

发酵的进行；两者都是高温加热的过程所以能杀灭杂菌，故 A 选项正确。学生可能因对背景材料较陌生而漏选。B 选项考查发酵原理，酿醋主要利用醋酸菌的有氧发酵和酵母菌的无氧发酵。题干所给的信息中，工业发酵的微生物的种类不止这两种，涉及的真菌有酵母菌、霉菌；细菌有醋酸菌和乳酸菌。发酵原理主要利用酵母菌的无氧呼吸、霉菌的有氧呼吸、乳酸菌的无氧呼吸、醋酸菌的有氧呼吸，故 B 选项错误。学生可能因忽视题干信息或分不清真菌、细菌的类别而选错。C 选项是关于醋酸的固态发酵，是一个较为陌生的新情境。而液态发酵，发酵过程需要不断通入氧气，把所学知识进行迁移，固态发酵时翻动发酵物的过程既能避免发酵过程中温度不断升高，也能改善通气情况，故 C 选项正确。D 选项考查啤酒发酵过程中的充氧环节的意义。因工艺流程中的煮沸环节使氧气大量减少，在加菌种发酵前需通入氧气，目的是让酵母菌大量繁殖，故 D 选项正确。

8. ACD

解析：用赤霉素处理大麦，可诱导 α -淀粉酶相关基因的表达，促进 α -淀粉酶的合成，进而使大麦种子无须发芽就能产生 α -淀粉酶，A 选项正确。焙烤可以杀死大麦种子的胚，但不会使淀粉酶失活且无灭菌作用，B 选项错误。糖浆经蒸煮（产生风味组分，终止酶的进一步作用，并对糖浆灭菌）、冷却后再接种酵母菌进行发酵，可防止高温杀死菌种，酵母菌可将糖转化为酒精和 CO_2 ，C 选项正确。双乙酰是啤酒生产工艺中重要的风味物质，但如果其浓度过高，就会严重影响啤酒的风味和口感质量，利用转基因技术改造啤酒酵母，可减少啤酒酵母双乙酰的生成，缩短啤酒的发酵周期，属于转基因技术在微生物领域的应用，D 选项正确。

9. A

解析：据图可知，该生产过程中有酿酒酵母的参与，酵母菌呼吸作用会产生 CO_2 ，故该生产过程中一定有气体生成，A 选项正确。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，B 选项错误。分析图示可知，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的含量，故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，C 选项错误。沼气池废料和果糖生产废水在加入反应器之前可以不用灭菌，D 选项错误。

10. (1) 乙醇/酒精 ATP (2) 无氧取样，无氧培养 (3) 不能，因为没有“接触 O_2 后，酵母菌内源 H_2O_2 浓度上升”的证据 (4) 过氧化氢酶/分解过氧化氢的酶

解析：(1) 在密闭条件下，酵母菌进行无氧呼吸，产生酒精（乙醇）和 CO_2 ，同时释放少量能量。有氧条件下，

酵母菌进行有氧呼吸，产生 CO_2 和水，该过程彻底氧化分解释放大量能量，部分能量转移到 ATP 中储存起来，可以为酵母菌提供大量的能量，利于酵母菌的大量繁殖。(2) 无氧条件下取样，无氧条件下培养所得的菌落数显著高于其他组，获得占比很低菌种的概率大。(3) 将无氧条件下从发酵罐中取出的酵母菌接种至含不同浓度 H_2O_2 （外源）的培养基中，据图可见随 H_2O_2 浓度的增加，酵母菌菌落数显著降低，说明 H_2O_2 可抑制或杀死酵母菌，且在一定范围内，随浓度的增加而增加。因为没有“接触 O_2 后，酵母菌内源 H_2O_2 浓度上升”的证据，不能证明 H_2O_2 是否是在酵母菌被取出后接触氧气的最初阶段产生的。

(4) 过氧化氢酶能催化 H_2O_2 分解从而出现明显气泡，因此实验结果说明，酵母菌可通过产生过氧化氢酶以抵抗 H_2O_2 的伤害。

知识点 4 植物细胞工程

1. D

解析：脱分化形成的愈伤组织是排列不规则的薄壁组织团块，A 选项错误。愈伤组织细胞分化时可能会发生基因突变，愈伤组织细胞的再分化过程是进行有丝分裂，基因重组发生在减数分裂过程中，所以该过程不会发生基因重组，B 选项错误。3 号培养基用于诱导生根，生长素相对含量应高一些，故细胞分裂素浓度与生长素浓度的比值应该小于 1，C 选项错误。百合分生区附近的病毒极少，甚至无病毒，可作为外植体进行植物组织培养，从而获得脱毒苗，D 选项正确。

2. B

解析：植物的茎尖含病毒少甚至无病毒，所以可选用甘蔗的茎尖为外植体进行组织培养而获得脱毒苗，A 选项正确。选用的外植体不能经高温灭菌处理，因为高温会杀死外植体，应该进行消毒处理，B 选项错误。植物组织培养一般采用加入琼脂的固体培养基，这样有利于外植体的固定和生长，C 选项正确。植物组织培养过程包括脱分化和再分化，脱毒苗的形成需要经过再分化过程，由愈伤组织再分化形成胚状体或丛芽等进而发育成脱毒苗，D 选项正确。

3. D

解析：植物的芽尖代谢旺盛，以芽尖作为外植体，再生出来的植株有可能不带病毒；在培养基中加入抗生素，可以抑制杂菌的生长；丛生芽通过切割，形成多个小芽，每个小芽可发育成一个脱毒苗，可实现快速繁殖；植物生长素类和细胞分裂素类物质是植物组织培养不可缺少的两类调节物质，两者的浓度和配比在脱分化和再分化中起着关键作用，生长素和细胞分裂素比值大时，有利于根的形成；比值小时，则促进芽的形成。因此要促进愈伤组织发育成丛生芽，生长素类和细胞分裂素类物质的比值应当降低。

4. BD

解析: 本题有助于考生进一步加深对细胞工程概念的理解, 拓展生物科学与技术视野, 提高实践和探究能力。本题从愈伤组织获取原生质体, 原生质体融合后的培养以及获得的后代植株性质等几个方面对考生应掌握的植物组织培养的相关基本概念、原理和实验流程进行了考查。体现了试题的基础性、综合性、应用性, 对考生的关键能力、必备知识及学科素养进行了考查。植物愈伤组织细胞外面有细胞壁, 其主要成分是纤维素和果胶, 使用纤维素酶和果胶酶能够去除细胞壁, 获得原生质体。胶原蛋白酶处理动物组织能够分离动物细胞, 是动物细胞培养时用到的酶, **A 选项错误**。植物体细胞杂交的技术流程为获得原生质体、原生质体细胞融合后获得杂种细胞、杂种细胞再生完整的细胞壁、细胞进行分裂进而形成愈伤组织、愈伤组织进一步发育成杂种植株, **B 选项正确**。体细胞杂交中来源不同的两个原生质体细胞融合形成杂种细胞, 其中包括细胞核的融合和细胞质的融合, 两个亲本细胞核融合后形成一个杂种细胞核, **C 选项错误**。基于植物组织培养的离体快繁技术, 利用愈伤组织细胞的全能性, 获得大量后代的过程属于无性繁殖, **D 选项正确**。

