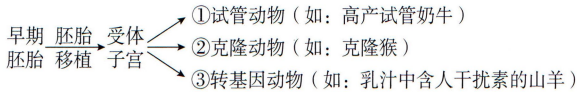
D. 将小鼠桑葚胚分割成 2 等份获得同卵双胎的过程属于有性生殖

12. (2023· 天津选考，7) 多种方法获得的早期胚胎，均需移植给受体才能获得后代。下图列举了几项技术成果。



下列叙述正确的是 （ ）

A. 经胚胎移植产生的后代，其遗传特性与受体均保持一致

B. ①过程需获得 M Ⅱ期的去核卵母细胞

C. ②能大幅改良动物性状

D. ③可通过②技术实现扩大化生产，①②可通过③技术实现性状改良

13. (2022· 新课标甲卷，38) （15 分）某牧场引进一只产肉性能优异的良种公羊，为了在短时间内获得具有该公羊优良性状的大量后代，该牧场利用胚胎工程技术进行了相关操作。回答下列问题。

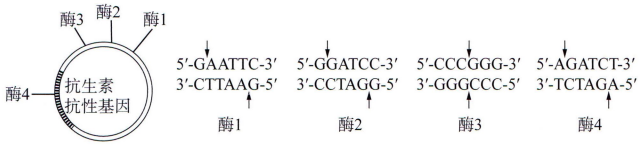
(1) 为了实现体外受精需要采集良种公羊的精液，精液保存的方法是_____。在体外受精前要对精子进行获能处理，其原因是_____；精子体外获能可采用化学诱导法，诱导精子获能的药物是_____（答出 1 点即可）。利用该公羊的精子进行体外受精需要发育到一定时期的卵母细胞，因为卵母细胞达到_____时才具备与精子受精的能力。

(2) 体外受精获得的受精卵发育成囊胚需要在特定的培养液中进行，该培养液的成分除无机盐、激素、血清外，还含的营养成分有_____（答出 3 点即可）等。将培养好的良种囊胚保存备用。

(3) 请以保存的囊胚和相应数量的非繁殖期受体母羊为材料进行操作，以获得具有该公羊优良性状的后代。主要的操作步骤是_____。

知识点 7　基因工程

1. (2023· 新课标卷，6) 某同学拟用限制酶（酶 1、酶 2、酶 3 和酶 4）、DNA 连接酶为工具，将目的基因（两端含相应限制酶的识别序列和切割位点）和质粒进行切割、连接，以构建重组表达载体。限制酶的切割位点如图所示。



下列重组表达载体构建方案合理且效率最高的是（ ）

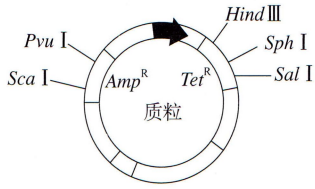
A. 质粒和目的基因都用酶 3 切割，用 *E.coli* DNA 连接酶连接

B. 质粒用酶 3 切割、目的基因用酶 1 切割，用 T4 DNA 连接酶连接

C. 质粒和目的基因都用酶 1 和酶 2 切割，用 T4 DNA 连接酶连接

D. 质粒和目的基因都用酶 2 和酶 4 切割，用 *E.coli* DNA 连接酶连接

2. (2023· 湖北选考，4) 用氨苄青霉素抗性基因（Amp^R）、四环素抗性基因（Tet^R）作为标记基因构建的质粒如图所示。用含有目的基因的 DNA 片段和用不同限制酶酶切后的质粒，构建基因表达载体（重组质粒），并转化到受体菌中。下列叙述错误的是 （ ）



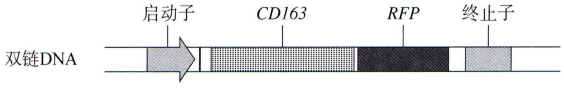
A. 若用 *Hind* Ⅲ酶切，目的基因转录的产物可能不同

B. 若用 *Pvu* Ⅰ酶切，在含 Tet（四环素）培养基中的菌落，不一定含有目的基因

C. 若用 *Sph* Ⅰ酶切，可通过 DNA 凝胶电泳技术鉴定重组质粒构建成功与否

D. 若用 *Sph* Ⅰ酶切，携带目的基因的受体菌在含 Amp（氨苄青霉素）和 Tet 的培养基中能形成菌落

3. (2023· 辽宁选考，8) CD163 蛋白是 PRRSV 病毒感染家畜的受体。为实时监控 CD163 蛋白的表达和转运过程，将红色荧光蛋白 *RFP* 基因与 *CD163* 基因拼接在一起（如下图），使其表达成一条多肽。该拼接过程的关键步骤是除去 （ ）



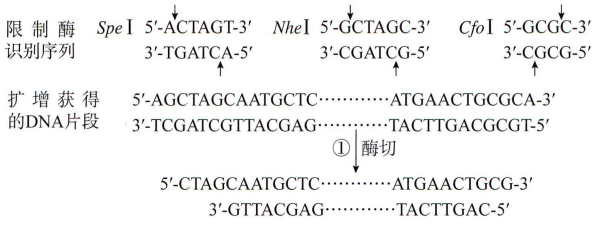
A. *CD163* 基因中编码起始密码子的序列

B. *CD163* 基因中编码终止密码子的序列

C. *RFP* 基因中编码起始密码子的序列

D. *RFP* 基因中编码终止密码子的序列

4. (2023· 重庆选考，12) 某小组通过 PCR（假设引物长度为 8 个碱基，短于实际长度）获得了含有目的基因的 DNA 片段，并用限制酶进行酶切（下图），再用所得片段成功构建了基因表达载体。下列叙述错误的是 （ ）



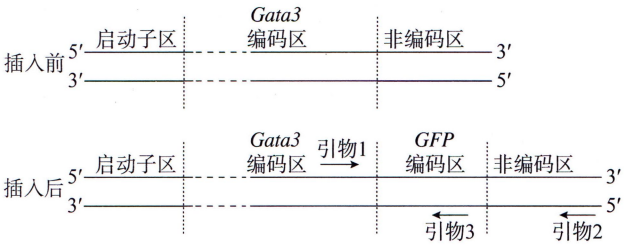
A. 实验所用引物，其中一个序列为 5'-TGCGCAGT-3'

B. 步骤①所用的酶是 *Spe* Ⅰ和 *Cfo* Ⅰ

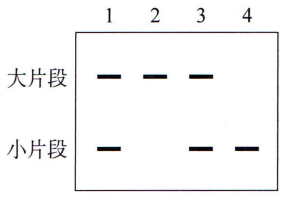
C. 用步骤①的酶对载体进行酶切，至少获得了 2 个片段

D. 酶切片段和载体连接时，可使用 *E.coli* 连接酶或 T4 连接酶

5. （2023·浙江 6 月选考，19）某研究小组利用转基因技术，将绿色荧光蛋白基因（*GFP*）整合到野生型小鼠 *Gata3* 基因一端，如图甲所示。实验得到能正常表达两种蛋白质的杂合子雌雄小鼠各 1 只，交配以期获得 *Gata3-GFP* 基因纯合子小鼠。为了鉴定交配获得的 4 只新生小鼠的基因型，设计了引物 1 和引物 2 用于 PCR 扩增，PCR 产物电泳结果如图乙所示。



甲



乙

下列叙述正确的是　（　　）

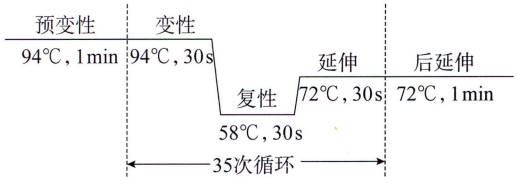
A. *Gata3* 基因的启动子无法控制 *GFP* 基因的表达

B. 翻译时先合成 Gata3 蛋白，再合成 GFP 蛋白

C. 2 号条带的小鼠是野生型，4 号条带的小鼠是 *Gata3-GFP* 基因纯合子

D. 若用引物 1 和引物 3 进行 PCR，能更好地区分杂合子和纯合子

6. （2022·辽宁选考，12）抗虫和耐除草剂玉米双抗 12–5 是我国自主研发的转基因品种。为给监管转基因生物安全提供依据，采用 PCR 方法进行目的基因监测，反应程序如图所示。下列叙述正确的是　（　　）



A. 预变性过程可促进模板 DNA 边解旋边复制

B. 后延伸过程可使目的基因的扩增更加充分

C. 延伸过程无需引物参与即可完成半保留复制

D. 转基因品种经检测含有目的基因后即可上市

7. （2022·重庆选考，3）将人胰岛素 A 链上 1 个天冬氨酸替换为甘氨酸，B 链末端增加 2 个精氨酸，可制备出一种人工长效胰岛素。下列关于该胰岛素的叙述，错误的是　（　　）

