处理使农杆菌细胞壁的通透性改变,成为感受态细胞
- C.检测是否转化成功,过程③应在培养基中加入除草剂和物质 K
- D.转化过程中未转化的愈伤组织可能在含除草剂的培养基中生长是因为基因漂移

C 解析:T-DNA 的作用是将目的基因从农杆菌中转移并稳定整合到植物染色体 DNA 中,因此需要把目的基因插入 T-DNA 片段中,这样目的基因才可以转移并整合到植物的染色体 DNA 中,A 错误;用 Ca^{2+} 处理农杆菌使其细胞膜通透性改变,成为感受态细胞,而不是改变农杆菌细胞壁的通透性,B 错误;检测是否转化成功,筛选时在培养基中加入除草剂和物质 K,除草剂用来检测目的基因是否正确表达,物质 K 用来检测目的基因有没有导入真核植物细胞中,C 正确;基因漂移是目的基因转移到近缘作物中去的现象,转化过程中愈伤组织表面残留有农杆菌,会导致未转化的愈伤组织可能在含除草剂的培养基中生长,该现象不属于基因漂移,D 错误。

5.羧酸酯酶(CarE)可分解马拉硫磷类农药以降低环境污染,下图为利用基因工程技术生产 CarE 制剂的流程示意图。下列叙述正确的是 ()



- A.过程①获取目的基因的方法比直接从生物体获取的成功率高
- B.过程②所用的引物通常为一段与目的基因互补的核糖核苷酸单链
- C.过程③使用的方法通常为显微注射法,使重组表达载体进入受体细胞
- D.过程④完成后的工程菌细胞中检测到 CarE 基因说明转基因成功

A 解析:利用 mRNA 通过逆转录法合成相应的 cDNA,从而获取目的基因的针对性更强,比直接从生物体获取的成功率高,A 正确;过程②所用的引

物常为一段与目的基因互补的脱氧核糖核苷酸单链,B 错误;将目的基因导入大肠杆菌的方法通常为感受态细胞法,使重组表达载体进入受体细胞,C

错误;过程④完成后的工程菌细胞中检测到 *CarE* 基因只能说明导入成功,需在工程菌中检测到其表达产物羧酸酯酶方可说明转基因成功,D 错误。

第4节 蛋白质工程的原理和应用

学习任务目标

- 1.运用结构与功能观,说明蛋白质工程设计的基本原理。
- 2.采用模型与建模、归纳与概括等方法,用文字、图示或模型的形式表示蛋白质工程的基本思路。
- 3.尝试通过蛋白质工程技术,设计改造某一蛋白质的流程。

问题式预习

一、蛋白质工程崛起的缘由

1.蛋白质工程的概念

(1)基础:蛋白质分子的结构规律及其与生物功能的关系。

(2)手段: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。

(3)目的:获得满足人类的生产和生活需求的蛋白质。

2.基因工程实质:将一种生物的基因转移到另一种生物体内,后者可以产生它本不能产生的蛋白质,进而表现出新的性状。

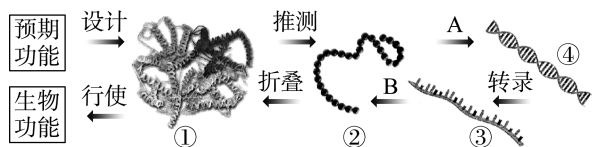
3.天然蛋白质的不足:天然蛋白质的结构和功能符合特定物种生存的需要,却不一定完全符合人类生产和生活的需要。

二、蛋白质工程的基本原理

1.目标:根据人们对蛋白质功能的特定需求,对蛋白质的结构进行设计改造。

2.方法:改造或合成基因。

3.过程



注:字母代表流程或生理过程,数字序号代表物质名称。

(1)基本思路:从预期的蛋白质功能出发→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。

(2)写出图中字母或序号代表的含义:

A.改造或合成;B.翻译;

①蛋白质(三维结构);

②多肽链;

③mRNA;

④目的基因。

三、蛋白质工程的应用

1.在医药工业方面的应用

(1)研发速效胰岛素类似物:科学家通过改造胰岛素基因使 B28 位脯氨酸替换为天冬氨酸或者将它与 B29 位的赖氨酸交换位置,从而有效抑制了胰岛素的聚合,研发出速效胰岛素类似物。

(2)提高干扰素的保存期:将干扰素分子上的一个半胱氨酸变成丝氨酸,在一定条件下,可以延长保存时间。

(3)改造抗体:将小鼠单克隆抗体上结合抗原的区域“嫁接”到人的抗体上,降低了诱发人体免疫反应的强度。

2.在其他工业和农业方面的应用

(1)改进酶的性能或开发新的工业用酶:利用蛋白质工程获得蛋白酶的多种突变体。

(2)改造某些重要的酶:利用蛋白质工程改造某些参与调控光合作用的酶,以提高植物光合作用的效率。

教材开发

1.[教材 P94 正文]对天然蛋白质进行改造,你认为应该是直接对蛋白质分子进行操作,还是通过对基因的操作来实现?原因是什么?

提示:应该通过对基因的操作来实现对天然蛋白质的改造。主要原因:①蛋白质具有十分复杂的空间结构,基因的结构相对简单,容易改造;②改造后的基因可以遗传给下一代,被改造的蛋白质无法遗传。

2.[教材 P95 正文]为了降低胰岛素的聚合作用,科学家是如何对胰岛素进行改造而研发出速效胰岛素的?

提示:通过改造胰岛素基因实现了对相应氨基酸序列的改造,使 B28 位脯氨酸替换为天冬氨酸或者将它与 B29 位的赖氨酸交换位置,从而有效抑制了胰岛素的聚合,由此研发出速效胰岛素。

概念辨析

1.蛋白质工程需要改变蛋白质分子的所有氨基酸序列。(×)

2.基因工程是在分子水平上对基因进行操作,蛋白质工程是在分子水平上对蛋白质进行操作。(×)

3.对蛋白质的改造是通过直接改造相应的 mRNA 来实现的。(×)

4.改造蛋白质结构可通过改造基因结构实现。(√)

5.蛋白质工程可以改造酶,提高酶的热稳定性。(√)

任务型课堂

任务

蛋白质工程的原理和应用

[探究活动]

脑啡肽(Enk)N 端五肽线形结构是与 δ 型受体结合的基本功能区域,干扰素(IFN)是一种广谱抗病毒抗肿瘤细胞因子。科学家化学合成了 Enk N 端五肽编码区,使其与人 $\alpha 1$ 型 IFN 基因连接,在大肠杆菌中表达了这一融合蛋白。试探究下列问题:

探究 1.该项工程属于基因工程还是蛋白质工程?为什么?

提示:蛋白质工程;融合蛋白在自然界不存在。

探究 2.资料中的编码区位于基因中还是 mRNA 中?

提示:位于基因中。

探究 3.为什么蛋白质工程不是直接改造蛋白质而是通过基因改造或基因合成来完成?

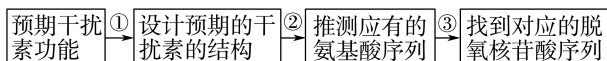
提示:①任何一种天然蛋白质都是由基因编码的,改造了基因即对蛋白质进行了改造,而且可以遗传下去。如果对蛋白质直接进行改造,即使改造成功,被改造的蛋白质无法遗传。②对基因进行改造比对蛋白质进行直接改造更容易操作,难度更小。

探究 4.蛋白质工程操作程序的基本思路与基因工程有什么不同?

提示:基因工程操作程序的基本思路遵循中心法则,从 DNA $\rightarrow$ mRNA $\rightarrow$ 多肽折叠形成蛋白质,基本上是生产出自然界中已有的蛋白质。蛋白质工程是按照相反的思路进行的,从预期蛋白质的功能出发 $\rightarrow$ 推测蛋白质应有的高级结构 $\rightarrow$ 设计蛋白质应具备的折叠状态 $\rightarrow$ 推测应有的氨基酸序列 $\rightarrow$ 找到并改变相对应的脱氧核苷酸序列,可以创造出自然界中不存在的蛋白质。

[评价活动]

1.下图是利用蛋白质工程生产保存时间更久的干扰素(一种糖蛋白)的核心流程,下列叙述正确的是()



- A.该过程得到的干扰素与自然界中的干扰素相同
- B.图中③过程得到的脱氧核苷酸序列往往是唯一的
- C.蛋白质工程的基础是蛋白质分子的结构规律及其与生物功能的关系
- D.蛋白质工程是通过对蛋白质的结构进行修饰或合成来操作的

C 解析:题图是利用蛋白质工程生产保存时间更久的干扰素,该过程得到的干扰素是经过改造的,与自然界中的干扰素不相同,A 错误;由于密码子的简并,题图中③过程得到的脱氧核苷酸序列往往不是唯一的,B 错误;结构决定功能,蛋白质工程的基础是蛋白质分子的结构规律及其与生物功能的关系,C 正确;蛋白质工程是通过对基因的结构进行修饰或合成来操作的,D 错误。

2.赖氨酸是人体八大必需氨基酸之一,能促进人体发育、增强免疫功能,并有提高中枢神经组织功能的作用。某农科所科研人员欲通过将玉米中的某种蛋白酶改造成“M 酶”,从而大幅提高玉米种子中赖氨酸的含量,由此获得高赖氨酸玉米新品种。请回答下列相关问题:

(1)科研人员先从“提高玉米种子中赖氨酸的含量”这一功能出发,预期构建出_____的结构,

再推测出相对应目的基因的_____序列,最终合成“M 酶”基因。

(2)科研人员获得“M 酶”基因后,常利用_____技术在体外将其大量扩增,此过程需要一种特殊的酶是_____。

(3)“M 酶”基因只有插入_____中,才能确保“M 酶”基因在玉米细胞中稳定遗传。科研人员将“M 酶”基因导入玉米细胞中需要借助_____的运输。

(4)依据_____原理,可将含有“M 酶”基因的玉米细胞培育成转“M 酶”基因的玉米植株。为了确保育种成功,科研人员需要通过_____,从个体水平加以鉴定。

解析:(1)根据题干信息,某农科所科研人员欲通过将玉米某种蛋白酶改造成“M 酶”,则应该利用蛋白质工程,先预期构建出“M 酶”(蛋白质)的结构,再推测出相对应目的基因的脱氧核苷酸序列,最终合成“M 酶”基因。(2)基因工程中,获取的目的基因一般利用 PCR 技术进行扩增,该过程中需要耐高温的 DNA 聚合酶的催化。(3)要想确保“M 酶”基因在玉米细胞中稳定遗传,必须将“M 酶”基因插入玉米细胞的染色体 DNA 中;将“M 酶”基因(目的基因)导入玉米细胞中需要借助(基因表达)载体的运输。(4)依据植物细胞的全能性原理,可将含有“M 酶”基因的玉米细胞培育成转“M 酶”基因的玉米植株。科研人员需要通过测定玉米种子中赖氨酸的含量,从个体水平加以鉴定,以确保育种成功。

答案:(1)“M 酶” 脱氧核苷酸 (2)PCR 耐高温的 DNA 聚合酶 (3)玉米细胞的染色体 DNA (基因表达)载体 (4)植物细胞具有全能性 测定玉米种子中赖氨酸的含量

任务总结

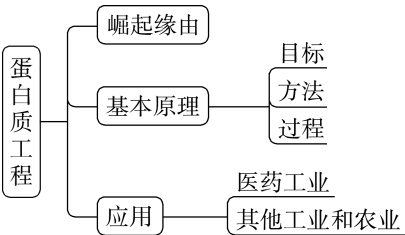
(1)蛋白质工程与基因工程的区别和联系

项目		蛋白质工程	基因工程
区别	过程	从预期的蛋白质功能出发→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	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
	实质	定向改造基因,生产人类所需的蛋白质	定向改造生物的遗传特性,以获得人类所需的生物类型或生物产品
	结果	可生产自然界没有的蛋白质	只能生产自然界已有的蛋白质
联系		①蛋白质工程是在基因工程的基础上延伸出来的第二代基因工程; ②基因工程中所利用的某些酶需要通过蛋白质工程进行修饰、改造	

(2)蛋白质工程的优点

- ①提高蛋白质的热稳定性;
- ②改变蛋白质的活性,延长作用时间;
- ③提高蛋白质的效能。

► 提质归纳



课后素养评价(十五)

基础性·能力运用

知识点 1 蛋白质工程的基本原理

- 1.下列有关蛋白质工程及其应用的叙述,正确的是 ()
- A.蛋白质工程能定向改造蛋白质分子结构,使之更加符合人类需要
- B.蛋白质工程的实质是通过改变氨基酸的结构改变蛋白质的功能

- C.蛋白质工程技术中的操作对象可以是蛋白质或控制蛋白质合成的基因
- D.当前限制蛋白质工程发展的关键因素是基因工程技术还不成熟

A 解析:蛋白质工程能通过基因修饰或基因合成,定向对现有蛋白质分子的结构进行改造,使之更加符合人类需要,A 正确;蛋白质工程是在基因工程

的基础上发展起来的,蛋白质工程最终还是要通过基因修饰或基因合成来完成,不能直接改造蛋白质,B、C错误;当前限制蛋白质工程发展的关键因素是对蛋白质的高级结构了解不够,D错误。

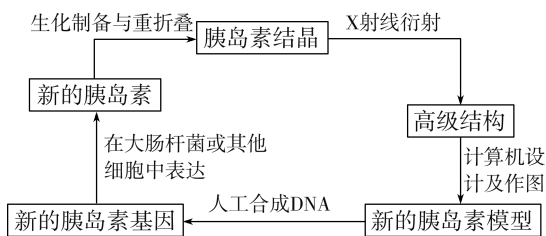
- 2.人们发现蛛丝蛋白比蚕丝蛋白更细,但强度却更大,于是有人试图通过破解蛛丝蛋白的结构推出其基因结构,进而指导对蚕丝蛋白基因的编辑,让蚕也能吐出像蛛丝一样坚韧的丝。此过程涉及的生物工程名称和依据的原理分别是 ()

A.基因工程、DNA→RNA→蛋白质
B.蛋白质工程、DNA→RNA→蛋白质
C.基因工程、蛋白质→DNA→RNA→蛋白质
D.蛋白质工程、蛋白质→RNA→DNA→RNA→蛋白质

D 解析:通过改造基因来实现对蛋白质(蛛丝蛋白)的改造,属于蛋白质工程;根据题干信息“通过破解蛛丝蛋白的结构推出其基因结构,进而指导对蚕丝蛋白基因的编辑,让蚕也能吐出像蛛丝一样坚韧的丝”可知,该工程依据的原理是蛋白质→RNA→DNA→RNA→蛋白质,D正确。

知识点2 蛋白质工程的应用

- 3.胰岛素容易形成二聚体或六聚体,治疗糖尿病的效果会受到影响,科研人员用蛋白质工程设计生产速效胰岛素的过程如下图。下列说法错误的是 ()



- A.蛋白质工程的基本思路与中心法则是相同的
B.蛋白质的高级结构十分复杂,实施蛋白质工程的难度很大
C.能得到速效胰岛素,根本原因是改变了胰岛素基因的碱基序列
D.上述过程以蛋白质分子的结构规律及其与生物功能的关系为基础

A 解析:蛋白质工程的基本流程是根据中心法则逆推以确定目的基因的碱基序列,与中心法则中信息的流向不同,A错误;多数蛋白质除具有一级结构(即氨基酸顺序)外,还具有复杂的高级结构,即空间结构,而很多蛋白质的空间结构是人们目前还不清楚的,因此实施蛋白质工程的难度很大,B正确;利用蛋白质工程设计生产速效胰岛素,最终还

是回到基因工程上来解决蛋白质的合成,即从根本上改变了胰岛素基因的碱基序列,C正确;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,D正确。

- 4.干扰素可以用于治疗病毒感染和癌症,但在体外保存相当困难。如果将其分子上的一个半胱氨酸变成丝氨酸,那么在一定条件下可以延长保存时间,这需要利用蛋白质工程来完成。请回答下列问题:

(1)天然蛋白质的合成过程是按照_____进行的,而蛋白质工程与之相反。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_____,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要。

(2)若将干扰素分子的一个半胱氨酸变成丝氨酸,推测相应的脱氧核苷酸序列_____(填“是”或“不是”)唯一的。可利用PCR技术扩增相应基因,该技术的前提是要有一段_____,以便根据这一序列合成引物。

(3)科学家在基因工程和蛋白质工程中常用大肠杆菌作为受体细胞,原因是_____(答出两点即可)。大肠杆菌常用的转化方法是首先用_____处理,使细胞处于一种能吸收周围环境中_____的生理状态,再与重组表达载体溶于缓冲溶液中完成转化。

(4)干扰素基因是否翻译出蛋白质,可用_____ (填物质)进行检测。

解析:(1)天然蛋白质的合成过程是按照中心法则进行的,而蛋白质工程与之相反。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要。(2)若将干扰素分子的一个半胱氨酸变成丝氨酸,由于密码子的简并,推测相应的脱氧核苷酸序列不是唯一的。可利用PCR技术扩增相应基因,该技术的前提是要有一段已知目的基因的核苷酸序列,以便根据这一序列合成引物。(3)科学家在基因工程和蛋白质工程中常用大肠杆菌作为受体细胞,原因是大肠杆菌繁殖快、为单细胞、遗传物质相对较少。大肠杆菌常用的转化方法是首先用 Ca^{2+} 处理,使细胞处于一种能吸收周围环境中DNA分子的生理状态,再与重组表达载体溶于缓冲溶液中完成转化。(4)干扰素基因是否翻译出蛋

白质,可用(干扰素)抗体进行检测。
答案:(1)中心法则 改造或合成基因 (2)不是
已知目的基因的核苷酸序列 (3)大肠杆菌繁殖

快、为单细胞、遗传物质相对较少 Ca^{2+} DNA 分子 (4)(干扰素)抗体

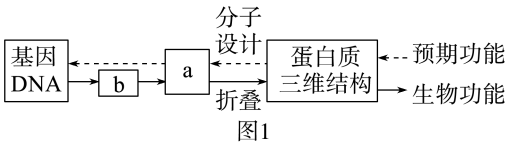
综合性·创新提升

5.糖尿病是近年来高发的“富贵病”,常见类型有遗传型糖尿病和 2 型糖尿病。遗传型糖尿病的主要病因之一是胰岛受损。科研机构设计了如下治疗方案:取糖尿病患者的细胞,将人的正常胰岛素基因导入其中,然后进行细胞培养,诱导形成胰岛组织,重新植入患者的胰岛,使胰岛恢复功能。2 型糖尿病需要注射胰岛素治疗。目前临床常用的胰岛素制剂注射 120 min 后才能进入效用高峰期,与人体生理状态下分泌的胰岛素存在效用时间差。科研人员通过一定的工程技术手段,将胰岛素 B 链的 28 号和 29 号氨基酸互换,获得了速效胰岛素,已通过临床试验。

请据以上材料回答下列问题:

- (1)对遗传型糖尿病进行治疗的方案中,胰岛素基因称为 _____,实验室中要先对该基因利用 _____ 技术进行扩增。将该基因导入正常细胞所用的方法是 _____。
- (2)对遗传型糖尿病患者进行治疗的基因工程步骤中的核心步骤是 _____。
- (3)科研人员利用蛋白质工程合成速效胰岛素,该技术的实验流程如下:

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:

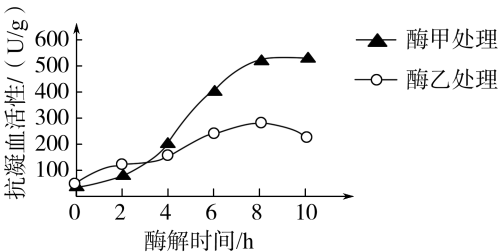
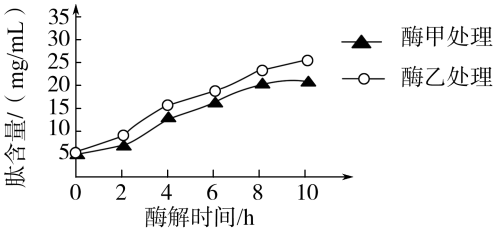


- (1)蛋白质工程流程如图 1 所示,物质 a 是 _____,物质 b 是 _____。在生产过程中,物质 b 可能不同,合成的蛋白质空间构象却相同,原因是 _____。

- (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 2 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 _____。



其中,流程 A 是 _____,流程 B 是 _____。

解析:(1)根据题意,胰岛素基因是目的基因,在体外条件下可利用 PCR 技术对其进行扩增,在基因工程中将目的基因导入动物细胞的常用方法是显微注射法。(2)基因工程操作的核心步骤是基因表达载体的构建。(3)根据蛋白质工程的流程示意图,可知流程 A 是根据预期蛋白质的功能设计蛋白质的三维结构,然后推测应有的氨基酸序列,最后找到对应的脱氧核苷酸序列。

答案:(1)目的基因 PCR 显微注射法 (2)基因表达载体的构建 (3)预期蛋白质的功能 氨基酸序列

6.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

- (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,请简要写出实验设计思路: _____。

解析:(1)据题图分析可知,物质 a 是氨基酸序列(多肽链),物质 b 是 mRNA。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,原因是密码子的简并,即一种氨基酸可能对应不同的密码子。(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从基因文库中获取目的基因、通过 DNA 合成仪用化学方法直接人工合成和利用 PCR 技术扩增。PCR 技术遵循的基本原理是 DNA 半保留复制。(3)将提取的水蛭蛋白经甲、乙两种蛋白酶水解后,据图可知,水解产物中的肽含量随着酶解时间的延长均上升,且差别不大;而水解产物中抗凝血活性有差异,经酶甲处理后,随着酶解时间的延长,抗凝血活性先上升后相对稳定,经酶乙处理后,随着酶解时间的延长,抗凝血活性先上升后下降,且经酶甲处理后的酶解产物的抗凝血活性最终高于经酶乙处理后的酶解产物的抗凝血活性,差异明显,据此推测两种处理后酶解产物的抗凝血活性差异主要与肽的种类有关,导致其活性不同的原因是提取的水蛭蛋白的酶解时间和酶的种类不同,导致水蛭蛋白空间结构有不同

程度破坏。(4)若要比较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,实验设计思路:取 3 支试管,编号为 1、2、3,分别加入等量的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;酒精消毒,用注射器取同一种动物(如家兔)血液,立即将等量的血液加入 1、2、3 号三支试管中,静置,统计三支试管中血液凝固时间。

答案:(1)氨基酸序列(多肽链) mRNA 密码子的简并 (2)从基因文库中获取目的基因 通过 DNA 合成仪用化学方法直接人工合成 DNA 半保留复制 (3)种类 提取的水蛭蛋白的酶解时间和处理的酶的种类不同,导致水蛭蛋白空间结构有不同程度破坏 (4)取 3 支试管,编号为 1、2、3,分别加入等量的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;酒精消毒,用注射器取同一种动物(如家兔)血液,立即将等量的血液加入 1、2、3 号三支试管中,静置,统计三支试管中血液凝固时间

第 3 章质量评估

(时间:90 分钟,分值:100 分)

第 I 卷(共 40 分)

一、选择题(本题共 20 小题,每小题 2 分,共 40 分)

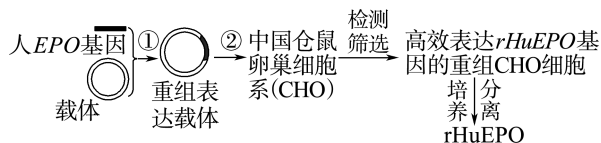
1.下列有关基因工程技术的叙述,正确的是 ()

- A.基因工程是在细胞水平上进行设计和操作的
- B.所有的限制酶都只能识别同一种特定的核苷酸序列
- C.选用细菌作为重组质粒受体细胞是因为质粒易进入细菌细胞且繁殖快
- D.只要目的基因进入受体细胞就能成功实现表达

C 解析:基因工程是在分子水平上进行设计和操作的,A 错误;一种限制酶只能识别一种特定的核苷酸序列,即具有特异性,B 错误;选用细菌作为重组质粒的受体细胞是因为细菌繁殖快,并且遗传物质少,C 正确;目的基因进入受体细胞不一定能成功实现表达,D 错误。

2.促红细胞生成素(EPO)是一种体内促进红细胞生成的激素,EPO 生成不足,可引发肾性贫血等疾病。

由于天然 EPO 来源极为有限,目前临床使用的促红细胞生成素主要来自基因工程技术生产的重组人促红细胞生成素(rHuEPO)。其简要生产流程如图,下列相关叙述正确的是 ()



- A.过程①用到的工具酶有 DNA 聚合酶、限制酶和 DNA 连接酶
- B.构建的重组表达载体中终止子的作用是终止翻译过程
- C.检测重组细胞是否表达出 rHuEPO 常用抗原—抗体杂交技术
- D.用乳腺生物反应器生产 EPO 可将人 EPO 基因直接导入哺乳动物体细胞

C 解析:过程①为构建基因表达载体,需用限制酶切割目的基因和载体,并用 DNA 连接酶连接,该过

程无须 DNA 聚合酶参与, A 错误;终止子的作用是终止转录过程, B 错误;检测重组细胞是否表达出 rHuEPO, 可利用抗原—抗体特异性结合的原理, 采用抗原—抗体杂交技术检测, C 正确;采用细胞培养生产 EPO 成本比较高, 可以采用乳腺生物反应器, 将基因表达载体转入雌性哺乳动物受精卵中, 使 EPO 基因在转基因动物的乳腺细胞中表达, 通过分泌的乳汁来生产 EPO, D 错误。

3. 利用乳腺生物反应器生产药用蛋白是动物基因工程的重要应用, 目前科学家已在牛和山羊等动物乳腺生物反应器中获得了抗凝血酶、血清白蛋白、生长激素和 α -抗胰蛋白酶等医药产品。下列有关乳腺生物反应器的叙述错误的是 ()

- A. 受体细胞可选用受精卵或体细胞
- B. 获得转基因动物还需利用其他生物工程技术
- C. 通过 PCR 等技术检测药用蛋白基因是否导入受体细胞
- D. 转基因动物产生的生殖细胞可能含有药用蛋白基因

A 解析: 培育转基因动物, 受体细胞一般选用受精卵, 不能用体细胞, 因为目前技术还未能将体细胞培育成完整个体, A 错误; 目的基因导入受精卵后发育为早期胚胎, 要用胚胎移植技术移植入子宫发育为转基因动物, B 正确; 通过 PCR 等技术检测目的基因是否成功插入受体细胞染色体 DNA, C 正确; 转基因动物体细胞含有目的基因, 故形成的配子可能含目的基因, D 正确。

4. 在受体细胞中能检测出目的基因是因为 ()

- A. 目的基因上有标记基因
- B. 质粒具有某些特定基因
- C. 重组质粒能够复制
- D. 以上都不正确

B 解析: 检测目的基因是否导入受体细胞, 一般依据表达载体上的标记基因, 如抗生素抗性基因, 可以通过检测受体细胞或生物是否具有标记基因控制的性状来确定受体细胞中是否导入了表达载体。

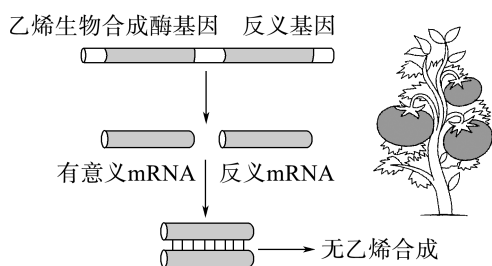
5. 若某种限制性内切核酸酶的识别序列是 $-CCTAGG-$
 $-GGATCC-$, 它在 A 和 G 之间切断 DNA。下图表示用该酶处理某链状基因后产生的片段。下列有

关叙述正确的是 ()

- A. 该正常基因中有 4 个 $-CCTAGG-$
 $-GGATCC-$ 序列
- B. 产生的 DNA 片段可用 DNA 连接酶连接起来
- C. 用该酶处理得到图示基因片段要水解 3 个磷酸二酯键
- D. 若该基因某处有一个 CCTAGG 突变为 CCTAGC, 用该酶处理后将产生 5 个片段