5. D

解析: 大豆叶片细胞是植物细胞, 具有细胞壁, 其细胞壁的主要成分是纤维素和果胶, 所以制备原生质体, 需用纤维素酶和果胶酶进行处理, **A 选项正确**。生物膜的功能特性是具有选择透过性, 所以原生质体膜具有选择透过性, **B 选项正确**。原生质体可以再生出新的细胞壁, **C 选项正确**。分离出的原生质体具有全能性, 可用于植物体细胞杂交, 为杂种植株的获得提供了理论基础, **D 选项错误**。

6. C

解析: 植物细胞壁的主要成分是纤维素和果胶, 步骤①去除添加的是纤维素酶和果胶酶去除细胞壁得到原生质体, **A 选项错误**。步骤②吸取的原生质体应该放入较高渗透压的环境中, 使细胞处于微弱的质壁分离状态, 利于完整的原生质体的释放; 放入低渗的无菌水中清洗会导致吸水而使原生质体破裂, **B 选项错误**。据图可知, 原生质体分布在甘露醇和蔗糖溶液之间, 其密度应介于甘露醇和蔗糖溶液密度之间, **C 选项正确**。活细胞的细胞膜具有选择透过性, 台盼蓝不能进入活细胞, 故活细胞不能被染色; 应选择未被染色的活的原生质体继续培养, **D 选项错误**。

7. B

解析: 酶解是为了去除植物细胞的细胞壁, 过程①中酶处理的时间不同, 说明两种亲本的细胞壁结构有差异, **A 选项正确**。过程②为原生质体的融合, 常用化学法[聚乙二醇(PEG)融合法、高 Ca^{2+} —高pH融合

法]或物理法(电融合法、离心法); 灭活病毒(如仙台病毒)在动物细胞融合中的作用依赖于病毒包膜上的糖蛋白, 这些蛋白能识别并结合动物细胞膜上的特定受体, 介导膜融合。灭活的仙台病毒主要用于诱导动物细胞融合, 不适用于植物细胞, **B 选项错误**。过程④脱分化和⑤再分化的培养基中均需要添加生长素和细胞分裂素, 但在两个过程中比例不同, **C 选项正确**。植物丙是植物甲和植物乙体细胞杂交形成的个体, 应具备两者的遗传物质, 因此可通过分析植物丙的染色体, 来鉴定其是否为杂种植株, **D 选项正确**。

8. B

解析: 用于诱导产生愈伤组织的外植体, 一般选择植株顶端幼嫩的叶片或茎段, 故**A 选项正确**。诱导愈伤组织时, 一般需加入生长素和细胞分裂素, 脱落酸不属于以上两种激素, 故**B 选项错误**。悬浮培养时, 分散程度好的单个细胞或小细胞团更适于液体培养, 故**C 选项正确**。迷迭香酸是迷迭香次生代谢物, 茉莉酸甲酯可大幅提高迷迭香酸产量, 说明改变了迷迭香酸的合成速率, 故**D 选项正确**。

9. B

解析: 植物细胞壁的主要成分是纤维素和果胶, 欲利用愈伤组织制备悬浮细胞, 可用纤维素酶和果胶酶进行处理愈伤组织, **A 选项正确**。装置中的充气管应置于液面下方, 以利于培养液中的溶氧量的增加, 该管不能同时作为排气管, **B 选项错误**。为了防止杂菌污染培养液, 装置充气口需要增设无菌滤器, **C 选项正确**。细胞培养时需要保证适宜的温度, 因此装置需增设温度监测和控制设备, **D 选项正确**。

10. C

解析: 根据表格信息可知, WOX5 能维持未分化状态, 使植物细胞保持分裂能力强、较大的全能性, 若 WOX5 失活后, 中层细胞会丧失干细胞分裂能力强、分化程度低的特性, **A 选项正确**。由题干信息“生长素的生理作用大于细胞分裂素时有利于根的再生”, 再结合表格信息, WOX5+PLT 可能诱导出根, 可推测 WOX5+PLT 可能有利于愈伤组织中生长素的积累, **B 选项正确**。由题意可知, 生长素的生理作用小于细胞分裂素时有利于芽的再生, 而抑制 ARR5 能诱导出芽, 可知 ARR5 被抑制时细胞分裂素较多, 故可推测 ARR5 抑制细胞分裂素积累或降低细胞对细胞分裂素的敏感性, **C 选项错误**。由题干信息可知, 出芽或出根都是生长素与细胞分裂素含量不均衡时才会发生, 故可推测体细胞中生长素和细胞分裂素的作用可能相互抑制, **D 选项正确**。

11. D

解析: 在对自然生长的外植体消毒时并非用乙醇和次氯酸钠的混合液, 而是应先在 70% 乙醇中浸泡 10 min, 再放入 5% 次氯酸钠中浸泡 5 min, 然后在另一 5% 次氯

酸钠中浸泡 5 min, 最后在超净台中用无菌水清洗。培养瓶用的专用封口膜可防止外界杂菌侵入, 但不能阻止瓶内外的气体交换。组培苗锻炼时用的蛭石具有透气保水的作用, 提供丰富营养物质的主要是草炭土。不带叶片的菊花幼茎切段可以通过器官发生途径等方式形成完整植株, 因此 D 为正确选项。

12. A

解析: 该成果属于科学研究范畴, 应用前景广阔, 是生物多样性直接价值的体现, 故 A 选项错误。除了杂交这种常规育种技术外, 理论上细胞层次的植物体细胞杂交技术也可以实现该目标, 故 B 选项正确。多年生水稻与传统水稻不同, 多年生水稻一次插秧, 可以收获多次, 为提升农业生产效率开辟了新思路, 故 C 选项正确。题干中特别提到了杂交育种亲本之一是野生稻, 作为野生植物种质资源, 应该被重点保护, D 选项正确。综上本题答案为 A。

13. B

解析: 为了避免杂菌污染, 植物细胞悬浮培养的培养基须经无菌处理, A 选项正确。植物细胞壁的主要成分为纤维素和果胶, 使用纤维素酶和果胶酶对植物细胞进行充分处理, 可得到原生质体, 无法得到单个完整的悬浮细胞, B 选项错误。细胞的正常生长需要适宜的条件, 培养基须保持适宜的温度、pH 和渗透压, C 选项正确。利用悬浮培养技术生产次生代谢物, 可减少植物资源的消耗, 同样也不受季节和天气的限制, D 选项正确。