A. 进入人体后需经高尔基体加工

B. 比人胰岛素多了 2 个肽键

C. 与人胰岛素有相同的靶细胞

D. 可通过基因工程方法生产

8. （2023·广东选考，11）“DNA 粗提收与鉴定”实验的基本过程是：裂解→分离→沉淀→鉴定。下列叙述错误的是　（　　）

A. 裂解：使细胞破裂释放出 DNA 等物质

B. 分离：可去除混合物中的多糖、蛋白质等

C. 沉淀：可反复多次以提高 DNA 的纯度

D. 鉴定：加入二苯胺试剂后即呈现蓝色

9. （2022·山东选考，13）关于“DNA 的粗提取与鉴定”实验，下列说法错误的是　（　　）

A. 过滤液沉淀过程在 4℃冰箱中进行是为了防止 DNA 降解

B. 离心研磨液是为了加速 DNA 的沉淀

C. 在一定温度下，DNA 遇二苯胺试剂呈现蓝色

D. 粗提取的 DNA 中可能含有蛋白质

10. （2022·北京选考，13）下列高中生物学实验中，对实验结果不要求精确定量的是　（　　）

A. 探究光照强度对光合作用强度的影响

B. DNA 的粗提取与鉴定

C. 探索生长素类调节剂促进插条生根的最适浓度

D. 模拟生物体维持 pH 的稳定

11. （2023·江苏选考，9）某生物社团利用洋葱进行实验。下列相关叙述正确的是　（　　）

A. 洋葱鳞片叶内表皮可代替半透膜探究质膜的透性

B. 洋葱匀浆中加入新配制的斐林试剂，溶液即呈砖红色

C. 制作根尖有丝分裂装片时，解离、漂洗、按压盖玻片都能更好地将细胞分散开

D. 粗提取的 DNA 溶于 2 mol/L NaCl 溶液中，加入二苯胺试剂后显蓝色

12. （2022·江苏选考，6）采用基因工程技术调控植物激素代谢，可实现作物改良。下列相关叙述不合理的是　（　　）

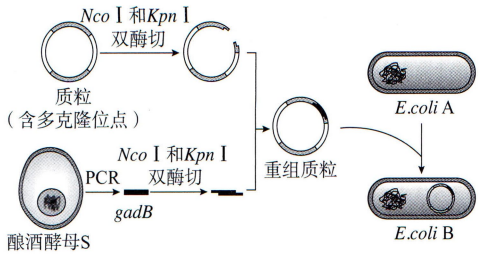
A. 用特异启动子诱导表达 *iaaM*（生长素合成基因）可获得无子果实

B. 大量表达 *ipt*（细胞分裂素合成关键基因）可抑制芽的分化

C. 提高 *ga2ox*（氧化赤霉素的酶基因）的表达水平可获得矮化品种

D. 在果实中表达 *acs*（乙烯合成关键酶基因）的反义基因可延迟果实成熟

13. （2024·江西选考，12）γ-氨基丁酸在医药等领域有重要的应用价值。利用 L-谷氨酸脱羧酶（GadB）催化 L-谷氨酸脱羧是高效生产 γ-氨基丁酸的重要途径之一。研究人员采用如图方法将酿酒酵母 S 的 L-谷氨酸脱羧酶基因（*gadB*）导入生产菌株 *E.coli* A，构建了以 L-谷氨酸钠为底物高效生产 γ-氨基丁酸的菌株 *E.coli* B。下列叙述正确的是　（　　）



A. 上图表明，可以从酿酒酵母 S 中分离得到目的基因 *gadB*

B. *E.coli* B 发酵生产 γ - 氨基丁酸时，L- 谷氨酸钠的作用是供能

C. *E.coli* A 和 *E.coli* B 都能高效降解 γ - 氨基丁酸

D. 可以用其他酶替代 *Nco* Ⅰ和 *Kpn* Ⅰ构建重组质粒

14. （2024· **湖北选考，17**）模拟实验是根据相似性原理，用模型来替代研究对象的实验。比如“性状分离比的模拟实验”（实验一）中用小桶甲和乙分别代表植物的雌雄生殖器官，用不同颜色的彩球代表 D、d 雌雄配子；“建立减数分裂中染色体变化的模型”模拟实验（实验二）中可用橡皮泥制作染色体模型，细绳代表纺锤丝；DNA 分子的重组模拟实验（实验三）中可利用剪刀、订书钉和写有 DNA 序列的纸条等模拟 DNA 分子重组的过程。下列实验中模拟正确的是（　　）

A. 实验一中可用绿豆和黄豆代替不同颜色的彩球分别模拟 D 和 d 配子

B. 实验二中牵拉细绳使橡皮泥分开，可模拟纺锤丝牵引使着丝粒分裂

C. 实验三中用订书钉将两个纸条片段连接，可模拟核苷酸之间形成磷酸二酯键

D. 向实验一桶内添加代表另一对等位基因的彩球可模拟两对等位基因的自由组合

15. （2024· **湖南选考，5**）某同学将质粒 DNA 进行限制酶酶切时，发现 DNA 完全没有被酶切，分析可能的原因并提出解决方法。下列叙述错误的是（　　）

A. 限制酶失活，更换新的限制酶

B. 酶切条件不合适，调整反应条件如温度和酶的用量等

C. 质粒 DNA 突变导致酶识别位点缺失，更换正常质粒 DNA

D. 酶切位点被甲基化修饰，换用对 DNA 甲基化不敏感的限制酶

16. （2024· **天津选考，5**）胰岛素的研发走过了：动物提取—化学合成—重组胰岛素生产—胰岛素类似物生产等历程。有关叙述错误的是（　　）

A. 动物体内胰岛素由胰岛 B 细胞合成并胞吐出细胞

B. 氨基酸是化学合成胰岛素的原料

C. 用大肠杆菌和乳腺生物反应器生产胰岛素需相同的启动子

D. 利用蛋白质工程可生产速效胰岛素等胰岛素类似物

17. （2024· **辽宁选考，7**）关于采用琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物的实验，下列叙述正确的是（　　）

A. 琼脂糖凝胶浓度的选择需考虑待分离 DNA 片段的大小

B. 凝胶载样缓冲液中指示剂的作用是指示 DNA 分子的具体位置

C. 在同一电场作用下，DNA 片段越长，向负极迁移速率越快

D. 琼脂糖凝胶中的 DNA 分子可在紫光灯下被检测出来

18. （2024· **河北选考，13**）下列相关实验操作正确的是（　　）

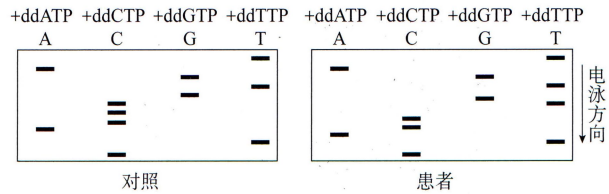
A. 配制 PCR 反应体系时，加入等量的 4 种核糖核苷酸溶液作为扩增原料

B. 利用添加核酸染料的凝胶对 PCR 产物进行电泳后，在紫外灯下观察结果

C. 将配制的酵母培养基煮沸并冷却后，在酒精灯火焰旁倒平板

D. 将接种环烧红，迅速蘸取酵母菌液在培养基上划线培养，获得单菌落

19. （2024· **湖南选考，15 不定项**）最早的双脱氧测序法是在 PCR 反应体系中，分别再加入一种少量的双脱氧核苷三磷酸（ddATP、ddCTP、ddGTP 或 ddTTP），子链延伸时，双脱氧核苷三磷酸也遵循碱基互补配对原则，以加入 ddATP 的体系为例，若配对的为 ddATP，延伸终止；若配对的为脱氧腺苷三磷酸（dATP），继续延伸；PCR 产物变性后电泳检测。通过该方法测序某疾病患者及对照个体的一段序列，结果如图所示。下列叙述正确的是（　　）



A. 上述 PCR 反应体系中只加入一种引物

B. 电泳时产物的片段越小，迁移速率越慢

C. 5′– CTACCCGTGAT–3′ 为对照个体的一段序列

D. 患者该段序列中某位点的碱基 C 突变为 G

20. （2024· **山东选考，5**）制备荧光标记的 DNA 探针时，需要模板、引物、DNA 聚合酶等。在只含大肠杆菌 DNA 聚合酶、扩增缓冲液、H_2O 和 4 种脱氧核苷酸（dCTP、dTTP、dGTP 和碱基被荧光标记的 dATP）的反应管①～④中，分别加入如表所示的适量单链 DNA。已知形成的双链 DNA 区遵循碱基互补配对原则，且在本实验的温度条件下不能产生小于 9 个连续碱基对的双链 DNA 区。能得到带有荧光标记的 DNA 探针的反应管有（　　）

反应管	加入的单链 DNA
①	5′-GCCGATCTTTATA-3′ 3′-GACCGGCTAGAAA-5′
②	5′-AGAGCCAATTGGC-3′
③	5′-ATTTCCCGATCCG-3′ 3′-AGGGCTAGGCATA-5′
④	5′-TTCACTGGCCAGT-3′

A. ①②　　B. ②③　　C. ①④　　D. ③④

21. (2024· 安徽选考，14) 下列关于“DNA 粗提取与鉴定”实验的叙述，错误的是　　(　　)