B 解析: 由题图可知, 该基因经酶切后形成 4 个 DNA 片段, 因此该正常基因中有 3 个 $-CCTAGG-$
 $-GGATCC-$ 序列, A 错误; 产生的 DNA 片段可用 DNA 连接酶连接起来, B 正确; DNA 分子是两条链, 用限制性内切核酸酶处理得到题图所示基因片段要水解 6 个磷酸二酯键, C 错误; 若该基因某处有一个 CCTAGG 突变为 CCTAGC, 则该链状基因仅剩 2 个限制酶的识别序列, 对应 2 个切割位点, 用该酶处理后将产生 3 个片段, D 错误。

6. 乙烯生物合成酶基因可以控制乙烯的合成, 科学家将该基因的反义基因导入番茄细胞内, 培育转基因延熟番茄, 下列说法错误的是 ()



- A. 形成转基因番茄的过程发生的变异属于基因重组
- B. 乙烯是乙烯生物合成酶基因表达的产物, 可促进果实成熟
- C. 乙烯生物合成酶基因模板链序列与反义基因模板链序列互补
- D. 转基因番茄中乙烯生物合成酶的 mRNA 不能与核糖体结合无法进行翻译

B 解析: 形成转基因番茄的过程为基因工程技术, 其原理为基因重组, A 正确; 乙烯生物合成酶基因的表达产物是乙烯生物合成酶, 不是乙烯, B 错误; 乙烯生物合成酶基因的模板链的序列与反义基因的模板链序列是互补的, 因此这两种基因转录形成的 mRNA 也是互补的, C 正确; 因为 mRNA 形成

双链后无法与核糖体结合进而无法进行翻译,所以无乙烯生物合成酶生成,转基因番茄能够延熟,D正确。

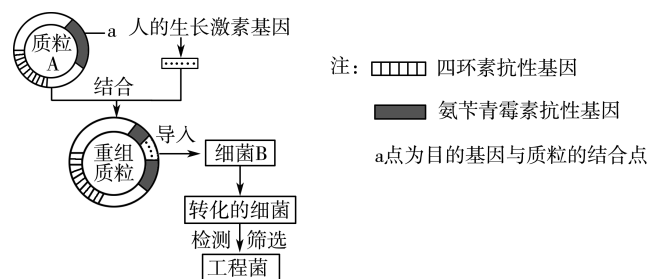
7. 基因工程在 DNA 分子水平进行设计施工,在基因操作的以下步骤中,不进行碱基互补配对的是

- ()
- ①人工合成目的基因
 - ②*E.coli* DNA 连接酶连接目的基因与载体
 - ③将目的基因导入受体细胞
 - ④目的基因的检测和鉴定
 - ⑤个体生物学水平的鉴定

- A. ①③ B. ③⑤
C. ①⑤ D. ②③④

B 解析:人工合成目的基因需要进行碱基互补配对,①不符合题意;*E.coli* DNA 连接酶将具有黏性末端的 DNA 片段连接起来,故用其连接目的基因与载体时,需要进行碱基互补配对,②不符合题意;将目的基因导入受体细胞时,不进行碱基互补配对,③符合题意;检测目的基因时需要用到 PCR 等技术,需要进行碱基互补配对,④不符合题意;个体生物学水平的鉴定是从个体水平鉴定的,不进行碱基互补配对,⑤符合题意。故选 B。

8. 下图是将人的生长激素基因导入细菌 B 细胞内制备“工程菌”的示意图。已知细菌 B 细胞内不含质粒 A,也不含质粒 A 上的基因。下列说法正确的是



- A. 将重组质粒导入细菌 B 常用的方法是显微注射法
- B. 将完成导入过程后的细菌涂布在含有氨苄青霉素的培养基上,能生长的只有导入了重组质粒的细菌
- C. 将完成导入过程后的细菌涂布在含有四环素的培养基上,能生长的只有导入了质粒 A 的细菌
- D. 目的基因成功表达的标志是受体细胞能产生人的生长激素

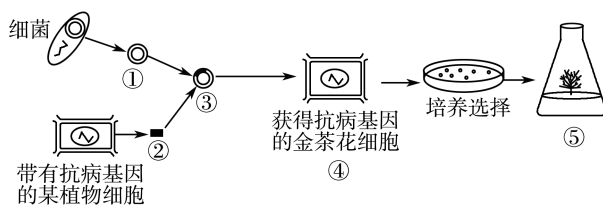
D 解析:将重组质粒导入细菌 B 细胞,常用 Ca^{2+} 处理细胞,使之能够吸收重组质粒,A 错误。根据题意,细菌 B 不含质粒 A 及其上的基因,即没有氨苄青霉素抗性基因和四环素抗性基因;质粒含四环素抗性基因和氨苄青霉素抗性基因;构建重组质粒时氨苄青霉素抗性基因被破坏,四环素抗性基因保留,故完成导入过程后,在含氨苄青霉素的培养基上能生长的只有导入了质粒 A 的细菌,B 错误。同理,如果将完成导入过程后的细菌涂布在含四环素的培养基上,能生长的是导入了重组质粒的细菌和导入了质粒 A 的细菌,C 错误。目的基因成功表达的标志是受体细胞能产生人的生长激素,D 正确。

9. 下列关于利用洋葱进行“DNA 的粗提取与鉴定”实验的叙述,正确的是

- ()
- A. 将研磨液加入切碎的洋葱中,充分研磨后过滤,要弃去上清液
 - B. 采用体积分数为 95% 的酒精溶液析出 DNA 的方法可去除部分杂质
 - C. 用塑料离心管是因为用玻璃离心管容易破损
 - D. 将白色丝状物溶解在 NaCl 溶液中,加入二苯胺试剂后振荡,观察颜色变化

B 解析:将研磨液加入切碎的洋葱,充分研磨后过滤,弃去沉淀物,收集上清液,A 错误;DNA 不溶于酒精溶液,但细胞中的某些蛋白质溶于酒精,利用这一原理可将 DNA 与蛋白质进一步分离,进行 DNA 的粗提取,B 正确;用塑料离心管可减少提取过程中 DNA 的损失,C 错误;将白色丝状物溶解在 NaCl 溶液中,加入二苯胺试剂混合均匀后沸水加热 5 min,冷却后观察颜色变化,D 错误。

10. 金茶花是我国特有的观赏品种,但容易得枯萎病。科学家在某种植物中找到了抗枯萎病基因,通过下图所示的方法培育出了抗枯萎病的金茶花新品种。下列相关叙述中,正确的是



- A. 图中①②在基因工程中分别为基因表达载体、目的基因
- B. 通过该方法获得的抗枯萎病金茶花,将来产生的花粉中都有抗病基因

C.由④培育至⑤过程中,依次经历了脱分化、再分化过程

D.在⑤幼苗中检测到抗枯萎病基因标志着成功培育出金茶花新品种

C 解析:题图中①②分别为载体(质粒)、目的基因,A 错误;花粉是生殖细胞,只含有体细胞一半的染色体,可能不含抗病基因,B 错误;由④培育至⑤的过程为植物组织培养,包括脱分化和再分化过程,C 正确;⑤幼苗具有抗枯萎病的性状标志着成功培育出金茶花新品种,D 错误。

11.有些膀胱上皮细胞可以产生一种称为尿血小板溶素的膜蛋白。科学家将人的生长激素基因插入小鼠基因组内制成膀胱生物反应器,使小鼠膀胱可以合成人的生长激素,并分泌到尿液中。下列说法正确的是 ()

A.利用膀胱生物反应器生产人的生长激素属于蛋白质工程的应用

B.需要将尿血小板溶素基因与生长激素基因的启动子重组在一起

C.需用显微注射法将基因表达载体导入膀胱上皮细胞

D.只在小鼠细胞中检测到人的生长激素基因,不能说明该技术已获得成功

D 解析:据题干分析可知,利用膀胱生物反应器生产人的生长激素,属于基因工程的应用,A 错误;在研制膀胱生物反应器时,应使外源基因在小鼠的膀胱上皮细胞中特异表达,故应将人的生长激素基因和尿血小板溶素基因的启动子等调控组件重组在一起,B 错误;需用显微注射法将基因表达载体导入小鼠的受精卵中,C 错误;只在小鼠细胞中检测到人的生长激素基因,不能说明该技术已获得成功,若要证明该技术成功,则需要检测到成功表达的生长激素,可通过抗原—抗体杂交技术进行检测,D 正确。

12.利用基因工程的方法,将乙肝病毒的抗原基因转移到大肠杆菌细胞内,就可以大量生产重组乙肝疫苗。下列有关该技术的说法中,正确的是 ()

A.达到了定向改造细菌的目的

B.需要用到两种操作工具

C.不存在基因扩散的安全风险

D.重组乙肝疫苗就是失活的乙肝病毒

A 解析:按照人类的意愿定向改造了大肠杆菌,A 正确;基因工程需要三种工具:限制酶、DNA 连接酶、载体,B 错误;转基因大肠杆菌可能将目的基因转移到其他微生物,有基因扩散的安全风险,C 错误;重组乙肝疫苗,就是利用基因工程技术制造出乙肝表面抗原,然后加入相应的辅助剂,制成乙肝疫苗,重组乙肝疫苗不是失活的乙肝病毒,D 错误。

13.我国转基因技术发展态势良好,发放了转植酸酶基因玉米和转基因抗虫水稻的生产安全证书,下列关于转基因玉米和转基因水稻的叙述中,不正确的是 ()

A.转植酸酶基因玉米的外源基因是植酸酶基因

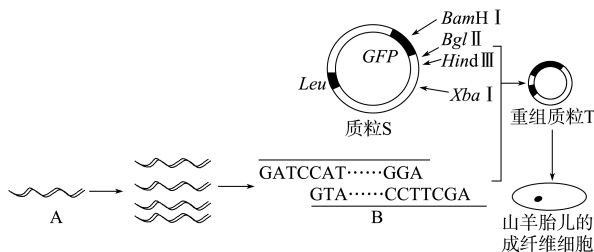
B.转基因抗虫水稻减少了化学农药的使用,减少了环境污染

C.转基因抗虫水稻是否具有抗虫性,可通过饲养卷叶螟进行检测

D.转基因抗虫水稻不仅可以抗虫,还可以抵御病毒侵染

D 解析:转植酸酶基因玉米的外源基因是植酸酶基因,A 正确;转基因抗虫水稻自身具有抗虫能力,因此可以减少化学农药的使用,减少了环境污染,B 正确;转基因抗虫水稻是否具有抗虫性,可通过饲养卷叶螟进行检测,若卷叶螟大量死亡,说明转基因水稻具有抗虫性,C 正确;转基因抗虫水稻虽然具有抗虫能力,但是不能抵御病毒侵染,D 错误。

14.科学家拟培育转人溶菌酶基因山羊以大规模生产人溶菌酶(从乳汁中提取),部分过程如图所示。质粒S中的标记基因 *Leu* 控制合成亮氨酸,标记基因 *GFP* 控制合成绿色荧光蛋白;四种限制酶的识别序列及酶切位点见下表。



限制酶	<i>Bam</i> H I	<i>Bgl</i> II	<i>Hind</i> III	<i>Xba</i> I
识别序列和酶切位点	—G [↓] GATCC	—A [↓] GATCT	—A [↓] AGCTT	—T [↓] CTAGA

- 依据题目信息，下列能成功筛选出含重组质粒 T 的成纤维细胞的是 ()
- A. 培养基中不加亮氨酸，培养一段时间后观察，细胞不显示出绿色荧光
- B. 培养基中加入亮氨酸，培养一段时间后观察，细胞不显示出绿色荧光
- C. 培养基中加入亮氨酸，培养一段时间后观察，细胞显示出绿色荧光
- D. 培养基中不加亮氨酸，培养一段时间后观察，细胞显示出绿色荧光
- A 解析：**由题图物质 B 两端的黏性末端可知，其由限制酶 *Bam* H I、*Hind* III 切割后形成。用限制酶 *Bam* H I、*Hind* III 切割质粒 S，与目的基因连接形成的重组质粒 T 含有标记基因 *Leu*，但 *Bam* H I 将 *GFP* 基因切割开，使得该基因失去遗传效应，而标记基因 *Leu* 控制合成亮氨酸。故培养基中不加亮氨酸，培养一段时间后观察，细胞不显示出绿色荧光的成纤维细胞是含有重组质粒 T 的细胞，B、C、D 错误，A 正确。
15. 科学家将含人的 α -抗胰蛋白酶基因的 DNA 片段注射到羊的受精卵中，该受精卵发育的羊能分泌含 α -抗胰蛋白酶的乳汁，这一过程没有涉及下列哪一项？ ()
- A. DNA 按碱基互补配对原则进行自我复制
- B. DNA 以其一条链为模板合成 RNA
- C. RNA 以自身为模板自我复制
- D. 按照 RNA 中密码子的排序合成蛋白质
- C 解析：**外源基因导入羊的受精卵中，在乳腺细胞中表达，这一过程中有细胞分裂，即进行了 DNA 的复制，A 不符合题意；在羊的乳汁中有 α -抗胰蛋白酶，说明外源基因完成了表达，也就是发生了转录和翻译两个过程，B、D 不符合题意；RNA 的自我复制只发生在某些病毒侵染的细胞中，C 符合题意。
16. 番茄营养丰富，是人们喜爱的一种蔬菜。普通番茄细胞中含有多聚半乳糖醛酸酶的控制基因，控制细胞产生多聚半乳糖醛酸酶，该酶能破坏细胞壁，使番茄软化，不耐储藏。科学家通过基因工程

- 将一种抗多聚半乳糖醛酸酶的基因导入番茄细胞，获得了抗软化番茄。下列关于培育抗软化番茄的叙述错误的是 ()
- A. 运载工具可以是质粒
- B. 受体细胞是番茄细胞
- C. 目的基因为多聚半乳糖醛酸酶基因
- D. 目的基因的表达延缓了番茄的软化
- C 解析：**根据题干信息可知，运载工具可以是 Ti 质粒，则抗软化番茄的培育过程为以 Ti 质粒作为载体，将目的基因（抗多聚半乳糖醛酸酶基因）与 Ti 质粒结合形成重组 DNA，利用含重组 DNA 的农杆菌去感染普通番茄，使目的基因整合到普通番茄细胞中的染色体 DNA 上，番茄细胞经组织培养获得抗软化番茄，A、B 正确，C 错误；目的基因的表达可抑制多聚半乳糖醛酸酶的作用，延缓了番茄的软化，D 正确。
17. 下列有关基因工程和蛋白质工程的叙述中，错误的是 ()
- A. 将基因表达载体导入小鼠的受精卵中常用显微注射法
- B. 设计扩增目的基因的引物时，不必考虑表达载体的序列
- C. 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，或制造一种新蛋白质的技术
- D. 蛋白质工程可合成自然界中不存在的蛋白质
- B 解析：**将基因表达载体导入小鼠的受精卵中常用显微注射法，A 正确；设计扩增目的基因的引物时要考虑表达载体的相关序列，从而保证目的基因与表达载体相连接及正常表达，B 错误；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，来改造现有的蛋白质，或制造一种新的蛋白质的技术，C 正确；通过蛋白质工程可合成自然界中不存在的蛋白质，D 正确。
18. 下图表示转基因动植物的培育过程。据图分析，下列有关叙述正确的是 ()
- 目的基因

①

受体细胞A

②

转基因绵羊

受体细胞B

③

转基因抗虫棉
- A. 在获取目的基因的过程中，需要使用限制酶和 DNA 连接酶等工具酶
- B. 受体细胞 A、B 一定均为受精卵

- C.将目的基因导入受体细胞 A 常用显微注射技术
D.将目的基因导入受体细胞 B 常使用大肠杆菌作为工具去侵染植物细胞

C 解析:在获取目的基因的过程中,不需要使用DNA连接酶,A 错误;基因工程的植物受体细胞一般是体细胞,而动物受体细胞一般为受精卵,B 错误;将目的基因导入动物细胞常用显微注射技术,C 正确;将目的基因导入植物细胞时常使用农杆菌作为工具去侵染植物细胞,D 错误。

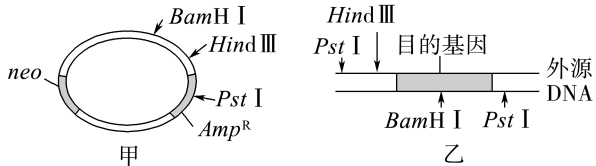
- 19.某研究小组为了研制预防禽流感病毒的疫苗,开展了前期研究工作。其简要的操作流程如下图。下列叙述错误的是 ()



- A.步骤①所代表的过程是逆转录
B.步骤③可用 CaCl_2 处理大肠杆菌,制备感受态细胞
C.检验 Q 蛋白是否生成,可用禽流感康复的鸡的血清进行抗原—抗体反应实验
D.可以在培养基中直接培养禽流感病毒

D 解析:分析题图可知,步骤①为由 RNA 获得 DNA,方法是逆转录法,A 正确;步骤③为把目的基因导入受体细胞,可用 CaCl_2 处理大肠杆菌,获得感受态细胞,B 正确;检验 Q 蛋白的合成,可以采用抗原—抗体杂交的方法检测,C 正确;禽流感病毒不具有细胞结构,必须寄生在活细胞内才能生活,不能在培养基中直接培养,D 错误。

- 20.图甲、乙中的箭头表示三种限制性内切核酸酶的切割位点, Amp^R 表示氨苄青霉素抗性基因, neo^R 表示新霉素抗性基因。下列叙述正确的是 ()



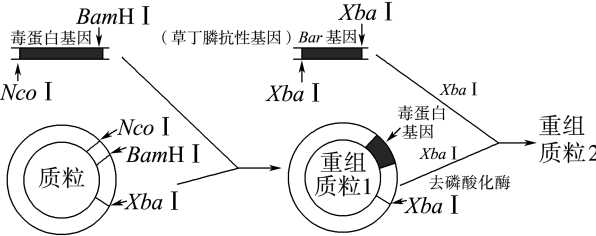
- A.图甲中的质粒用 BamH I 切割后,有 1 个游离的磷酸基团
B.在构建重组质粒时,可用 Pst I 和 BamH I 切割质粒和外源 DNA
C.导入目的基因的大肠杆菌可在含氨苄青霉素的培养基中生长
D.用 Pst I 和 Hind III 切割,可以保证重组 DNA 序列的唯一性

D 解析:图甲中的质粒用 BamH I 切割后,会打开一个切口,有 2 个游离的磷酸基团,A 错误;在构建重组质粒时,不能用 BamH I 切割外源 DNA,因为 BamH I 会破坏目的基因,B 错误;获取目的基因时会用到 Pst I ,但质粒中该内切酶会破坏氨苄青霉素抗性基因,因此导入目的基因的大肠杆菌不能在含氨苄青霉素的培养基中生长,C 错误;用 Pst I 和 Hind III 切割,可以避免自身环化,保证重组 DNA 序列的唯一性,D 正确。

第 II 卷(共 60 分)

二、非选择题(本题共 5 小题,共 60 分)

- 21.(13 分) 白僵菌可感染农业害虫,常作为防治害虫的菌剂。由于白僵菌对除草剂草丁膦敏感且杀死害虫的能力较弱,科研人员对其进行基因工程改造,流程如图所示,回答下列问题:



(1)苏云金芽孢杆菌产生的毒蛋白,能有效杀死害虫。已知该基因的全部序列,科研人员可通过 _____ 法和 PCR 技术获得大量毒蛋白基因片段。据图分析,将毒蛋白基因和质粒连接获得重组质粒 1 的过程需要用到的工具酶是 _____。

(2)重组质粒 1 和 Bar 基因(草丁膦抗性基因)各自用 Xba I 酶处理,得到酶切片段。重组质粒 1 的酶切片段再用去磷酸化酶处理,使末端游离的磷酸基团脱离,目的是防止 _____。将未用去磷酸化酶处理的 Bar 基因与重组质粒 1 连接,获得重组质粒 2。获得的重组质粒 2 是下图中的 _____。



(3)将重组质粒 2 与处于感受态(一种能吸收周围环境中 DNA 分子的生理状态)的白僵菌菌液混合进行转化,重组质粒 2 在白僵菌细胞内被修复。一段时间后用含有 _____ 的平板培养基进行筛选,获得含有 Bar 基因的重组白僵菌。

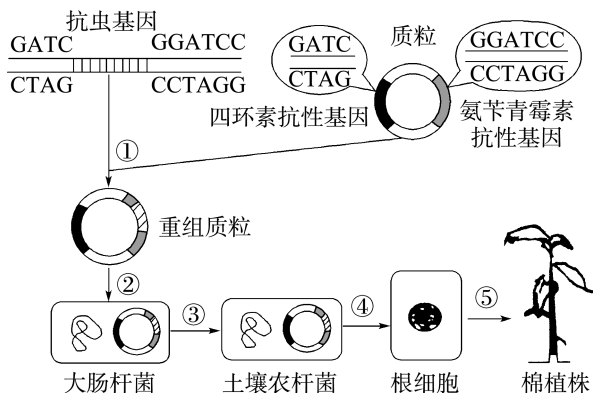
(4) 提取上述重组白僵菌全部 mRNA, 加入 _____ 酶, 获得 cDNA, 再加入毒蛋白基因引物进行 PCR 反应, 根据是否有相应产物生成判断毒蛋白基因在白僵菌体内是否完成 _____。

(5) 科研人员将重组白僵菌喷涂于植物叶片上, 以此饲喂饥饿处理的害虫, 记录单位时间内的 _____, 以判断重组白僵菌的杀虫效果。

解析: (1) 根据题意可知, 已知该基因的全部序列, 因此科研人员应通过人工合成 (或化学合成) 法和 PCR 技术获得大量毒蛋白基因片段。据图分析, 将毒蛋白基因和质粒连接获得重组质粒 1 的过程需要用到的工具酶是 *Nco* I、*Bam* H I 和 DNA 连接酶。(2) 利用同一种限制酶切割质粒和目的基因产生的黏性末端相同, 这样容易导致质粒和目的基因自身环化, 因此重组质粒 1 和 *Bar* 基因各自用 *Xba* I 酶处理, 得到酶切片段, 重组质粒 1 的酶切片段再用去磷酸化酶处理, 使末端游离的磷酸基团脱离, 目的是防止重组质粒 1 的酶切片段自身连接 (或相互连接)。*Bar* 基因未用去磷酸化酶处理, 则形成的黏性末端两端都存在游离的磷酸基团; 而重组质粒 1 利用了去磷酸化酶处理, 两端没有游离的磷酸基团, 因此将两者连接, 获得重组质粒 2 的两端都不能完全连接, 如图中的 C。(3) 将重组质粒 2 与处于感受态的白僵菌菌液混合进行转化, 重组质粒 2 在白僵菌细胞内被修复, 一段时间后用含有草丁腈的平板培养基进行筛选, 获得含有 *Bar* 基因 (草丁腈抗性基因) 的重组白僵菌。(4) 提取上述重组白僵菌全部 mRNA, 加入逆转录酶, 获得 cDNA, 由于 mRNA 是通过转录而来的, 其逆转录合成的 cDNA 也是特定的 DNA, 因此再加入毒蛋白基因引物进行 PCR 反应, 可以检测毒蛋白基因是否完成了转录。(5) 科研人员将重组白僵菌喷涂于植物叶片上, 以此饲喂饥饿处理的害虫, 记录单位时间内的害虫死亡数, 以判断重组白僵菌的杀虫效果。

答案: (1) 人工合成 (或化学合成) *Nco* I、*Bam* H I 和 DNA 连接酶 (或限制酶和 DNA 连接酶) (2) 重组质粒 1 的酶切片段自身连接 (或相互连接) C (3) 草丁腈 (4) 逆转录 转录 (5) 害虫死亡数

22. (12 分) 下图表示利用基因工程培育抗虫棉的过程, 请据图回答下列有关问题:



(1) 若限制性内切核酸酶 I 的识别序列和切割位点是 $\downarrow$ GATC $\rightarrow$, 限制性内切核酸酶 II 的识别序列和切割位点是 $\downarrow$ GATCC $\rightarrow$, 那么在 ① 过程中, 应用限制性内切核酸酶 _____ 切割质粒, 用限制性内切核酸酶 _____ 切割抗虫基因。① 过程在 _____ (填“体内”或“体外”) 进行。

(2) 将通过 ② 过程得到的大肠杆菌涂布在含有 _____ 的培养基上, 能够生长说明已导入了普通质粒或重组质粒, 反之则说明没有导入, 该培养基从功能方面看属于 _____ 培养基。

(3) 重组质粒导入大肠杆菌的目的是 _____。

(4) ⑤ 过程所用技术称为 _____, 从遗传学角度来看, ⑤ 过程能实现的根本原因是根细胞具有 _____。

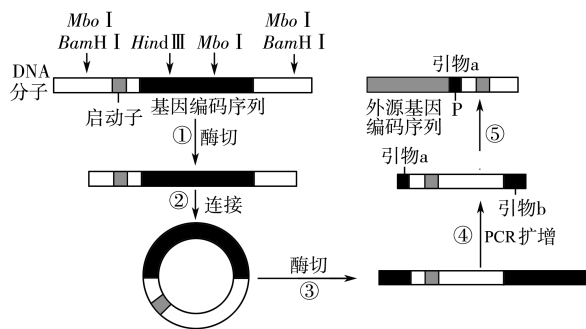
解析: (1) 由限制性内切核酸酶 I 和限制性内切核酸酶 II 的识别序列和切割位点可知, 限制性内切核酸酶 I 可以识别并切割限制性内切核酸酶 II 的切割位点, 而限制性内切核酸酶 II 不能识别并切割限制性内切核酸酶 I 的切割位点。故质粒用限制性内切核酸酶 II 切割, 保留四环素抗性基因, 目的基因用限制性内切核酸酶 I (或限制性内切核酸酶 I 和 II) 切割。① 为构建基因表达载体的过程, 该过程在体外进行。(2) 大肠杆菌导入普通质粒或重组质粒后, 含有正常的四环素抗性基因, 将其涂布在含有四环素的选择培养基上, 它能够正常生长。(3) 将目的基因导入大肠杆菌后, 目的基因可在大肠杆菌体内大量复制。(4) 根细胞中含有发育成完整个体所需的全套遗传物质, 故通过植物组织培养技术可将根细胞培养成一个完整植株。

答案: (1) II I (或 I 和 II) 体外 (2) 四环素

选择 (3)大量复制目的基因(抗虫基因)

(4)植物组织培养 发育成完整个体所需的全套遗传物质

23. (14 分)利用转基因奶牛乳腺生物反应器生产人的生长激素,需要构建一种能高水平表达的表达载体,选择合适的基因启动子至关重要。由于无法由基因表达产物推知启动子的碱基序列,运用 PCR 技术单独扩增启动子存在困难。科研人员经过长期研究,终于发明了下图所示的一种扩增启动子的方法。请回答下列问题:



(1)培育转基因奶牛时,需要在生长激素基因编码序列前插入_____的启动子;构建的基因表达载体导入动物受精卵常用_____技术。

(2)由基因表达产物无法推知启动子碱基序列,其原因是_____。

(3)过程①需选择的限制酶是_____,过程③需选择的限制酶是_____。过程④需要使用的工具酶是_____。

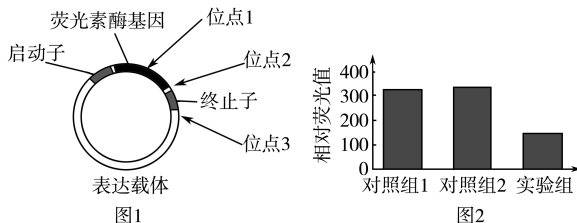
(4)过程④中可以根据编码序列两端的部分碱基序列设计_____进行扩增。运用 PCR 扩增 DNA 片的原理是_____,遵循的原则是_____。