14. A

解析: 某些次生代谢物合成过程很复杂, 难以通过化学合成途径得到, 而利用植物细胞培养技术可获得, A 选项正确。可以利用植物细胞培养技术大规模培养植物细胞, 来大量获取次生代谢物, B 选项错误。次生代谢物不是植物生长所必需的, 含量很低, C 选项错误。该技术主要利用促进细胞增殖增加细胞数量, 来提高次生代谢物的产量, D 选项错误。

15. D

解析: 花青素等多酚类化合物通常存在于植物细胞的液泡中, 在不同 pH 条件下使花和果实呈现不同的颜色, A 选项正确。在组织培养过程中, 适当增加培养物转移至新鲜培养基的频率, 可以减少多酚类物质, 从而减少褐变对培养物的毒害作用, B 选项正确。培养基中添加合适的抗氧化剂可以抑制多酚类化合物被氧化成褐色醌类化合物, 从而减少褐变, C 选项正确。宜选用蓝莓幼嫩材料制备外植体, D 选项错误。

16. C

解析: 在细胞融合前, 必须先用纤维素酶和果胶酶去除细胞壁, 再诱导原生质体融合, A 选项正确。人工诱导原生质体融合有物理法和化学法, 用高 Ca^{2+} —高 pH 溶液可促进细胞融合, B 选项正确。融合的细胞中有人

参根-人参根细胞、人参根-胡萝卜根细胞、胡萝卜根-胡萝卜根细胞, 只有人参根-胡萝卜根细胞才是杂交细胞, C 选项错误。杂交细胞含两种细胞的遗传物质, 可能具有生长快速的优势, D 选项正确。

17. D

解析: 从食用紫菜的动物消化道内提取蛋白酶, 不能用于去除细胞壁, 因为紫菜细胞的细胞壁成分中没有蛋白质, A 选项错误。获得的原生质体若处在低渗溶液中, 会吸水涨破, B 选项错误。检测原生质体活力时可用台盼蓝染色, 活的原生质体不能被染色, C 选项错误。聚乙二醇作诱导剂可促进原生质体融合, 对于杂种细胞可以叶绿体颜色等差异为标志来进行识别, D 选项正确。

18. A

解析: 成熟的植物细胞具有中央液泡和细胞壁, 用高浓度的蔗糖溶液处理, 可使植物细胞发生渗透失水, 出现质壁分离现象, A 选项正确。向泡菜坛盖边沿的水槽中注满水, 目的是形成内部的无氧环境, 有利于乳酸菌的繁殖, B 选项错误。样方法调查种群密度的关键是要做到随机取样, C 选项错误。对外植体进行消毒可以防止其本身表面的微生物对外植体的生长带来影响, 但无法杜绝接种过程中的微生物污染, D 选项错误。

19. A

解析: 秸秆碎化后作为食用菌的栽培基质, 其中的纤维一方面作为支持食用菌生长的固化剂, 与固体培养基中琼脂的作用相当; 另一方面, 秸秆中的纤维素等有机物可作为食用菌生长的碳源, 与固体培养基中蔗糖的作用相当。

20. (1) 外植体 过滤 (2) 克隆 DNA 合成抑制剂 微生物侵害 (3) 丙 先培养大量细胞, 改变条件使细胞停止生长, 大量产生 X (4) 器官 代谢途径 关键酶 发酵

解析: 第 (1) 小题, 植物离体的器官和组织作为外植体, 经脱分化形成愈伤组织后, 可在摇床上通过液体悬浮培养振荡方式分散成单细胞, 可用一定孔径的筛网进行过滤, 让单细胞滤过以获得分散的单细胞体系。第 (2) 小题, 获取遗传和代谢稳定、来源单一的细胞群体, 可对分离获得的单细胞进行克隆化培养, 如果通过添加 DNA 合成抑制剂或营养缺陷培养可使培养细胞实现细胞周期同步; 如果将微生物菌体或其产物作为诱导子加入到培养基中, 有可能进一步提高目标细胞的 X 含量, 结合题干信息, 该过程模拟了微生物侵害的胁迫。第 (3) 小题, 若次生代谢产物 X 只在细胞生长停止后才能合成, 则符合图丙所示, 在生产实践过程中, 可以先培养大量细胞, 再转入到抑制细胞增殖、但有助于产生次生代谢物质的培养液中, 可以获得大量“X”的方法。第 (4) 小题, 根据题干信

息, 积累在根部次生代谢产物可通过根器官培养的方式来生产; 基因组测序和功能基因组学的发展, 在全面了解生物体合成某次生代谢产物的代谢途径和关键酶的基础上, 可利用合成生物学的方法改造酵母菌等微生物, 把酵母菌与次生代谢产物相关的基因进行改造, 然后将次生代谢产物相关基因改造后导入到酵母菌中, 再利用发酵工程生产植物的次生代谢产物。

21. (1) 再生植株 叶片 (2) 纤维素 细胞质、细胞核 血细胞计数板 终止原生质体融合 (3) 1个融合原生质体 ABD (4) 再分化 根和芽 (5) 模板 M1、M2 电泳 1

解析: 第(1)小题, 用于体细胞杂交的原生质体, 首先应检验未融合的原生质体是否具备再生植株的能力。为了便于观察细胞融合的状况, 通常可用不同颜色的原生质体进行融合, 如甲植物原生质体采用幼苗的根为外植体, 根细胞的原生质体为白色, 乙植物用幼苗的叶片为外植体, 叶肉细胞的原生质体因含有叶绿体而呈绿色。第(2)小题, 植物细胞壁的主要成分为纤维素和果胶, 在获取原生质体时, 常采用纤维素酶和果胶酶进行去壁处理。根据题干“甲植物细胞核基因具有耐盐碱效应, 乙植物细胞质基因具有高产效应”。在原生质体融合前, 需对原生质体进行处理, 使甲原生质体的细胞质失活而利用其细胞核, 使乙原生质体的细胞核失活而利用其细胞质。对处理后的原生质体在显微镜下用血细胞计数板计数, 确定原生质体密度。两种原生质体1:1混合后, 通过添加适宜浓度的PEG进行融合; 一定时间后, 加入过量的培养基进行稀释, 稀释的目的是终止融合。第(3)小题, 将融合原生质体悬浮液和液态的琼脂糖混合, 在凝固前倒入培养皿, 融合原生质体分散固定在平板培养基中, 尽可能使每一个融合原生质体独立生长、分裂, 使得同一块愈伤组织所有细胞源于同一个融合原生质体。经融合处理后的原生质体中, 除了杂种融合的原生质体外, 还有未融合的甲、乙原生质体和同种融合的原生质体等。由于甲原生质体细胞质失活, 乙原生质体细胞核失活, 所以未融合的原生质体和同种融合的原生质体因为结构不完整、功能不完善, 在原生质体培养过程中无法生长, 不会形成愈伤组织。而杂种融合的原生质体由于结构互补、核质功能完善, 在原生质体培养过程中在生长、分裂, 形成愈伤组织。第(4)小题, 愈伤组织经再分化可形成胚状体或芽。胚状体具有与种子胚类似的结构, 能长出根和芽, 直接发育形成再生植株。第(5)小题, 已知甲植物细胞核具有特异性DNA序列a, 乙植物细胞质具有特异性DNA序列b; M1、M2为序列a的特异性引物, N1、N2为序列b的特异性引物。用PCR技术鉴定再生植株的实验流程具体如下: 提取纯化再生植株的总DNA; 扩增细胞核特异性DNA序列a(以