A. 实验中如果将研磨液更换为蒸馏水，DNA 提取的效率会降低

B. 利用 DNA 和蛋白质在酒精中的溶解度差异，可初步分离 DNA

C. DNA 在不同浓度 NaCl 溶液中溶解度不同，该原理可用于纯化 DNA 粗提物

D. 将溶解的 DNA 粗提物与二苯胺试剂反应，可检测溶液中是否含有蛋白质杂质

22. (2024· 山东选考，13) 关于“DNA 的粗提取与鉴定”实验，下列说法正确的是　　(　　)

A. 整个提取过程中可以不使用离心机

B. 研磨液在 4℃冰箱中放置几分钟后，应充分摇匀再倒入烧杯中

C. 鉴定过程中 DNA 双螺旋结构不发生改变

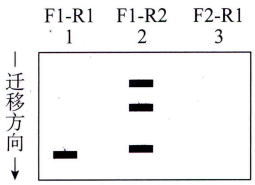
D. 仅设置一个对照组不能排除二苯胺加热后可能变蓝的干扰

23. (2024· 浙江 6 月选考，19~20) 阅读下列材料，回答以下两个小题。

疟疾是一种严重危害人类健康的红细胞寄生虫病，可用氯喹治疗。疟原虫 *pfcrt* 基因编码的蛋白，在第 76 位发生了赖氨酸到苏氨酸的改变，从而获得了对氯喹的抗性。对患者进行抗性筛查，区分氯喹敏感患者和氯喹抗性患者，以利于分类治疗。

研究人员根据 *pfcrt* 基因的序列，设计了 F1、F2、R1 和 R2 等 4 种备选引物，用于扩增目的片段，如图甲所示。为选出正确和有效的引物，以疟原虫基因组 DNA 为模板进行 PCR，产物的电泳结果如图乙所示。

甲



乙

(1) 下列关于引物 F1、F2、R1 和 R2 的叙述，错误的是　　(　　)

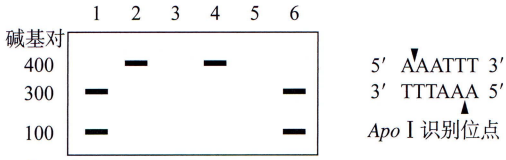
A. F1-R1 引物可用于特异性地扩增目的片段

B. F1-R2 引物不能用于特异性地扩增目的片段

C. F2 为无效引物，没有扩增功能，无法使用

D. R2 引物可用于特异性地扩增目的片段

(2) 为了筛查疟原虫感染者，以及区分对氯喹的敏感性。现有 6 份血样，处理后进行 PCR。产物用限制酶 *Apo* Ⅰ消化，酶解产物的电泳结果如图所示。



注：泳道号对应血样号

1～6 号血样中，来自于氯喹抗性患者的是（　　）

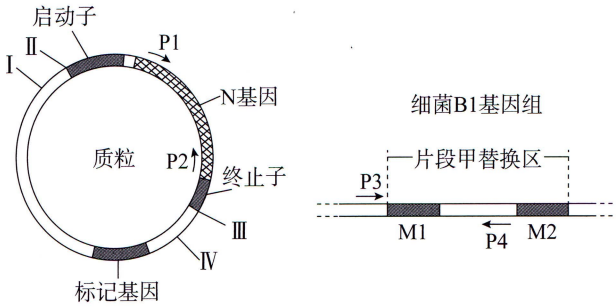
A. 1 号和 6 号

B. 2 号和 4 号

C. 3 号和 5 号

D. 1 号、2 号、4 号和 6 号

24. (2024· 新课标卷，35) (12 分) 某研究小组将纤维素酶基因（N）插入某种细菌（B1）的基因组中，构建高效降解纤维素的菌株（B2）。该小组在含有 N 基因的质粒中插入 B1 基因组的 M1 与 M2 片段；再经限制酶切割获得含 N 基因的片段甲，片段甲两端分别为 M1 与 M2；利用 CRISPR/Cas9 基因组编辑技术将片段甲插入 B1 的基因组，得到菌株 B2。酶切位点（Ⅰ～Ⅳ）、引物（P1～P4）的结合位置、片段甲替换区如图所示，→表示引物 5′→3′ 方向。回答下列问题。



(1) 限制酶切割的化学键是_____。为保证 N 基因能在菌株 B2 中表达，在构建片段甲时，应将 M1 与 M2 片段分别插入质粒的Ⅰ和Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ酶切位点之间，原因是_____。

(2) CRISPR/Cas9 技术可以切割细菌 B1 基因组中与向导 RNA 结合的 DNA。向导 RNA 与 B1 基因组 DNA 互补配对可以形成的碱基对有 G-C 和_____。

(3) 用引物 P1 和 P2 进行 PCR 可验证片段甲插入了细菌 B1 基因组，所用的模板是_____；若用该模板与引物 P3 和 P4 进行 PCR，实验结果是_____。

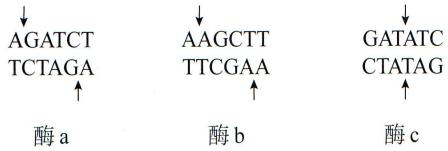
(4) 与秸秆焚烧相比，利用高效降解纤维素的细菌处理秸秆的优点是_____（答出 2 点即可）。

25. (2024· 全国甲卷，38) (15 分) 某同学采用基因工程技术在大肠杆菌中表达蛋白 E。回答下列问题。

(1) 该同学利用 PCR 扩增目的基因。PCR 的每次循环包括变性、复性、延伸 3 个阶段，其中 DNA 双链打开成为单链的阶段是_____，引物与模板 DNA

链碱基之间的化学键是_____。

(2) 质粒载体上有限制酶 a、b、c 的酶切位点，限制酶的切割位点如图所示。构建重组质粒时，与用酶 a 单酶切相比，用酶 a 和酶 b 双酶切的优点体现在_____（答出 2 点即可）；使用酶 c 单酶切构建重组质粒时宜选用的连接酶是_____。



(3) 将重组质粒转入大肠杆菌前，通常先将受体细胞处理成感受态，感受态细胞的特点是_____。若要验证转化的大肠杆菌中含有重组质粒，简要的实验思路和预期结果是_____。

(4) 蛋白 E 基因中的一段 DNA 编码序列（与模板链互补）是 GGGCCCAAGCTGAGATGA，编码从 GGG 开始，部分密码子见表。若第一个核苷酸 G 缺失，则突变后相应肽链的序列是_____。

氨基酸	密码子
赖氨酸	AAG
精氨酸	AGA
丝氨酸	AGC
脯氨酸	CCA
	CCC
亮氨酸	CUG
甘氨酸	GGC
	GGG
终止	UGA

26. (2024· 贵州选考，21) （12 分）研究者用以蔗糖为唯一碳源的液体培养基，培养真菌 A 的野生型（含 *NV* 基因）、突变体（*NV* 基因突变）和转基因菌株（转入 *NV* 基因），检测三种菌株 NV 酶的生成与培养液中的葡萄糖含量，结果如表所示（表中“+”表示有，“–”表示无）。

检测用菌株	蔗糖	NV 酶	葡萄糖（培养液中）
野生型	+	+	+
野生型	–	–	–
突变体	+	–	–
转基因菌株	+	+	+

回答下列问题：

(1) 据表可推测_____诱导了 *NV* 基因表达。NV 酶的作用是_____。检测 NV 酶活性时，需测定的指标是_____（答出 1 点即可）。

(2) 表中突变体由 T-DNA 随机插入野生型菌株基因组 DNA 筛选获得。从野生型与突变体中分别提取基因组 DNA 作为模板，用与_____（选填“T-DNA”或“*NV* 基因”）配对的引物进行 PCR 扩增。若突变体扩增片段长度_____（选填“>”“=”或“<”）野生型扩增片段长度，则表明突变体构建成功，从基因序列分析其原因是_____。

(3) 为进一步验证 *NV* 基因的功能，表中的转基因菌株是将 *NV* 基因导入_____细胞获得的。在构建 *NV* 基因表达载体时，需要添加新的标记基因，原因是_____。

27. (2024· 河北选考，22) （14 分）新城疫病毒可引起家禽急性败血性传染病，我国科学家将该病毒相关基因改造为 *r2HN*，使其在水稻胚乳特异表达，制备获得 r2HN 疫苗，并对其免疫效果进行了检测。

回答下列问题：

(1) 实验所用载体的部分结构及其限制酶识别位点如图 1 所示。其中 GtP 为启动子，若使 *r2HN* 仅在水稻胚乳表达，GtP 应为_____启动子。Nos 为终止子，其作用为_____。*r2HN* 基因内部不含载体的限制酶识别位点。因此，可选择限制酶_____和_____对 *r2HN* 基因与载体进行酶切，用于表达载体的构建。

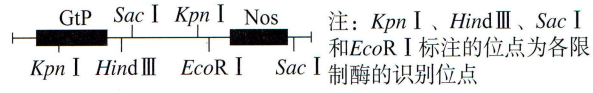


图1

(2) 利用_____方法将 *r2HN* 基因导入水稻愈伤组织。为检测 *r2HN* 表达情况，可通过 PCR 技术检测_____，通过_____技术检测是否翻译出 r2HN 蛋白。

(3) 获得转基因植株后，通常选择单一位点插入目的基因的植株进行研究。此类植株自交一代后，*r2HN* 纯合体植株的占比为_____。选择纯合体进行后续研究的原因是_____。