解析:(1)培育乳腺生物反应器过程中,基因表达载体上一定要接入乳腺蛋白基因的启动子,以保证目的基因在乳腺上皮细胞中能够表达,从而实现“从乳汁中提取药物”的目标。(2)启动子位于目的基因的首端,是 RNA 聚合酶识别和结合的位点,启动转录但不参与转录过程。(3)在①酶切 DNA 分子后,分子变短,且目的基因编码序列(DNA 片段上的黑色区段)未被破坏,故应选择 *Bam*H I。在过程③酶切后,质粒变成一段 DNA 分子,说明只切割了一个部位,而且基因编码序列被破坏,只能选用 *Hind* III。同发生在细胞内的

DNA 复制不同,PCR 技术扩增 DNA 过程中需要的 DNA 聚合酶必须是耐高温的 DNA 聚合酶。(4)PCR 技术扩增目的基因要用到一对引物,这是根据已知的目的基因的两端核苷酸序列设计的。

答案:(1)乳腺蛋白基因 显微注射 (2)基因中启动子的碱基序列不能被转录 (3)*Bam*H I *Hind* III 耐高温的 DNA 聚合酶 (4)引物 DNA 半保留复制 碱基互补配对

24. (11 分) R-7 是家蚕体内的一种小分子非编码 RNA,可与某些 mRNA 尾端的一段非编码序列(3'-UTR)结合,进而影响基因的表达。为研究 R-7 是否影响家蚕基因 B(调控家蚕眼睛发育)的表达,科研人员将基因 B 中对应 3'-UTR 的 DNA 片段与荧光素酶基因(R-7 不影响荧光素酶基因的表达)重组后导入家蚕胚胎细胞观察其表达结果。请回答下列问题:



(1)利用 PCR 技术扩增基因 B 中对应 3'-UTR 的 DNA 片段,应先依据该基因的一段核苷酸序列合成相应的_____。

(2)利用_____酶可将上述 DNA 片段插入荧光素酶基因表达载体(如图 1 所示)上的位点_____,构建重组载体。

(3)将重组载体与 R-7 共同导入家蚕胚胎细胞,同时应设置两个对照组,即将荧光素酶基因表达载体、_____分别导入两组家蚕胚胎细胞。

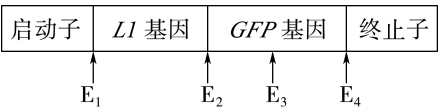
(4)科研人员分别从实验组和对照组细胞中提取_____,经处理检测后获得相对荧光值(在适宜条件下,荧光素酶可催化荧光素发生氧化反应并发出荧光),其结果如图 2 所示。依据实验结果可推断,R-7 影响基因 B 的表达,即通过遵循_____原则,R-7 与基因 B 所转录的 mRNA 的 3'-UTR 结合,进而_____ (填“促进”或“抑制”)基因 B 的表达。

解析:(1)利用 PCR 技术扩增基因 B 中对应 3'-UTR 的 DNA 片段,应依据该基因的一段核苷酸序列先合成引物,使游离的脱氧核苷酸在引物牵引下,按照碱基互补配对原则合成子链。(2)基

因工程的“分子手术刀”是限制酶,用限制酶切割载体和目的基因,基因工程的“分子缝合针”是DNA连接酶,将目的基因和载体连接形成重组载体;目的基因插入的位置应该在启动子和终止子之间,且不能破坏荧光素酶基因,位点1位于荧光素酶基因中,位点3在终止子之后,因此可将上述DNA片段插入荧光素酶基因表达载体上的位点2。(3)为探究R-7是否影响家蚕基因B的表达,自变量为是否添加R-7,实验组为重组载体与R-7共同导入家蚕胚胎细胞,那么对照组应为荧光素酶基因表达载体、重组载体分别导入两组家蚕胚胎细胞。(4)基因表达产物是蛋白质,因此从细胞中提取的物质是蛋白质;R-7影响基因B的表达,即影响基因B的转录和翻译,即通过遵循碱基互补配对原则,R-7与基因B所转录的mRNA的3'-UTR结合,使基因B的翻译过程受到影响,从而抑制基因B的表达。

答案:(1)引物 (2)限制酶和DNA连接 (3)重组载体 (4)蛋白质 碱基互补配对 抑制

25.(10分)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基因(L1)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)为获得含有甲的牛,该团队需要做的工作包括:将能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。

解析:(1)据题图信息分析可知,将L1-GFP融合基因(甲)插入质粒时使用酶E₁和E₄进行酶切,既能保证L1-GFP融合基因的完整,又能保证L1-GFP融合基因与载体的正确连接。(2)目的基因在受体细胞中的表达包括转录和翻译两个过程。(3)将体外培养的含有目的基因的动物体细胞核移入该动物的去核卵母细胞中,经过体外早期胚胎培养、胚胎移植等技术可获得转基因动物。(4)检测目的基因是否存在于克隆牛的不同组织细胞中,采用PCR技术鉴定时,应以该牛不同组织细胞中的核DNA作为PCR模板。

答案:(1)E₁和E₄ 甲的完整 甲与载体的正确连接 (2)转录 翻译 (3)细胞核 去核卵母细胞 (4)核DNA

第 4 章

生物技术的安全性与伦理问题

第 1 节 转基因产品的安全性

学习任务目标

- 1.通过辩论、调查等活动,探讨转基因产品的安全性。
- 2.坚持正确的社会舆论导向,基于证据和逻辑,理性看待转基因技术和转基因生物的安全性。

问题式预习

一、转基因成果令人叹为观止

1.转基因微生物

- (1)微生物进行基因改造的优点:微生物的生理结构和遗传物质简单、生长繁殖快、对环境因素敏感和容易进行遗传物质操作等。
- (2)转基因啤酒酵母菌减少了双乙酰的生成,缩短了啤酒的发酵周期。
- (3)用基因工程技术构建高产、优质的基因工程菌来生产氨基酸、药物等。

2.转基因动物

- (1)将生长激素基因、促生长激素释放激素基因等转入动物体内,培育了一批生长迅速、营养品质优良的转基因家禽、家畜。
- (2)将某些抗病毒的基因导入动物体内,培育了抵抗相应病毒的动物新品种。
- (3)建立了某些人类疾病的转基因动物模型。

3.转基因植物

- (1)科学家已经培育出了大批具有抗虫、抗病、抗除草剂和耐储藏等新性状的作物。利用转基因技术显著抑制番茄中乙烯形成酶的活性和乙烯的生成量,从而育成了转基因耐储藏番茄。
- (2)我国批准发放了转基因棉花、番木瓜、水稻和玉米等作物的生产应用安全证书。
- (3)硕果累累的转基因成果在带给人们喜悦的同时,也促使人们关注转基因生物的安全性问题。

二、对转基因产品安全性的争论

1.原因

人们所生活的国家或社会,政治制度、意识形态、宗教信仰、经济发展水平、历史背景、传统文化和伦理道德观念等的差异,决定了人们具有不同的价值取向。

2.争论焦点

在转基因食品的安全性等方面发生激烈的争论。

三、理性看待转基因技术

- 1.坚持正确的社会舆论导向,将有利于决策者作出正确的决策,从而促进科学技术的发展。
- 2.我国对转基因技术的方针是一贯的、明确的;就是研究上要大胆,坚持自主创新;推广上要慎重,做到确保安全;管理上要严格,坚持依法监管。
- 3.建立相应法规和政策,维护消费者对转基因产品的知情权和选择权,最大限度地保证转基因技术和已经上市的转基因产品的安全性。

教材开发

[教材 P102“相关信息”]为什么我国科学家将来自玉米的 α -淀粉酶基因与目的基因一起转入植物中,能防止转基因花粉的传播?

提示:由于 α -淀粉酶基因可以阻断淀粉储藏使花粉失去活性,因而可以防止转基因花粉的传播。

概念辨析

- 1.转入抗性基因的植物可能成为“入侵物种”,影响生态系统的稳定性。(√)
- 2.大面积种植转基因抗虫棉,有可能会 导致棉铃虫群体中相关抗性基因频率增加。(√)
- 3.只要目的基因来自自然界,培育出的转基因植物就不会有安全性问题。(×)
- 4.通过转基因技术培育出的植物,理论上其目的基因只存在于特定的组织中。(×)
- 5.转基因技术与植物体细胞杂交技术均可打破生殖隔离,实现远缘杂交育种,培育出杂种新物种。(×)
- 6.转基因花粉中若有毒蛋白或过敏蛋白,则它有通过食物链传递而引发人类食品安全问题的可能。(√)

任务型课堂

任务

理性看待转基因技术

[探究活动]

在对番茄的研究中发现,害虫损伤番茄叶片后,叶片的细胞壁释放出一种类激素因子。这种物质通过细胞组织扩散到茎和其他叶片上,启动了蛋白酶抑制剂基因的表达,开始高效合成蛋白酶抑制剂,并在茎叶中迅速积累,以对付害虫的再次侵袭。蛋白酶抑制剂对害虫的消化酶有抑制作用,因此害虫取食含蛋白酶抑制剂的番茄后,就会因无法消化食物而被杀死。人们尝试着将番茄的蛋白酶抑制剂基因导入玉米,让玉米获得与番茄相似的抗虫性状,以对付异常猖獗的玉米螟(一种玉米害虫)。试分析回答下列问题:

探究 1.番茄的蛋白酶抑制剂很可能是在茎叶细胞的核糖体处合成的。

探究 2.将番茄的蛋白酶抑制剂基因成功地导入玉米内,使玉米产生新的抗虫性状,这种变异属于基因重组。

探究 3.有人对食用这种转基因玉米的安全性感到担忧。你认为这种担忧有道理吗?

提示:①有道理。这种转基因玉米的果实(种子)中也可能含有蛋白酶抑制剂,食用后可能抑制人体消化酶的活性,使人无法对食物进行消化而生病。②无必要。这种转基因玉米的蛋白酶抑制剂主要集中在茎叶中,而人类食用的是其果实(种子)加工而成的食品,因此不会影响人体对食物的消化。③无必要。因为人与害虫消化酶的结构存在差异,玉米的蛋白酶抑制剂对害虫的消化酶有抑制作用,但对人体内的消化酶很可能无影响。④无必要。人类食用的通常是煮熟后的玉米食品,玉米蛋白酶抑制剂在高温中已经被破坏,因此不会对人的消化造成不良影响。(以上 4 种答案任选一种即可)

[评价活动]

1.转基因产品是否安全一直存在着争议。下列说法错误的是 ()

- A.转基因产品可能存在基因污染的问题
- B.转基因食品可能会出现营养成分发生改变的现象
- C.转基因产品符合安全标准之后才能上市售卖
- D.食用转基因食品,其中的基因会整合到人的基因组中

D 解析:转基因产品在生产过程中目的基因会随着花粉的传播通过受精进入近缘物种体内,因而可能存在基因污染的问题,A 正确;由于目的基因的导入和正常表达可能会使转基因食品出现营养成分发生改变的现象,B 正确;转基因产品符合安全标准之后才能上市售卖,C 正确;食用转基因食品,其中的基因会被消化分解,不会整合到人的基因组中,D 错误。

2.转基因产品是指利用基因工程技术获得的生物制品,其安全性问题一直是大众关注和争论的热点。下列叙述错误的是 ()

- A.通过转基因育种可增加或消除原有生物品种的某些性状
- B.转基因食品风险评估时还需考虑标记基因的安全性问题
- C.严格选择种植区域可减少转基因作物发生外源基因扩散的可能性
- D.转基因作物的长期、大规模种植不利于侵染力更强的害虫的出现

D 解析:通过转基因育种,利用转基因技术,可以按照人们的需要,增加或消除原有生物品种的某些性状,A 正确;在基因表达载体上,除了有目的基因、启动子、终止子等,还需要有标记基因,故转基因食品风险评估时还需考虑标记基因的安全性问题,B 正确;转基因作物所携带的外源基因可能会向自然界扩散,从而打破自然界原有的物种平衡,严格选择种植区域可减少转基因作物发生外源基因扩散的可能性,C 正确;转基因作物的长期、大规

模种植,可能导致目标害虫或非目标害虫对转基因作物的适应,在群体水平上产生抗性,有可能产生侵染力更强的“超级害虫”,造成更大的危害,D错误。

3. 基因漂移指转入受体细胞的基因可能从转基因生物体内扩散到环境中,是一种潜在危险。下列关于基因漂移的叙述错误的是 ()

- A. 基因漂移发生在分子水平,不容易清除
B. 基因漂移可能导致抗除草剂的“超级杂草”的产生
C. 基因漂移是一种可增殖的污染
D. 转基因作物被动物食用后,目的基因会整合到动物体细胞的核基因组中

D 解析: 基因属于分子水平,故基因漂移发生在分子水平,不容易清除,A正确;杂草可能从它的近缘转基因植株中获得抗除草剂基因,B正确;由于基因可以复制,故基因漂移是一种可增殖的污染,C正确;转基因作物被动物食用后,目的基因会被消化,不会被整合到动物体细胞的核基因组中,D错误。

任务总结

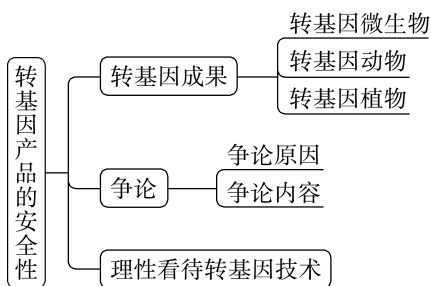
转基因生物及其产品的安全性主要包括三个方面:生物安全、环境安全和食品安全。

一是导入的外源基因及其产物对受体生物是否有不利影响;

二是有关转基因生物的释放或使用所带来的生态学上的安全性;

三是转基因生物在食品、饲料和其他消费领域的安全性。

► 提质归纳



课后素养评价(十六)

基础性·能力运用

知识点1 对转基因产品安全性的争论

1. 转基因农作物为粮食供应提供了重要保障,但同时民众中也存在着对转基因产品安全性的担忧。下列对转基因技术安全性的叙述中,不合理的是 ()

- A. 转基因作物的花粉可能传播进入杂草,导致基因污染
B. 转基因农产品可能产生诱发人体过敏的蛋白质
C. 转基因作物抗逆性增强,可能成为“入侵的外来物种”
D. 转基因作物的安全性受意识形态和宗教信仰的影响

D 解析: 转基因植物的抗除草剂基因有可能通过花粉传播进入杂草,使杂草成为用除草剂除不掉的“超级杂草”,导致基因污染,A不符合题意;转基因农产品可能产生诱发人体过敏的蛋白质,因此对转基因植物外源DNA要进行认真选择,避免产生对人体有害的或过敏的蛋白质,B不符合题意;转基因作物抗逆性增强,可能成为“入侵的外来物种”,威胁生态系统中其他生物的生存,C不符合题意;转基因作物的安全性不受意识形态和宗教信仰的影响,

人们对转基因作物的安全性的看法受意识形态和宗教信仰的影响,D符合题意。

2. 科学家发现栽种含有抗除草剂基因的农作物后,会使附近的、与其亲缘关系较近的野生植物也获得抗除草剂基因。下列说法错误的是 ()

- A. 野生植物通过自然杂交获得抗除草剂基因
B. 野生植物发生了基因突变
C. 基因工程会导致基因污染
D. 转基因生物会危及生物圈的稳定性

B 解析: 转基因生物的目的基因通过自然杂交而与其他生物体内的基因发生重组,使得其他生物细胞内含有了目的基因,目的基因在亲缘关系较近的生物之间转移,导致基因污染,并最终会对生物圈的稳定性造成影响,A、C、D正确,B错误。

3. 为了防止转基因作物的目的基因通过花粉转移到自然界中的其他植物,科学家设法将目的基因整合到受体细胞的叶绿体基因组中,其原因是 ()

- A. 叶绿体基因组不会进入生殖细胞中
B. 受精卵中的细胞质几乎全部来自卵细胞
C. 转基因植物与其他植物间不能发生基因交流
D. 植物杂交的后代不会出现一定的性状分离比

B 解析:花粉产生的精子中主要遗传物质是细胞核基因,而叶绿体基因属于细胞质基因,它具有母系遗传的特点,不会通过花粉转移给其他植物,B正确。

知识点 2 理性看待转基因技术

4.随着基因工程的兴起,人们越来越关注转基因生物和转基因食品的安全性问题。下列相关叙述错误的是 ()

- A.公众应科学、理性地对待转基因生物和转基因食品
- B.基因工程在医、农、林等领域具有广阔的应用前景
- C.在我国生产及销售转基因食品的行为都是违法的
- D.我国十分重视转基因生物及其产品的安全性问题

C 解析:在我国生产及销售经相关机构评价安全合格的转基因食品的行为是合法的,C错误。

5.下列不属于我国对转基因技术的方针的是 ()

- A.研究上要大胆,坚持自主创新
- B.推广上要慎重,做到确保安全
- C.管理上要严格,坚持依法监管
- D.坚决抵制转基因生物

D 解析:我国对转基因技术的方针是一贯的、明确的,具体包括以下几点:①研究上要大胆,坚持自主创新;②推广上要慎重,做到确保安全;③管理上要严格,坚持依法监管。坚决抵制转基因技术并不符合我国方针,D错误。

6.国家有关部门颁布的《农业转基因生物标识管理办法》中要求对转基因生物产品及其加工品加贴标注,其目的是 ()

- A.警告消费者,不要随意购买
- B.维护消费者的知情权和选择权
- C.告诉消费者,可放心购买
- D.无任何实际意义

B 解析:加贴标注的目的是维护消费者的知情权,消费者自行选择是否购买,B正确。

综合性·创新提升

7.某地的野生玉米中含有一种抗虫毒蛋白的基因(来自苏云金芽孢杆菌)。下列叙述错误的是 ()

- A.通过诱变育种也可以获得含有抗虫毒蛋白基因的玉米植株
- B.将抗虫毒蛋白基因导入叶绿体中,可以防止基因污染
- C.用PCR技术检测野生玉米中是否含有抗虫毒蛋白基因无须掌握其全部碱基序列
- D.以DNA作为遗传物质、共用一套遗传密码是抗虫毒蛋白基因在玉米细胞中表达的基础

A 解析:该抗虫毒蛋白的基因来自苏云金芽孢杆菌,玉米中没有相应的等位基因,无法通过诱变育种获得,A错误;将抗虫基因导入玉米细胞的叶绿体中,可以防止抗虫玉米通过花粉传播带来的基因污染,B正确;用PCR技术检测野生玉米中是否含有抗虫毒蛋白基因,只需掌握部分特异性的序列即可检测,C正确;苏云金芽孢杆菌和玉米细胞都以DNA为遗传物质且共用一套遗传密码,遵循中心法则,故其抗虫毒蛋白基因能在玉米细胞中表达,D正确。

8.人们对转基因产品的安全性存在着激烈的争论,下列叙述不正确的是 ()

- A.人们对转基因技术存在不同的见解,特别是在转

基因食品的安全性等方面发生激烈的争论

B.转基因技术是高科技的分子生物学技术,对利用其开发出来的产品产生争论是一种对科学的无知

C.当人们面对原本是自然造就的生命形式被人为改造后具有了全新特征的现实时,出现激烈的争论是正常的

D.人们所生活的国家或社会、政治制度、意识形态、宗教信仰、经济发展水平、历史背景、传统文化和伦理道德观念等的差异,决定了人们具有不同的价值取向

B 解析:人们所生活的国家或社会、政治制度、意识形态、宗教信仰、经济发展水平、历史背景、传统文化和伦理道德观念等的差异,决定了人们具有不同的价值取向,因此对转基因技术就会产生不同的见解,特别是在转基因食品的安全性等方面发生激烈的争论,A、D正确;目前科学家对基因的结构、基因间的相互作用以及基因的调控机制等的了解还很有限,对利用转基因技术开发出来的产品产生争论不是对科学的无知,B错误;当人们面对原本是自然造就的生命形式被人为改造后具有了全新特征的现实时,出现激烈的争论是正常的,是符合常理的,C正确。

9.阅读以下材料,回答问题:

自1984年第一例转基因鱼在我国诞生以来,转基因鱼的研究取得了长足进步,如转入生长激素(GH)基因的鱼生长速度快,饵料转化率高。由于鱼类易于逃逸、扩散,因此转基因鱼的生态安全性问题一直是研究者关注的焦点,包括研究转基因鱼对生态系统的压力及外源基因的扩散等问题。目前,只有三倍体的转基因鱼被允许投入自然系统。

(1)转基因鱼获得成功的物质基础是_____。

(2)已知人的GH是含有191个氨基酸的蛋白质,若将人的GH基因转移到鱼体内,则转基因鱼增加的脱氧核苷酸数目至少是_____ (不考虑终止密码子)个。

(3)转基因鱼通过较高的能量转化效率取得了较高的生长速率,以至于生长速率高于非转基因鱼,蛋白质转换效率也显著高于非转基因鱼。其可能的原因是_____。

(4)试分析转基因鱼可能引起生态安全性问题的原因:_____。

(5)我国科学家成功培育出了三倍体的转基因鱼“湘云鲫”,其形成三倍体的过程是_____。

试从保障生态安全方面分析只允许投放三倍体鱼的原因是_____。

解析:(1)转基因技术能够进行的物质基础是各种细胞生物都以DNA分子作为遗传物质,DNA分子一般具有相同的物质组成和双螺旋结构。(2)氨基酸数与基因中的脱氧核苷酸数的比是1:6,控制合成191个氨基酸的蛋白质的基因至少含有脱氧核苷酸数为 $191\times 6=1\,146$ 个。(3)转基因鱼体内的目的基因得到表达,合成了大量的生长激素,促进了蛋白质的合成,生长较快。(4)转基因鱼与同种野生鱼杂交,使野生鱼带有转基因,具有生长优势,使被捕食的生物迅速减少,与其他物种竞争,引起生态危机。(5)三倍体“湘云鲫”的培育过程是先将二倍体转基因鱼加倍为四倍体,然后与二倍体鱼杂交形成三倍体鱼,三倍体鱼不能繁殖,不会引起基因污染。

答案:(1)各种细胞生物的遗传物质都是DNA (2)1 146 (3)转基因鱼合成了大量生长激素,生长激素能促进蛋白质合成 (4)转基因鱼与同种野生鱼杂交,使野生鱼带有转基因,具有生长优势,使其捕食对象大量减少,与其他物种竞争,引起生态危机 (5)二倍体转基因鱼加倍为四倍体转基因鱼,然后二倍体鱼与四倍体鱼杂交形成三倍体鱼 三倍体鱼不能繁殖,可以人工控制养殖数量和范围,避免发生杂交、竞争,引起生态危机

第2节 关注生殖性克隆人

学习任务目标

- 1.基于克隆的流程,说出克隆涉及的现代生物技术。
- 2.比较生殖性克隆和治疗性克隆、试管婴儿与“设计试管婴儿”操作程序的不同。
- 3.结合生殖性克隆人面临的伦理问题,理解并宣传我国对待生殖性克隆人的原则。

问题式预习

一、生殖性克隆人面临的伦理问题

1.生殖性克隆:通过克隆技术产生独立生存的新个体。

2.治疗性克隆:利用克隆技术产生特定的细胞、组织和器官,用它们来修复或替代受损的细胞、组织和器官,从而达到治疗疾病的目的。

3.人们对生殖性克隆人的看法

支持的观点	否定的观点
①作为一项科学研究，有它自己内在的发展规律； ②虽然现在人们的 <u>伦理道德</u> 观念还不能接受，但是人的观念是可以 <u>改变</u> 的	①“有违人类 <u>尊严</u> ”； ②人为地制造在 <u>心理上</u> 和 <u>社会地位</u> 上都不健全的人； ③克隆技术还不成熟

二、我国禁止生殖性克隆人

- 我国政府对生殖性克隆的态度：中国政府积极支持制定《禁止生殖性克隆人国际公约》，坚决反对克隆人，不允许进行任何生殖性克隆人实验。
- 我国政府对克隆人坚持四不原则：不赞成、不允许、不支持、不接受任何生殖性克隆人实验。
- 我国政府对治疗性克隆的原则：
 - 通过制定相关法规，对治疗性克隆进行有效监控和严格审查。
 - 针对干细胞研究，我国制定相关法规，保证干细胞的研究在有关规定下进行，并尊重国际公认的生命伦理准则，促进我国干细胞研究健康发展。

三、警惕用新技术研究生殖性克隆人

- 化学诱导多能干细胞进行生殖性克隆
 - 小鼠成纤维细胞→小鼠 iPS 细胞→克隆鼠。
 - 从技术上讲，利用人的 iPS 细胞克隆人是可能的。
- 人类基因组编写计划
 - “人类基因组编写计划”：希望合成人类的整个基因组。
 - 应用和风险：该计划将使培育出用于移植的

人体器官成为可能，还会加速疫苗的研发等；如果合成出人类的基因组，就可能造出“无父母”人类或者拥有相同基因组的“克隆人”。

教材开发

- [教材 P106 正文]生殖性克隆与治疗性克隆过程中胚胎的处理方式相同吗？

提示：不同。在生殖性克隆过程中，获得的胚胎通过胚胎移植进入母体的子宫内，由母体孕育出婴儿；治疗性克隆获得的早期胚胎主要用于获得胚胎干细胞，然后诱导胚胎干细胞分化出所需的特定的细胞、组织和器官。
- [教材 P109“思考·讨论”]试管婴儿与“设计试管婴儿”技术均需进行体外受精，但是在胚胎移植前的操作有什么不同？

提示：“设计试管婴儿”多了胚胎移植前的遗传学诊断过程。

概念辨析

- 将一个克隆的胚胎植入一个女性子宫发育成婴儿的过程属于生殖性克隆。（ ☒ ）
- 治疗性克隆属于无性生殖，生殖性克隆属于有性生殖。（ ☒ ）
- 治疗性克隆可解决器官移植时的免疫排斥问题。（ ☒ ）
- 生殖性克隆人冲击了现有的一些有关婚姻、家庭和两性关系的伦理道德观念。（ ☒ ）
- 我国政府不允许进行任何生殖性克隆人实验。（ ☒ ）

任务型课堂

任务

关注生殖性克隆人

[探究活动]

生殖性克隆是指以生殖为目的，利用克隆技术获得人类胚胎，然后将胚胎植入母体子宫发育成新个体的过程。据此探究下列问题：

探究 1.治疗性克隆一般需要哪些生物技术？

提示：核移植技术、动物细胞培养技术（早期胚胎培养技术）。

探究 2.为解决不孕夫妇的生育问题而发明的试管婴儿技术，与“设计试管婴儿”有什么区别？

提示：“设计试管婴儿”实际上是指在将体外受精形成的胚胎植入母体前，根据人们的需要，将胚胎的

细胞取出，进行特定基因的检测，当检测结果符合人们的需要时，再把胚胎植入母体。一般我们所说的试管婴儿技术，不必经过基因检测这一步骤。

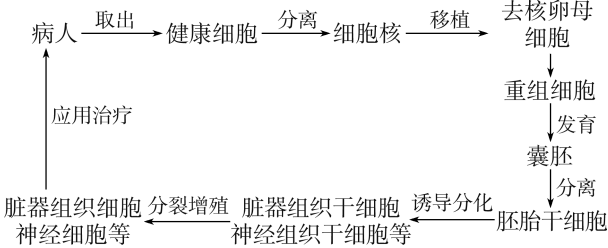
[评价活动]

- 下列关于治疗性克隆和生殖性克隆的说法中，错误的是（ ☐ ）
 - 使用病人自己的细胞，诱导分化为胰岛细胞以治疗糖尿病属于治疗性克隆
 - 将一个克隆的胚胎植入一个女性子宫发育成婴儿的过程属于生殖性克隆
 - 治疗性克隆属于无性生殖，生殖性克隆属于有性生殖

D.治疗性克隆和生殖性克隆过程都需要使用动物细胞培养技术

C 解析:利用胚胎干细胞诱导分化的细胞、组织和器官治疗疾病的克隆是治疗性克隆,利用克隆技术获得胚胎,并将胚胎孕育成为个体的过程为生殖性克隆,A、B 正确;无论是生殖性克隆还是治疗性克隆,均属于无性生殖,C 错误;治疗性克隆和生殖性克隆过程都需使用动物细胞培养技术,D 正确。