提取的总DNA为模板, 以M1、M2为引物); 扩增细胞质特异性DNA序列b(以提取的总DNA为模板, 以N1、N2为引物); 电泳(将PCR扩增产物进行电泳)。如果被鉴定植株确实是杂种再生植株, 则每个PCR扩增产物在凝胶中均可出现预期的1个条带(核特异性DNA序列a或质特异性DNA序列b)。

知识点5 动物细胞工程

1. B

解析: 动物细胞在培养到接触抑制时, 需进行分装培养。在分装培养过程中, 吸除培养液、加入消化液的目的是使细胞从培养瓶壁上脱离下来, 吸除消化液、加入培养液的目的是终止消化, 调整到合适的细胞密度, 再进行分装培养。整个培养过程需要在无菌、无毒条件下进行。B选项错误。

2. D

解析: 传代培养时, 培养皿不能密封, 需要通气, 故A选项错误。细胞增殖到一定数目后, 需要传代培养, 因此选取②时期的细胞比①更合理, 故B选项错误。贴壁细胞传代培养时, 应先用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理细胞, 再离心收集, 故C选项错误。4天后, 细胞数目较多, 细胞增长进入平台期可能与细胞密度过大有关, 故D选项正确。

3. BCD

解析: 对照实验中的无关变量应遵循“相同且适宜”的原则, 尽量减少实验误差, 故A选项叙述正确。湿热灭菌会导致血清中某些活性物质被破坏, 影响卵母细胞的营养供应, 故B选项叙述错误。卵母细胞的成熟培养过程中发生的分裂方式是减数分裂, 成熟时将停止在减数第二次分裂中期, 不能传代培养, 故C选项叙述错误。成熟率是一定条件下成熟细胞数占培养细胞数的百分比, 从图中可以看出, 41℃高温处理后的卵母细胞成熟率低于38.5℃对照组, 故D选项叙述错误。

4. D

解析: 该试剂盒的研制属于单克隆抗体的应用, 单克隆抗体的制备过程需要应用动物细胞融合技术获得杂交瘤细胞, A选项正确。该试剂盒利用了单克隆抗体特异性强的优点, 其能与特定抗原发生特异性结合, B选项正确。该试剂盒以尿液中的抗原为靶标, 采样尿液不会对受检者造成创伤, C选项正确。单克隆抗体剪异性强, 所以不可用于其他类型病毒性肝炎的检测, D选项错误。

5. AD

解析: 某病毒中的S蛋白含有多个不同的抗原决定基, 每一个抗原决定基能够刺激机体产生一种抗体。将S蛋白注入小鼠体内, 会刺激小鼠产生多种浆细胞(由B细

胞分化而来),不同种的浆细胞可产生不同的抗体,这些抗体可以与S蛋白的不同抗原决定基结合,表现均可与S蛋白特异性结合。骨髓瘤细胞是一种肿瘤细胞,在体内主要存在于骨髓等部位。在实验室培养条件下,骨髓瘤细胞大多表现为悬浮生长。然而,在某些特殊情况下,骨髓瘤细胞也会表现出一定程度的贴壁生长倾向。杂交瘤细胞的融合过程需要将悬浮、游离的B淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合,而题图中分散的骨髓瘤细胞来自培养的骨髓瘤细胞,表明培养的骨髓瘤细胞存在贴壁或黏连生长的情况,可以用胰蛋白酶或胶原蛋白酶处理得到分散的骨髓瘤细胞, A选项叙述正确。获得杂交瘤细胞后,筛选的单一类型杂交瘤细胞可能是相同的杂交瘤细胞,也可能是不同的杂交瘤细胞。因此,获得的单克隆抗体A和单克隆抗体B可能相同,可能不相同, B选项叙述错误。用于生产单克隆抗体的杂交瘤细胞可以传代培养,也可以冷冻保存后复苏利用, C选项叙述错误。若单克隆抗体A和单克隆抗体B是由S蛋白的同一抗原决定基刺激产生的B细胞形成的相同杂交瘤细胞产生的,则二者可以与S蛋白同一抗原决定基发生特异性结合;若单克隆抗体A和单克隆抗体B是由S蛋白的不同抗原决定基刺激产生的B细胞形成的不同杂交瘤细胞产生的,则二者可以特异性结合S蛋白不同抗原决定基:不论何种情况,单克隆抗体A和单克隆抗体B都能够特异性识别S蛋白, D选项叙述正确。

6. D

解析:植物组织培养的原理是细胞的全能性;单克隆抗体的制备使用了动物细胞培养技术和细胞融合技术,这两种技术利用的原理分别是细胞的增殖和细胞膜的流动性, A选项错误。植物组织培养的培养基中通常添加蔗糖,不添加动物血清, B选项错误。由于植物细胞和动物细胞生长所需的适宜温度和pH存在差异,所以培养时的温度和pH均不相同, C选项错误。愈伤组织是外植体(离体的植物器官、组织或细胞)经脱分化形成的,分化程度低,分裂旺盛;杂交瘤细胞是由骨髓瘤细胞和产生特定抗体的B淋巴细胞融合后形成的,既能大量增殖又能产生特异性抗体, D选项正确。

7. A

解析:动物原代细胞培养时,应尽量选择新生动物组织或者胚胎组织,因为这些细胞分化程度低,分裂能力强。在小鼠原代神经细胞培养时,实验材料取自小鼠胚胎的脑组织符合取材要求,其不会造成细胞生长缓慢,因此A选项符合题意。将培养瓶瓶口密封会导致细胞缺氧,影响细胞有氧呼吸,造成供能不足,可使细胞生长缓慢,因此B选项不符合题意。血清是天然物质,里面含有细胞正常生长必需的生长因子,如果将血清高温处理会破坏其中的有效成分,造成细胞生长