(4) 制备 r2HN 疫苗后，为研究其免疫效果，对实验组鸡进行接种，对照组注射疫苗溶剂。检测两组鸡体内抗新城疫病毒抗体水平和特异应答的 $CD8^+$T 细胞（细胞毒性 T 细胞）水平，结果如图 2 所示。据此分析，获得的 r2HN 疫苗能够成功激活鸡的_____免疫和_____免疫。

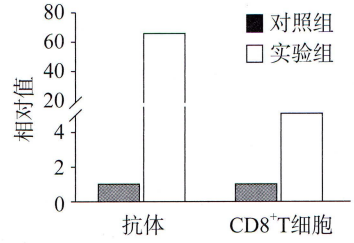
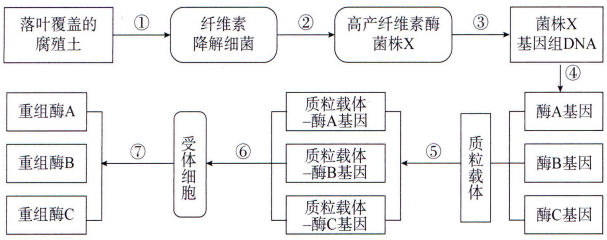


图2

(5) 利用水稻作为生物反应器生产 r2HN 疫苗的优点

是_____。（答出两点即可）

28. (2024·甘肃选考，21)　(11 分) 源于细菌的纤维素酶是一种复合酶，能降解纤维素。为了提高纤维素酶的降解效率，某课题组通过筛选高产纤维素酶菌株，克隆表达降解纤维素的三种酶（如下图），研究了三种酶混合的协同降解作用，以提高生物质资源的利用效率。回答下列问题。



(1) 过程①②采用以羧甲基纤维素钠为唯一碳源的培养基筛选菌株 X，能起到筛选作用的原因是_____。高产纤维素酶菌株筛选时，刚果红培养基上的菌落周围透明圈大小反映了_____。

(2) 过程④扩增不同目的基因片段需要的关键酶是_____。

(3) 过程⑤在基因工程中称为_____，该过程需要的主要酶有_____。

(4) 过程⑥大肠杆菌作为受体细胞的优点有_____。该过程用 Ca^{2+} 处理细胞，使其处于一种_____的生理状态。

(5) 课题组用三种酶及酶混合物对不同生物质原料进行降解处理，结果如下表。表中协同系数存在差异的原因是_____（答出两点）。

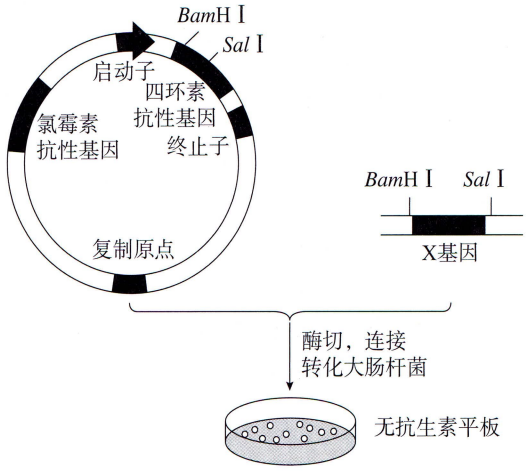
生物质原料	降解率（%）					协同系数	
	酶 A	酶 B	酶 C	混 1	混 2	混 1	混 2
小麦秸秆	7.08	6.03	8.19	8.61	26.98	74.33	114.64
玉米秸秆	2.62	1.48	3.76	3.92	9.88	24.98	77.02
玉米芯	0.62	0.48	0.86	0.98	6.79	1.82	11.34

注：混 1 和混 2 表示三种酶的混合物

29. (2024·安徽选考，20)　(11 分) 丁二醇广泛应用于化妆品和食品等领域。兴趣小组在已改造的大肠杆菌中引入合成丁二醇的关键基因 X，以提高丁二醇的产量。回答下列问题。

(1) 扩增 X 基因时，PCR 反应中需要使用 *Taq* DNA 聚合酶，原因是_____。

(2) 使用 *BamH* Ⅰ 和 *Sal* Ⅰ 限制酶处理质粒和 X 基因，连接后转化大肠杆菌，并涂布在无抗生素平板上（如图）。在此基础上，进一步筛选含目的基因菌株的实验思路是_____。

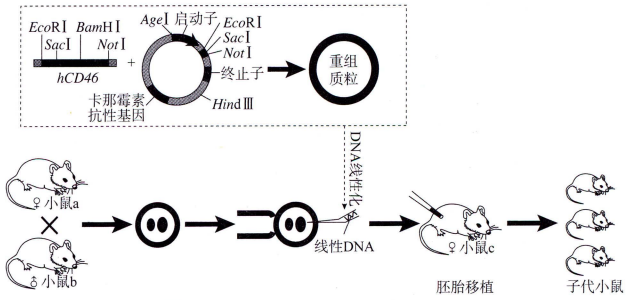


(3) 研究表明，碳源和氮源的种类、浓度及其比例会影响微生物生长和发酵产物积累。如果培养基中碳源相对过多，容易使其氧化不彻底，形成较多的_____，引起发酵液 pH 下降。兴趣小组通过单因子实验确定了木薯淀粉和酵母粉的最适浓度分别为 100 $g\cdot L^{-1}$ 和 15 $g\cdot L^{-1}$。在此基础上，设置不同浓度的木薯淀粉（90 $g\cdot L^{-1}$、100 $g\cdot L^{-1}$、110 $g\cdot L^{-1}$）和酵母粉（12 $g\cdot L^{-1}$、15 $g\cdot L^{-1}$、18 $g\cdot L^{-1}$）筛选碳源和氮源浓度的最佳组合，以获得较高发酵产量，理论上应设置_____（填数字）组实验（重复组不计算在内）。

(4) 大肠杆菌在发酵罐内进行高密度发酵时，温度会升高，其原因是_____。

(5) 发酵工业中通过菌种选育、扩大培养和发酵后，再经_____，最终获得发酵产品。

30. (2024·福建选考，17)　(13 分) 病毒感染初期，机体会分泌干扰素并作用于细胞受体 IFNAR 来应对感染。麻疹是由麻疹病毒感染引起的急性传染病。已知人白细胞分化抗原 46（hCD46）是麻疹病毒入侵细胞的主要受体，小鼠没有该受体，科研人员构建 *hCD46* 转基因小鼠用于相关研究，部分流程如图所示。



回答下列问题：

(1) 利用 PCR 技术获取目的基因 *hCD46*，复性温度下发生的扩增过程是_____。

(2) 将 *hCD46* 接入质粒应选用的限制酶组合是_____。为提高转基因效率，同时避免标记基因进入胚胎体内，应选用_____限制酶组合将重组

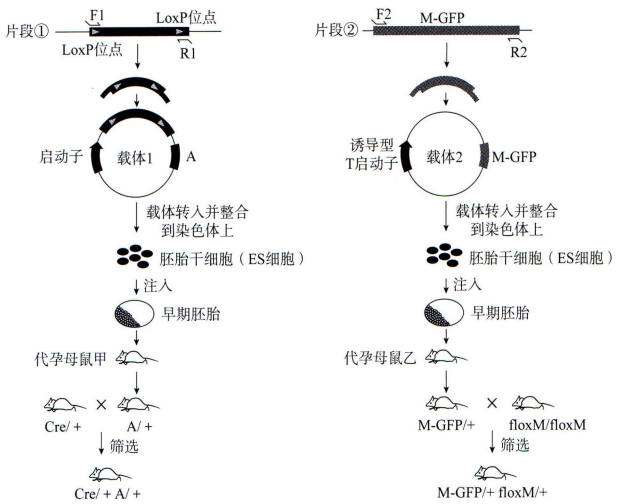
质粒变为线性 DNA。

(3) 为获取大量胚胎用于移植，可用激素处理小鼠 a，使其_____。将胚胎移植到小鼠 c 的子宫中，应选用桑葚胚的原因是_____。

(4) 利用 PCR 技术对子代小鼠进行 *hCD46* 基因检测，应设置不加 DNA 模板的对照组，目的是_____。

(5) 若能进一步构建既表达 hCD46 受体又敲除 *IFNAR* 基因的小鼠，则该小鼠对麻疹病毒具有高易感性，原因是_____。

31. (2024·广西选考，21) (14 分) M 蛋白与“记忆”的形成密切相关。科研人员制备了 M 基因表达可控的实验模型小鼠，主要制备流程见下图。实验模型小鼠通过特异性表达 Cre 重组酶来敲除两个 LoxP 位点间的序列，同时利用体内表达的蛋白 A 激活诱导型 T 启动子。利用融合绿色荧光蛋白基因的 M 基因（M-GFP）的表达，恢复小鼠自身被敲除的 M 基因功能，同时便于示踪。回答下列问题：



