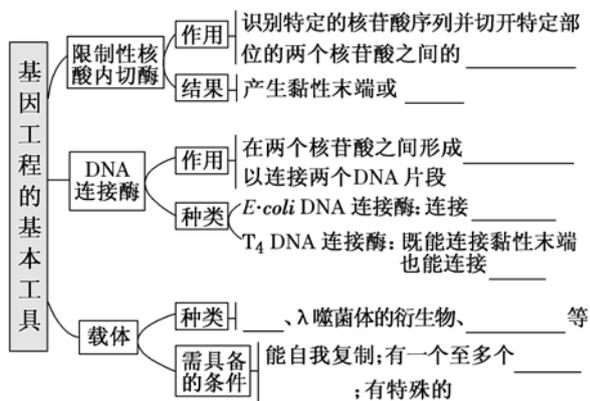
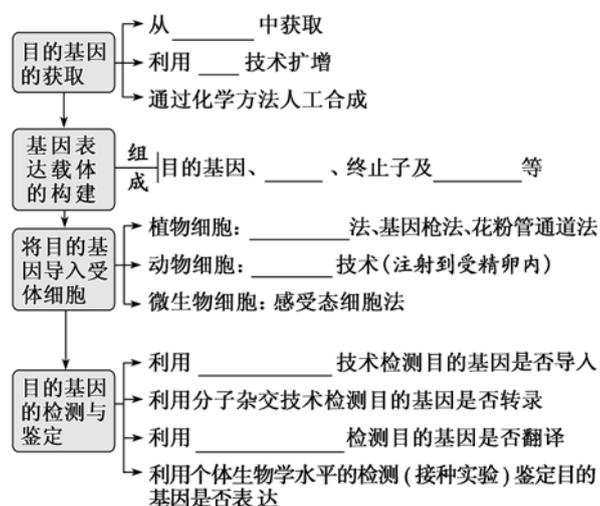


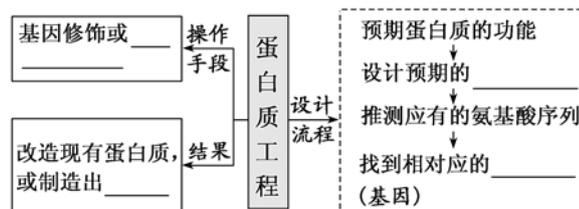
知识点一 基因工程的基本工具



知识点二 基因工程的基本操作程序



知识点三 蛋白质工程



[基能过关——问题化]一、判一判

1. 有关工具酶的判断

- (1) 限制酶只能用于切割目的基因。()
- (2) 切割质粒的限制性核酸内切酶均能特异性地识别 6 个核苷酸序列()
- (3) DNA 连接酶能将两碱基间通过氢键连接起来。()
- (4) *E. coli* DNA 连接酶既可连接平末端, 又可连接黏性末端。()
- (5) 限制酶也可以识别和切割 RNA。()
- (6) 限制性核酸内切酶、DNA 连接酶和质粒是基因工程中常用的三种工具酶。()

2. 有关载体的判断

- (1) 载体质粒通常采用抗生素合成基因作为标记基因。()
- (2) 每个质粒 DNA 分子上至少含一个限制酶识别位点。()

- (3)质粒是小型环状 DNA 分子，是基因工程常用的载体。()
- (4)载体的作用是将携带的目的基因导入受体细胞中，使之稳定存在并表达。()
- (5)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复制。()

3. 有关基因工程原理与操作的判断

- (1)设计扩增目的基因的引物时不必考虑表达载体的序列。()
- (2)用 PCR 技术扩增目的基因时不必知道基因的全部序列。()
- (3)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。()
- (4)抗虫基因即使成功插入植物细胞染色体上也未必能正常表达。()
- (5)检测目的基因是否成功表达可用抗原—抗体杂交技术。()
- (6)应用 DNA 探针技术可以检测转基因抗冻番茄植株中目的基因的存在及其是否完全表达。()

4. 有关基因工程应用及蛋白质工程的判断

- (1)将人的干扰素基因重组到质粒后导入大肠杆菌，可能获得能产生人干扰素的菌株。()
- (2)利用乳腺生物反应器能够获得一些重要的医药产品，如人的血清白蛋白，这是因为将人的血清白蛋白基因导入了动物的乳腺细胞中。()
- (3)由大肠杆菌工程菌获得人的干扰素后可直接应用。()
- (4)蛋白质工程的目的是改造或合成人需要的蛋白质。()
- (5)蛋白质工程是在分子水平上对蛋白质分子直接进行操作，可定向改变分子的结构。()