缓慢,因此C选项不符合题意。动物细胞生存的适宜pH值一般为7.2~7.4,弱酸性培养基不适合细胞生长,因此D选项不符合题意。

8. D

解析:接触抑制是指贴壁细胞分裂生长到表面相互接触时,细胞通常会停止分裂增殖的现象,悬浮细胞无此现象,故A选项正确。由于人们对细胞所需的营养物质尚未全部研究清楚,因此在使用合成培养基时,通常需加入血清等一些天然成分,故B选项正确。病毒需寄生于细胞,借助于细胞的营养物质和结构完成自身的繁殖,故C选项正确。pH可通过影响单克隆细胞的增殖间接影响病毒的产量,也可通过影响病毒的结构和活性直接影响病毒的繁殖,故D选项错误。

9. A

解析:心肌细胞属于高度分化的细胞,不再进行细胞分裂,没有细胞周期, A选项错误。动物细胞体外培养需定期更换培养液, B选项正确。细胞分化的本质是基因的选择性表达,所以细胞分化过程中蛋白质种类和数量发生了改变, C选项正确。通过该研究发现微重力加速了多能干细胞分化为心肌细胞的过程,有助于了解微重力对细胞生命活动的影响, D选项正确。

10. B

解析:培养心肌细胞的器具要先进行高压蒸汽灭菌,但是试剂并不都需要灭菌,如动物血清不能进行高压蒸汽灭菌,否则会使其中的成分失活, A选项错误。培养心肌细胞的时候既需要氧气(有助于进行有氧呼吸)也需要二氧化碳(有助于维持培养液的pH), B选项正确。心肌细胞高度分化,不能进行有丝分裂, C选项错误。心肌细胞节律性收缩,受植物性神经的支配,是不随意的,在神经细胞释放的神经递质的支配下跳动, D选项错误。

11. A

解析:实验中a组单独培养的脂肪干细胞, b组成纤维细胞与脂肪干细胞共培养, c组为血管内皮细胞与脂肪干细胞共培养, d组为成纤维细胞、血管内皮细胞与脂肪干细胞共培养。结合图2可知单独培养脂肪干细胞成骨分化水平为1,由此分析可知a组的培养液中一定含有促进细胞成骨分化的相关因子, A选项错误。结合图2可知,不同细胞共培养促进脂肪干细胞分化为成骨细胞的水平高低d组>b组>c组>a组,细胞分化的实质是基因选择性表达,由此可以看出a、b、c、d组脂肪干细胞的成骨分化相关基因的表达存在差异, B选项正确。b组成纤维细胞与脂肪干细胞共培养,脂肪干细胞的成骨分化水平高于c组血管内皮细胞与脂肪干细胞共培养, C选项正确。图1装置可见共培养细胞没有与脂肪干细胞直接接触,而是通过隔板上的小孔连通,由此可见成纤维细胞和血管内皮细胞通过分泌相关细胞因子促进了脂肪干细胞的成

骨分化, D 选项正确。

12. A

解析: 传代培养的胚胎干细胞增殖到贴满瓶壁时会发生接触抑制, A 选项错误。据题干“将小鼠胚胎干细胞的 Y 染色体去除, 获得 XO 胚胎干细胞”可知, 该过程中发生了染色体数目变异, B 选项正确。XO 胚胎干细胞转变为有功能的卵母细胞过程中, 细胞的形态、结构和生理功能发生了变化, 即发生了细胞分化, C 选项正确。若某濒危哺乳动物仅存雄性个体, 可以通过去除胚胎干细胞的 Y 染色体等一系列处理获得有功能的卵母细胞, 用于繁殖后代, D 选项正确。

13. B

解析: 纳米氧化铜使细胞衰老, 从而使细胞从瓶壁上脱落, 并没有改变细胞的贴壁生长的习性, A 选项错误。纳米氧化亚铜促进了细胞的衰老, 抑制细胞生长, B 选项正确。由此题干信息“细胞膜内侧出现纳米氧化亚铜富集现象”, 由此推断纳米氧化亚铜逆浓度梯度进入细胞, 故是通过主动运输进入细胞的, C 选项错误。纳米氧化亚铜会促进细胞衰老, 即影响了细胞的新陈代谢, D 选项错误。

14. C

解析: 聚乙二醇是诱导动物细胞融合的常用化学试剂, A 选项正确。培养杂种细胞时, 通常需在培养液中添加一定量的抗生素, 以防止杂菌污染, B 选项正确。表格信息显示, 甲、丙中不存在 2 号染色体, 乙中存在 2 号染色体, 进行染色体定位研究时发现, 甲、丙细胞中不存在编码 AHH 的基因, 而乙细胞中有, 推测编码 AHH 的基因在 2 号染色体上, 同理可推知, 编码 PGK 的基因在 X 染色体上, C 选项错误, D 选项正确。

15. ACD

解析: 诱导动物细胞融合的方法有灭活病毒诱导法, 故加入灭活仙台病毒的作用是促进动物细胞融合, A 选项正确。题述三种融合细胞为杂种细胞, 都保留了人的部分染色体, 即 I、II、III 细胞均为人—鼠融合细胞, B 选项错误。根据题干和题图可知, 只有 II 具有芳烃羟化酶活性, 只有 III 具有胸苷激酶活性, I、III 都有磷酸甘油酸激酶活性, I、II、III 均有乳酸脱氢酶活性, 由三种融合细胞所保留的人类染色体可知, II 中特有的染色体为 2 号染色体, III 中特有的染色体为 17 号染色体, I、III 中共有而 II 中没有的染色体为 X 染色体, I、II、III 中共有的染色体为 11 号染色体, 因此芳烃羟化酶基因位于 2 号染色体上, 胸苷激酶基因位于 17 号染色体上, 磷酸甘油酸激酶基因位于 X 染色体上, 乳酸脱氢酶基因位于 11 号染色体上, C、D 选项正确。

16. D

解析: 制备单克隆抗体时, 需利用 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞

融合得到杂交瘤细胞, 筛选获得的杂交瘤细胞既能迅速大量增殖, 又能产生足够数量的特定抗体, 制备过程中, 需要对杂交瘤细胞、骨髓瘤细胞等动物细胞进行动物细胞培养, A 选项正确。单克隆抗体制备过程中, 给小鼠注射特定抗原 (PTH), 使其发生免疫反应, 从而获得能产生特定抗体的 B 淋巴细胞, B 选项正确。单克隆抗体制备过程中, 利用抗原—抗体结合的原理进行第二次筛选, 可获得能分泌所需抗体的杂交瘤细胞, C 选项正确。筛选出的单个杂交瘤细胞具有特异性, 通常只能分泌一种抗体, D 选项错误。