注：基因型 A/+ 指的是 A 基因被整合在细胞同源染色体中的一条，即可看成基因型为 Aa；两端添加上 LoxP 位点的 M 基因称为 floxM。

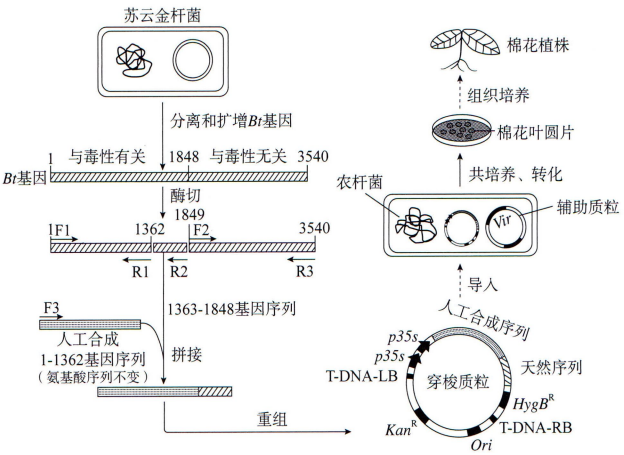
(1) 在 PCR 扩增片段①和②时，通常会在所用引物的一端添加被限制酶识别的序列，该序列添加的位置位于引物_____（选填“3′ 端”或“5′ 端”）。在构建载体 1 时，为了阻断 A 基因的表达，从转录水平考虑，连接的片段可以是_____；而从翻译水平考虑，连接的片段可以是_____。为了鉴定载体 2 是否构建成功，需要限制酶切割载体后，再进行_____。

(2) 培养小鼠胚胎干细胞需定时更换培养液，其目的是_____（至少答 2 方面）。

(3) 为了快速高效繁育出含有 4 对基因（遵循自由组合定律）的实验模型小鼠，应将培育出的基因型 Cre/+A/+ 小鼠和 M-GFP/+floxM/+ 小鼠分别与基因型 floxM/floxM 小鼠杂交，杂交获得的子代，再进行一代杂交后最终获得基因型为_____实验模型小鼠。

(4) 为了实现 M 基因的表达可控，在实验模型小鼠喂食时，可添加竞争性结合 A 蛋白的四环素，抑制 T 启动子的活性。添加四环素与未添加相比，目的是_____。

32. (2024·辽宁选考，25) (12 分) 将天然 Ti 质粒改造成含有 *Vir* 基因的辅助质粒（辅助 T-DNA 转移）和不含有 *Vir* 基因、含有 T-DNA 的穿梭质粒，共同转入农杆菌，可提高转化效率。细菌和棉花对密码子偏好不同，为提高翻译效率，增强棉花抗病虫害能力，进行如下操作。回答下列问题。



注：F1-F3，R1-R3 表示引物；T-DNA-LB 表示左边界；T-DNA-RB 表示右边界；*Ori* 表示复制原点；Kan^R 表示卡那霉素抗性基因；$HygB^R$ 表示潮霉素 B 抗性基因。

(1) 从苏云金杆菌提取 DNA 时，需加入蛋白酶，其作用是_____。提取过程中加入体积分数为 95% 的预冷酒精，其目的是_____。

(2) 本操作中获取目的基因的方法是_____和_____。

(3) 穿梭质粒中 *p35s* 为启动子，其作用是_____，驱动目的基因转录；插入两个 *p35s* 启动子，其目的可能是_____。

(4) 根据图中穿梭质粒上的 Kan^R 和 $HygB^R$ 两个标记基因的位置，用_____基因对应的抗生素初步筛选转化的棉花愈伤组织。

(5) 为检测棉花植株是否导入目的基因，提取棉花植株染色体 DNA 作模板，进行 PCR，应选用的引物是_____和_____。

(6) 本研究采用的部分生物技术属于蛋白质工程，理由是_____（单选）。

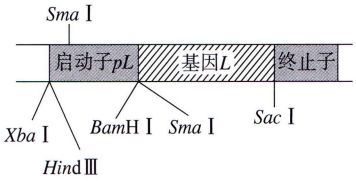
A. 通过含有双质粒的农杆菌转化棉花细胞

B. 将苏云金杆菌 *Bt* 基因导入棉花细胞中表达

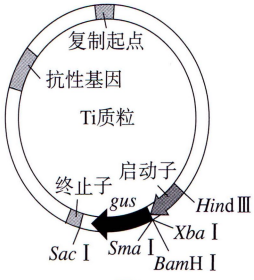
C. 将 1-1362 基因序列改变为棉花细胞偏好密码子的基因序列

D. 用 1-1362 合成基因序列和 1363-1848 天然基因序列获得改造的抗虫蛋白

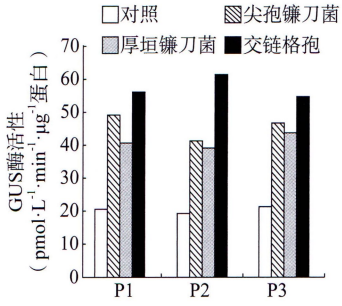
33. (2024· 湖南选考，21)　(13 分) 百合具有观赏、食用和药用等多种价值，科研人员对其进行了多种育种技术研究。回答下列问题：



图a



图b



图c

(1) 体细胞杂交育种。进行不同种百合体细胞杂交前，先用_____去除细胞壁获得原生质体，使原生质体融合，得到杂种细胞后，继续培养，常用_____（填植物激素名称）诱导愈伤组织形成和分化，获得完整的杂种植株。

(2) 单倍体育种。常用_____的方法来获得单倍体植株，鉴定百合单倍体植株的方法是_____。

(3) 基因工程育种。研究人员从野生百合中获得一个抵抗尖孢镰刀菌侵染的基因 *L*，该基因及其上游的启动子 *pL* 和下游的终止子结构如图 a。图 b 是一种 Ti 质粒的结构示意图，其中基因 *gus* 编码 GUS 酶，GUS 酶活性可反映启动子活性。

①研究病原微生物对 *L* 的启动子 *pL* 活性的影响。从图 a 所示结构中获取 *pL*，首先选用_____酶切，将其与相同限制酶酶切的 Ti 质粒连接，再导入烟草。随机选取 3 组转基因成功的烟草（P1、P2 和 P3）进行病原微生物胁迫，结果如图 c。由此可知：三种病原微生物都能诱导 *pL* 的活性增强，其中_____的诱导作用最强。

②现发现栽培种百合 B 中也有 *L*，但其上游的启动子与野生百合不同，且抗病性弱。若要提高该百合中 *L* 的表达量，培育具有高抗病原微生物能力的百合新品种，简要写出实验思路_____。

34. (2024· 天津选考，16)　金黄色葡萄球菌（简称 Sa）是人体重要致病细菌，不规范使用抗生素易出现多重抗药性 Sa。

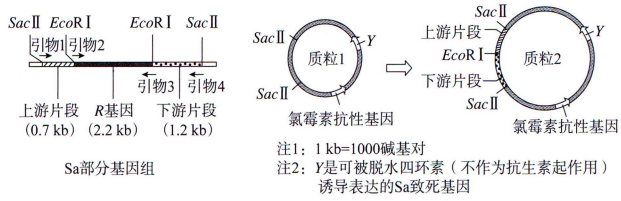


图1

(1) Sa 产生抗药性可遗传变异的来源有_____（至少答出 2 点）。

(2) 推测 Sa 产生头孢霉素抗性与其 *R* 基因有关。为验证该推测，以图 1 中 *R* 基因的上、下游片段和质粒 1 构建质粒 2，然后通过同源重组（质粒 2 中的上、下游片段分别与 Sa 基因组中 *R* 基因上、下游片段配对，并发生交换）敲除 Sa 的 *R* 基因。

①根据图 1 信息，简述质粒 2 的构建过程（需包含所选引物和限制酶）：_____，然后回收上、下游片段，再与 *Sac* Ⅱ酶切质粒 1 所得大片段连接，获得质粒 2。

②用质粒 2 转化临床分离的具有头孢霉素抗性、对氯霉素敏感的 Sa，然后涂布在含_____的平板上，经培养获得含质粒 2 的 Sa 单菌落。

③将②获得的单菌落多次传代以增加同源重组敲除 *R* 基因的几率，随后稀释涂布在含_____的平板上，筛选并获得不再含有质粒 2 的菌落。从这些菌落分别挑取少许菌体，依次接种到含_____的平板上，若无法增殖，则对应菌落中细菌的 *R* 基因疑似被敲除。

④以③获得的菌株基因组模板，采用不同引物组合进行 PCR 扩增，电泳检测结果如图 2，表明 *R* 基因已被敲除的是_____（单选）。

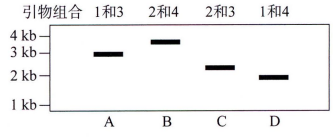
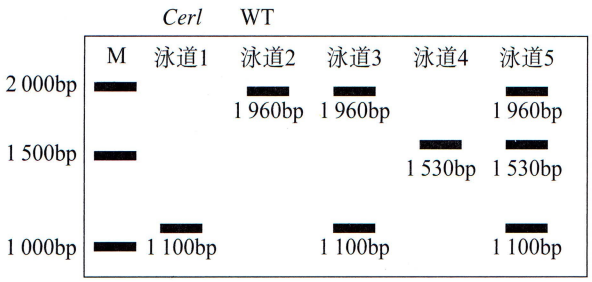