2.治疗性克隆有望解决供体器官短缺和器官移植出现的排异反应的问题,下图表示治疗性克隆的过程。下列叙述正确的是 ()



- A.胚胎干细胞和诱导出的各种细胞都需在 CO₂ 培养箱中进行培养
- B.该过程利用了核移植和胚胎移植技术
- C.治疗性克隆解决了器官移植的排异反应问题,已成为目前器官移植的常用手段
- D.因为该技术可能涉及伦理问题,所以我国政府的态度是坚决反对

A 解析:胚胎干细胞和诱导出的各种细胞都需在 CO₂ 培养箱中进行培养,以维持培养液的酸碱平衡,A 正确;题图中治疗性克隆的过程利用了核移植、动物细胞培养等技术,但没有涉及胚胎移植技术,B 错误;治疗性克隆的细胞来源于病人自身的细胞,不会产生排异反应,且治疗性克隆目前没有成为器官移植的常用手段,C 错误;我国政府不反对治疗性克隆,D 错误。

3.研究人员利用 CRISPR 基因编辑技术成功修复了人类早期胚胎中与肥厚性心肌病相关的基因 MYBPC 3 的突变,且定向非常精确,未出现脱靶效应。这项研究在攻克利用基因组编辑技术治疗人类遗传病的若干技术问题的同时,也引起了伦理方面的激烈争论。下列相关叙述错误的是 ()

- A.运用该技术编辑少量的细胞就可以对遗传病进行治疗
- B.运用该技术可能诱发基因歧视等诸多社会不公平现象
- C.该技术潜藏着巨大的不确定性和风险
- D.随着该技术的成熟,可以设计“完美婴儿”,促进人类发展和进步

D 解析:由题意可知,该技术定向非常精确,故只需要编辑少量的细胞就可以对遗传病进行治疗,A 正确;该技术能帮助修复人类早期胚胎中与肥厚性

心肌病相关的基因 MYBPC3 的突变,但也会引发基因歧视问题,B 正确;由于外源基因插入宿主基因组的部位往往是随机的,因此该技术潜藏着巨大的不确定性和风险,C 正确;利用基因编辑技术“设计试管婴儿”,以期得到“完美婴儿”,已经涉及生物技术的安全性与伦理问题,D 错误。

任务总结

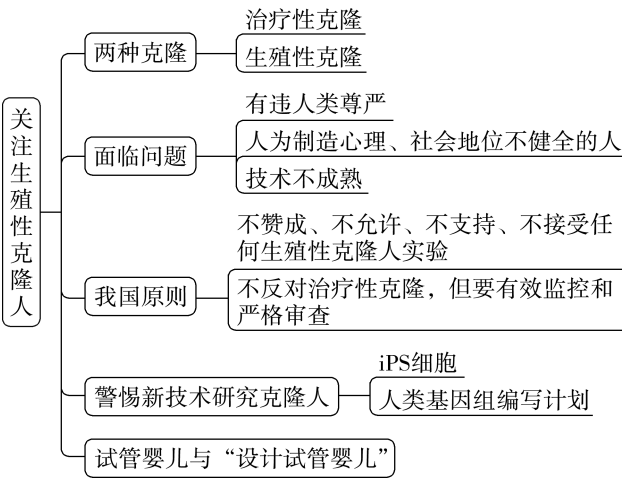
(1)治疗性克隆和生殖性克隆的比较

项目		治疗性克隆	生殖性克隆
不同点	概念	利用克隆技术产生特定细胞、组织和器官(皮肤、神经或肌肉等)用于治疗性移植	将克隆技术用于生育的目的,即用于产生人类个体
	目的	治疗人类疾病	用于产生完整个体
	水平	细胞水平	个体水平
不同点	我国政府的态度	不反对治疗性克隆,同时对治疗性克隆进行有效监控和严格审查	禁止任何生殖性克隆人实验
相同点		都属于无性繁殖,遗传物质不变	

(2)试管婴儿≠“设计试管婴儿”

- ①试管婴儿是指利用体外受精和胚胎移植等技术繁殖个体,其主要目的是解决不孕夫妇的生育问题。
- ②“设计试管婴儿”需在胚胎移植前对胚胎进行遗传学诊断,以筛选符合特殊目的要求的胚胎,进而生出所需类型的婴儿。

► 提质归纳



课后素养评价(十七)

基础性·能力运用

知识点 关注生殖性克隆人

1.下列哪项不是生殖性克隆人面临的伦理问题?

()

- A.孕育的健康个体可能极少
B.会产生“无父母”的孩子
C.可以帮助不孕者拥有自己的后代
D.冲击了现有的一些有关婚姻、家庭、两性关系的伦理道德观念

C 解析:通过克隆技术产生人类个体,成功率低,孕育的健康个体可能极少,A不符合题意;生殖性克隆利用的是细胞核移植技术、体外早期胚胎培养技术和胚胎移植技术,没有传统意义上的家庭和父母关系,会产生“无父母”的孩子,B不符合题意;生殖性克隆给不孕者带来希望,使这样的家庭可以拥有自己的后代,C符合题意;生殖性克隆属于无性繁殖,冲击了现有的一些有关婚姻、家庭、两性关系的伦理道德观念,D不符合题意。

2.关于“设计试管婴儿”的问题,下列叙述正确的是

()

- A.“设计试管婴儿”可确定婴儿性别,通过此项技术可保证人口正常的性别比例
B.利用“设计试管婴儿”技术可以排查某些遗传病,以保证生出健康的孩子

C.利用试管婴儿的脐带血可以治疗所有疾病

D.设计试管婴儿,一定要考虑其性别

B 解析:通过试管婴儿这种技术出生的人口占比较小,并不能保证人口正常的性别比例,A错误;利用“设计试管婴儿”技术可以防止某些遗传病的发生,保证孩子的健康,B正确;利用试管婴儿的脐带血并不能治疗所有疾病,C错误;设计试管婴儿,不一定要考虑婴儿的性别,D错误。

3.我国重视治疗性克隆涉及的伦理问题,主张对治疗性克隆进行有效监管和严格审查。下列相关叙述中,错误的是 ()

- A.治疗性克隆属于无性生殖,生殖性克隆属于有性生殖
B.治疗性克隆和生殖性克隆均应用了动物细胞培养技术
C.生殖性克隆有可能降低人类的基因多样性,不利于人类的进化
D.治疗性克隆和生殖性克隆均会产生伦理问题

A 解析:生殖性克隆也是无性生殖,A错误;治疗性克隆和生殖性克隆均需要应用到动物细胞培养和核移植技术,B正确;生殖性克隆相对有性生殖而言,可能降低人类的基因多样性,不利于人类的进化,C正确;治疗性克隆和生殖性克隆都会产生伦理问题,D正确。

综合性·创新提升

4.诱导多能干细胞技术(iPS技术)使用病毒载体将特定转录因子转入诱导细胞中进行重新编程,从而获得iPS细胞。科学家已经成功利用该细胞克隆出活体小鼠,这再次引发人们对生殖性克隆人的担忧。下列哪项不是引发人们担忧的理由? ()

- A.克隆人可能制造出心理不健全的人
B.克隆技术可能孕育出有严重生理缺陷的人
C.克隆人可能破坏人类基因的多样性
D.克隆人可能使自然人的社会地位降低

D 解析:由于克隆技术还不成熟,可能孕育出有严重生理缺陷的人,并且克隆人违反了人类现有的伦理道德观念,所以克隆人是在人为制造在心理上和社会地位上都不健全的人,A正确,B正确;生殖性克隆人破坏了人类基因多样性的天然属性,不利于

人类的生存和进化,C正确;由于克隆人在心理上和社会地位上都不健全,所以不会使自然人社会地位降低,D错误。

5.现代生物技术在造福人类的同时,也可能引起一系列安全性和伦理问题,请回答下列问题:

- (1)我国对“克隆人”这一技术总体来说是禁止_____性克隆,但不反对_____性克隆。
(2)克隆过程中应用的现代生物技术有哪些? _____(至少答出两种)。
(3)克隆有时也称为体细胞克隆,但是克隆过程需要_____参与,原因是这种细胞_____。
(4)克隆技术仍然存在的问题是_____。

- ①克隆后代的成功率很低
②克隆生物的天折率较低

③克隆生物的后代先天性疾病或生理缺陷的发病率高

④克隆后代的智商相对比较高

A.② B.②③

C.①③ D.②④

解析:(1)我国对“克隆人”这一技术总体上来说是禁止生殖性克隆,但不反对治疗性克隆。(2)克隆技术应用的生物技术包括体细胞核移植技术和胚

胎移植技术等。(3)体细胞克隆过程需要去核的卵母细胞参与,因为卵母细胞中具有促进核基因表达的物质。(4)克隆技术尚不成熟,可能孕育出有严重生理缺陷的人,重构胚的成功率低,胎儿畸形率高,死亡率高。

答案:(1)生殖 治疗 (2)动物体细胞核移植技术、胚胎移植技术 (3)卵母细胞 具有促进细胞核基因表达的物质条件 (4)C

第3节 禁止生物武器

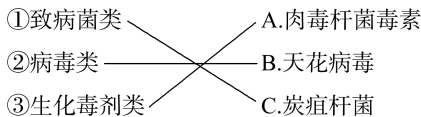
学习任务目标

- 1.结合生物武器对人类伤害的实例,认同我国反对生物武器及其技术和设备扩散的态度。
- 2.收集历史上使用生物武器的资料,分析讨论生物武器对人类的严重危害。

问题式预习

一、生物武器的种类和特点

1.生物武器的种类(连线)



2.生物武器的特点

下列属于生物武器特点的有①②⑤⑥。

- ①致病能力强
- ②攻击范围广
- ③传播途径少
- ④易被发现,容易防治
- ⑤有一定的潜伏期
- ⑥成本低、使用方法简单
- ⑦不易受自然环境影响

3.生物武器的传播途径

- (1)直接散布。
- (2)通过食物、生活必需品或带菌昆虫等散布。

4.危害实例

- (1)日本战败投降时,侵华日军把培养的细菌释放出来,在我国造成传染病大流行。
- (2)美国先后使用了天花病毒、细菌弹等生物武器。

二、对生物武器的威胁,不能掉以轻心

1.某些国家以科学研究为名,进行细菌武器、生化毒

剂等的研究和储存,如生产和储存传染性极强、致死率极高的炭疽杆菌。

2.转基因技术出现后,使得利用这一技术制造各种新型的致病菌成为可能。

3.禁止生物武器的公约

(1)1972年4月,苏联、美国、英国分别在其首都签署了《禁止发展、生产、储存细菌(生物)及毒素武器和销毁此种武器公约》(简称《禁止生物武器公约》)。

(2)中国在任何情况下不发展、不生产、不储存生物武器,并反对生物武器及其技术和设备的扩散。



教材开发

1.[教材 P111 正文]生物武器与其他常规武器的主要区别是什么?

提示:生物武器的致病能力强、攻击范围广,可直接或通过食物、生活必需品和带菌昆虫等散布,经由呼吸道、消化道和皮肤等侵入人、畜体内,造成大规模伤亡,也能大量损害植物。

2.[教材 P113 正文]对待生物武器,我们必须形成何种明确的立场?

提示:关于生物武器,我们必须形成明确的立场:在任何情况下不发展、不生产、不储存生物武器,并反对生物武器及其技术和设备的扩散。

概念辨析

1. 天花病毒、波特淋菌、霍乱弧菌和炭疽杆菌都可以用来制造生物武器。（√）
2. 微生物产生的代谢产物都可以用来制造生化毒剂。（×）

3. 生物武器可通过吸入、误食、接触带菌物品、被带菌昆虫叮咬等侵入人体。（√）
4. 我们对待生物武器的态度是坚决禁止生物武器。（√）

任务型课堂

任务

禁止生物武器

[探究活动]

根据相关研究,可以作为生物武器的致命微生物中,有许多是本身不具备引起疾病能力和传染能力的。但许多病菌在作为生物武器使用以后,可以长期存活在土壤和水中并传播疾病,遗患无穷。据此探究以下问题:

探究 1.生物武器只是致病菌或病毒吗?

提示:不一定,也可能是生化毒剂类。

探究 2.与常规武器相比,由致病菌或病毒制成的生物武器最大的特点是什么?

提示:生物武器拥有生命力,能够在宿主体内繁殖,并随宿主移动散布到不同地方。

探究 3.生物武器的杀伤力一定大于常规武器吗?为什么许多国家禁止研发生物武器而不禁止研发常规武器呢?

提示:对这两类武器的杀伤力不应进行简单的量化比较,有些常规武器的杀伤力也特别大。生物武器容易被恐怖主义势力掌握,也容易伤及无辜平民,违反人道主义精神,有时连使用者都无法控制其传播疾病的范围,所以许多国家禁止研发生物武器。

[评价活动]

1. 下列有关生物武器的叙述中,错误的是（ ）
 - A. 生物武器的种类包括致病菌、病毒、毒品、生化毒剂等
 - B. 鼠疫、炭疽、霍乱等的病原体都可以用来制造生物武器
 - C. 生物武器可以直接或通过食物、生活必需品等散布
 - D. 中国政府主张全面禁止和彻底销毁生物武器

A 解析:生物武器的种类包括致病菌、病毒、生化毒剂以及经过基因重组的致病菌等,不包括毒品,A 错误;鼠疫、炭疽、霍乱等的病原体属于传染性疾病的病原体,可以用来制造生物武器,B 正确;生物武器直接或者通过食物、生活必需品等散布到敌方,可

以对军队和平民造成大规模杀伤后果,C 正确;我国政府主张全面禁止和彻底销毁生物武器,D 正确。

2. 下列关于生物武器的叙述,错误的是（ ）
 - A. 生物武器是利用致病菌、病毒或生化毒剂等形成杀伤力的
 - B. 我国反对生物武器及其技术和设备的扩散
 - C. 转基因生物也可能被用于制造生物武器
 - D. 为了国家安全,可以进行必要的小范围的生物武器研究

D 解析:生物武器利用致病菌、病毒或生化毒剂等形成杀伤力,A 正确;我国反对生物武器及其技术和设备的扩散,并主张全面禁止和彻底销毁生物武器等各类大规模杀伤性武器,B 正确;转基因生物可能会被用于制造生物武器,且由转基因微生物制成的生物武器具有目前人类难以预防和治疗的特点,C 正确;生物武器几乎对所有人都具有杀伤力,是一种不人道的武器,应坚决禁止,D 错误。

3. 下列关于生物武器的叙述,错误的是（ ）
 - A. 生物武器是造价昂贵,具有大规模杀伤性的武器
 - B. 生物武器可经呼吸道、消化道和皮肤等侵入人、畜体内,造成大规模伤亡
 - C. 反对利用转基因技术研制病毒、病菌类生物武器
 - D. 转基因技术出现后,大大拓展了生物武器制造途径

A 解析:生物武器包括致病菌、病毒、生化毒剂,以及经过基因重组的致病菌等,与常规武器、核武器和化学武器等相比成本低廉,容易获得,A 错误。

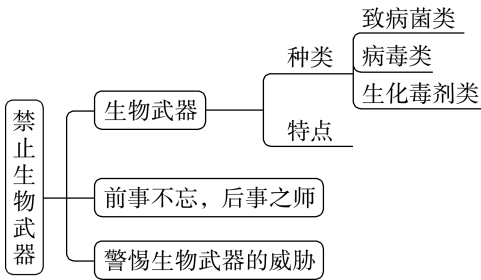
任务总结

对生物武器的认识

(1)用生物及其毒素杀伤有生力量和破坏植物生长的武器统称为生物武器,其基础为生物战剂。生物战剂是军事上用以使人、畜和植物致病的微生物等,它们的生长、繁殖、死亡易受自然环境的影响。

- (2)生物战剂侵入人体的四条途径：
- ①吸入，生物战剂污染空气，通过呼吸道吸入，感染致病；
 - ②误食，饮用、食用被生物战剂污染的水、食物而患病(如霍乱、痢疾等)；
 - ③皮肤接触，生物战剂如炭疽杆菌、鼠疫杆菌等，可以直接或间接通过皮肤、黏膜、伤口进入人体；
 - ④昆虫叮咬，人被携带有生物战剂的昆虫叮咬后，因血液被污染而致病。

► 提质归纳



课后素养评价(十八)

基础性·能力运用

知识点 禁止生物武器

- 1.将生物技术运用于战争或恐怖活动，后果非常可怕，下列有关叙述错误的是 ()
- A.与常规武器相比，生物武器具有传染性强、不易被发现、不受自然条件影响等特点
 - B.生物武器的类型包括致病菌、病毒、生化毒剂及经基因重组的致病菌等
 - C.由转基因微生物制成的生物武器是目前人类没有见过或接触过的，难以预防和治疗
 - D.我国对于生物武器采取的态度是不发展、不生产、不储存生物武器，并反对生物武器及其技术和设备的扩散
- A 解析：与常规武器相比，生物武器具有传染性强、不易被发现等特点，但容易受风速、气温等多种自然条件的影响，A 错误；生物武器的类型包括致病菌、病毒、生化毒剂及经基因重组的致病菌等，B 正确；由转基因微生物制成的生物武器是目前人类没有见过或接触过的，难以预防和治疗，C 正确；我国对于生物武器采取的态度是不发展、不生产、不储存生物武器，并反对生物武器及其技术和设备的扩散，D 正确。
- 2.第二次世界大战时，侵华日军中的 731 部队大量培养引起鼠疫、霍乱、伤寒和炭疽等一系列致命疾病的传染性病原体，进行人体实验和用于战争。这是利用病菌的哪种特性？ ()
- A.需氧性
 - B.能形成芽孢，容易保存

- C.传染性，并引起宿主患致命疾病
 - D.厌氧性
- C 解析：细菌是微生物中种类最多的一个门类，它们数量多、分布广，在生态系统中有重要作用。大多数细菌对人类是有益的，只有少数种类能引起人、畜和作物病害。题干中所列病菌由于具有极强的致病性和传染性，在人类历史上曾多次导致疾病大规模流行，并使数以亿计的人死亡，因此被侵略者将它们用于战争，C 正确。
- 3.在下列防范生物武器或化学武器的措施中，哪一项是只防生物武器的措施？ ()
- A.在污染区戴防毒面具
 - B.穿好防毒衣
 - C.食用清洁的饮用水和食物
 - D.在污染区活动要先进行免疫接种
- D 解析：生物武器是以生物战剂杀伤有生力量和破坏植物生长的各种武器、器材的总称，其种类包括病菌类、病毒类、生化毒剂类以及基因重组的致病菌等；化学武器是通过爆炸的方式(比如炸弹、炮弹或导弹)释放有毒化学品。在污染区戴防毒面具、穿好防毒衣、食用清洁的饮用水和食物，这些措施既能防生物武器，又能防化学武器，A、B、C 均不符合题意；进行免疫接种，可使机体发生特异性免疫反应，产生能够对抗某种病原体的抗体、记忆细胞，因此在污染区活动要先进行免疫接种的措施只防生物武器，D 符合题意。

综合性·创新提升

- 4.1918 年发生了世界范围的大流感。现在已从 1918 年大流感受害者的组织样本中提取了该流感病毒的 RNA,并经实验分析确定其由 8 个基因组成,碱基总数为 a ,其中 G 的数量为 b 。据此推测:
- (1)构成该流感病毒遗传物质的含氮碱基有哪几种?
- _____
- _____
- (分别写出名称和英文简写)。
- 你能根据题目条件推出这些碱基间的比例关系吗?为什么?
- _____。
- (2)该病毒的基因控制合成的蛋白质最可能有 _____ 种。根据中心法则分析,该病毒遗传信息的传递过程与人体不同的步骤可能有 _____。
- (3)20 世纪 30 年代,科学家发现 1918 年大流感幸存者体内存在完全可以阻断猪流感病毒毒力的抗体,而 1918 年后出生的人体内却没有这种抗体,这表明 _____。
- _____。
- _____。
- (4)试简述对流感病毒和艾滋病病毒进行改造制作生物武器的原理:_____。
- _____。其危害性比一般生物

武器要大得多的原因是_____。

解析:(1)流感病毒的遗传物质为 RNA,含有 A、G、C、U 4 种碱基。因其遗传物质 RNA 是单链结构,分子内碱基间没有配对关系,所以每种碱基的比例无法确定。(2)一种基因一般翻译成一种蛋白质。RNA 病毒中往往具有 RNA 的自我复制或逆转录过程,人体正常细胞中不含这两个步骤。(3)相同的病原体刺激产生相同的抗体,自然条件下只有病原体侵入生物体,才会产生相应抗体。(4)人群对流感病毒普遍易感,利用基因工程将流感病毒基因与艾滋病病毒基因拼接,可制造生物武器。由于人类从未接触过该类型的病毒,难以预防和治疗,所以危害性比一般的生物武器大得多。

答案:(1)胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)、腺嘌呤(A)、尿嘧啶(U) 不能。因为 RNA 是单链,分子内的碱基间没有配对关系 (2)8 RNA 的复制或 RNA 的逆转录 (3)引发人类流感和猪流感的病毒可能是同一种。幸存者因感染过该流感病毒,体内获得了抗体;而 1918 年后出生的人没有感染过该流感病毒,故没有产生这种抗体 (4)利用基因工程将流感病毒基因与艾滋病病毒基因拼接 人类从未接触过该类型的病毒,难以预防和治疗

单元活动构建

单元活动 用辩证的观点看待基因治疗的相关问题

「单元任务」

任务内容	
任务一	从转基因的角度理解基因治疗的过程和优缺点
任务二	客观分析基因治疗的安全性和伦理问题

「任务导引」

基因治疗在探索中前进。20 世纪 60 年代,科学家首次提出基因治疗的概念,为基因治疗的发展奠定了基础。1990 年,研究者用逆转录病毒将正确编码腺苷脱氨酶的基因导入离体培养的患者淋巴细胞,再将细胞输回患者体内,成功恢复了患者体内腺苷脱氨酶的合成。此次成功是基因治疗史上的重要里程碑。

此后,科学家开展了大量的基因治疗试验,一些基因治疗产品也陆续获得批准上市。近年来,以 CRISPR/Cas9 为代表的基因编辑技术的兴起让基因治疗步入了全新的阶段。

利用基因编辑技术,可在体内或体外对靶基因进行精准编辑,比如将目的基因插入指定位点,或敲除特定基因;通过单碱基编辑技术,可对靶位点进行精准碱基编辑,从而纠正原来的基因突变。目前,基于基因编辑技术的临床试验获得了良好的治疗效果。基因治疗在取得积极进展的同时,也面临着诸多问题,如安全性、伦理问题等。目前基因治疗常用的载体是病毒载体,包括逆转录病毒、腺相关病毒(AAV)等。逆转录病毒可整合外源基因到宿主基因组从而

使产物长期稳定表达,但这种随机整合的特性会带来潜在的安全隐患。病毒有一定的免疫原性,可激活机体的特异性免疫应答,导致基因治疗失败,甚至危及生命。2017年,首例利用 AAV 载体携带凝血因子基因对血友病的临床治疗以失败告终,此例就与载体输入后 AAV 病毒衣壳引起的免疫应答有关。同时,基因编辑的脱靶效应也不容忽视,一旦脱靶效应发生在重要功能基因上,会造成严重的安全风险。

经过几十年的螺旋式发展,基因治疗在遗传病和获得性疾病(如恶性肿瘤、心血管疾病和感染性疾病等)的治疗上均取得了令人兴奋的临床试验进展。基因治疗的进步为许多疾病的治疗提供了新的思路,也让无数患者看到了希望。不久的将来,基因治疗或将成为人类疾病治疗不可或缺的一部分。

「任务突破」

任务一	从转基因的角度理解基因治疗的过程和优缺点
-----	----------------------

活动 1 用逆转录病毒将正确编码腺苷脱氨酶的基因导入离体培养的患者淋巴细胞,再将细胞输回患者体内,恢复了患者体内腺苷脱氨酶的合成。

该过程的核心步骤是什么? 基因表达载体由哪些结构组成?

答案:核心步骤是基因表达载体的构建。启动子、终止子、标记基因、目的基因、复制原点等。

活动 2 基因治疗是在 DNA 分子水平进行操作,以实现缓解或治愈疾病的一种治疗手段。将 AAV 载体输入自身存在抗 AAV 抗体的患者体内,抗体会与 AAV 特异性结合从而降低载体的递送效果,AAV 病毒衣壳会引起机体细胞免疫应答进而使导入目的基因的细胞被破坏而失效。

活动 3 视网膜上包括视杆细胞和视锥细胞。引起色素性视网膜炎的基因突变首先会导致视杆细胞死亡,继而引起视锥细胞死亡,最终导致视网膜退化,眼睛失明。某实验室利用基因编辑技术和视网膜退化小鼠模型为实验材料开展相关实验,使模型小鼠的视杆细胞身份基因丧失功能,诱导视杆细胞获得视锥细胞的特征,使之能够不受有害致病突变基因的影响。

(1)从 DNA 分子中获取模型小鼠的视杆细胞身份基因,需要使用的酶是限制酶,然后使用 DNA 连接酶将视杆细胞身份基因与 *cAs* 基因、*CRISPR* 相关基因构建为重组载体。

(2)可使用显微注射法将重组载体导入模型小鼠的受精卵中,然后使受精卵发育为小鼠。

(3)检测到小鼠的视网膜未退化,视觉得到改善,说明导入的重组 *cAs* 基因、*CRISPR* 相关基因正常表达,使视杆细胞不被引起色素性视网膜炎的基因突变所影响,不发生死亡。

任务二	客观分析基因治疗的安全性和伦理问题
-----	-------------------

活动 1 逆转录病毒可整合外源基因到宿主基因组从而使产物长期稳定表达,但这种随机整合的特性会带来潜在的安全隐患。病毒有一定的免疫原性,可激活机体的特异性免疫应答,导致基因治疗失败,甚至危及生命。

(1)逆转录病毒载体可将外源基因整合到宿主基因组,这种随机整合会带来潜在的安全隐患,原因是什么?

答案:外源 DNA 若是插入到具有重要的作用基因上,可能导致基因失活,或者激活原癌基因导致癌变。

(2)CCR5 是 HIV 感染人体细胞不可缺少的关键受体。科研人员以 CCR 5 基因为靶基因,利用基因治疗手段治疗艾滋病,取得积极效果,请分析该治疗的思路。

答案:分离患者的 T 细胞或造血干细胞,利用基因编辑技术敲除细胞中的 CCR5 基因,再将细胞输回患者体内,以提高细胞抵抗 HIV 感染的能力。

(3)下列有关对基因治疗的认识或态度,正确的是 (C)

A.所有的基因治疗策略都是用正常基因去替换突变基因

B.遗传病是由遗传物质改变所致,基因治疗只适用于治疗遗传病

C.对于体外无法培养的细胞,可通过载体直接将基因导入患者体内细胞进行治疗

D.基因治疗具有难以预料的潜在安全隐患,不应该继续研究和发展

活动 2 为了治疗新型冠状病毒感染,科学工作者从新型冠状病毒的 RNA 中,剪切出能指导 S 蛋白(能引起新型冠状病毒侵染人体肺部细胞的蛋白质)的 RNA,经逆转录形成单链 DNA,再合成双链

DNA,编辑成目的基因并与相应的质粒结合构建基因表达载体后,导入工程菌中培养,从中分离提取S抗原蛋白,加工制成新型冠状病毒疫苗。利用这种方法制备疫苗的优点有哪些?(至少答两点)

答案:可快速和大量制备、安全等。

活动3 我国不赞成、不允许、不支持、不接受任何生殖性克隆人实验,对于以治疗和预防疾病为目的的人类胚胎干细胞研究,主张研究必须是有序的,并要在有效监控和严格审查条件下进行。我国赞成治疗性克隆,坚决反对生殖性克隆的原因是什么?