17. D

解析: 根据抗原和抗体能够发生特异性结合的特性推测, 双抗的两个抗原区可分别结合 1 种抗原, 即双抗可同时与 2 种抗原结合, A 选项正确。利用双抗可以将蛋白质类药物运送至靶细胞, 从而使药物发挥相应的作用, B 选项正确。在 2 种不同的抗原刺激下, B 细胞增殖、分化产生不同的浆细胞, 分泌形成 2 种单克隆抗体, 进而可制备双抗。因此, 筛选双抗时需使用制备单克隆抗体时所使用的 2 种抗原来进行抗原—抗体检测, 从而实现对双抗的筛选, C 选项正确。1 种浆细胞只能产生 1 种抗体, 同时注射 2 种抗原可刺激 B 细胞分化形成 2 种浆细胞, 而不是分化成产双抗的浆细胞, D 选项错误。

18. (1) 抑制酶的活性, 防止蛋白质变性 (2) 转基因 (显微注射, 病毒介导, 基因工程) M (3) CD (4) 增殖分化 逆转录/反转录

解析: (1) 低温可以抑制酶的活性, 防止蛋白质变性, 使细胞中的蛋白质维持正常的生理功能。(2) 将外源基因导入细胞内, 通常需要转基因技术。即过程①中, 诱导形成 iPS 细胞时, 需提高成纤维细胞中 4 个基因的表达量, 可采用转基因技术将这些基因导入该细胞。M 基因促进增殖, S 基因和 C 基因控制干细胞特性, K 基因抑制凋亡和衰老。肿瘤细胞 (癌细胞) 具有无限增殖的能力, 因此若成纤维细胞形成肿瘤细胞, 最有可能的原因是 M 基因过量表达造成的。(3) 培养 iPS 细胞时, 应对所处环境定期消毒以降低细胞被污染风险。可用紫外线对细胞培养室和 CO₂ 培养箱进行消毒处理, 而对培养基和培养瓶需要进行灭菌处理, 因此 A、B 选项错误, C、D 选项正确。(4) 由图可知, 过程②中, iPS 细胞经过细胞的分裂分化, 即增殖分化, 形成了体腔上皮。PCR 扩增的模板为 DNA, 因此若想利用 PCR 技术检测子宫内膜基质细胞关键基因的 mRNA 水平, mRNA 需经过逆转录过程形成 DNA, 才可作为 PCR 的模板。

19. (1) 不需要 增加细胞膜的流动性 (2) 骨髓瘤细胞 骨髓瘤细胞的自身融合细胞 (3) 检测抗体特异性 (4) ④

解析: (1) 教材中虽然写明了杂交瘤细胞培育的实验步骤,

但如果学生平时学习只是停留在死记硬背阶段,不对每一实验步骤的原理进行思考,则不可能实质性掌握该实验。已免疫的脾细胞(含浆细胞)高度分化,在体外无法增殖,因而不需要原代培养扩大细胞数量;细胞融合的原理是细胞膜具有流动性,脂溶性 PEG 可以促进细胞膜中的磷脂双分子层流动性,从而促进细胞融合。(2)考核学生对 B 淋巴细胞、骨髓瘤细胞以及它们的融合细胞在 HAT 培养基体外培养中生长特性掌握情况,重点检测筛选培养基在单克隆抗体制备过程中的作用。单克隆抗体制备过程中筛选培养基的作用是筛选保留杂交瘤细胞,而未融合的亲本细胞和融合的具有同种核的细胞都会死亡。其原理是 B 淋巴细胞没有无限增殖能力,培养一段时间后会自然死亡, B 淋巴细胞自身融合细胞也是如此;骨髓瘤细胞虽有无限增殖能力,但会被 HAT 培养基抑制,最终也会死亡,同理骨髓瘤细胞的自身融合细胞也是如此。因此本题的答案为“骨髓瘤细胞”和“骨髓瘤细胞的自身融合细胞”,或者填写“未融合的亲本细胞”和“融合的具有同种核的细胞”也可以。

(3)题干中用于免疫的抗原是转基因工程菌表达的蛋白 A,其空间结构可能与该病毒外壳蛋白结构不完全一样,故需要通过蛋白质杂交技术对单克隆抗体进行特异性检验,只有通过特异性检验的抗体,才能在实际中应用该抗体检测该病毒。(4)DNA 连接酶需识别正确的 DNA 片段,由教材《遗传与进化》介绍 DNA 的结构可知:在 DNA 中磷酸基团位于 5' 端,而 -OH 位于 3' 端。选项中①②③磷酸基团与羟基标注位置有误,故④符合题意。

20. (1)检测目的基因是否成功导入受体细胞 双分子层中 (2)蛋白质外壳和含 N 蛋白胞外段基因的核酸 (3)胰蛋白酶或胶原蛋白 CO_2 培养箱 (4)克隆化 抗原抗体杂交 细胞培养液 (5)抗体-药物偶联物 (ADC)

解析:(1)质粒是重组 DNA 技术的基本工具之一,质粒上抗性基因的作用主要是便于筛选重组 DNA 分子;用脂质体将重组慢病毒质粒与辅助质粒导入病毒包装细胞,质粒被包在脂质体双分子层中,一方面考查 DNA 水溶性的特点,另一方面考查脂质体作为药物的载体,对水溶性和脂溶性药物的不同包载特点。

(2)根据题中图 1 提示,病毒没有细胞结构,一般由核酸和蛋白质组成。(3)根据题中图 2 提示,在动物细胞工程的动物细胞培养过程中,取动物组织用胰蛋白酶或胶原蛋白酶进行处理,获取单细胞,进而在 CO_2 培养箱中培养。(4)根据题中图 2 提示,在利用动物细胞融合技术制备单克隆抗体过程中,用特定的选择性培养基进行筛选,获得杂交瘤细胞,将其接种到 96 孔板,进行克隆化培养。用抗原-抗体杂交技术检测每孔中的抗体,筛选既能产生 N 蛋白胞外段

抗体,又能大量增殖的单克隆杂交瘤细胞株,经体外扩大培养,收集细胞培养液,提取单克隆抗体。(5)在单克隆抗体的应用中,利用抗体-药物偶联物,实现疾病靶向治疗。

21. (1)无机盐、淀粉 (2)金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌 1.73~3.45 (3)A 菌分裂过程中质粒丢失、淀粉酶基因突变、质粒载体上关键位点(如启动子、核糖体结合位点、复制原点等)突变、表观遗传修饰(如甲基化修饰)使淀粉酶基因失活(答出任意两点即可) (4)无菌、无毒的环境,气体环境 否 (5)②③④⑥