图2

35. (2024· 江西选考，19)　(12 分) 植物体表蜡质对耐干旱有重要作用。研究人员通过诱变获得一个大麦突变体 *Cerl*（纯合体），其颖壳蜡质合成有缺陷（本题假设完全无蜡质）。初步研究表明，突变表型是因为 C 基因突变

为 c，使棕榈酸转化为 16- 羟基棕榈酸受阻所致（本题假设完全阻断），符合孟德尔遗传规律。回答下列问题：

(1) 在 C 基因两侧设计引物，PCR 扩增，电泳检测 PCR 产物。下图泳道 1 和 2 分别是突变体 *Cer1* 与野生型（WT，纯合体）。据图判断，突变体 *Cer1* 中 c 基因的突变类型是_____。



(2) 将突变体 *Cer1* 与纯合野生型杂交，F_1 全为野生型，F_1 与突变体 *Cer1* 杂交，获得若干个后代。利用上述引物 PCR 扩增这些后代的基因组 DNA，电泳检测 PCR 产物，可以分别得到与上图泳道_____和泳道_____（从 1~5 中选择）中相同的带型，两种类型的电泳带型比例为_____。

(3) 进一步研究意外发现，16- 羟基棕榈酸合成蜡质过程中必需的 D 基因（位于另一条染色体上）也发生了突变，产生了基因 d_1，其编码多肽链的 DNA 序列中有 1 个碱基由 G 变为 T，但氨基酸序列没有发生变化，原因是_____。

(4) 假设诱变过程中突变体 *Cer1* 中的 D 基因发生了使其丧失功能的突变，产生基因 d_2。CCDD 与 ccd_2d_2 个体杂交，F_1 的表型为野生型，F_1 自交，F_2 野生型与突变型的比例为_____；完善以下表格：

F_2 部分个体基因型	棕榈酸（填“有”或“无”）	16- 羟基棕榈酸（填“有”或“无”）	颖壳蜡质（填“有”或“无”）
Ccd_2d_2	有	①____	无
$CCDd_2$	有	有	②____

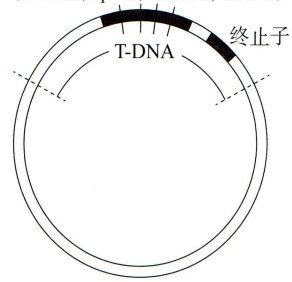
36. (2024·重庆选考，19) （11 分）大豆是重要的粮油作物，提高大豆产量是我国农业领域的重要任务。我国研究人员发现，基因 S 在大豆品种 DN（种子较大）中的表达量高于品种 TL（种子较小），然后克隆了该基因（两品种中基因 S 序列无差异）及其上游的启动子序列，并开展相关研究。

(1) 基因 S 启动子的基本组成单位是_____。

(2) 通过基因工程方法，将 DN 克隆的“启动子 D+ 基因 S”序列导入无基因 S 的优质大豆品种 YZ。根据下图所示信息（不考虑未标明序列）判断，构建重组表达载体时，为保证目标序列的完整性，不宜使用的限制酶是_____；此外，不宜同时选用酶 *Spe* Ⅰ和 *Xba* Ⅰ，原因是_____。

①表达载体

限制酶识别位点（*Hind*Ⅲ，*Spe* Ⅰ，*Eco*R Ⅰ，*Xba* Ⅰ）



②启动子D+基因S

5′……TAGAATTCCA……3′
3′……ATCTTAAGGT……5′

③四种限制酶识别序列及切割位点

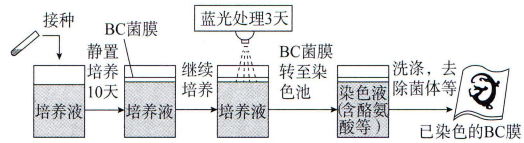
*Hind*Ⅲ	*Spe* Ⅰ	*Eco*R Ⅰ	*Xba* Ⅰ
5′ AAGCTT 3′	5′ ACTAGT 3′	5′ GAATTC 3′	5′ TCTAGA 3′
3′ TTCGAA 5′	3′ TGATCA 5′	3′ CTTAAG 5′	3′ AGATCT 5′

注：箭头表示酶的切割位置

(3) 为验证“启动子 D+ 基因 S”是否连接在表达载体上，可用限制酶对重组表达载体酶切后进行电泳。电泳时，对照样品除指示分子大小的标准参照物外，还应有_____。经验证的重组表达载体需转入农杆菌，检测转入是否成功的技术是_____。

(4) 用检测后的农杆菌转化品种 YZ，所得再生植株 YZ-1 的种子变大。同时，将从 TL 克隆的“启动子 T+ 基因 S”序列成功导入 YZ，所得再生植株 YZ-2 的种子也变大，但小于 YZ-1。综合分析，大豆品种 DN 较 TL 种子大的原因是_____。

37. (2024·广东选考，21) （13 分）驹形杆菌可合成细菌纤维素（BC）并将其分泌到胞外组装成膜。作为一种性能优异的生物材料，BC 膜应用广泛。研究者设计了酪氨酸酶（可催化酪氨酸形成黑色素）的光控表达载体，将其转入驹形杆菌后构建出一株能合成 BC 膜并可实现光控染色的工程菌株，为新型纺织原料的绿色制造及印染工艺升级提供了新思路（图一）。



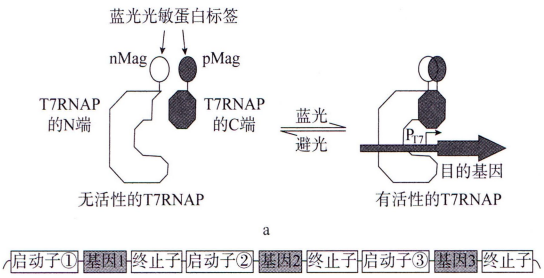
图一

回答下列问题：

(1) 研究者优化了培养基的_____（答两点）等营养条件，并控制环境条件，大规模培养工程菌株后可在气液界面处获得 BC 菌膜（菌体和 BC 膜的复合物）。

(2) 研究者利用 T7 噬菌体来源的 RNA 聚合酶（T7RNAP）及蓝光光敏蛋白标签，构建了一种可被蓝光调控的

基因表达载体（光控原理见图二 a，载体的部分结构见图二 b）。构建载体时，选用了通用型启动子 P_{BAD}（被工程菌 RNA 聚合酶识别）和特异型启动子 P_{T7}（仅被 T7RNAP 识别）。为实现蓝光控制染色，启动子①、②及③依次为_____，理由是_____。



图二

(3) 光控表达载体携带大观霉素（抗生素）抗性基因。长时间培养时在培养液中加入大观霉素，其作用为_____（答两点）。

(4) 根据预设的图案用蓝光照射已长出的 BC 菌膜并继续培养一段时间，随后将其转至染色池处理，发现只有经蓝光照射的区域被染成黑色，其原因是_____。

(5) 有企业希望生产其他颜色图案的 BC 膜。按照上述菌株的构建模式提出一个简单思路_____。

38. (2024·浙江 1 月选考，22)　(13 分) 锌转运蛋白在某种植物根部细胞特异性表达并定位于细胞质膜，具有吸收和转运环境中 Zn^{2+} 的功能。为研究该植物 2 种锌转运蛋白 M 和 N 与吸收 Zn^{2+} 相关的生物学功能，在克隆 M、N 基因基础上，转化锌吸收缺陷型酵母，并进行细胞学鉴定。回答下列问题：

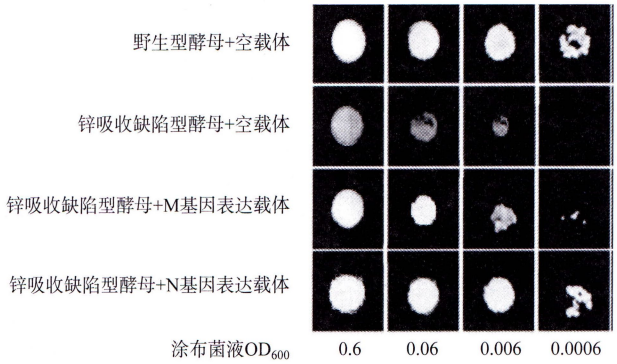
(1) 锌转运蛋白基因 M、N 克隆。以该植物_____为材料提取并纯化 mRNA，反转录合成 cDNA。根据序列信息设计引物进行 PCR 扩增，PCR 每个循环第一步是进行热变性处理，该处理的效果类似于生物体内_____的作用效果。

PCR 产物琼脂糖凝胶电泳时，DNA 分子因为含_____而带负电荷，凝胶点样孔端应靠近电泳槽负极接口；当 2 个 PCR 产物分子量接近时，若延长电泳时间，凝胶中这 2 个条带之间的距离会_____。回收 DNA 片段，连接至克隆载体，转化大肠杆菌，测序验证。

(2) 重组表达载体构建。分别将含 M、N 基因的重组质粒和酵母表达载体同时进行双酶切处理，然后利用_____连接，将得到的重组表达载体转化大肠杆菌。用 PCR 快速验证重组转化是否成功，此反应可以用大肠杆菌悬液当模板的原因是_____。