答案:①克隆人只是某些人出于某种目的制造的“产品”,没有“父母”,可能会导致他们心理上受到伤害;②生殖性克隆人是对人类尊严的侵犯;③克隆人的家庭地位难以认定;④生殖性克隆人冲击现有有关婚姻、家庭和两性关系的伦理道德观念;⑤克隆技术尚不成熟,不能保证克隆出无缺陷的人;⑥生殖性克隆人破坏了人类基因多样性的天然属性,不利于人类的生存和进化。

「活动达标」

1.传统的基于慢病毒感染、胚胎基因编辑构建非人灵长类脑疾病动物模型常出现操作困难、编辑基因脱靶等问题。若对非人灵长类动物的体细胞进行基因编辑并获得阳性克隆的细胞,利用体细胞核移植技术构建动物疾病模型具有优势。下列关于体细胞核移植技术的分析中,错误的是 ()

- A.将经基因编辑的单个体细胞注入MⅡ期的卵母细胞中
- B.用电刺激、 Ca^{2+} 载体等方法激活重构胚,促进胚胎分裂发育
- C.重组胚必须移植到同种、生理状态相同的雌性个体中才能继续发育
- D.基因编辑动物模型的遗传背景保持相同,有利于减小实验研究误差

A 解析:细胞核移植技术可将经基因编辑的单个体细胞注入去核的MⅡ期的卵母细胞中,A错误;可以用物理或化学方法(如电刺激、 Ca^{2+} 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,B正确;重构胚必须移植到同种、生理状态相同的雌性个体中才能继续发育,否则可能存在免疫排斥等问题,胚胎难以存活,C正

确;基因编辑动物模型的遗传背景保持相同,可以通过它们之间的对比来分析致病基因,有利于减小实验研究误差,D正确。

2.基因治疗是指把正常基因导入病人体内,使该基因的表达产物发挥功能,从而达到治疗疾病的目的。下列关于基因治疗的说法中,不正确的是 ()

- A.基因治疗的原理是基因突变
- B.基因治疗时可用经过修饰的病毒做载体
- C.基因治疗只能治疗因基因异常导致的遗传病
- D.经基因治疗治愈的病人,其后代仍有可能再患同种基因疾病

A 解析:基因治疗的原理是基因重组,A错误;基因治疗是把正常基因导入病人体内有缺陷的细胞中,所以在治疗时可用经过修饰的病毒做载体,B正确;基因治疗只能治疗因基因异常导致的遗传病,如白化病、红绿色盲等,而不能治愈所有的遗传病,C正确;基因治疗的对象是具有致病基因的体细胞,没有涉及原始生殖细胞,所以其后代仍可能患有同种基因疾病,D正确。

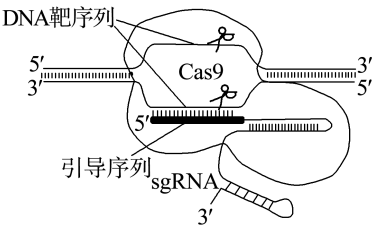
3.腺苷脱氨酶(ADA)基因缺陷症是一种免疫缺陷病,对患者采用基因治疗的方法是:取出患者的白细胞,进行体外培养时导入正常ADA基因,再将这些白细胞输回患者体内,使其免疫功能增强,能正常生活。下列有关叙述正确的是 ()

- A.导入的正常ADA基因可遗传给后代
- B.正常ADA基因替换了患者的缺陷基因
- C.正常ADA基因通过控制ADA的合成来影响免疫功能
- D.运用基因工程技术,把有缺陷的基因切除,达到治疗疾病的目的

C 解析:正常ADA基因导入的是患者的白细胞,生殖细胞的遗传物质并没有发生改变,所以不能遗传给后代,A错误;将正常ADA基因导入了患者的白细胞,但是并没有替换患者的缺陷基因,B错误;正常ADA基因通过控制ADA的合成来增强免疫功能,C正确;基因治疗是把正常基因导入病人体内有缺陷的细胞中,使该基因的表达产物发挥功能,而不是把有缺陷的基因切除,D错误。

4.CRISPR/Cas9基因编辑技术是利用Cas9蛋白-sgRNA复合体对双链DNA的特定序列进行识别并切割,从而达到基因定点敲除、插入、替换的目

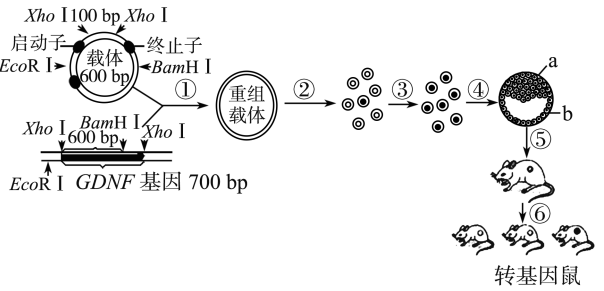
的。其中 sgRNA 的引导序列负责对 DNA 上的靶序列进行定位,再由被激活的 Cas9 蛋白对靶序列进行切割(如图所示),下列叙述错误的是 ()



- A.sgRNA 的引导序列可在 DNA 聚合酶的催化下合成
- B.Cas9 蛋白-sgRNA 复合体的功能类似于限制酶
- C.sgRNA 引导序列对 DNA 靶序列进行定位,利用了碱基互补配对原理
- D.该技术能实现对基因的定向改造,可用于某些疾病的基因治疗

A 解析:sgRNA 的引导序列可在 RNA 聚合酶的催化下合成,A 错误;根据题图分析可知,Cas9 蛋白-sgRNA 复合体可断开 DNA 上的磷酸二酯键,功能类似于限制酶,B 正确;由题图可知,sgRNA 的引导序列通过与 DNA 靶序列间的碱基互补配对进行定位,C 正确;CRISPR/Cas9 基因编辑技术是利用 Cas9 蛋白-sgRNA 复合体对双链 DNA 的特定序列进行识别并切割,从而达到基因定点敲除、插入、替换的目的,所以该技术能实现对基因的定向改造,可用于某些疾病的基因治疗,D 正确。

5.近年来,基因治疗作为一种新的治疗手段,可以治疗多种疾病。GDNF 是一种神经营养因子,对损伤的神经细胞具有营养和保护作用。研究人员构建了含 GDNF 基因的表达载体(如图所示),并导入到大鼠神经干细胞中用于干细胞基因治疗的研究。请回答下列问题:



- (1)若要获得大量 GDNF 基因,可通过_____技术进行体外扩增,该技术所需的引物有_____种。
- (2)基因工程中,最核心的步骤是_____ (填图中序号)。请判断能否用限制酶 Xho I 和 EcoR I 同时切割目的基因和载体,并说明原因_____。

重组载体上启动子的作用是_____。

- (3)图中 a 称为_____,b 将来发育为_____。
- (4)过程⑥产生的小鼠并不都是转基因小鼠的原因是_____。

解析:(1)能体外大量获得目的基因的技术是 PCR 技术,PCR 技术所需要的引物有 2 种。(2)基因工程的基本操作步骤主要包括四步:目的基因的获取;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。其中,图中①构建基因表达载体是基因工程的核心步骤。形成图中重组载体所用的限制酶只能选择限制酶 Xho I,如果使用限制酶 Xho I 和 EcoR I 同时切割目的基因和载体,那么重组质粒中将丢失启动子。启动子是 RNA 聚合酶识别和结合的位点,驱动基因转录出 mRNA,最终获得所需的蛋白质。(3)由题图可以看出 a 为内细胞团,b 是滋养层细胞,将来可以发育为胎膜和胎盘。(4)将 GDNF 基因导入小鼠的受精卵后,由受精卵发育而来的小鼠并不都是转基因小鼠的原因:转基因小鼠染色体的 DNA 上没有插入目的基因,目的基因不能稳定表达,即转基因生物的成功率并不是百分之百。

答案:(1)PCR 2 (2)① 不能,会将载体上的启动子切割掉 RNA 聚合酶识别和结合的位点,驱动基因转录出 mRNA,最终获得所需蛋白质 (3)内细胞团 胎膜和胎盘 (4)转基因生物的成功率并不是百分之百

第4章质量评估

（时间：90分钟，分值：100分）

第 I 卷（共 40 分）

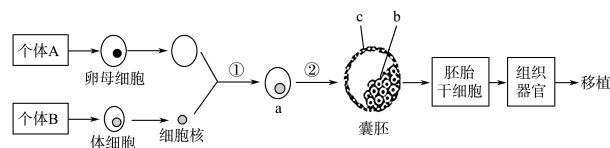
一、选择题（本题共 20 小题，每小题 2 分，共 40 分）

1. 生物技术的安全性和伦理问题是社会关注的热点。下列叙述错误的是（ ）

- A. 利用从自然界的动植物中获取的目的基因培育而成的转基因生物，对人类是有害的
- B. 当今社会的普遍观点是禁止克隆人的实验，但不反对治疗性克隆
- C. 生物武器是用致病菌、病毒、生化毒剂及重组致病菌等来形成杀伤力
- D. 正确的舆论导向有利于促进生物科技朝向正确的方向发展

A 解析：若转基因生物或其转入的基因发生意外扩散，可能会危害到其他种群的生存安危，从而直接或者间接影响人类安全，A 错误；克隆人实验会引发社会伦理问题，所以社会普遍反对克隆人实验，治疗性克隆能够治疗人类许多疾病，在进行有效监控和严格审查的前提下，社会不反对治疗性克隆，B 正确；生物武器包括致病菌、病毒、生化毒剂以及经过基因重组的致病菌，把这些病原体直接或间接地散布到敌方，可以造成大规模伤害，C 正确；正确的舆论会形成一股正确的社会之风，顺风而行，有利于促进生物科技朝向正确的发展方向大步前进，D 正确。

2. 下图为治疗性克隆流程示意图，以下叙述正确的是（ ）



- A. 过程①②分别采用的是细胞融合技术和动物细胞培养技术
- B. 胚胎干细胞来自囊胚中具有全能性的 c 细胞
- C. 图中获得的组织器官移植给个体 B 不易发生免疫排斥反应
- D. 如果克隆过程中需进行基因改造，则应选择 c 细

胞为受体细胞

C 解析：过程①②分别采用的是动物体细胞核移植技术和早期胚胎培养技术，A 错误；胚胎干细胞来自囊胚中具有全能性的 b 细胞，B 错误；由于重组细胞 a 的细胞核来自个体 B 的体细胞，具有个体 B 的遗传特性，因此图中获得的组织器官移植给个体 B 不易发生免疫排斥反应，C 正确；如果克隆过程中需进行基因改造，则应选择 b 细胞为受体细胞，因其具有较高的全能性，D 错误。

3. 转基因作物(GMC)是通过转基因技术对农作物进行精确改造而产生的。一方面，转基因作物往往在产量、抗逆性及品质等方面有显著改进，或是能极大地降低农业生产成本；另一方面，转基因作物可能会给环境和人类健康带来风险。正如一篇与此相关的文章中写道：“毫无疑问，转基因作物对人类健康和环境有可能带来危害，保护公众和环境的安全，现在是，将来也是政府的首要任务。但与此同时，这种新的科技成果将给人类带来更多的利益，这也是毋庸置疑的。”据以上材料分析，下列说法欠妥的是（ ）

- A. 转基因技术应用的基本原理是基因重组，转基因作物是转基因技术的一种产物
- B. 国家必须对转基因作物的研究制定相应的法律法规，并进行严格管理与有效控制
- C. 科学家必须在现有知识与技术的基础上尽量考虑转基因作物可能存在的风险并采取相应的防范措施
- D. 若转基因作物产生了对人类健康及环境的负面影响，我们应该放弃转基因技术

D 解析：转基因技术应用的基本原理是基因重组，转基因作物是转基因技术的一种产物，A 正确；国家必须对转基因作物研究制定相应的法律法规，并进行严格管理与有效控制，这是为了确保转基因作物的安全性与可持续性，B 正确；科学家必须在现有知识与技术的基础上尽量考虑转基因作物可能

存在的风险并采取相应的防范措施,这是科学研究和应用的基本原则,C 正确;若转基因作物产生了对人类健康及环境的负面影响,我们应该放弃该转基因作物,但并非放弃转基因技术,D 错误。

4. 建立有关生物技术安全性和伦理问题的法律法规,能够 ()

- ①规范生物技术研究
- ②防止生物技术滥用
- ③规范科学家的研究行为
- ④对生物技术产生负面影响

- A. ①②③ B. ①②④
- C. ②③④ D. ①③④

A 解析:建立有关生物技术安全性和伦理问题的法律法规,能够规范生物技术研究、防止生物技术滥用和规范科学家的研究行为,A 正确。

5. 草甘膦是一种可以杀灭多种植物(包括农作物)的除草剂,其杀灭植物的原理是破坏植物叶绿体中的 EPSPS 合成酶。通过转基因的方法,让农作物产生更多的 EPSPS 合成酶,就能抵抗草甘膦,从而不被草甘膦杀死。下列有关抗草甘膦转基因大豆培育的分析中,正确的是 ()

- A. 可通过喷洒草甘膦来检验转基因大豆是否培育成功
- B. 只要 EPSPS 合成酶基因进入大豆细胞,大豆就会表现出抗草甘膦性状
- C. 只能以大豆的受精卵作为受体细胞
- D. 抗草甘膦转基因大豆食品都是不安全的

A 解析:转基因大豆能产生更多的 EPSPS 合成酶,从而抵抗草甘膦,不被草甘膦杀死,A 正确;EPSPS 合成酶基因进入大豆细胞后不一定能成功表达,未必能表现出抗草甘膦性状,B 错误;植物细胞的全能性较高,可将体细胞作为受体细胞,利用组织培养技术获得转基因大豆,C 错误;理性看待转基因技术,转基因食品需要经过一系列的安全评估,通过评估的才是安全的,D 错误。

6. 炭疽热是炭疽杆菌引起的人畜共患病,炭疽杆菌同化方式和生殖方式分别是 ()

- A. 异养型、分裂生殖
- B. 异养型、孢子生殖
- C. 自养型、分裂生殖
- D. 异养型、营养生殖

A 解析:炭疽杆菌主要在动物体内寄生,所以其同化

方式是异养型,细菌的生殖方式是分裂生殖,A 正确。

7. 转基因生物的安全性引起人们争论的原因是 ()

- ①转移基因的功能往往未知
- ②转移基因的结构往往未知
- ③外源基因插入宿主基因组的部位往往是随机的
- ④外源基因往往是异种生物的基因

- A. ①② B. ②③
- C. ③④ D. ①③

C 解析:由于科学水平的限制,目前科学家对基因间的相互作用以及基因的调控机制了解有限;转移的基因虽然功能、结构已知,但不少是异种生物的基因(④);外源基因插入宿主基因组的部位往往是随机的(③)。因此,在转基因生物中,有时候会出现意想不到的后果,引起人们对转基因生物安全性的激烈争论,C 正确。

8. 人们对转基因生物安全性的关注,随着转基因成果的不断涌现而与日俱增。下列叙述不正确的是 ()

- A. 外源基因插入宿主基因组的部位往往是随机的,有可能会产生意想不到的后果
- B. 应该严格地选择转基因植物的目的基因,以避免产生对人类有害的物质
- C. 一旦发现转基因生物出现了安全性问题,应该马上停止实验,并销毁重组生物
- D. 转基因生物不会对生物多样性构成威胁,也不会影响生态系统的稳定性

D 解析:外源基因插入宿主基因组的部位往往是随机的,可能会出现意想不到的后果,所以一定要慎重,A 正确;应严格地选择目的基因导入植物,确保表达产物无毒、无害,以避免产生对人类有害的物质,B 正确;一旦发现转基因生物出现了安全性问题,就必须停止实验,并销毁重组生物,C 正确;转基因生物可能会对生物多样性构成威胁,进而影响生态系统的稳定性,D 错误。

9. 科学家在研究生长在墨西哥某地的野生玉米后发现,这种玉米含有包括苏云金芽孢杆菌抗虫毒蛋白基因在内的转基因作物的基因,下列有关叙述正确的是 ()

- ①转基因作物的基因可传播到野生植物中
- ②转基因作物可对天然植物的遗传多样性构成威胁
- ③为防止基因污染,应当禁止转基因作物的研究

④自然杂交与转基因过程没有任何区别

- A.①②③④ B.③
C.①② D.①

C 解析:外源基因可通过转基因作物的花粉传播到它亲缘关系较近的野生植物中,①正确;转基因植物可能会与野生植物杂交,造成基因污染,对植物的遗传多样性构成潜在的风险和威胁,②正确;虽然转基因生物存在危害,但我们应理性地看待转基因生物的研究,③错误;自然杂交是同种生物个体之间的基因交流,而转基因是将外源基因导入受体细胞,即不同种生物之间基因的交流,④错误。故选C。

10.所谓“设计试管婴儿”,是指将体外受精形成的胚胎(几个细胞期)在植入母体孕育前,将一个细胞取出进行某些基因检测,当检测结果符合人们需要时,再把胚胎植入母体孕育。下列有关叙述正确的是 ()

- A.“设计试管婴儿”应用了细胞核移植、早期胚胎培养、胚胎移植等技术
B.与“设计试管婴儿”相比,“试管婴儿”需要经过遗传学诊断
C.“设计试管婴儿”和“试管婴儿”都是有性生殖
D.对于“设计试管婴儿”技术,我们应该强行禁止、反对争论

C 解析:“设计试管婴儿”没有应用细胞核移植技术,A错误;“试管婴儿”技术不需要检测基因,也不需要经过遗传学诊断,B错误;“设计试管婴儿”和“试管婴儿”都需要体外受精,都是有性生殖,C正确;对于“设计试管婴儿”技术,我们应理性看待,D错误。

11.下列有关基因编辑技术的说法错误的是 ()

- A.基因编辑制造人类的行为是不符合伦理道德的
B.基因编辑技术不一定会改变人类进化的速度和方向,未必有利于人类的进化
C.通过基因编辑技术改变了人类的遗传物质,使人类进化成新物种
D.基因编辑技术可用于疾病预防领域研究,但不能用于编辑婴儿

C 解析:不经严格伦理和安全性审查,贸然做可遗传的人体胚胎基因的编辑的任何尝试,都是不符合伦理道德的,A正确;基因编辑技术不能改变进化的方向,进化的方向是自然选择决定的,B正确;基因编辑技术改变了人类的遗传物质,但不

定使人类进化成新物种,因为不一定产生生殖隔离,C错误;基因编辑技术可用于疾病预防领域研究,但不能用于编辑婴儿,D正确。

12.下列是科学家对会算术的狗进行克隆结果的预测及理由,其中叙述正确的是 ()

- A.克隆产物是会算术的狗,因为克隆是形成完全一样的产品
B.克隆产物是普通狗,因为会算术的能力是后天获得的,而非与生俱来的
C.克隆产物与该会算术的狗完全一样,因为遗传物质完全来自该会算术的狗
D.在动物克隆技术发展初期进行生殖性克隆人的研究

B 解析:狗会算术的能力受遗传物质与后天环境的共同作用,所以克隆的产物是普通狗,不具有算术能力,B正确,A、C错误;我国禁止生殖性克隆人的研究,D错误。

13.下列关于现代生物工程技术的叙述正确的是 ()

- A.通过转基因技术培育鸟类时,需要进行胚胎移植
B.通过核移植技术获得的克隆动物,其性别不可控
C.通过体外受精技术“设计试管婴儿”具有伦理争议
D.通过植物组织培养技术获得的植株都是可育的

C 解析:鸟是卵生动物,通过转基因技术培育鸟类时,可以把目的基因导入鸟类的受精卵,不需进行胚胎移植,A错误;通过核移植技术获得的克隆动物,其性别与提供细胞核的供体相同,故其性别可控,B错误;利用体外受精技术“设计试管婴儿”具有伦理争议,C正确;通过植物组织培养获得的单倍体植株一般不可育,D错误。

14.下列关于生物武器及其使用的叙述正确的是 ()

- A.生物武器散布途径包括直接散布、食物散布、生活必需品散布
B.炭疽杆菌产生的肉毒杆菌毒素能够引起肌肉麻痹
C.现在的年轻人都已接种天花疫苗,对其有特异性免疫能力,所以不会感染该病毒
D.《基因工程安全管理办法》中强调在任何情况下

不发展、不生产、不储存生物武器

A 解析:生物武器的散布途径包括直接散布或通过食物、生活必需品散布,A 正确;肉毒杆菌毒素是由肉毒杆菌产生的,而不是由炭疽杆菌产生的,B 错误;1980 年,世界卫生组织宣布全球消灭了天花,如年轻人普遍都未接种天花疫苗,对其没有特异性免疫能力,C 错误;《禁止生物武器公约》中强调在任何情况下不发展、不生产、不储存生物武器,D 错误。

15.2022 年 1 月 10 日美国马里兰大学医学院为一名 57 岁的男子进行了转基因猪(该转基因猪经过了基因编辑:修饰或敲除部分基因)心脏移植手术并获得成功。该患者在接受手术 2 个月 after 去世,并未说明死亡原因,但可能与免疫排斥反应有关。下列叙述错误的是 ()

- A.免疫排斥反应主要依赖于 T 细胞的作用
- B.患者在术后需使用免疫抑制剂以抑制免疫细胞的活性
- C.转基因猪的心脏引起的免疫排斥作用相对较弱
- D.对动物基因进行编辑不存在安全问题和伦理问题

D 解析:免疫排斥过程主要依赖于细胞免疫中毒性 T 细胞对靶细胞、靶器官的攻击,即免疫排斥反应主要依赖于 T 细胞的作用,A 正确;给患者使用免疫抑制剂,抑制免疫细胞的活性,降低患者的免疫功能,有利于移植心脏的存活,B 正确;由题意可知,转基因猪改造过程中可能去掉了某些抗原性物质的基因,从而降低移植心脏的抗原特性,减少免疫排斥,提高存活率,C 正确;对动物基因进行编辑也存在安全问题和伦理问题,D 错误。

16.基因污染是指在天然物种的 DNA 中嵌入了人工重组基因,这些外来基因可随被污染生物的繁殖、传播而发生扩散。下列叙述错误的是 ()

- A.基因工程间接导致了基因污染
- B.基因工程破坏了生物原有的基因组成
- C.基因工程是通过基因重组发生基因交换,从而获得了生物的新性状
- D.人类在发展基因工程作物时,充分考虑生物和环境之间的相互影响

D 解析:基因工程可以产生乳腺生物反应器,使生物含有本物种原来没有的外源基因,并可能通

过杂交作用使野生种群也含有外源基因,造成基因污染,A、B 正确;基因工程的原理是基因重组,C 正确;由于科学发展水平的限制,人类在发展基因工程作物时,难以充分考虑生物和环境之间的相互影响,D 错误。

17.据统计,从 20 世纪 90 年代至今,全世界包括基因制药在内的生物技术药物的销售额以年均 30% 的速度增长,生物制药已成为 21 世纪的朝阳产业。下列有关说法错误的是 ()

- A.我们可以利用转基因工程技术使哺乳动物本身变成“批量生产药物的工厂”
- B.对于基因制药,我们应该科学地认识和评估,保障公众的知情权
- C.利用转基因技术还可以进行基因治疗,现在技术已经完全成熟
- D.由于转基因生物的安全问题,国家应建立相应的评估及预警机制

C 解析:利用转基因工程技术可以使哺乳动物本身变成“批量生产药物的工厂”,如有人将 α -抗胰蛋白酶基因转到羊体内用于生产 α -抗胰蛋白酶,A 正确;由于人们对基因药物持不同观点,所以应科学地认识和评估,保障公众的知情权,B 正确;转基因技术可以进行基因治疗,但现在技术还不成熟,C 错误;由于转基因生物的安全问题,国家应建立相应的评估及预警机制,D 正确。

18.生物安全是国家安全体系的组成部分。以下选项中不会给我国带来生物安全风险的是 ()

- A.人类及动植物中可能爆发的重大疫病
- B.保护沿海滩涂红树林的生物多样性
- C.全球气候变暖导致生态环境发生改变
- D.收集我国公民及生物资源的遗传信息

B 解析:人类及动植物中可能爆发的重大疫病,可能会大范围传播,威胁我国人民和动植物的健康及生命,A 不符合题意;保护沿海滩涂红树林的生物多样性,有利于维持生态系统的相对稳定,不会给我国带来生物安全风险,B 符合题意;全球气候变暖导致生态环境发生改变,影响生物多样性,对生物圈的稳态造成严重威胁,会给我国带来生物安全风险,C 不符合题意;收集我国公民及生物资源的遗传信息,可能会被不法分子利用,从而危害我国公民的健康和破坏生态平衡,D 不符合

题意。

19. 下列关于转基因产品与环境安全的叙述错误的是 ()

- A. 转基因生物可能会影响生态系统中原有的动态平衡
- B. 种植具有抗虫等特性的转基因农作物可以减少农药的使用量, 对环境没有任何负面影响
- C. 转基因产品可能会加剧环境污染, 危害其他动植物的生存
- D. 转基因作物可通过花粉散落到它的近亲作物上, 从而污染生物基因库

B 解析: 转基因生物可能会对生物多样性构成威胁, 也可能会影响生态系统的稳定性, A 正确; 种植转基因抗虫作物可以减少农药的使用量, 保护环境, 但转基因植物可能会与野生植物杂交, 造成基因污染, 可能会对生物多样性造成潜在的风险和威胁, B 错误; 转基因花粉中若有毒蛋白或过敏蛋白, 可能会通过食物链传递到人体内, 转基因作物可通过花粉散落到它的近亲作物上, 从而污染生物基因库, 转基因产品还可能会加剧环境污染, 危害其他动植物的生存, C、D 正确。

20. 在转基因研究工作中, 科学家会采取很多方法防止基因污染。例如, 我国科学家将来自玉米的 α -淀粉酶基因与目的基因一起转入植物中, 由于 α -淀粉酶基因可以阻断淀粉储藏使花粉失去活性, 因而可以防止转基因花粉的传播。下列相关叙述不正确的是 ()

- A. 基因污染可能对生物多样性、生态环境和人体健康造成潜在威胁
- B. 由于目的基因无法表达, 转基因花粉无法进行传播
- C. 若要将目的基因导入植物细胞中, 需要用 DNA 连接酶将目的基因和载体连接
- D. 玉米中 α -淀粉酶基因的获取可通过 PCR 扩增, 也可用化学方法人工合成

B 解析: 基因污染可能对生物多样性、生态环境和人体健康造成潜在威胁, A 正确; 据题干可知, 通过阻断淀粉储藏使花粉失去活性, 因而可以防止转基因花粉的传播, 并不是目的基因无法表达, B 错误; 若要将目的基因转入植物细胞中, 需要用 DNA 连接酶将目的基因和载体连接, C 正确; 玉米中 α -淀粉酶基因的获取可通过 PCR 扩增, 也可

用化学方法人工合成, D 正确。

第 II 卷 (共 60 分)

二、非选择题 (本题共 5 小题, 共 60 分)

21. (13 分) 碳中和、新能源、药物创新、医药专利、生物技术创新及安全等问题成了科技界讨论的课题, 请回答下列问题:

(1) 转基因食品是将含有_____的生物及其产生的产品制成的食品。生产转基因食品首先要培育转基因生物。若培育转基因动物最好以_____作为目的基因表达载体的受体细胞, 植物可以将体细胞和生殖细胞直接培养成试管植株, 但动物的体细胞不能直接培养成动物新个体的原因是_____, 克隆羊多莉培育成功说明_____具有全能性。在培育转入胰岛素基因酵母菌过程中, 若用反转录法获取目的基因, 则提供 RNA 的供体细胞为_____ (填“胰岛 A 细胞”“胰岛 B 细胞”“受精卵”或“干细胞”)。人们对转基因食品可能带给人类健康和环境方面的风险忧心忡忡, 因为转基因生物存在_____, 如生物入侵、破坏原来的生态平衡、过敏反应、抗生素抗性、疾病流行等。

(2) 生物武器由生物战剂及其施放装置等组成, 是一种大规模的杀伤性武器, 它与常规武器相比有许多特点: ①_____, ②_____, ③_____。1998 年 6 月, 中美两国元首在关于《禁止生物武器公约》议定书的联合声明中, 重申在任何情况下_____, _____, _____生物武器。