二、议一议

1. [选修 3 P₆“寻根问底”]DNA 连接酶和 DNA 聚合酶的作用相同吗？试简要说明。

2. 下图中的图 1 和图 2 分别表示的是 *Eco*R I 限制酶和 *Sma* I 限制酶的作用示意图，据图分析：

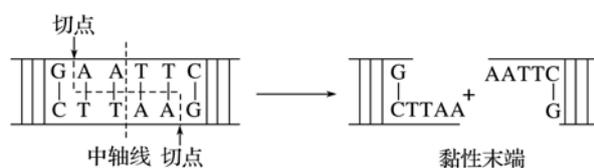


图 1

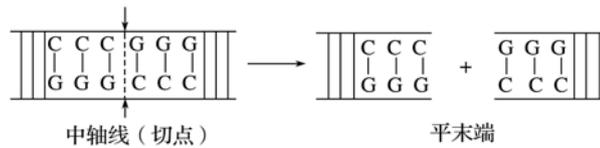
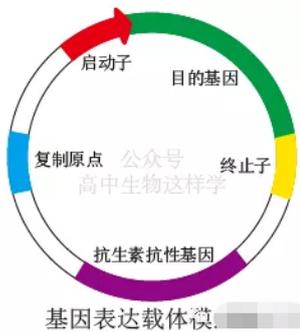


图2

(1) 请说出 *EcoR* I 限制酶和 *Sma* I 限制酶识别的碱基序列及切割的位点。

(2) 以上实例说明限制酶有何特性？

基因表达载体的构建 (核心)



1. 目的：使目的基因在受体细胞中稳定存在，可以遗传给子代，使目的基因能够表达和发挥作用。

2. 基因表达载体的组成：目的基因+运载体(启动子+终止子+标记基因+复制原点)

(1) 启动子：是一段有特殊结构的 DNA 片段，位于基因的首端，是 RNA 聚合酶识别和结合的部位，能驱动基因转录出 mRNA，最终获得所需的蛋白质。具组织特异性

【思考】与起始密码子的区别。

(2) 终止子：是一段有特殊结构的 DNA 片段，位于基因的尾端。

【注意】区别终止密码子。

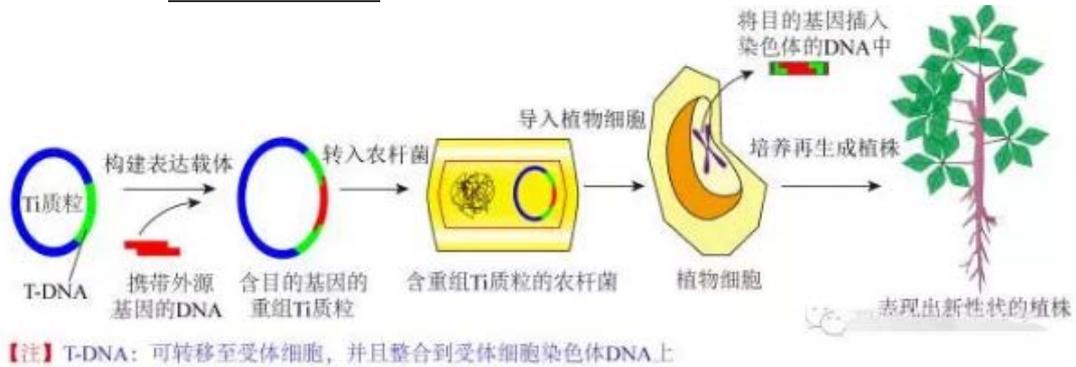
(3) 标记基因的作用：是为了鉴定受体细胞中是否含有目的基因，从而将含有目的基因的细胞筛选出来。常用的标记基因是抗生素抗性基因

第三步：将目的基因导入受体细胞

1. 转化的概念：是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. 常用的转化方法

(1) **导入植物细胞**：采用最多的方法是**农杆菌转化法**，其次还有**基因枪法和花粉管通道法**等。受体细胞一般是**体细胞**。



(2) **导入动物细胞**：最常用的方法是**显微注射技术**。使用显微注射仪。受体细胞多是**受精卵**。

(3) **导入微生物细胞**：原核生物具有**繁殖快、多为单细胞、遗传物质相对较少**等，故早期基因工程都用原核生物作为受体细胞，最常用的原核细胞是**大肠杆菌**，其转化方法是：先用 Ca^{2+} 处理细胞，使细胞处于能吸收周围环境 DNA 的生理状态，再将重组质粒溶于缓冲液中与感受态细胞混合，在一定温度下细胞吸收 DNA 分子完成转化。