(3) 酵母菌转化。取冻存的锌吸收缺陷型酵母菌株，直接在固体培养基进行_____培养，活化后接种至液体培养基，采用_____以扩大菌体数量，用重组表达载体转化酵母菌。检测 M、N 基因在受体细胞中的表达水平，无显著差异。

(4) 转基因酵母功能鉴定。分别将转化了 M、N 基因的酵母菌株于液体培养基中培养至 OD_{600} 为 0.6，将菌液用_____法逐级稀释至 OD_{600} 为 0.06、0.006 和 0.0006，然后各取 10 μL 菌液用涂布器均匀涂布在固体培养基上，培养 2 天，菌落生长如图。该实验中阴性对照为_____。由实验结果可初步推测：转运蛋白 M 和 N 中，转运 Zn^{2+} 能力更强的是_____，依据是_____。



注：OD_{600} 为波长 600 nm 下的吸光值，该值越大，菌液浓度越高；空载体为未插入 M 或 N 基因的表达载体。

39. (2024·江苏选考，23)　(12 分) 为了高效纯化超氧化物歧化酶（SOD），科研人员将 *ELP*$_{50}$ 片段插入 pET-*SOD* 构建重组质粒 pET-*SOD-ELP*$_{50}$，以融合表达 SOD-ELP$_{50}$ 蛋白，过程如图 1。其中，*ELP*$_{50}$ 是由人工合成的 DNA 片段，序列为：限制酶 a 识别序列 -（GTTCCTGGTGTTGGC）$_{50}$- 限制酶 b 识别序列，50 为重复次数。请回答下列问题：

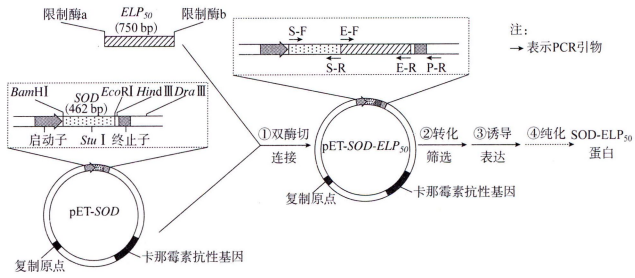


图1

(1) 步骤①双酶切时，需使用的限制酶 a 和限制酶 b 分别是_____。

(2) 步骤②转化时，科研人员常用_____处理大肠杆菌，使细胞处于感受态；转化后的大肠杆菌采用含有_____的培养基进行筛选。用 PCR 技术筛选成功导入 pET-*SOD-ELP*$_{50}$ 的大肠杆菌，应选用的一对引物是_____。

(3) 步骤③大肠杆菌中 RNA 聚合酶与_____

结合，驱动转录，翻译 SOD-ELP$_{50}$ 蛋白。已知蛋白质中氨基酸残基的平均相对分子质量约为 0.11 kDa，将表达的蛋白先进行凝胶电泳，然后用 SOD 抗体进行杂交，显示的条带应是_____（从图 2 的“A~D”中选填）。

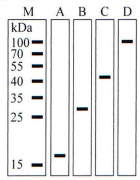


图2

(4) 步骤④为探寻高效纯化 SOD-ELP$_{50}$ 蛋白的方法，科研人员研究了温度、NaCl 对 SOD-ELP$_{50}$ 蛋白纯化效果的影响，部分结果如图 3。

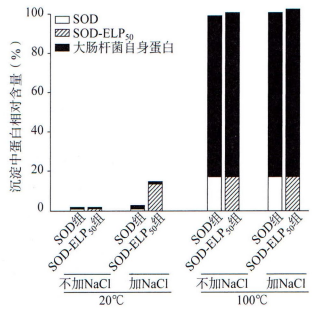


图3

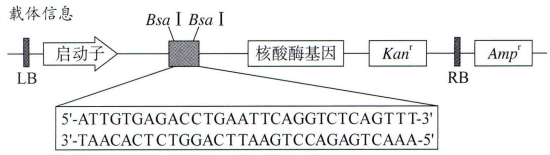
（ⅰ）20℃时，加入 NaCl 后实验结果是_____。

（ⅱ）100℃时，导致各组中所有蛋白都沉淀的原因是_____。

（ⅲ）据图分析，融合表达 SOD-ELP$_{50}$ 蛋白的优点有_____。

40. (2024·山东选考，25) （12 分）研究发现基因 L 能够通过脱落酸信号途径调控大豆的逆境响应。利用基因工程技术编辑基因 L，可培育耐盐碱大豆品系。在载体上的限制酶 *Bsa* Ⅰ切点处插入大豆基因 L 的向导 DNA 序列，将载体导入大豆细胞后，其转录产物可引导核酸酶特异性结合基因组上的目标序列并发挥作用。载体信息、目标基因 L 部分序列及相关结果等如图所示。

图甲：载体信息

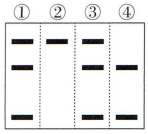


LB/RB：T-DNA的边界序列；*Kan*^{r}：卡那霉素抗性基因；*Amp*^{r}：氨苄青霉素抗性基因

图乙：目标基因L部分序列

目标序列	5'-AGTCGACTCTGGATCCGAATTCTTCTCCGAGCGCCAGGCG-3'
突变序列	5'-AGTCGACTCTGGATCCGAATTCTTCTCCGAGCTCCAGGCG-3'

图丙：限制酶识别序列、切割位点及电泳结果



*Bam*H Ⅰ 5'-GGATCC-3' / 3'-CCTAGG-5'　*Eco*R Ⅰ 5'-GAATTC-3' / 3'-CTTAAG-5'

Sac Ⅰ 5'-GAGCTC-3' / 3'-CTCGAG-5'　*Bsa* Ⅰ 5'-GGTCTCN-3' / 3'-CCAGAGNNNNN-5'

注：N代表任一碱基

(1) 用 PCR 技术从大豆基因组 DNA 中扩增目标基因 L 时，所用的引物越短，引物特异性越_____（填“高”或“低”）。限制酶在切开 DNA 双链时，形成的单链突出末端为黏性末端，若用 *Bsa* Ⅰ酶切大豆基因组 DNA，理论上可产生的黏性末端最多有_____种。载体信息如图甲所示，经 *Bsa* Ⅰ酶切后，载体上保留的黏性末端序列应为 5'-_____-3' 和 5'-_____-3'。

(2) 重组载体通过农杆菌导入大豆细胞，使用抗生素_____筛选到具有该抗生素抗性的植株①~④。为了鉴定基因编辑是否成功，以上述抗性植株的 DNA 为模板，通过 PCR 扩增目标基因 L，部分序列信息及可选用的酶切位点如图乙所示，PCR 产物完全酶切后的电泳结果如图丙所示。据图可判断选用的限制酶是_____，其中纯合的突变植株是_____（填序号）。

(3) 实验中获得 1 株基因 L 成功突变的纯合植株，该植株具有抗生素抗性，检测发现其体细胞中只有 1 条染色体有 T-DNA 插入。用抗生素筛选这个植株的自交子代，其中突变位点纯合且对抗生素敏感的植株所占比例为_____，筛选出的敏感植株可用于后续的品种选育。

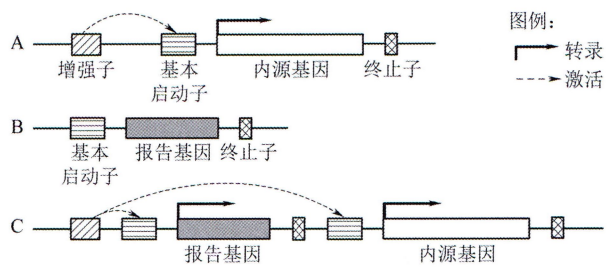
41. (2024·北京选考，20) （10 分）学习以下材料，回答（1）~（4）题。

筛选组织特异表达的基因

筛选组织特异表达的基因，对研究细胞分化和组织、器官的形成机制非常重要。“增强子捕获”是筛选组织特异表达基因的一种有效方法。

真核生物的基本启动子位于基因 5' 端附近，没有组织特异性，本身不足以启动基因表达。增强子位于基因上游或下游，与基本启动子共同组成基因表达的调控序列。基因工程所用表达载体中的启动子，实际上包含增强子和基本启动子。

很多增强子具有组织特异的活性，它们与特定蛋白结合后激活基本启动子，驱动相应基因在特定组织中表达（图 A）。基于上述调控机理，研究者构建了由基本启动子和报告基因组成的“增强子捕获载体”（图 B），并转入受精卵。捕获载体会随机插入基因组中，如果插入位点附近存在有活性的增强子，则会激活报告基因的表达（图 C）。