解析:(1)培养基的成分一般包含水、碳源、氮源和无机盐等营养成分,筛选分解淀粉的固氮细菌所需要的选择培养基中,除含水、无机盐外,还应含有淀粉,而不能含有有机氮。(2)从表中数据可以看出,抗菌肽浓度为 $3.45\sim 55.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均无法存活,禾谷镰孢菌和假丝酵母在抗菌肽浓度为 $55.20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时无法存活,而在抗菌肽浓度低于 $27.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (含)时可存活,故抗菌肽对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌抑制效果较好。抗菌肽浓度为 $1.73\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均能存活,而在 $3.45\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时均不能存活,所以若要确定抗菌肽有抑菌效果的最低浓度,应在 $1.73\sim 3.45\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度区间进一步实验。(3)淀粉酶 M 基因发生突变或含有 M 基因的表达载体丢失时,菌株不能再产生淀粉酶 M。(4)动物细胞培养除需要满足适宜的营养、温度、渗透压和 pH 条件外,还需要适宜的气体环境(95% 空气和 5% CO_2)以满足代谢需求和维持培养液 pH,以及无菌、无毒的环境防止其他微生物的污染和细胞代谢物的危害。肺类装配体形成过程涉及两种或多种细胞的共培养,但并未运用动物细胞融合技术。(5)若要探究解淀粉芽孢杆菌 H 抗菌肽是否对 MRSA 引起的肺炎有治疗潜力,需至少取三组 MRSA 感染的肺类装配体进行培养,第一组加入解淀粉芽孢杆菌 H 抗菌肽,第二组加入万古霉素(作为有抗菌效果的对照),第三组加入等量生理盐水(作为无抗菌效果的对照),观察并比较三组肺类装配体的生长情况,若第一组肺类装配体生长情况明显好于第三组,且与第二组类似或好于第二组,说明该抗菌肽对 MRSA 引起的肺炎有治疗潜力。

知识点 6 胚胎工程

1. B

解析:促性腺激素能作用于卵巢,能促进卵泡发育和超数排卵, A 选项正确。从卵巢中刚采集的卵母细胞需培养成熟(M II 期)后,才能与获能的精子进行体外受精, B 选项错误。在胚胎移植前要对接受胚胎的受体

和供体进行同期发情处理,为供体的胚胎植入受体提供了相同的生理环境, C 选项正确。后代丁是由藏羊甲的卵细胞和藏羊乙的精子结合形成的受精卵发育而来,因此后代丁的遗传物质来源于藏羊甲和藏羊乙, D 选项正确。

2. B

解析:稀释涂布平板法既可以用于分离纯化菌种,也可以用于计数, A 选项正确。胚胎分割应选择桑葚胚或囊胚, B 选项错误。植物顶端分生区附近(如茎尖)的病毒极少,甚至无病毒,可以作脱毒苗的培养材料, C 选项正确。同尾酶的识别序列不同,但切割 DNA 片段后能产生相同的黏性末端, D 选项正确。

3. A

解析:从表格中数据可知,雌激素甲在 $10\text{ }\mu\text{g/mL}$ 、 $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ 浓度时对卵裂有抑制作用,但在 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 浓度时促进卵裂,故 A 选项叙述错误。随着雌激素甲浓度由 $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 升至 $100\text{ }\mu\text{g/mL}$,第一极体的排出数逐渐减小,故 B 选项叙述正确。卵裂是受精卵开始进行胚胎发育的初始阶段,通过四组实验数据比较, $1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 处理组的卵裂率最大,故 C 选项叙述正确。通过对表中实验数据的计算可推知,成熟率 = 第一极体排出个数 / 卵细胞个数,故 D 选项叙述正确。

4. D

解析:为保持优良遗传性状、提高优良品种动物的繁殖效率,需要选择遗传性状优良的健康雌性动物作为卵母细胞供体,并对供体进行超数排卵处理以便获取大量卵母细胞,因此 A 选项叙述正确。在胚胎移植前需要对胚胎进行遗传学检测以按照要求选择合适胚胎进行移植,故常常采集滋养层细胞进行检测,所以 B 选项叙述正确。胚胎移植是将胚胎移植到同种、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。故受体往往要求是同种、健康、具有正常繁殖能力的雌性个体,绵羊与山羊并非同种,因此杜泊母绵羊不适合作为受体,因此 C 选项叙述正确。体外受精技术是提高动物繁殖能力的重要措施,要获得优良品质的胚胎,精子质量十分重要,需要选择遗传性状优良的健康波尔公山羊作为精子的供体,所以 D 选项叙述错误。

5. C

解析:体外诱导食蟹猴胚胎干细胞,形成了类似囊胚的结构(类囊胚),证实了食蟹猴胚胎干细胞具有分化潜能, A 选项正确。实验过程中使用的培养基需含有糖类,糖类可为细胞培养提供能源物质, B 选项正确。类囊胚的获得利用了动物细胞培养技术,并没有进行核移植, C 选项错误。可借助胚胎移植技术将类囊胚移植到相应的雌性受体中继续发育,从而可以用来研究类囊胚的后续发育, D 选项正确。

6. C

解析:胚胎干细胞是全能干细胞,具有分化为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, iPGCs 是诱导型原始生殖细胞,具有成为卵原细胞或精原细胞的潜能,不具有胚胎干细胞的特性, A 选项错误。移植的 iPGCs 分化形成卵原细胞或精原细胞(基因型可能为杂合子或纯合子),减数分裂形成配子时,会发生等位基因分离和非等位基因重组,最终产生的配子的遗传信息不一定相同, B 选项错误。由图可知,该实验将物种甲囊胚期的 iPGCs 移植到不能形成 PGCs 的乙鱼胚胎中,培育出的乙个体的生殖腺是由甲鱼的 iPGCs 增殖分化而来的,将该个体与物种甲杂交,因两者产生的配子中的遗传物质均来源于物种甲,故子一代的遗传物质来源于物种甲, C 选项正确。该实验过程中涉及的是有性生殖,不属于克隆技术, D 选项错误。

7. C

解析:由题干信息可知,该过程通过体外受精获得胚胎,再通过胚胎移植,使长角羚羊成功妊娠并产仔,因此需要进行超数排卵、精子获能处理,并对获得的受精卵进行胚胎培养;由于该过程为有性生殖,因此不需要涉及细胞核移植,所以 C 选项正确、A、B、D 选项错误。

8. C

解析:利用胚胎工程技术培育家畜优良品种的主要技术包括体外受精、早期胚胎体外培养、胚胎移植等。从雄性动物体获得的精子,在用于体外受精前,需经获能处理, A 选项正确。受精卵经体外培养可获得早期胚胎,获得的早期胚胎可直接用于移植,或经胚胎分割后用于移植, B 选项正确。胚胎分割技术可提高移植胚胎的数量,与未被分割的胚胎相比,经分割产生的胚胎的成活率相对较低, C 选项错误。胚胎移植前,需要选择有健康的体质和正常繁殖能力的受体,并进行同期发情处理,使之具有相同的生理状态, D 选项正确。