(3) 用于人体细胞培养的培养基属于液体培养基, 不使用固体培养基的原因之一是动物细胞存在_____抑制。这种液体培养基一定要添加动物的_____; 细胞培养需要在 95% 的空气和 5% 的二氧化碳混合气体的 CO_2 培养箱中进行, 其中 5% 的二氧化碳的作用是_____。

解析: (1) 转基因食品是将含有的外源基因的生物及其产生的产品制成的食品。生产转基因食品首先要培育转基因生物, 由于动物体细胞的全能性受到限制, 所以培育转基因动物时将目的基因导入受精卵中, 即动物转基因过程中要选择受精卵

作为受体细胞,而植物细胞由于全能性较高,所以可以将体细胞和生殖细胞直接培养成试管植株。克隆羊多莉培育成功证明了动物细胞的细胞核具有全能性。只有在胰岛 B 细胞中胰岛素基因才能进行表达,所以只有在胰岛 B 细胞中才能获取胰岛素的 mRNA,因此,在培育转入胰岛素基因酵母菌过程中,若用反转录法获取目的基因,则需要从胰岛 B 细胞中获取相应的 mRNA。转基因生物存在潜在危险,如生物入侵、破坏原来的生态平衡、过敏反应、抗生素抗性、疾病流行等,因此,人们对转基因食品可能带给人类健康和环境方面的风险忧心忡忡。(2)生物武器具有传染性强、污染面广、难以防治的特点,因此,生物武器是一种大规模的杀伤性武器,应禁止使用生物武器。1998 年 6 月,中美两国元首在关于《禁止生物武器公约》议定书的联合声明中,重申在任何情况下不发展、不生产、不储存生物武器。(3)用于人体细胞培养的培养基属于液体培养基,因为液体培养基能保证培养的细胞获取足够的营养,同时,还由于动物细胞培养具有细胞贴壁生长和接触抑制现象,因此要在液体培养基中培养动物细胞,且需要在培养基中添加动物血清;培养时需要提供一定的气体环境,其中 5% 的二氧化碳的作用是用于维持培养液的 pH 处于稳定状态。

答案:(1)外源基因 受精卵 动物细胞的全能性受到限制 动物的细胞核 胰岛 B 细胞 潜在危险 (2)传染性强 污染面广 难以防治 不发展 不生产 不储存 (3)接触 血清 维持培养液的 pH

22. (12 分) 阅读下列材料,回答问题。

转基因生物就是利用重组 DNA 技术,将外源基因(目的基因)导入受体生物(动物、植物、微生物)体内。当这种外源基因与受体生物的基因整合后,外源基因就能随受体生物细胞的分裂而增殖,并能表达出受体生物原本没有的性状,且能遗传给后代。1999 年 2 月 19 日我国培育的首例转基因牛诞生;2001 年 1 月 11 日第一只转基因羊在美国诞生;2001 年 2 月转基因鲤鱼(将大马哈鱼的生长激素基因转移到普通鲤鱼体内)在我国培育成功。此外,转基因兔及转基因抗虫棉等也已培育成功。

(1)基因是_____的功能单位和结构单位,是

有遗传效应的_____片段。

(2)不同生物间基因移植成功,说明生物共用一套_____;从生物进化的角度看,这些生物具有_____。

(3)转基因技术将给农业、医药等诸多领域带来革命,目前取得了许多成就,同时也可能给人类带来灾难性的后果。试各举一至两个实例。

(4)有人提出“吃基因补基因”,你是否赞成这种观点?试从新陈代谢的角度简要说明理由。

解析:基因是遗传物质的功能单位和结构单位,是有遗传效应的 DNA 片段。不同生物间的基因之所以能够移植成功,是因为不同的生物共用一套遗传密码;从生物进化的角度看,这些生物具有亲缘关系。吃基因不一定补基因,因为基因被吃下后,可能被消化酶消化而失去作用,但其分解产物可作为合成 DNA 的原料。

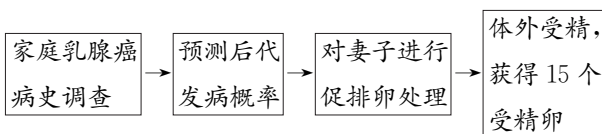
答案:(1)遗传物质 DNA (2)遗传密码 亲缘关系 (3)成就:将抗病基因转移到水稻中形成抗病水稻新品种;将人的血型基因转移到猪的体内,培育生产人血的猪。不良后果:转基因作物通过花粉传播可与亲缘关系较近的植物杂交,从而导致基因逃逸,可能产生优势种,危及生物多样性。

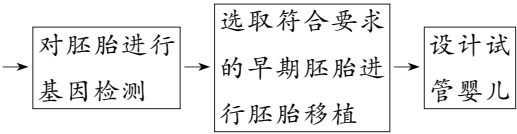
(4)开放性题目,只要用生物学知识回答即可。(如不赞成,因为基因被吃下后,和其他生物大分子一样被消化分解,不可能以完整的原状进入细胞,更不可能补充或整合到人体原有的基因组中去;赞成,基因被吃下后,消化分解为简单物质,可以作为合成 DNA 的原料。)

23. (12 分) 阅读、分析下列材料,并结合所学知识回答问题:

材料一 乳腺癌是癌症中较为常见的一种。最新研究表明,HER2 基因控制合成的某种信号蛋白具有促进乳腺细胞生长、增殖的功能。正常人体细胞仅有 2 个 HER2 基因,而乳腺癌病人细胞中 HER2 基因往往多于 2 个。

材料二 据报道,英国某医院的医生利用基因诊断和胚胎筛选技术,使一对拥有乳腺癌家族病史的英国夫妇顺利孕育一名排除乳腺癌隐患的“设计试管婴儿”。下图是该“设计试管婴儿”培育的流程图:





- (1)由材料一可知,乳腺癌产生的原因是_____。
- (2)材料二中“体外受精”技术主要包括_____、_____和受精阶段。
- (3)人的早期胚胎培养过程中要保证全面获得营养物质和调节物质,可在培养液中添加_____、激素等;为防止杂菌污染可在培养液中添加_____。
- (4)世界首例抗乳腺癌“设计试管婴儿”的诞生引发了伦理争议,请你说明反对这一技术应用于人类的理由:_____。

解析:(1)由材料一可知,乳腺癌病人细胞中HER2基因增多,导致该基因控制合成的某种信号蛋白增多,使乳腺细胞不正常的生长、增殖。(2)体外受精技术包括卵母细胞的采集、精子的获取以及受精等阶段。(3)动物细胞培养的培养液中应添加血清、激素等,为防止杂菌污染可向培养液中添加抗生素。(4)开放性问题,答案合理即可。

答案:(1)乳腺癌细胞中某种信号蛋白合成增多(超出正常范围) (2)卵母细胞的采集 精子的获取 (3)血清 抗生素 (4)在“设计试管婴儿”过程中需对胚胎进行筛选,这是对生命的不负责任;含有致癌基因的胚胎在长大成人后,也有不患病的可能;基因筛选会在不久的将来愈演愈烈,最终变成从相貌、智力等方面对人类胚胎事先进行筛选,变成名副其实“设计”出来的婴儿(答对一点即可,其他合理答案也可)

24.(10分)阅读下面炭疽病的相关材料,回答问题:

炭疽病的病原体是一种细菌——炭疽杆菌。炭疽杆菌是芽孢杆菌属中唯一的致病菌,且为需氧芽孢杆菌,在厌氧条件下不能生长。炭疽杆菌长5~10 μm,宽1~3 μm,菌体杆状,两端平截,没有鞭毛,不能运动。如暴露于空气中或在有氧条件下培养时,在菌体内能形成椭圆形的芽孢。芽孢没有繁殖作用,是生命活动很微弱的休眠体。芽孢不仅对低温、潮湿等不良环境的抵抗力极强,也不会因阳光照射或喷洒消毒药品而死亡。芽孢

在土壤中可存活约40年,一旦条件适宜,便可形成一个炭疽杆菌,并释放出一种炭疽毒素。极少剂量的炭疽毒素就能杀死血液里的免疫细胞,造成人体严重休克,乃至死亡,故炭疽病具有致病力强、感染后潜伏期短、病情急和病死率高等特点。

炭疽芽孢在炭疽杆菌的传播过程中起重要作用,人类感染炭疽杆菌的途径为皮肤渗透、呼吸和饮食摄入。由于炭疽杆菌属革兰氏阳性细菌,因此青霉素对其有极强的抑制作用。治疗炭疽病的关键是早期诊断和早期治疗,可静脉滴注大剂量的青霉素。预防炭疽病可在被感染前一周接种无毒炭疽杆菌疫苗,效果良好。

- (1)炭疽杆菌的新陈代谢类型是_____型。
- (2)炭疽杆菌的生殖方式是_____生殖。
- (3)人类感染炭疽杆菌的途径有三种,即_____、_____和_____。
- (4)预防炭疽病,可接种无毒炭疽杆菌疫苗,使接种者体内产生有免疫作用的_____。由于炭疽杆菌属革兰氏阳性细菌,因此_____对其有极强的抑制作用,有很好的治疗效果。
- (5)长期使用青霉素,会使炭疽杆菌的抗药性增强,原因是_____。

解析:(1)炭疽杆菌属于寄生菌,厌氧条件下不能生存,故其代谢类型是异养需氧型。(2)细菌一般进行分裂生殖。(3)由题干材料可知,人类感染炭疽杆菌的途径有皮肤渗透、呼吸和饮食摄入。(4)接种无毒炭疽杆菌疫苗,使接种者体内产生对炭疽杆菌有免疫作用的抗体,青霉素对炭疽杆菌有极强的抑制作用。(5)抗药性的增强是药物对变异个体进行定向选择的结果。

答案:(1)异养需氧 (2)分裂 (3)皮肤渗透 呼吸 饮食摄入 (4)抗体 青霉素 (5)青霉素对炭疽杆菌中具有抗药性的变异个体进行定向选择

25.(13分)阅读材料,回答下列问题:

棉铃虫是一种严重危害棉花的害虫。我国科学家发现一种生活在棉铃虫消化道内的苏云金芽孢杆菌能分泌一种抗虫蛋白使棉铃虫死亡,而此抗虫蛋白对人畜无害。通过基因工程的方法,我国已将该抗虫蛋白基因转入棉花细胞并实现成功表达。由于棉铃虫吃了这种转基因棉花的植株后就会死亡,所以该棉花新品种在1998年推广后,已取得了很好的经济效益。

- (1)科学家预言,“转基因抗虫棉”独立种植几代以后,也将出现不抗虫的植株,此种现象来源于_____。
- (2)题中“我国已将该抗虫蛋白基因转入棉花植株并实现成功表达”中的“成功表达”的含义是指_____。
- (3)与杂交育种、诱变育种相比,通过基因工程培育新品种的主要优点是_____。
- (4)转基因技术有利有弊,请各举一例加以说明。

- 有利方面:_____。
- 有害方面:_____。
- 答案:(1)基因突变 (2)抗虫蛋白基因在棉花细胞内转录、翻译成抗虫蛋白 (3)目的性强,育种周期短,克服了远缘杂交不亲和的障碍 (4)用于疾病的诊断和治疗;用于培养优良的动植物新品种等 可能引起环境问题、食品安全问题、生物安全性问题等

第 3~4 章滚动检测

(时间:90 分钟,分值:100 分)

一、选择题(本题共 20 小题,每小题 2 分,共 40 分)

第 I 卷(共 40 分)

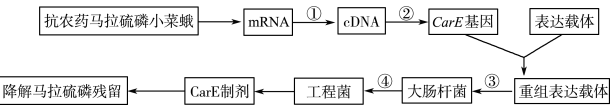
- 1.CRISPR/Cas 系统是细菌在进化过程中形成的防御机制。当病毒入侵细菌时,细菌基因组中的 CRISPR 位点能转录与入侵病毒基因组序列相匹配的小分子 RNA,然后 CRISPR-RNA 就能通过互补序列结合病毒基因组,并表达 CRISPR 相关核酸酶(Cas 酶),进而切割病毒 DNA 以阻止病毒完成其功能。下列叙述错误的是 ()
- A.CRISPR 位点的转录和翻译场所相同
- B.CRISPR/Cas 的发现有助于对基因进行定点编辑
- C.CRISPR/Cas 系统可抵御各种病毒的入侵
- D.Cas 酶可能作用于磷酸二酯键
- C 解析:细菌无细胞核,无核膜阻隔,其转录和翻译的场所相同,A 正确;结合题意 CRISPR-RNA 能通过互补序列结合病毒基因组,并表达 Cas 酶,进而切割病毒 DNA 以阻止病毒完成其功能可知,CRISPR/Cas 具有精确识别基因组序列的能力,故有助于对基因进行定点编辑,B 正确;酶具有专一性,CRISPR/Cas 系统能切割特定的病毒从而阻止其入侵,但不能抵御各种病毒入侵,C 错误;Cas 酶能切割病毒 DNA,其作用与限制性核酸内切酶相似,故其作用部位可能是磷酸二酯键,D 正确。
- 2.科研人员以抗四环素基因为标记基因,通过基因工程的方法让大肠杆菌生产鼠的 β -珠蛋白,治疗鼠的

- 镰状细胞贫血。下列相关实验设计中,正确的是 ()
- A.用 β -珠蛋白基因的编码序列加启动子、终止子、抗四环素基因等元件来构建表达载体
- B.利用小鼠的成熟红细胞提取 mRNA,再经反转录可获得 β -珠蛋白基因的编码序列
- C.用含有四环素的培养基筛选出能繁殖的大肠杆菌,即可产生 β -珠蛋白
- D.用 Ca^{2+} 处理大肠杆菌后,将表达载体导入具有四环素抗性的大肠杆菌中
- A 解析:基因表达载体的组成包括启动子、目的基因、标记基因和终止子等,因此用 β -珠蛋白基因的编码序列加启动子、终止子、抗四环素基因等元件来构建基因表达载体,A 正确;小鼠的成熟红细胞中没有细胞核提取不到 mRNA,B 错误;导入大肠杆菌的可能是普通质粒或重组质粒,用含有四环素的培养基筛选出的大肠杆菌,不一定含有 β -珠蛋白基因,也就不一定能产生 β -珠蛋白,C 错误;标记基因是抗四环素基因,因此受体细胞不应具有四环素抗性,即用 Ca^{2+} 处理大肠杆菌后,将表达载体导入不具有四环素抗性的大肠杆菌中,D 错误。
- 3.我国科学家利用基因工程技术将海藻合成酶基因转移到甘蔗体内,获得了抗旱、高产、高糖的甘蔗新品种。以下关于基因工程的说法中,不正确的是 ()

- A.我国转基因抗虫棉的目的基因来自某种真菌
- B.利用基因工程的方法可以获取干扰素、凝血因子等药物
- C.培育抗除草剂的玉米需要使用限制酶、DNA 连接酶等工具酶
- D.通过基因工程可以提高作物的抗盐碱和抗干旱的能力

A 解析：转基因抗虫棉的目的基因主要是 *Bt* 基因，该目的基因是从苏云金杆菌中提取的，属于细菌而非真菌，A 错误；基因工程在医药卫生领域方面的应用包括生产干扰素、凝血因子等药物，B 正确；培育抗除草剂的玉米需要使用限制酶（切割目的基因和载体）、DNA 连接酶（连接切割后的目的基因和载体）等工具酶，C 正确；由于盐碱和干旱对农作物的危害与细胞内渗透压调节有关，可以利用一些调节细胞渗透压的基因来提高作物的抗盐碱和抗干旱能力，D 正确。

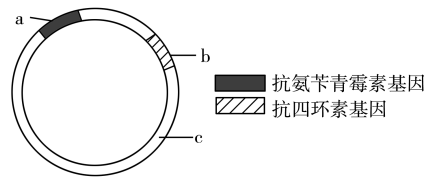
- 4.用基因工程技术生产羧酸酯酶（CarE）制剂的流程如下图所示，下列叙述正确的是（ ）



- A.过程①需使用耐高温的 DNA 聚合酶
- B.过程②需使用解旋酶和 PCR 获取目的基因
- C.过程③可将重组表达质粒导入所有的大肠杆菌
- D.过程④可利用 PCR 等技术检测目的基因是否已导入受体细胞

D 解析：过程①需使用逆转录酶，A 错误；过程②表示利用 PCR 技术对目的基因进行扩增，该过程中解旋是通过高温解链实现的，不需要解旋酶，B 错误；过程③可将重组表达质粒导入用 Ca^{2+} 处理的大肠杆菌，C 错误；过程④可利用 PCR 等技术检测目的基因是否已导入受体细胞，D 正确。

- 5.质粒是基因工程中常用的运载工具，某质粒上有两种抗药基因可作为标记基因，a、b、c 为三个可能出现的目的基因插入点，如下图所示。如果用一种限制酶处理目的基因和质粒后，合成重组质粒，将重组质粒导入某高等植物受体细胞后，用含有药物的培养基筛选受体细胞，预计结果如下表。下列选项中正确的是（ ）



	含有氨苄青霉素的培养基	含有四环素的培养基
①	能生长	能生长
②	不能生长	能生长
③	能生长	不能生长

- A.如果出现①结果，说明两个抗药基因都没有被破坏，转基因实验获得成功
- B.如果出现①结果，说明限制酶的切点在 c 点，目的基因在 c 点的断口处
- C.如果出现②或③结果，说明转基因实验失败
- D.转移到受体细胞中的 a、b 基因的遗传遵循孟德尔遗传规律

B 解析：据题分析，如果出现①结果，说明两个抗药基因都没有被破坏，并不能说明目的基因已经插入，A 错误。如果出现①结果，说明限制酶的切点可能在 c 点，而目的基因应插入 c 点的断口处，B 正确。如果出现②或③结果，说明抗性基因中的一个被破坏，但不影响目的基因的插入和检测，C 错误。转移到受体细胞中的 a、b 基因若整合到染色体上，则它们的遗传遵循孟德尔遗传规律；若没有整合到染色体上，则它们的遗传不遵循孟德尔遗传规律，D 错误。

- 6.一对美国夫妇将他们精、卵做的胚胎冷藏（防止胚胎移植不能一次成功时下次使用）。在一次外出时，他们因飞机失事而不幸去世。于是有人就提出：是不是应该把胚胎植入代孕母亲子宫，生下一个孩子继承遗产？还是没有这个必要，把财产交给他们的亲戚？抑或交给国家处理？该件事反映了“胚胎冷藏”技术（ ）

- A.是对人类生育权的保护
- B.会带来伦理问题
- C.是一种成熟的可推广的技术
- D.是一种国家法律所禁止的技术

B 解析：“胚胎冷藏”技术所引起的这些争论，实质是对冷冻胚胎的道德和法律地位的争论，即带来伦理问题，B 符合题意。

- 7.生物技术的安全性和伦理问题是社会关注的热点。下列叙述错误的是（ ）

- A.应严格选择转基因植物的目的基因，避免产生对人类有害的物质
- B.当今社会的普遍观点是禁止克隆人的实验，但不反对治疗性克隆

C.反对“设计试管婴儿”的原因之一是有人滥用此技术选择性设计婴儿

D.生物武器种类包括致病菌、病毒、生化毒剂,以及经过基因重组的致病菌等

D 解析:培育转基因植物时,要根据目的基因的产物是否对人类有害,来确定该目的基因能否用于转基因植物的培育,A 正确;克隆人会给社会带来伦理上的问题,所以当今社会的普遍观点是禁止克隆人的实验,治疗性克隆对于一些重大疾病的治疗具有积极的意义,所以并不反对治疗性克隆,B 正确;“设计试管婴儿”对于治疗不孕不育及一些难治之症具有积极的意义,但有人却滥用此技术选择性设计婴儿,所以“设计试管婴儿”遭到反对,C 正确;生物武器种类包括致病菌、病毒、生化毒剂,以及经过基因重组的致病菌等,D 错误。

8.在克隆人的问题上,中国政府的态度是 ()

①禁止生殖性克隆人

②不赞成、不允许、不支持、不接受任何生殖性克隆人的实验

③不反对治疗性克隆

④不反对生殖性克隆和治疗性克隆

A.①②

B.①②③

C.②③④

D.①②③④

B 解析:①中国政府的态度是禁止生殖性克隆人,①正确;②中国政府坚持四不原则——不赞成、不允许、不支持、不接受任何生殖性克隆人的实验,②正确;③中国政府不反对治疗性克隆,③正确;④中国政府禁止生殖性克隆,不反对治疗性克隆,④错误。故选 B。

9.下列与“DNA 的粗提取与鉴定”实验原理无关的是 ()

A.DNA 分子在不同浓度的 NaCl 溶液中的溶解度不同

B.DNA 分子在 80 ℃到 100 ℃范围内双螺旋解体为两条单链

C.DNA 不溶于酒精溶液,但细胞中的某些蛋白质能溶于酒精

D.在沸水浴的条件下,DNA 与二苯胺试剂反应呈现蓝色

B 解析:DNA 在不同浓度的 NaCl 溶液中的溶解度不同是 DNA 粗提取的原理之一,A 不符合题意;DNA 分子在 80 ℃到 100 ℃范围内双螺旋解聚为

两条单链是 PCR 技术的原理,不是 DNA 粗提取的原理,B 符合题意;DNA 不溶于酒精溶液,但细胞中的某些蛋白质能溶于酒精,因此可以将某些蛋白质与 DNA 分离,是 DNA 粗提取的原理,C 不符合题意;在沸水浴的条件下,DNA 与二苯胺试剂反应呈现蓝色,这是 DNA 鉴定的原理,D 不符合题意。

10.引物的设计是影响 PCR 扩增反应的效率和特异性的关键因素,相关叙述正确的是 ()

A.引物的碱基数量越少则复性温度越低、目标 DNA 获得率越高

B.根据需要可在引物的 5' 端添加限制酶识别序列、点突变序列等

C.两种引物的复性温度差异较大,可减少引物与模板的非特异性结合

D.引物的 GC 含量越高,结合特异性越强,越利于目标 DNA 的扩增

B 解析:复性温度与时间,取决于引物的长度、碱基组成及其浓度,引物的碱基数量越少变性时破开的氢键越少,则复性温度越低,但能与引物发生配对的片段就越多,目标 DNA 获得率就越低,A 错误;根据需要可在引物的 5' 端添加限制酶识别序列、点突变序列等,以便更加准确地获得目的基因,B 正确;两种引物的复性温度差异较大,导致不能同时复性,甚至一条链在延伸,一条链在复性,这会增加引物与模板的非特异性结合,C 错误;引物的 GC 含量越高,结合特异性越强,但 GC 含量过高,不利于复性,从而阻碍目标 DNA 的扩增,D 错误。

11.“设计试管婴儿”所引发的主要问题是 ()

A.不适合胚胎的处理问题

B.将此技术用于设计婴儿性别等

C.植入前胚胎遗传学的诊断技术问题

D.“设计试管婴儿”的审批问题

A 解析:对不适合的胚胎是抛弃还是杀死是“设计试管婴儿”所引发的主要问题,A 正确。

12.炭疽杆菌是一种能当做生物武器的致病微生物,已引起科学界的日益关注,某生化制药厂曾试合成了一种对炭疽杆菌细胞壁有转化分解作用的酶制品。该制品所分解的物质是 ()

A.DNA 和 RNA

B.DNA 和蛋白质的化合物

C.葡萄糖组成的大分子

D.糖类与蛋白质的化合物

D **解析**:炭疽杆菌细胞壁的主要成分是肽聚糖,由糖类和蛋白质组成,故该酶制品分解的物质应该是糖类和蛋白质组成的化合物,D正确。

- 13.大多数人认为,用“设计试管婴儿”的办法救治自己的孩子是符合伦理道德的。下列选项不属于他们的理由是 ()

A.父母是出于爱子之心,为了救治孩子
B.这是救治患者最好、最快捷的办法
C.提供骨髓中的造血干细胞不会对婴儿造成伤害
D.把试管婴儿当作人体配件工厂是对生命的不尊重

D **解析**:D项是反对“设计试管婴儿”的理由。

- 14.水母发光蛋白分子由 236 个氨基酸构成,其中由 3 种氨基酸构成发光环,现已将这种蛋白质的基因作为生物转基因的标记。在转基因技术中,这种蛋白质的作用是 ()

A.促使目的基因导入受体细胞中
B.促使目的基因在受体细胞中复制
C.促使目的基因容易被检测出来
D.检测目的基因是否成功表达

C **解析**:标记基因用于鉴别受体细胞中是否导入了目的基因,本题中将某目的基因和发光蛋白基因共同接入基因表达载体,在将该载体转入某生物受体细胞后,若受体细胞被检测到发出可见光,则说明该目的基因成功转入,C正确。

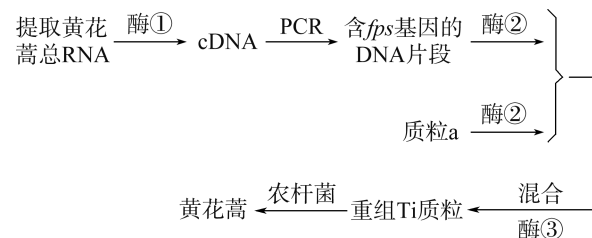
- 15.人工栽培玫瑰历史悠久,迄今已培育出数千多个品种。玫瑰没有生成蓝色素所需的“黄酮类化合物 3,5-氢氧化酶”的基因,因此蓝玫瑰被认为是不能培育成功的,但科研人员将蓝三叶草中的蓝色素基因植入普通玫瑰而成功培育出了蓝玫瑰,这种玫瑰的花瓣中所含的色素为蓝色。下列有关叙述正确的是 ()

A.蓝色素分布于蓝玫瑰花瓣细胞的液泡中
B.培育蓝玫瑰用到的工具酶是限制酶、DNA 连接酶和载体
C.蓝色素基因在所有玫瑰细胞中都能控制合成蓝色素
D.蓝玫瑰的培育成功意味着人类创造了一个新的物种

A **解析**:蓝色素分布于蓝玫瑰花瓣细胞的液泡中,A正确;科研人员将蓝三叶草中的蓝色素基因植入普通玫瑰而成功培育出了蓝玫瑰,为基因工程操作,故用到的工具酶是限制酶和 DNA 连接

酶,载体不属于工具酶,B错误;由于基因的选择性表达,蓝色素基因只在玫瑰花瓣细胞中表达,而在其他细胞中不表达,C错误;蓝玫瑰仅仅是转入了一个外源基因,与其他的玫瑰未产生生殖隔离,因而没有产生新的物种,D错误。

- 16.某课题组为得到青蒿素产量高的植株新品系,通过一定的技术,使青蒿素合成过程的某一关键酶基因 *fps* 在野生黄花蒿中得到了过量表达,其过程如下图所示。下列叙述错误的是 ()



- A.PCR 过程中,温度需要控制在 90 ℃ 以上的目的是破坏氢键
B.构建重组 Ti 质粒过程中,目的基因需插入 Ti 质粒的 T-DNA 上
C.基因表达载体包括目的基因、启动子、终止密码子和标记基因等
D.用荧光标记的 *fps* 基因作为探针可以检测目的基因是否导入成功

C **解析**:利用 PCR 技术扩增目的基因时,使反应体系中的模板 DNA 解旋为单链的条件是加热至 90 ℃ 以上,目的是破坏 DNA 分子中的氢键,A正确;构建重组 Ti 质粒的过程中,需将目的基因插入 Ti 质粒的 T-DNA 上,B正确;基因表达载体包括目的基因、启动子、终止子和标记基因等,终止密码子位于 mRNA 上,C错误;检验目的基因是否整合到黄花蒿基因组中,可用 DNA 分子杂交法,即将 *fps* 基因制成基因探针,与黄花蒿基因组 DNA 杂交,D正确。

- 17.某医院的医生利用基因诊断和胚胎筛选技术,使一对拥有乳腺癌家族病史的英国夫妇顺利孕育了一名排除乳腺癌隐患的婴儿。下列有关叙述正确的是 ()