获得了一系列分别在不同组织中特异表达报告基因的个体后，研究者提取每个个体的基因组 DNA，通过 PCR 扩增含有捕获载体序列的 DNA 片段。对 PCR 产物

进行测序后，与相应的基因组序列比对，即可确定载体的插入位点，进而鉴定出相应的基因。

研究者利用各种遗传学手段，对筛选得到的基因进行突变、干扰或过表达，检测个体表型的改变，研究其在细胞分化和个体发育中的作用，从而揭示组织和器官形成的机理。

(1) 在个体发育中，来源相同的细胞在形态、结构和功能上发生_____的过程称为细胞分化，分化是基因_____的结果。

(2) 对文中“增强子”的理解，错误的是____（单选）。

A. 增强子是含有特定碱基序列的 DNA 片段

B. 增强子、基本启动子和它们调控的基因位于同一条染色体上

C. 一个增强子只能作用于一个基本启动子

D. 很多增强子在不同组织中的活性不同

(3) 研究者将增强子捕获技术应用于斑马鱼，观察到报告基因在某幼体的心脏中特异表达。鉴定出捕获载体的插入位点后，发现位点附近有两个基因 G 和 H，为了确定这两个基因是否为心脏特异表达的基因，应检测_____。

(4) 真核生物编码蛋白的序列只占基因组的很少部分，因而在绝大多数表达报告基因的个体中，增强子捕获载体的插入位点位于基因外部，不会造成基因突变。研究者对图 B 所示载体进行了改造，期望改造后的载体随机插入基因组后，在“捕获”增强子的同时，也造成该增强子所调控的基因发生突变，以研究基因功能。请画图表示改造后的载体，并标出各部分名称。

42. (2023· 全国甲卷，38)　(15 分) 接种疫苗是预防传染病的一项重要措施，乙肝疫苗的使用可有效阻止乙肝病毒的传播，降低乙型肝炎发病率。乙肝病毒是一种 DNA 病毒。重组乙肝疫苗的主要成分是利用基因工程技术获得的乙肝病毒表面抗原（一种病毒蛋白）。回答下列问题。

(1) 接种上述重组乙肝疫苗不会在人体中产生乙肝病毒，原因是_____。

(2) 制备重组乙肝疫苗时，需要利用重组表达载体将乙肝病毒表面抗原基因（目的基因）导入酵母细胞中表达。重组表达载体中通常含有抗生素抗性基因，抗生素抗性基因的作用是_____。能识别载体中的启动子并驱动目的基因转录的酶是_____。

(3) 目的基因导入酵母细胞后，若要检测目的基因是否插入染色体中，需要从酵母细胞中提取_____进行 DNA 分子杂交，DNA 分子杂交时应使用的探针是_____。

(4) 若要通过实验检测目的基因在酵母细胞中是否表达出目的蛋白，请简要写出实验思路。

43. (2022· 新课标乙卷，38)　(15 分) 新冠疫情出现后，病毒核酸检测和疫苗接种在疫情防控中发挥了重要作用。回答下列问题。

(1) 新冠病毒是一种 RNA 病毒，检测新冠病毒 RNA（核酸检测）可以采取 RT-PCR 法。这种方法的基本原理是先以病毒 RNA 为模板合成 cDNA，这一过程需要的酶是_____，再通过 PCR 技术扩增相应的 DNA 片段。根据检测结果判断被检测者是否感染新冠病毒。

(2) 为了确保新冠病毒核酸检测的准确性，在设计 PCR 引物时必须依据新冠病毒 RNA 中的_____来进行。PCR 过程每次循环分为 3 步，其中温度最低的一步是_____。

(3) 某人同时进行了新冠病毒核酸检测和抗体检测（检测体内是否有新冠病毒抗体），若核酸检测结果为阴性而抗体检测结果为阳性，说明_____（答出 1 种情况即可）；若核酸检测和抗体检测结果均为阳性，说明_____。

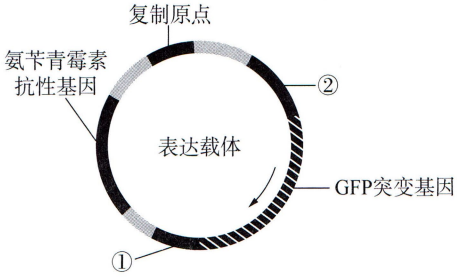
(4) 常见的病毒疫苗有灭活疫苗、蛋白疫苗和重组疫苗等。已知某种病毒的特异性蛋白 S（具有抗原性）的编码序列（目的基因）。为了制备蛋白疫苗，可以通过基因工程技术获得大量蛋白 S。基因工程的基本操作流程是_____。

44. (2023· 全国乙卷，38)　(15 分) GFP 是水母体内存在的能发绿色荧光的一种蛋白。科研人员以 GFP 基因为材料，利用基因工程技术获得了能发其他颜色荧光的蛋

白，丰富了荧光蛋白的颜色种类。回答下列问题。

(1) 构建突变基因文库。科研人员将 GFP 基因的不同突变基因分别插入载体，并转入大肠杆菌制备出 GFP 基因的突变基因文库。通常，基因文库是指_____。

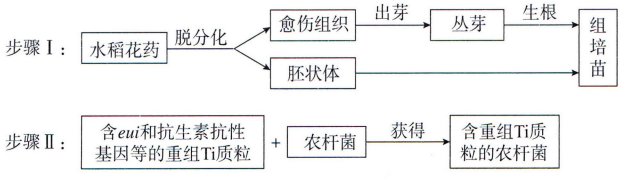
(2) 构建目的基因表达载体。科研人员从构建的 GFP 突变基因文库中提取目的基因（均为突变基因）构建表达载体，其模式图如下所示（箭头为 GFP 突变基因的转录方向）。图中①为_____；②为_____，其作用是_____；图中氨苄青霉素抗性基因是一种标记基因，其作用是_____。



(3) 目的基因的表达。科研人员将构建好的表达载体导入大肠杆菌中进行表达，发现大肠杆菌有的发绿色荧光，有的发黄色荧光，有的不发荧光。请从密码子特点的角度分析，发绿色荧光的可能原因是_____（答出 1 点即可）。

(4) 新蛋白与突变基因的关联性分析。将上述发黄色荧光的大肠杆菌分离纯化后，对其所含的 GFP 突变基因进行测序，发现其碱基序列与 GFP 基因的不同，将该 GFP 突变基因命名为 YFP 基因（黄色荧光蛋白基因）。若要通过基因工程的方法探究 YFP 基因能否在真核细胞中表达，实验思路是_____。

45. (2022· 重庆选考，26) （15 分）改良水稻的株高和产量性状是实现袁隆平先生“禾下乘凉梦”的一种可能途径。研究人员克隆了可显著增高和增产的 *eui* 基因，并开展了相关探索。



(1) 花药培养能缩短育种年限，原因是_____。在步骤Ⅰ的花药培养过程中，可产生单倍体愈伤组织，将其培养于含_____的培养基上，可促进产生二倍体愈伤组织。Ⅰ中能用于制造人工种子的材料是_____。

(2) 步骤Ⅱ中，*eui* 基因克隆于 cDNA 文库而不是基因组文库，原因是_____；在构建重组 Ti 质粒时使用的工具酶有_____。为筛选含重组 Ti 质粒的菌株，需在培养基中添加_____。获得的农杆菌菌株经鉴定后，应侵染Ⅰ中的_____，以获得转基因再生植株。再生植株是否含有 *eui* 基因的鉴定方法是_____，移栽后若发育为更高且丰产的稻株，则可望“禾下乘凉”。

46. (2023· 海南选考，20) （13 分）基因递送是植物遗传改良的重要技术之一。我国多个实验室合作开发了一种新型基因递送系统（切—浸—生芽 Cut-Dip-Budding，简称 CDB 法）。图 1 与图 2 分别是利用常规转化法和 CDB 法在某植物中递送基因的示意图。

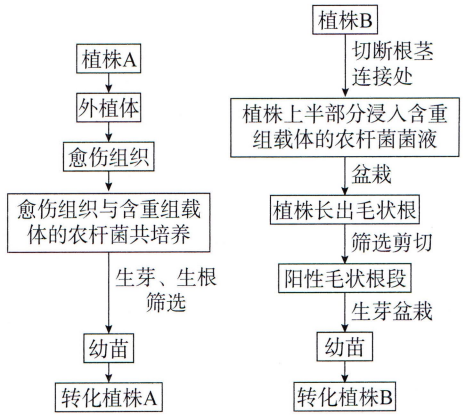


图1　　图2

回答下列问题。

(1) 图 1 中，从外植体转变成愈伤组织的过程属于_____；从愈伤组织到幼苗的培养过程需要的激素有生长素和_____，该过程还需要光照，其作用是_____。

(2) 图 1 中的愈伤组织，若不经过共培养环节，直接诱导培养得到的植株可以保持植株 A 的_____。图 1 中，含有外源基因的转化植株 A 若用于生产种子，其包装需标注_____。

(3) 图 1 与图 2 中，农杆菌侵染植物细胞时，可将外源基因递送到植物细胞中的原因是_____。

(4) 已知某酶（PDS）缺失会导致植株白化。某团队构建了用于敲除 *PDS* 基因的 *CRISPR*/*Cas*9 基因编辑载体（含有绿色荧光蛋白标记基因），利用图 2 中的 CDB 法将该重组载体导入植株 B，长出毛状根，成功获得转化植株 B。据此分析，从毛状根中获得阳性毛状根段的方法是_____，图 2 中，鉴定导入幼苗中的基因编辑载体是否成功发挥作用的方法是_____，依据是_____。