9. A

解析:实验是将黑色小鼠囊胚的内细胞团部分细胞注射到白色小鼠囊胚腔中,并未涉及将细胞核或体细胞移至去核的卵母细胞中,未利用核移植技术, A 选项错误。Mc 表皮黑白相间,既有黑色小鼠基因型的细胞,也有白色小鼠基因型的细胞, B 选项正确。内细胞团能发育成胎儿的各种组织,注射的细胞来自黑色小鼠囊胚的内细胞团,所以也会分化成 Mc 的多种组织, C 选项正确。利用胚胎分割技术将接受注射的囊胚均分为二,经移植可发育成两只小鼠, D 选项正确。

10. AD

解析:多细胞生物个体都是由受精卵经细胞分裂、分化形成,成纤维细胞和胚胎干细胞都是受精卵细胞的有丝分裂后代,具有相同的遗传物质,故 A 选项正确。

胚胎干细胞经诱导分化形成囊胚,基因选择性表达使细胞分化形成不同功能的囊胚细胞,但是维持细胞基本结构、细胞能量代谢等的管家基因,在所有细胞中均需表达,故B选项错误。动物细胞培养需放在CO₂培养箱中进行,一定浓度的CO₂可以缓冲培养液的pH,使培养液的pH维持相对稳定,但同时还需要有O₂的供应,以维持细胞呼吸,为细胞生命活动提供能量,故C选项错误。移植胚胎的发育需要母体各种激素的调控,同时发育中的胚胎细胞释放的细胞因子也会影响母体激素的分泌,故D选项正确。

11. C

解析:在体外受精前,需要对精子进行获能处理,通常体外获能的方法有培养法和化学诱导法,但精子获能是精子获得与卵细胞受精的能力,不是获得能量,A选项错误。哺乳动物体外受精后的早期胚胎培养需要额外提供血清等一些天然成分,B选项错误。克隆牛技术涉及体细胞核移植、动物细胞培养、早期胚胎培养、胚胎移植等过程,C选项正确。胚胎分割是用机械方法将早期胚胎平均分割成二分胚、四分胚甚至八分胚,经培养后植入受体,以得到同卵双生或同卵多生后代的技术,该过程属于无性生殖,D选项错误。

12. D

解析:题中几项技术成果都需要通过胚胎移植最终达成目标。胚胎移植的受体只提供胚胎发育的场所,对移入胚胎的遗传特性无任何影响,故A选项错误。①过程为试管动物的培育过程,是由供体母牛超数排卵后经发情配种或人工受精获得胚胎产生后代的过程,若涉及体外受精技术,采集到的卵母细胞需要培养到MⅡ期,但无需去核,卵母细胞去核属于②克隆动物操作程序,故B选项错误。②过程为核移植克隆动物,属于无性生殖,保持亲本性,所以不能大幅改良动物性状,故C选项错误。③过程转基因技术获得的动物,可通过②克隆技术实现扩大化生产,而试管动物和克隆动物均可通过③转基因技术,进行外源基因的导入,实现性状改良,故D选项正确。

13. (1) 冷冻 只有经过获能处理,精子才具有受精能力 肝素 减数第二次分裂中期 (2) 氨基酸、维生素、核苷酸(其他答案可以酌情给分) (3) 对受体母羊进行发情处理,等到合适的时期,再将囊胚移植到受体母羊子宫

解析:(1) 精液可以加入抗冻剂(甘油)冷冻保存,使用前再将精液解冻离心分离。刚排出的精子必须在雌性生殖道内发生相应生理变化后才能受精,故在体外受精前要对精子进行获能处理。通常采用的体外获能方法有培养法和化学诱导法,化学诱导法是将精子放在一定浓度的肝素或钙离子载体A23187溶液中,用化学药物诱导精子获能。卵母细胞需要培养到减数第二次分裂中期(MⅡ期)才能具备与精子受精的能力。

(2) 进行早期胚胎培养的培养液中,除了无机盐、激素、血清外,还含有维生素、氨基酸、核苷酸等。

(3) 要利用保存的囊胚和相应数量的非繁殖期受体母羊为材料,获得具有该公羊优良性状的后代,主要是利用胚胎移植技术,即对受体母羊进行同期发情处理,将保存的囊胚进行胚胎移植,对受体母羊进行是否妊娠的检查,一段时间后受体母羊产下具有该公羊优良性状的后代。

知识点7 基因工程

1. C

解析:构建重组表达载体是基因工程的基本环节,其中限制酶和DNA连接酶是基因工程中常用的工具酶。限制酶即限制性内切核酸酶,可识别并切割双链DNA分子中的特定序列。限制酶最初在原核生物中发现,是原核生物限制与修饰系统的主要成分,帮助原核生物识别外源DNA并进行切割,属于原核生物的防御机制。迄今在原核生物中发现的限制酶已有上千种,根据性质不同分为三类;基因工程技术中常用的限制酶多为Ⅱ类限制酶。这类酶对底物DNA的识别和切割位点比较专一,因而广泛应用于DNA重组技术。多数Ⅱ类限制酶切割位点的识别序列为4~8对碱基,识别序列通常具有回文结构。限制酶的切割位点多数在识别序列内,在DNA两条链的对应位点切割后可能产生黏性末端或平末端。有些限制酶识别序列不同,但切割后的DNA黏性末端具有相同的序列,这些酶称为同尾酶。常用的DNA连接酶主要有E.coli DNA连接酶和T4 DNA连接酶。E.coli DNA连接酶通常连接可以互补配对的黏性末端DNA片段,一般不能连接平末端DNA片段。T4 DNA连接酶既可以连接黏性末端DNA片段,又可以连接平末端DNA片段。相对而言,平末端DNA片段的连接效率低于黏性末端DNA片段的连接效率。从示意图中可知,酶1、酶2、酶4切割后产生黏性末端DNA片段,且酶2、酶4属于同尾酶;酶3切割后产生平末端DNA片段。质粒图中酶4切割位点位于抗生素抗性基因序列中,切割后会破坏抗生素抗性基因。抗生素抗性基因是一种特殊的标记基因,含有完整质粒的大肠杆菌细胞可以在含有抗生素的培养基中生长。重组表达载体的抗生素抗性基因如果被破坏,则导入受体大肠杆菌后,大肠杆菌不能在筛选培养基中生长,不能形成克隆。完整的抗生素抗性基因可以方便筛选重组表达载体,提高筛选效率。质粒和目的基因都用酶3切割,产生平末端DNA片段,一般不能用E.coli DNA连接酶连接,A选项叙述不合理。质粒用酶3切割产生平末端DNA片段,目的基因用酶1切割产生黏性末端