A.这项技术属于“设计试管婴儿”,该技术的使用未受到限制
B.该项技术中涉及动物细胞融合、早期胚胎培养、胚胎移植等技术
C.为保证胚胎移植成功,必须将受精卵在体外培养至原肠胚时期
D.在进行乳腺癌基因诊断时可运用 DNA 分子杂交技术

D 解析:由于该过程中有基因诊断和胚胎筛选的技术(植入前对胚胎进行遗传学诊断),故属于“设计试管婴儿”,因为有人会滥用“设计试管婴儿”技术,故该技术的使用应受到限制,A 错误;“设计试管婴儿”技术与其他试管动物技术一样,涉及体外受精、早期胚胎培养、胚胎移植等技术,未涉及动物细胞融合,B 错误;人的试管胚胎,可在 8~16 个细胞阶段进行移植,而不是培养到原肠胚时期,C 错误;基因诊断可运用 DNA 分子杂交技术,D 正确。

18.下列对试管婴儿和克隆羊“多莉”的相关叙述错误的是 ()

- A.试管婴儿和“多莉”的诞生原理是不同的
- B.试管婴儿的培育依赖体外受精、早期胚胎培养、胚胎移植等相关技术
- C.“多莉”的诞生说明高度分化的细胞经过一定的技术处理可恢复到类似于受精卵时期的功能
- D.从科学上讲,动物克隆技术已经成熟;从伦理上讲,人的克隆会在伦理上冲击家庭

D 解析:试管婴儿诞生的基础是有性生殖,克隆羊诞生的原理是无性生殖,故试管婴儿和“多莉”的诞生原理是不同的,A 正确;从科学上讲,动物克隆技术尚未成熟;从伦理上讲,人的克隆将极大地冲击社会的基本组织单位——家庭,会带来社会伦理问题,D 错误。

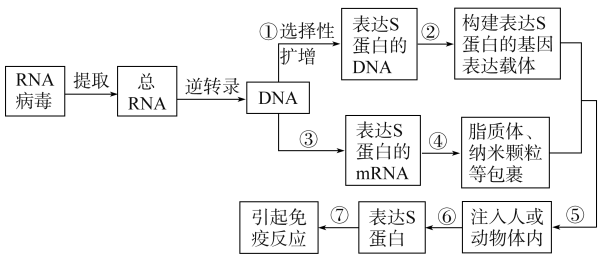
19.炭疽杆菌造成感染者死亡率极高的主要原因之一是它能产生两种成分为蛋白质的内毒素。有科学家将该菌的大型环状 DNA 分子破坏,该菌仍能产生内毒素。据此判断下列对炭疽杆菌的叙述中,错误的是 ()

- A.炭疽杆菌合成的内毒素属于代谢产物
- B.控制内毒素合成的基因位于炭疽杆菌的拟核中
- C.若将炭疽杆菌用于军事或恐怖活动,则属于生物武器
- D.将蜡样芽孢杆菌改造成像炭疽杆菌一样的致病菌需要通过转基因技术

B 解析:炭疽杆菌产生的内毒素是其细胞的代谢产物,A 正确;炭疽杆菌属于细菌,其大型环状 DNA 分子位于拟核内,但从题意可知,将其大型环状 DNA 分子破坏,仍能合成内毒素,则表明控制内毒素合成的基因不位于炭疽杆菌拟核中的

DNA 上,而位于其质粒 DNA 上,B 错误;生物武器包括致病菌类、病毒类和生化毒剂类等,致死率极高的炭疽杆菌用于军事或恐怖活动,则属于生物武器,C 正确;将蜡样芽孢杆菌改造成像炭疽杆菌一样的致病菌需要通过转基因技术,D 正确。

20.核酸疫苗的原理是将编码某种抗原蛋白的外源基因(DNA 或 RNA)导入动物体细胞内,并通过宿主细胞的表达系统合成抗原蛋白,诱导宿主产生对该抗原蛋白的免疫应答,以达到预防和治疗疾病的目的。下图为针对某种 RNA 病毒抗原(S 蛋白)研制 DNA 疫苗和 RNA 疫苗的思路。下列相关叙述正确的是 ()



- A.步骤①中对编码 S 蛋白的基因进行扩增,需要耐高温的 DNA 聚合酶和解旋酶
- B.进行步骤②时,仅用 DNA 连接酶可构建表达 S 蛋白的基因表达载体
- C.核酸疫苗能在人体细胞中成功表达 S 蛋白,说明了生物界共用一套密码子
- D.该疫苗中的核酸可作为抗原刺激人体产生体液免疫

C 解析:步骤①中对编码 S 蛋白的基因进行扩增,利用的是 PCR 技术,该过程需要用到耐高温的 DNA 聚合酶,不需要解旋酶,A 错误;进行步骤②时,用 DNA 连接酶和限制酶构建表达 S 蛋白的基因表达载体,B 错误;核酸疫苗中的核酸源自病毒等病原体,其在人体细胞中能成功表达 S 蛋白,说明了生物界共用一套密码子,C 正确;该疫苗中的核酸可以编码抗原蛋白,核酸本身不能作为抗原刺激人体产生体液免疫,D 错误。

第 II 卷(共 60 分)

二、非选择题(本题共 5 小题,共 60 分)

21.(13 分)基因工程中,GUS 基因编码的酶可将无色底物生成蓝色产物,GFP 基因会产生绿色荧光蛋白,这两种基因都可作为标记基因来研究发育生物学的问题。利用双 CRISPR/Cas9 系统和

Cre/loxP重组酶系统技术可更好地实现该研究。
请据图回答下列问题：

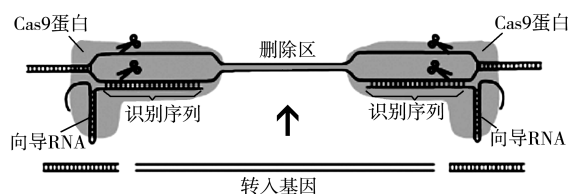


图1

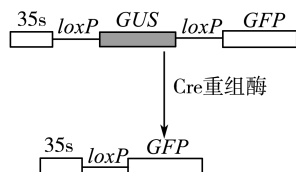


图2

(1)生长在太平洋西北部的一种海蜇能发出绿色荧光,原因是_____。

(2)图1为双CRISPR/Cas9系统作用示意图。该系统能够特异性识别DNA序列并切割特定位点,图中行使这些功能的分子结构分别是_____。

(3)图中向导RNA与DNA结合的原理是_____。将删除区切割后,转入基因与原DNA片段可通过形成_____拼接起来,形成新的DNA序列。

(4)双CRISPR/Cas9系统可直接在靶细胞内起作用,与传统的基因工程相比,该操作无须_____ (填写工具)。与质粒载体导入外源基因相比,双CRISPR/Cas9系统编辑的基因可以不含_____。

(5)图2为Cre/loxP重组酶系统作用示意图。利用双CRISPR/Cas9系统可精准地将loxP序列、GUS基因及GFP基因连接,接上35s启动子之后可在组织中检测出蓝色区而无绿色荧光区,这是由于_____而无法表达。

Cre基因是重组酶基因,经38℃热处理后可被激活表达,在此前提下组织中可检测出绿色荧光区。

解析:(1)由于海蜇的DNA分子上含有绿色荧光蛋白基因,因此海蜇能发出绿色荧光。(2)据图1所示,向导RNA可以识别特定的DNA序列,Cas9蛋白可切割所识别的特定DNA序列。(3)向导RNA与DNA根据碱基互补配对原则结合;转入的基因与原DNA片段之间要形成新的磷酸二酯键才能连接起来。(4)双CRISPR/Cas9系

统可直接在靶细胞内起作用,因此不需要载体。构建的基因表达载体必须含启动子、终止子和标记基因等结构,而双CRISPR/Cas9系统编辑的基因可不含这些结构。(5)GUS基因编码的酶可将无色底物生成蓝色产物,GFP基因会产生绿色荧光蛋白,在组织中检测出蓝色区而无绿色荧光区,说明GUS基因正常表达而GFP基因不能正常表达。根据“Cre基因是重组酶基因,经38℃热处理后可被激活表达,在此前提下组织中可检测出绿色荧光区”可知,GFP基因的正常表达需以Cre基因被激活表达为前提,即GFP基因自身无启动子,无法启动自身的表达。

答案:(1)海蜇的DNA分子上含有绿色荧光蛋白基因 (2)向导RNA Cas9蛋白 (3)碱基互补配对 磷酸二酯键 (4)载体 启动子、终止子和标记基因 (5)GFP基因自身无启动子

22.(11分)现代生物技术在造福人类的同时,也可能引起一系列的安全和伦理问题,回答以下有关问题:

(1)为了减少转基因技术对人类的危害,在转基因生物或其产品的研究过程中若用大肠杆菌作为转基因受体的菌株,限定必须使用在_____条件下便会死去的菌株。

(2)生物武器包括_____类、病毒类、生化毒剂类等。

(3)我国对于“克隆人”这一技术总体来说是禁止_____性克隆人,但不反对_____性克隆。

(4)“设计试管婴儿”与普通试管婴儿的区别在于前者在植入前需要对胚胎进行_____。

解析:(1)为了减少转基因技术对人类的危害,在转基因生物或其产品的研究过程中若用大肠杆菌作为转基因受体的菌株,限定必须使用在37℃(人体正常体温)条件下便会死去的菌株。(2)生物武器包括致病菌类、病毒类、生化毒剂类等。(3)我国对于“克隆人”这一技术总体来说是禁止生殖性克隆人,但不反对治疗性克隆。(4)“设计试管婴儿”与普通试管婴儿的区别在于前者在植入前需要对胚胎进行遗传学诊断。

答案:(1)37 ℃ (2)致病菌 (3)生殖 治疗

(4)遗传学诊断

23.(12分)一个学习小组的同学在对当地栽培作物种类进行调查时,发现有的地方种植了转基因抗除草剂玉米,这种玉米在喷洒除草剂的环境中生长良好,杂草被除草剂杀死,玉米还能正常生长,给农民节省了大量的人力和物力。跟踪调查还发现,这种转基因玉米除直接食用外,还被加工成食品摆在超市的货架上。请回答下列问题:

(1)一部分同学认为,这种转基因玉米不会对当地生物多样性构成威胁。如果同意这种观点,请列举三条理由:

- ① _____;
② _____;
③ _____。

(2)用转基因玉米加工的食品被摆在超市货架上,生产厂商根据我国的有关规定,对产品进行转基因生物标注,这样做是为了保护 _____。在有关标识中应标注“ _____ ”或“ _____ ”。

(3)随着转基因技术的发展,“基因污染”应运而生,下列关于基因污染的说法不正确的是 ()

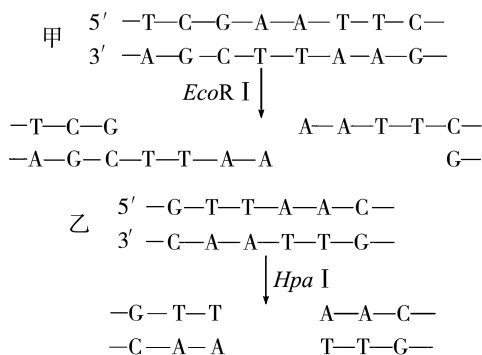
- A.转基因作物可通过花粉散落到它的近亲作物上,从而污染生物基因库
B.基因污染是一种不可扩散的污染
C.杂草、害虫从它的近亲获得抗性基因,可能破坏生态系统的稳定性
D.转基因生物有可能成为“入侵的外来物种”,威胁生态系统中其他生物的生存

解析:(1)转基因生物不会对当地的生物多样性构成威胁,有以下理由:转基因生物虽然具有某些新的性状,但其生命力没有人们想象的那么强,扩散到种植区以外时,会很快死亡。转基因生物的种植需有一定的水、肥等条件以及配套的种植技术。转基因生物与其他自然生物之间存在生殖隔离,难以进行自然杂交。许多植物花粉的传播距离有限,花粉存活时间有限,具有受精能力的时间更短等。(2)《农业转基因生物标识管理办法》要求对转基因生物产品及其加工品加贴标注,以方便消费者自主选择,保护消费者的知情权和选择权。

在有关标识中应标注“转基因××加工品(制成品)”或“加工原料为转基因××”。(3)基因污染是可以随着自然界中的生物扩散的,如转基因作物的花粉可以散落到它的近亲作物上,从而污染生物基因库。杂草、害虫从它的近亲获得抗性基因,可能破坏生态系统的稳定性。转基因生物还有可能成为“入侵的外来物种”,威胁生态系统中其他生物的生存。

答案:(1)①玉米与其他植物之间存在生殖隔离
②玉米的花粉传播距离有限 ③玉米花粉的存活时间有限(或其他合理理由) (2)消费者的知情权和选择权 转基因玉米加工品(制成品) 加工原料为转基因玉米 (3)B

24.(11分)下图表示两种限制酶识别DNA分子的特定序列,并在特定位点对DNA分子进行切割的示意图,请回答以下问题:



(1)图中甲和乙代表 _____。

(2)*EcoR* I、*Hpa* I 代表 _____。

(3)图中甲和乙经过相应操作均形成两个片段,切口的类型分别为 _____、_____。甲中限制酶的切点在 _____ 之间,乙中限制酶的切点在 _____ 之间。

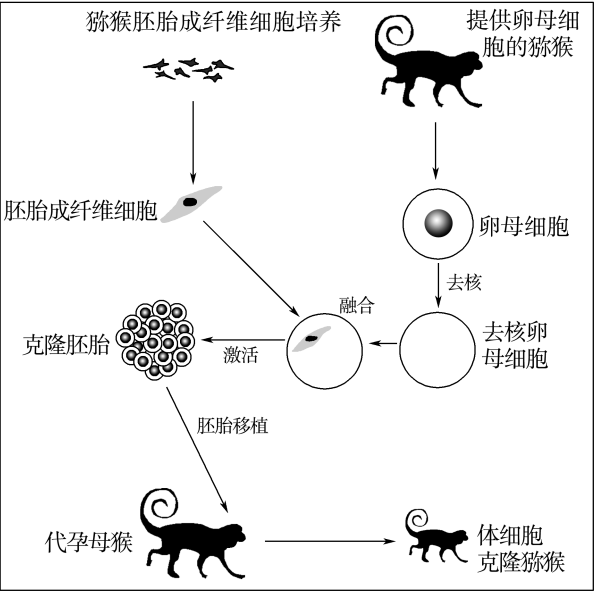
(4)由图解可以看出,限制酶的作用特点是 _____。

解析:(1)由题图可知,甲和乙代表由脱氧核苷酸构成的不同的DNA片段。(2)*EcoR* I 和 *Hpa* I 能切割DNA分子,说明它们是限制酶。(3)甲的切点在G、A之间,切口在识别序列中轴线两侧,形成黏性末端;乙的切点在A、T之间,切口在识别序列中轴线处,形成平末端。(4)限制酶能识别

DNA 分子中特定的脱氧核苷酸序列，并从特定位点切割 DNA 分子。

答案：(1)有特定脱氧核苷酸序列的 DNA 片段
(2)两种不同的限制酶 (3)黏性末端 平末端
G、A A、T (4)能识别 DNA 分子中特定的脱氧核苷酸序列，并从特定的位点切割 DNA 分子

25. (13 分) 下图为克隆猴的过程，回答下列问题：



(1) 胚胎成纤维细胞是由胚胎干细胞经过_____形成的，其细胞核中具有与受精卵_____（填“相同”或“不相同”）的遗传物质。实验中，通常采用处于减数第二次分裂中期的卵母细胞，其 DNA 的含量与受精卵_____（填“相同”或“不相同”），去核后作为受体，其中_____（填“含有”或“不含有”）遗传物质。

(2) 细胞融合依赖于细胞膜的流动性特点，用_____方法激活融合后的细胞使之形成早期胚胎，胚胎培养环境中需要维持 5% 的二氧化碳，其目的是_____。

(3) 为保证胚胎移植的成功，代孕母猴应处于同步_____期，生产出的克隆猴的性状表现与代孕母猴_____（填“有关”或“无关”），原因是_____（合理即可）。

(4) 中科院神经科学研究所科研人员经过两年努力，利用“基因编辑”（CRISPR/Cas9）技术，成功构建了世界首批与“生物钟”密切相关的核心节律基因（BMAL1）敲除猕猴模型，仔细验证后发现，敲除猕猴模型存在_____，并表现出类似精

神分裂的症状。这项研究成果，可以构建出足够数目的具有统一遗传背景的非人灵长类动物模型，从而为医疗界相关药物研发提供更优质的疾病模型，可能的用途有_____。

(5) 某研究者利用基因编辑技术对两个人类受精卵中与感染 HIV 病毒有关的基因进行编辑。这一行为违背了医学伦理，并对人类基因安全带来不可预测的风险。你认为技术创新与伦理规范之间的关系是_____。

解析：(1) 胚胎成纤维细胞是由胚胎干细胞经过分化形成的，细胞分化过程中细胞的遗传物质不变，胚胎成纤维细胞核中具有与受精卵相同的遗传物质。实验中，通常采用处于减数第二次分裂中期的卵母细胞，此时着丝粒未分裂，存在姐妹染色单体，其 DNA 含量与受精卵相同，去核后作为受体，其中不含有核遗传物质，但存在线粒体中的遗传物质。(2) 细胞融合依赖于细胞膜的流动性特点，通常用电刺激方法激活融合细胞，激活后的细胞发育成早期胚胎，胚胎培养环境中需要维持 5% 的二氧化碳，其目的是维持培养液的 pH。(3) 为保证胚胎移植的成功，代孕母猴应处于同步发情排卵期，保证供体和受体处在相同的生理环境，生产出的克隆猴的性状表现与代孕母猴有关，原因可能是子宫环境和代孕母猴体内激素水平等影响胚胎发育。(4) 据题意，敲除猕猴的核心节律基因后可能发生节律紊乱，并表现出类似精神分裂的症状。这项研究成果，可以构建出足够数目的具有统一遗传背景的非人灵长类动物模型，从而为医疗界相关药物研发提供更优质的疾病模型，可能的用途有临床病理研究。(5) 利用基因编辑技术对两个人类受精卵中与感染 HIV 病毒有关的基因进行编辑，这违背了人类的伦理规范，基因编辑这项技术上的创新不能以违背伦理规范为代价。

答案：(1) 分化 相同 相同 含有 (2) 电刺激 维持培养液的 pH (3) 发情排卵 有关 子宫环境和代孕母猴体内激素水平等影响胚胎发育 (4) 节律紊乱 临床病理研究 (5) 技术上的创新不能以违背伦理规范为代价

模块综合检测

(时间:90 分钟,分值:100 分)

第 I 卷(共 40 分)

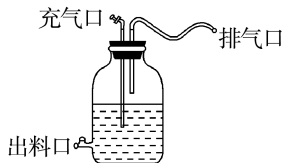
一、选择题(本题共 20 小题,每小题 2 分,共 40 分)

1.制作泡菜时,泡菜坛子必须密封的原因是 ()

- A.防止产生的乳酸挥发掉
B.防止氧气进入坛内抑制发酵
C.防止水分过分蒸发
D.防止坛内蔬菜萎蔫

B 解析:乳酸菌的代谢类型是异养厌氧型,在制作泡菜时,泡菜坛子密封的原因是防止氧气进入坛内,为乳酸菌提供无氧发酵的环境,B 正确。

2.果酒和果醋的发酵装置如图所示,下列说法正确的是 ()



- A.果酒发酵时,需将果汁装满发酵瓶,并关闭充气口
B.果醋发酵时,需持续通入氧气,促进乙酸生成
C.该装置必须先进行果酒发酵,再进行果醋发酵
D.制作果酒、果醋时均需要将排气口的弯管水封

B 解析:果酒发酵时,果汁不能装满发酵瓶,要留有大约 1/3 的空间,以便酵母菌进行有氧呼吸,为前期大量繁殖提供能量,A 错误;果醋发酵时,利用的是醋酸菌,醋酸菌是好氧细菌,故需持续通入氧气,促进乙酸生成,B 正确;该装置在氧气、葡萄糖充足的条件下,可直接进行果醋发酵,C 错误;排气口的作用是排气,而弯管的设置可防止空气中微生物的污染,故制作果酒、果醋时,排气口的弯管不需要水封,D 错误。

3.T2 噬菌体展示技术是将编码外源蛋白的 DNA 序列插入到 T2 噬菌体外壳蛋白结构基因的适当位置,使外源基因随外壳蛋白的表达而表达,同时,外源蛋白随 T2 噬菌体的重新组装而展示到噬菌体表面的生物技术。下列叙述正确的是 ()

- A.让 T2 噬菌体表达出外源蛋白属于蛋白质工程的范畴

B.成功改造的 T2 噬菌体的子代病毒也能展示外源蛋白

C.要用显微注射法将重组 DNA 分子导入 T2 噬菌体

D.该技术可展示对噬菌体或宿主细胞有毒的蛋白质

B 解析:让 T2 噬菌体表达出外源蛋白不属于蛋白质工程的范畴,因为这里表达的蛋白质是一种天然的蛋白质,A 错误;T2 噬菌体的改造过程是将编码外源蛋白的 DNA 序列插入到 T2 噬菌体外壳蛋白结构基因的适当位置,属于可遗传的变异,因而其子代病毒也有外源蛋白基因,能展示外源蛋白,B 正确;利用 DNA 连接酶能将外源蛋白基因与噬菌体基因结合,显微注射法是将重组 DNA 导入到动物细胞中的技术,C 错误;该技术不能展示对噬菌体或宿主细胞有毒的蛋白质,因为毒蛋白会对噬菌体的增殖过程产生影响,从而导致蛋白质的展示过程失败,D 错误。

4.N 基因编码的 M 蛋白在动物 X 的肝细胞中特异性表达。研究人员将外源 DNA 片段 F 插入 N 基因的特定位置,再通过核移植等技术获得 N 基因失活的转基因克隆动物 X。下列说法错误的是 ()

- A.DNA 片段 F 插入 N 基因时,限制酶与 DNA 连接酶识别序列与作用位点相同
B.进行核移植操作时,需选用动物 X 的去核卵母细胞作为受体细胞
C.转基因克隆动物 X 的获得过程还用到动物细胞培养、胚胎移植等技术
D.外源 DNA 片段 F 插入 N 基因的特定位置不属于基因重组

A 解析:限制酶与 DNA 连接酶的作用位点都是磷酸二酯键,但是一种限制酶只能识别一种特定的核苷酸序列,并且在特定的切点上切断 DNA 链中的磷酸二酯键,而 DNA 连接酶不能识别特定序列,不具有特异性,A 错误;进行核移植操作时,需选用

动物 X 的去核卵母细胞作为受体细胞, B 正确; 转基因克隆动物 X 的获得过程还需用到动物细胞培养、胚胎移植等技术, C 正确; 转基因克隆动物 X 的 N 基因失活的原因是外源 DNA 片段 F 插入 N 基因的特定位置, 使其不能表达, 该过程属于基因突变, 不属于基因重组, D 正确。

5. 纳米氧化亚铜是一种纳米材料。为了探究纳米氧化亚铜对贴壁生长细胞活性的影响, 研究者在培养基中添加一定量的纳米氧化亚铜, 8 小时后观察到细胞萎缩变小, 细胞核变大, 细胞膜内侧出现纳米氧化亚铜富集现象, 培养瓶中大量贴壁细胞脱落, 出现细胞悬浮。根据该实验现象, 能得出的正确结论是 ()

A. 纳米氧化亚铜改变了细胞的贴壁生长习性
B. 纳米氧化亚铜对该细胞生长有抑制作用
C. 纳米氧化亚铜能通过自由扩散进入细胞
D. 纳米氧化亚铜不影响细胞的新陈代谢

B 解析: 纳米氧化亚铜使培养瓶中大量贴壁细胞脱落, 出现细胞悬浮, 说明其改变了细胞的结构与功能, 但并不能说明其改变了细胞贴壁生长习性, A 错误; 纳米氧化亚铜使细胞萎缩、体积变小, 细胞核变大, 说明对该细胞生长有抑制作用, 会影响细胞代谢, B 正确, D 错误; 纳米氧化亚铜进行顺浓度梯度的运输, 但不能说明其跨膜运输方式为自由扩散, C 错误。

6. 下列有关植物克隆的叙述正确的是 ()

A. 水稻等植物在多次继代培养后, 其细胞全能性的表达能力会丧失
B. 植物组织培养过程中, 植物器官的发生主要通过营养物质的配比进行调节
C. 植物组织培养过程中, 培养物的器官形成能力下降的可能原因有染色体变异、细胞核变异或非整倍体产生等, 但其结果是可逆的
D. 原生质体培养需要先对原生质体的活力进行检测, 可以采用质壁分离的方法

A 解析: 不同物种细胞全能性的表达程度不甚相同, 拟南芥的细胞在培养时很容易再生出植株, 并能在多个世代中保持细胞全能性的表达, 而小麦、水稻等多次继代培养后会丧失其细胞全能性的表达能力, A 正确; 植物组织培养过程中植物器官的发生主要通过植物激素的配比进行调节, B 错误; 植物组织培养过程中, 培养物的器官形成能力下降的可能原因有染色体变异、细胞核变异或非整倍体

产生等, 其结果是不可逆的, C 错误; 原生质体培养需要先对原生质体的活力进行检测, 细胞壁已经去除, 所以不能采用质壁分离的方法, 可以根据形态特征判断原生质体的活力, 如原生质体呈绿色且圆而鼓者为有活力的原生质体, D 错误。

7. 现有两个水稻品种, 其基因型分别为 YYRr 和 yyRr, 科学家将它们的花粉除去细胞壁后进行原生质体融合, 再把这些融合细胞进行细胞培养, 培育出了水稻新品种。下列相关叙述不正确的是 ()

A. 上述育种方法依据了生物膜的流动性和细胞的全能性
B. 由杂种细胞发育至性成熟植株过程中, 均需在无菌环境下培养
C. 两个品种的花粉进行原生质体的融合, 可产生 9 种基因型的融合细胞(仅考虑两两融合)
D. 除去花粉细胞壁的方法常用酶解法, 即用纤维素酶和果胶酶分解植物细胞的细胞壁

B 解析: 杂种细胞发育至幼苗过程是在无菌操作室内进行的, 此过程运用了植物组织培养技术, 体现了细胞的全能性, 而幼苗发育至性成熟植株过程中不需要在无菌环境下培养。

8. 近 20 年来, 在细胞融合和染色体技术的基础上建立了一种“早熟染色体凝集”技术。研究发现, 处于细胞分裂期的细胞内含有的促进染色质凝集的物质——有丝分裂因子, 能诱导分裂间期的细胞染色质提前凝集成染色体。利用这一技术, 可以在光学显微镜下直接观察间期细胞中染色质结构的动态变化。下列说法正确的是 ()

①该技术需要通过细胞培养获得处于分裂期和分裂间期的细胞
②培养动物细胞时, 培养液中需加入动物血清
③收集动物细胞时, 需要采用胰蛋白酶溶液处理
④培养分裂期细胞的培养液中需加入一定浓度的秋水仙素

A. ①②③ B. ②③④
C. ①②④ D. ①③④

A 解析: 秋水仙素的作用机理是抑制纺锤体的形成, 使染色体数目加倍, 在“早熟染色体凝集”技术中, 不需要加入秋水仙素。

9. 下列关于基因工程的叙述不正确的是 ()

A. 用两种限制酶切割目的基因的两端及载体, 可以提高连接的有效性

B.利用基因工程培育抗虫棉的基本原理是基因突变

C.重组 DNA 技术至少需要三种工具:限制酶、DNA 连接酶、载体

D.外源 DNA 必须位于重组质粒的启动子和终止子之间才能进行表达

B 解析:为了防止目的基因及载体的自身连接,可以用两种限制酶切割目的基因的两端及载体,这样就能形成两种黏性末端,可以提高连接的有效性,A 正确;基因工程的基本原理是基因重组,B 错误;重组 DNA 技术至少需要三种工具:限制酶、DNA 连接酶、载体,C 正确;外源 DNA 必须插入重组质粒的启动子和终止子之间才能进行表达,D 正确。

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中,正确的是 ()

A.采取激素注射等方法对良种母牛进行超数排卵处理

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免疫排斥反应

D.利用胚胎分割技术,同卵多胎较同卵双胎成功率更高

A 解析:对良种母牛进行注射促性腺激素处理,可促使其超数排卵,A 正确;进行移植的胚胎应处于桑葚胚期或囊胚期,B 错误;受体对移植的胚胎几乎不发生免疫排斥反应,因此不需要使用免疫抑制剂,C 错误;利用胚胎分割技术,同卵双胎较同卵多胎移植成功率更高,D 错误。

11.下列学实验中,在接种时不进行严格无菌操作对实验结果影响最大的是 ()

A.将少许干酵母加入新鲜的葡萄汁中

B.将毛霉菌液接种在切成小块的鲜豆腐上

C.将转基因植物叶片接种到无菌培养基上

D.将土壤浸出液涂布在无菌的选择培养基上

C 解析:将少许干酵母加入新鲜的葡萄汁中酿酒时,在缺氧、酸性环境下其他杂菌不易生长,故不进行严格灭菌对实验结果影响不大,A 不符合题意;腐乳制作中将毛霉菌液接种在切成小块的鲜豆腐上,毛霉生长繁殖快且抗杂菌能力强,故不进行严格灭菌对实验结果影响不大,B 不符合题意;进行植物组织培养时,植物材料体积小、抗性差,而微生物繁殖快、生长迅速,会竞争培养基中的营养,产生的代谢废物还会毒害培养材料,故培养材

料一旦被微生物(如细菌)污染,将严重影响实验结果,C 符合题意;选择培养基中已经加入了某种化学物质,以抑制不需要的微生物生长,促进所需要的微生物生长,另外土壤浸出液本身也含多种微生物,因此将土壤浸出液涂布在无菌的选择培养基上时,不进行严格的无菌操作对实验结果影响不大,D 不符合题意。

12.下列关于细胞工程的叙述不正确的是 ()

A.细胞工程能够有目的地获得特定的细胞、组织、器官、个体或其他产品

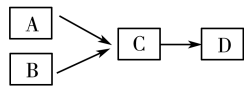
B.细胞工程应用的是细胞生物学和分子生物学的原理、方法

C.将叶肉细胞的叶绿体移入奶牛体细胞不属于细胞工程

D.根据操作对象不同,细胞工程分为植物细胞工程和动物细胞工程

C 解析:细胞工程是指应用细胞生物学、分子生物学和发育生物学等多学科的原理和方法,通过细胞器、细胞或组织水平上的操作,有目的地获得特定的细胞、组织、器官、个体或其他产品的一门综合性的生物工程。而叶绿体就是细胞结构之一,将叶肉细胞的叶绿体移入奶牛体细胞,从细胞器水平改变了动物细胞的结构,获得了具有叶绿体的动物细胞,属于细胞工程,A、B 正确,C 错误。根据操作对象不同,细胞工程分为植物细胞工程和动物细胞工程,D 正确。

13.下图为某生物工程操作流程模式图,下列说法正确的是 ()



A.若此图表示基因工程的操作流程,A 为质粒,则 B 表示重组 DNA 分子

B.若此图表示动物细胞融合过程,则形成 C(杂交细胞)的原理是细胞全能性

C.若此图为试管婴儿培育过程,则应包括体外受精、胚胎移植等方面

D.若此图为试管牛生产的流程图,则获得 A(精子)后可直接与 B 进行体外受精

C 解析:若题图表示基因工程的操作流程,A 为质粒,则 B 表示目的基因,C 表示重组 DNA 分子,A 错误;若题图表示动物细胞融合过程,则形成 C(杂交细胞)的原理是细胞膜的流动性,B 错误;若题图为试管婴儿的培育过程,则应包括动物细胞

培养、体外受精和胚胎移植等方面,C正确;若题图为试管牛生产的流程图,则获得A(精子)后,需要获能处理才能与B进行体外受精,D错误。

14. 下列关于现代生物技术的叙述正确的是 ()

- A. 在植物组织培养中,花药可以作为培养的材料
- B. 在动物细胞培养中,用胃蛋白酶处理小鼠肝组织可获得单个肝细胞
- C. 体外受精技术中获得的精子必须置于ATP溶液中进行获能处理
- D. 从大肠杆菌细胞中检测到人胰岛素基因说明目的基因已成功表达

A 解析:花药含有该物种全套的遗传物质,具有全能性,可以作为植物组织培养的材料,A正确;在动物细胞培养中,用胰蛋白酶处理小鼠肝组织可将肝组织分散成单个细胞,B错误;“精子获能”是指获得受精能力,体外受精技术中获得的精子必须置于人工配制的获能溶液中进行获能处理,C错误;从大肠杆菌细胞中检测到人胰岛素基因只能说明相应的目的基因已经导入受体细胞,但不能说明已经成功表达,只有在大肠杆菌细胞中检测到胰岛素才能说明目的基因完成了表达,D错误。

15. 单细胞的酵母菌在生活和实验中应用较广,下列对其代谢、作用和调查等相关叙述正确的是 ()

- A. 酵母菌属于异养兼性厌氧型真菌,其细胞质中的遗传物质是RNA
- B. 果酒发酵中的酵母菌属于分解者成分,其在果酒变质过程中形成白色菌膜
- C. 调查培养液中酵母菌数量时,若先滴加样液再盖上盖玻片,观察结果会偏小
- D. 若稀释10倍并加入等体积台盼蓝染色后, 16×25 型(希利格式, 0.1 mm^3)血细胞计数板中,每个中格平均有5个酵母菌,则样液密度应为 1.6×10^7 个/mL

D 解析:酵母菌既能进行有氧呼吸也能进行产物为酒精和二氧化碳的无氧呼吸,所以酵母菌属于异养兼性厌氧型真菌,为真核生物,其细胞中的遗传物质是DNA,A错误;果酒发酵中的酵母菌分解现有的有机物,属于分解者成分,制作果酒的过程中,在变酸的酒表面观察到的白色菌膜是由醋酸菌大量繁殖而形成的,B错误;调查培养液中酵母菌数量时,一般先盖盖玻片,再滴培养液,若先滴培养液,再盖盖玻片,计数结果将偏大,C错误;此血球计数板的计数室是 16×25 型,即大方格内

分为16个中格,每一中格又分为25个小格,每个中格的平均酵母菌数为5,酵母菌培养液稀释10倍,则1 mL培养液中酵母菌数 $= 5 \div 25 \times 400 \times 10^4 \times 10 = 8 \times 10^6$ 个/mL,又因为添加了等体积的台盼蓝进行染色,所以样液密度应为 $8 \times 10^6 \times 2 = 1.6 \times 10^7$ 个/mL,D正确。

16. 下列关于制作果酒、果醋和泡菜的叙述不合理的是 ()

- A. 在果酒发酵后期拧开瓶盖的间隔时间可延长
- B. 条件适宜时醋酸菌可将葡萄汁中的糖分解成乙酸
- C. 果酒发酵过程中发酵液密度会逐渐减小
- D. 泡菜制作过程中要定时打开坛子观察

D 解析:在果酒发酵后期,由于瓶中的营养物质减少,且发酵液pH下降,酵母菌代谢减慢,单位时间内产生的 CO_2 的量减少,所以拧开瓶盖的间隔时间可以延长,A正确;在糖源、氧气充足的条件下,醋酸菌可将葡萄汁中的糖分解成乙酸,B正确;果酒发酵过程中,营养物质消耗,并且有水的生成,发酵液密度会逐渐减小,C正确;泡菜制作过程中要密封,不能定时打开坛子观察,以免杂菌污染,D错误。

17. 某酿酒厂得到一批优良酵母菌菌种,技术人员对其进行了纯化,获得了如下图所示的效果图。下列叙述错误的是 ()

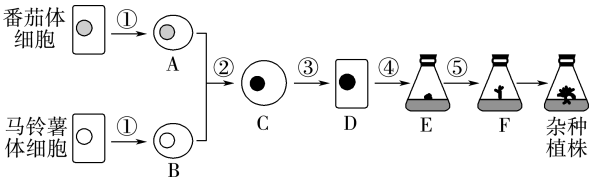


- A. 该培养皿中获得的分散开来的菌落较符合要求
- B. 该接种方法是平板划线法,接种环在每次划线前都必须进行灼烧处理
- C. 该纯化过程所用的培养基应添加琼脂,且琼脂应在培养基灭菌之后加入
- D. 由于划线过程中菌种逐渐分散,平板中部分酵母菌菌落间距较大

C 解析:题图所示的分离方法为平板划线法,该培养皿中获得的分散开来的菌落较符合要求,A正确;该接种方法是平板划线法,接种环在每次划线前都必须进行灼烧灭菌,以杀灭上次划线后接种环上残留的菌种,使每次划线的菌种均来自上次划线的末端,B正确;该纯化过程所用的培养基为固体培养基,应加入一定量的琼脂,且琼脂应在培养基灭菌之前加入,C错误;在平板划线的过程

中,由于划线过程中接种环上的菌种逐渐减少,平板中部分酵母菌菌落间距离较大,D正确。

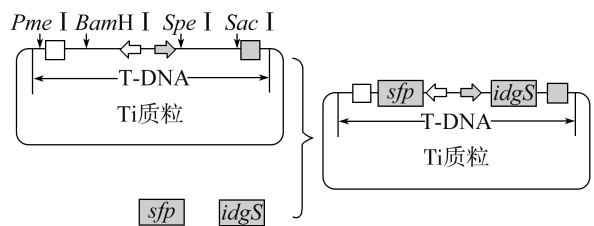
18.下图为番茄($2n=24$)和马铃薯($4n=48$)体细胞杂交示意图,①~⑤表示过程,A~F表示结构。下列相关说法正确的是 ()



- A.A 和 B 均为原生质体,②过程可采用电融合法、离心法、PEG 融合法
B.③过程为再生细胞壁,C 的形成是原生质体诱导融合成功的标志
C.④过程通常需要避光培养,E 需培养在密闭、无氧的容器中
D.图中杂种植株理论上为可育的六倍体,每个染色体组中染色体数不一定相同

A 解析:①过程表示用纤维素酶和果胶酶去除植物细胞壁,因此得到的 A 和 B 均为原生质体,②过程为诱导原生质体融合,可采用电融合法、离心法或 PEG 融合法,A 正确;③过程为再生细胞壁,D 为杂种细胞,融合的原生质体再生出细胞壁标志着诱导融合成功,B 错误;④过程为脱分化,通常需要避光培养,E 为愈伤组织,需培养在无菌的容器中,而不是无氧的容器中,C 错误;番茄($2n=24$)为二倍体,每个染色体组含有 12 条染色体,马铃薯($4n=48$)为四倍体,每个染色体组也含有 12 条染色体,因此经细胞融合后形成的杂种植株理论上为可育的六倍体($2n+4n=72$),每个染色体组中染色体数相同,均为 12 条,D 错误。

19.自然界中很少出现蓝色花,天然蓝色花产生的主要原因是花瓣细胞液泡中花青素在碱性条件下显蓝色。我国科学家利用链霉菌的靛蓝合成酶基因(*idgS*)及其激活基因(*sfp*)构建基因表达载体(如下图),通过农杆菌转化法导入白玫瑰中,在细胞质基质中形成稳定显色的靛蓝。下列叙述错误的是 ()



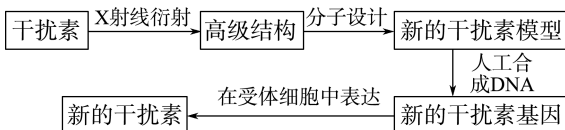
□终止子1 ◇启动子1 ■终止子2 ⇨启动子2

注: *Pme* I、*Bam*H I、*Spe* I、*Sac* I 为不同限制酶。

- A.上述获得蓝色玫瑰的方案中需要转入能调控液泡 pH 的基因
B.将 *idgS* 基因插入 Ti 质粒时使用的限制酶是 *Spe* I 和 *Sac* I
C.*sfp* 和 *idgS* 基因具有各自的启动子,前者调控后者的表达
D.农杆菌可将 Ti 质粒上的 T-DNA 整合到白玫瑰染色体 DNA 上

A 解析:分析题意可知,用农杆菌转化法将链霉菌的靛蓝合成酶基因(*idgS*)及其激活基因(*sfp*)导入白玫瑰后,在细胞质基质中形成稳定显色的靛蓝,所以不须转入能调控 pH 的基因,A 错误;分析题图可知,将 *idgS* 基因插入 Ti 质粒时可用 *Spe* I 和 *Sac* I 以避免产生的黏性末端环化,增加基因表达载体构建成功的概率,B 正确;分析题图可知,*sfp* 和 *idgS* 基因具有各自的启动子,*sfp* 可激活 *idgS* 的表达,C 正确;将目的基因导入植物细胞可用农杆菌转化法,故农杆菌可将 Ti 质粒上的 T-DNA 整合到白玫瑰染色体 DNA 上,D 正确。

20.干扰素是动物或人体细胞受到病毒侵染后产生的一种糖蛋白,可以用于对抗病毒的感染和癌症,但体外保存相当困难。下图是利用蛋白质工程设计生产干扰素的流程图,据图分析正确的是 ()



- A.图中构建新的干扰素模型主要依据的是基因的预期功能
B.图中新的干扰素基因插入质粒后即能表达
C.图中改造干扰素结构的实质是改造干扰素基因的结构
D.图中各项技术并没有涉及基因工程技术

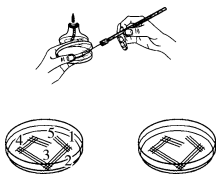
C 解析:构建新的干扰素模型的主要依据的是干扰素的预期功能,A 错误;新的干扰素基因必须插入质粒上的启动子和终止子之间才能表达,B 错误;设计新的干扰素的实质是对干扰素基因的结构进行改造,C 正确;题图中从“人工合成 DNA”到“在受体细胞中表达”运用了基因工程技术,D 错误。

第 II 卷(共 60 分)

二、非选择题(本题共 5 小题,共 60 分)

21.(14 分)尿素是一种重要的农业肥料,需经细菌的分解才能更好地被植物利用。生活在土壤中的微

生物种类和数量繁多，下列是从土壤中分离分解尿素细菌的有关问题，请分析回答：



(1)上图是利用_____法进行微生物接种，把聚集的菌种逐步_____到培养基的表面。除此方法外，常用的微生物接种方法还有_____（写一种）。

(2)如果要对培养的菌落进行纯化，在培养基上进行划线操作中，操作的第一步及每次划线之前都要灼烧接种环，目的是对接种环进行_____，灼烧的接种环冷却后才能接种的原因是_____。

(3)下面是两种培养基配方

表1 A培养基配方

KH ₂ PO ₄	Na ₂ HPO ₄	MgSO ₄ ·7H ₂ O	葡萄糖	尿素	琼脂	H ₂ O
1.4 g	2.1 g	0.2 g	10.0 g	1.0 g	15.0 g	1 000 mL

表2 B培养基配方

纤维素	NaNO ₃	Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄ ·7H ₂ O	KCl	酵母浸膏	H ₂ O
5 g	1 g	1.2 g	0.9 g	0.5 g	0.5 g	0.5 g	1 000 mL

①配制培养基的操作步骤：_____（用字母顺序回答）。

a.倒平板 b.计算 c.溶化 d.称量
e.灭菌

②在制备固体培养基的倒平板操作时，平板冷凝后，应将平板倒置，目的是_____。

③如果要分离土壤中能分解尿素的细菌，应选择上述_____（填“A”或“B”）配方的培养基，在该培养基中加入_____指示剂，可初步鉴定出该种细菌能否分解尿素。

④据B培养基配方的成分，所培养微生物的同化作用类型是_____。

(4)三位同学用稀释涂布平板法测定同一土壤样品中细菌数量。在对应稀释倍数为10⁶的培养基中，取0.2 mL稀释液涂布，得到以下统计结果：甲同学涂布了1个平板，统计的菌落数是260；乙同学涂布了3个平板，统计的菌落数分别是210、240和246，取平均值232；丙同学涂布了3个平板，统计的菌落数分别是21、212和256，取平均值163。在三位同学的统计结果中，_____同学的统计结果是相对准确可信的。根据该同学的统计结

果，每毫升样品原液中的菌体数是_____。用这种方法测得的菌体数比实际活菌数量_____。

解析：(1)题图中的接种工具是接种环，且在培养基表面划线，因而是利用平板划线法进行微生物接种，把聚集的菌种逐步稀释分离到培养基的表面，从而获得单菌落。除此方法外，常用的微生物接种方法还有稀释涂布平板法。(2)操作的第一步及每次划线之前都要灼烧接种环，第一次划线前灼烧接种环的目的是杀死接种环上的杂菌，此后每次划线前都要灼烧接种环的目的是使划线的菌种来自上次划线的末端，灼烧过的接种环必须冷却后才能接种是为了防止高温杀死要接种的微生物。(3)①配制培养基的操作步骤：计算、称量、溶化、灭菌、倒平板，故顺序为bdcea。②平板冷凝后，应将平板倒置，目的是防止培养基蒸发冷凝形成的水滴入培养基造成污染。③如果要分离土壤中能分解尿素的细菌，应选择题述以尿素为唯一氮源的A配方的培养基，在该培养基中加入酚红指示剂，可初步鉴定出该种细菌能否分解尿素。

④据B培养基配方的成分，纤维素属于有机碳源，因此所培养微生物的同化作用类型是异养型。

(4)甲同学只涂布了1个平板，实验数据说服力不够，丙同学其中1个平板的计数结果与另2个相差太远，说明操作过程出现错误，数据缺乏正确性，所以乙同学的统计结果是相对准确可信的。按照该同学的统计结果，每毫升样品原液中的菌体数=平板上菌落数的平均值÷体积×稀释倍数=232÷0.2×10⁶=1.16×10⁹。当两个或多个细胞连在一起时，平板上观察到的是一个菌落，因此用这种方法测得的菌体数比实际活菌数量少。

答案：(1)平板划线 稀释分离 稀释涂布平板法

(2)灭菌 防止高温杀死要接种的微生物

(3)①bdcea ②防止培养基蒸发冷凝形成的水滴入培养基造成污染 ③A 酚红 ④异养型

(4)乙 1.16×10⁹ 少

22.(11分) α_1 -抗胰蛋白酶是肝脏产生的一种糖蛋白，缺乏会引起肺气肿。某公司成功研制出转基因羊，进入泌乳期后，其乳汁中含有人类的 α_1 -抗胰蛋白酶，可用于治疗肺气肿。请回答下列问题：

(1)为获取目的基因，需要在人的肝细胞中提取mRNA，进而获得相应的DNA，再通过_____技术进行快速扩增。

(2)将 α_1 -抗胰蛋白酶基因与乳腺蛋白基因的_____等调控组件重组在一起，构建基因表

达载体,然后通过_____技术,导入羊的受精卵中。

(3)将胚胎移植到受体子宫孕育时,一般选用_____阶段的早期胚胎。为选育出能泌乳的雌羊,移植前需从胚胎的_____部位取样,做DNA分析鉴定性别。

(4) α_1 -抗胰蛋白酶是一种结构较复杂的糖蛋白,因此相对传统的转基因大肠杆菌生产,用上述方法生产的优势在于_____。

解析:(1) α_1 -抗胰蛋白酶基因在肝细胞中表达,所以可以在肝细胞中提取 mRNA,进而获得相应的DNA,再通过PCR技术进行快速扩增。(2)为了使 α_1 -抗胰蛋白酶基因在乳腺细胞中表达,需要将其与乳腺蛋白基因的启动子终止子等调控组件重组,构建基因表达载体,然后通过显微注射技术,导入羊的受精卵中。(3)羊的胚胎一般发育到桑葚胚或囊胚阶段,再进行胚胎移植。DNA分析鉴定性别需从胚胎的滋养层部位取样,这样既保证了遗传信息一致,又不影响内细胞团进一步发育。(4)糖蛋白的形成需要进行蛋白质的加工,相对大肠杆菌而言,羊细胞内有内质网和高尔基体,具备蛋白质加工的能力。

答案:(1)PCR (2)启动子(或启动子、终止子)显微注射 (3)桑葚胚或囊胚 滋养层 (4)羊细胞内有内质网和高尔基体,具备蛋白质加工的能力

- 23.(13分)草莓是人们经常食用的一种水果,具有较高的营养价值。草莓是无性繁殖的作物,长期种植会使病毒积累在体内,使其产量减少,品质下降。下图是利用植物组织培养技术培育脱毒草莓苗的过程。回答下列问题:



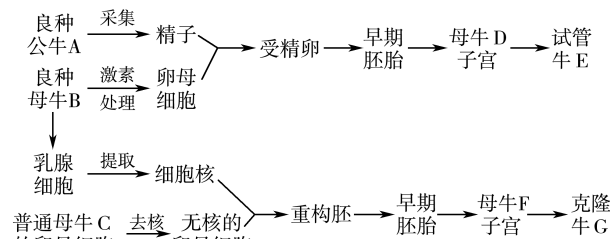
- (1)外植体能够形成幼苗所依据的原理是_____。培育脱毒苗时,一般选取_____作为外植体,其依据是_____。
- (2)①是脱分化过程,细胞脱分化是指已经分化的细胞,经过诱导后,失去其_____而转变为未分化细胞的过程。②是_____过程。
- (3)研究表明,多倍体草莓产量高于二倍体,利用组织培养技术获得多倍体草莓的方法有两种:一是使用_____ (填药剂)处理草莓的愈伤组织,再经培养获得多倍体植株;二是利用_____ (填药剂)诱导草莓体细胞融合形成杂种细胞

后,再经组织培养获得多倍体植株,这种育种技术被称为_____技术。

解析:(1)外植体能够形成幼苗所依据的原理是植物细胞的全能性。培育脱毒苗时,一般选取茎尖(或芽尖或根尖)作为外植体,其依据是植物分生区附近病毒极少,甚至无病毒。(2)①是脱分化过程,细胞脱分化是指已经分化的细胞,经过诱导后,失去其特有的结构和功能而转变为未分化细胞的过程。②是再分化过程。(3)利用组织培养技术获得多倍体草莓的方法有两种:一是使用秋水仙素处理草莓的愈伤组织,再经培养获得多倍体植株;二是利用聚乙二醇(PEG)诱导草莓体细胞融合形成杂种细胞后,再经组织培养获得多倍体植株,这种育种技术被称为植物体细胞杂交技术。

答案:(1)植物细胞的全能性 茎尖(或芽尖或根尖) 植物分生区附近病毒极少,甚至无病毒 (2)特有的结构和功能 再分化 (3)秋水仙素 聚乙二醇(PEG) 植物体细胞杂交

- 24.(10分)下图是科学家研究良种奶牛快速繁殖的过程示意图。



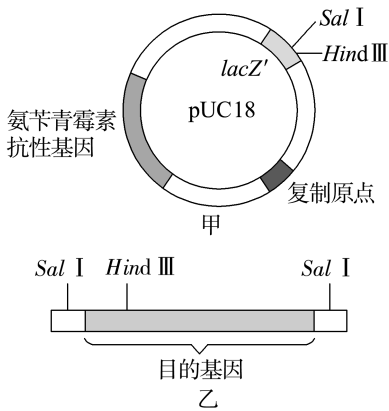
请据图回答下列问题:

- (1)克隆牛G的性别是_____。
- (2)从良种公牛A采集的精子,需经_____处理,才能穿入到卵细胞内部。对良种母牛B进行激素处理的目的是_____。
- (3)为了获得多个基因型相同的后代,可对早期胚胎进行_____。
- (4)胚胎移植中,需要对受体母牛D进行_____处理,以保证胚胎能够在受体的子宫内着床、继续生长发育。
- (5)克隆牛G的遗传性状与母牛B基本相同,但又不完全相同。下列有关其差异形成原因的叙述不正确的是_____。
- A.克隆牛G部分性状遗传自母牛F
B.克隆牛G的细胞质基因来自母牛C
C.发育过程可能发生可遗传变异
D.受环境因素的影响

解析：(1)克隆牛 G 的细胞核源于良种母牛 B，故克隆牛 G 的性别为雌性。(2)刚采集的精子均需要经过获能处理才具备受精能力，对良种母牛 B 进行激素处理的目的是让母牛 B 进行超数排卵。(3)为了获得多个基因型相同的后代，可对早期胚胎进行胚胎分割。(4)胚胎移植中，需要对受体母牛 D 进行同期发情处理，以保证胚胎能够在受体的子宫内着床、继续生长发育。(5)克隆牛 G 的遗传物质来自母牛 B 的细胞核和母牛 C 的细胞质，而与母牛 F 无关，A 错误，B 正确；发育过程中可能发生可遗传变异，C 正确；环境因素也会影响生物体的性状，D 正确。

答案：(1)雌性 (2)获能(培养) 促使其超数排卵 (3)胚胎分割 (4)同期发情 (5)A

25.(12 分)大肠杆菌 β -半乳糖苷酶(Z 酶)可催化底物(X-gal)水解产生蓝色物质。在 pUC18 质粒中， $lacZ'$ 编码 Z 酶氨基端的一个片段(称为 α -肽)，该质粒结构及限制酶识别位点如图甲所示。已知 α -肽、缺失 α -肽的 Z 酶片段单独存在时均无 Z 酶活性，共同存在时就会表现出 Z 酶活性。利用图乙中的 DNA 片段与 pUC18 质粒进行基因工程操作。回答下列问题：



(1)限制酶能催化双链 DNA 分子中 _____ (填化学键名称)的断裂。本实验可使用限制酶 _____ 处理 pUC18 质粒和图乙中的 DNA 片段，再通过 DNA 连接酶连接，获得含目的基因的重组质粒。

(2)用重组质粒转化大肠杆菌，然后将大肠杆菌接

种到含氨苄青霉素的固体培养基上进行培养，由于未发生转化的大肠杆菌没有该质粒，因而不具有 _____，在该培养基上不能生长。从功能上划分，该培养基属于 _____ 培养基。

(3)当上述培养基中含有 X-gal 时，生长出的菌落有蓝色和白色两种类型。为保证能通过菌落颜色辨别出含有重组质粒的大肠杆菌，本实验作为受体细胞的大肠杆菌中 Z 酶基因应满足的条件是 _____。

两种菌落中含有重组质粒的大肠杆菌的菌落颜色为 _____，这是因为 _____。

解析：(1)限制酶能催化双链 DNA 分子中磷酸二酯键的断裂。从图中可知，酶 $Hind\ III$ 会破坏目的基因，而质粒和目的基因两侧都有酶 $Sal\ I$ 识别位点，因此本实验可使用限制酶 $Sal\ I$ 处理 pUC18 质粒和图乙中的 DNA 片段。(2)重组质粒上有氨苄青霉素抗性基因，由于未发生转化的大肠杆菌没有该质粒，因而不具有氨苄青霉素抗性，在含氨苄青霉素培养基上不能生长。从功能上划分，该培养基属于选择培养基。(3)已知 α -肽、缺失 α -肽的 Z 酶片段单独存在时均无 Z 酶活性，共同存在时就会表现出 Z 酶活性，为保证能通过菌落颜色辨别出含有重组质粒的大肠杆菌，本实验作为受体细胞的大肠杆菌中 Z 酶基因应满足的条件是编码 α -肽的 DNA 序列缺失，其他序列正常。从图中可知，重组质粒是用酶 $Sal\ I$ 分别处理过的质粒和目的基因片段形成的，重组质粒的 $lacZ'$ 基因被破坏，不能合成 α -肽，Z 酶无活性，不能催化底物(X-gal)水解产生蓝色物质，故菌落呈白色。

答案：(1)磷酸二酯键 $Sal\ I$ (2)氨苄青霉素抗性 选择 (3)白色 编码 α -肽的 DNA 序列缺失，其他序列正常 目的基因与质粒连接后使 $lacZ'$ 被破坏，不能合成 α -肽，Z 酶无活性，不能催化底物(X-gal)水解产生蓝色物质