

课时跟踪检测（十二） 重组 DNA 技术的基本工具

一、选择题

1. 下列叙述符合基因工程概念的是()

- A. 在细胞内直接将目的基因与宿主细胞的遗传物质进行重组，赋予生物新的遗传特性
- B. 将人的干扰素基因重组到质粒后导入大肠杆菌，获得能产生人干扰素的大肠杆菌菌株
- C. 用紫外线照射青霉菌，使其 DNA 发生改变，通过筛选获得青霉素高产菌株
- D. 自然界中天然存在的噬菌体自行感染细菌后，其 DNA 整合到细菌 DNA 上

解析：选 B 基因工程是在生物体外将 DNA 进行重组形成重组 DNA 分子，然后导入受体细胞，赋予生物新的遗传特性，A 不符合题意；将人的干扰素基因重组到质粒后导入大肠杆菌，获得能产生人干扰素的菌株，这是基因工程技术的应用，B 符合题意；用紫外线照射青霉菌，使其 DNA 发生改变，通过筛选获得青霉素高产菌株，这是诱变育种，与基因工程无关，C 不符合题意；基因工程是按照人们的意愿，对生物进行的定向改造，而自然界中天然存在的噬菌体自行感染细菌后，其 DNA 整合到细菌 DNA 上，不符合基因工程的概念，D 不符合题意。

2. 下列有关基因工程中限制酶的描述，正确的是()

- A. 同种限制酶既可以切割目的基因又可以切割质粒，因此不具备专一性
- B. 限制酶只能识别和切割 DNA，不能识别 RNA
- C. 限制酶与 DNA 连接酶的作用部位不相同
- D. 限制酶只能从原核生物中提取

解析：选 B 一种限制酶能识别双链 DNA 分子中的特定核苷酸序列，并在特定位点上切割 DNA 分子，因此限制酶具有专一性，A 错误；限制酶能够识别双链 DNA 分子的特定核苷酸序列，不能识别 RNA，B 正确；限制酶与 DNA 连接酶的作用部位相同，都是磷酸二酯键，C 错误；限制酶主要从原核生物中提取，D 错误。

3. 关于基因工程中载体的叙述，错误的是()

- A. 载体与目的基因结合的过程发生在细胞内
- B. 载体须具有一至多个限制酶切点，以便与外源基因连接
- C. 基因工程常用的载体有质粒、λ噬菌体和动植物病毒等
- D. 载体须具有标记基因，供重组 DNA 的鉴定和选择

解析：选 A 载体与目的基因结合的过程发生在细胞外，A 错误；载体须具有一至多个限制酶切点，以便与外源基因连接，B 正确；基因工程常用的载体有质粒、λ噬菌体和动植物病毒等，C 正确；载体须具有标记基因，以供重组 DNA 的鉴定和选择，D 正确。

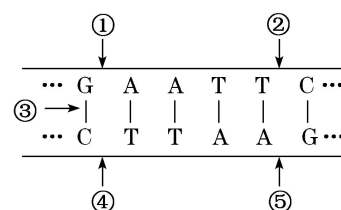
4. 不同生物之间能进行转基因并能获得基因产物，其理论依据不包含()

- A. 这些生物的 DNA 分子的空间结构和化学成分一致
- B. 这些生物的 DNA 分子都遵循碱基互补配对原则
- C. 这些生物在基因表达时共用一套遗传密码
- D. 这些生物的基因结构都是相同的

解析：选 D 不同生物的 DNA 分子的空间结构和化学成分相同，因此不同生物的基因能连接在一起；不同生物的 DNA 分子都遵循碱基互补配对原则，因此具有相同黏性末端的基因能连接起来；自然界所有生物共用一套遗传密码，因此一种生物的基因能在另一种生物体内表达；真核生物和原核生物的基因结构不同。

5. 下列关于如图所示 DNA 分子片段的说法，正确的是()

- A. 限制酶可作用于①部位，解旋酶作用于③部位
- B. 限制酶可作用于④部位，解旋酶作用于①部位
- C. 作用于①部位的限制酶同时也可以作用于④部位
- D. 作用于①部位的限制酶与作用于⑤部位的限制酶的碱基识别序列相反



解析：选 A 限制酶可断裂特定位置的两个核苷酸之间的磷酸二酯键，即可作用于①②④⑤部位，而解旋酶能将 DNA 双螺旋的两条链解开，即作用于③部位(氢键)，A 正确，B 错误；由图示 DNA 片段的碱基序列可知，作用于①部位的限制酶同时也可以作用于⑤部位，在 G 与 A 之间切割，但不能作用于④部位，C 错误；作用于①部位的限制酶与作用于⑤部位的限制酶的碱基识别序列相同，都为—GAATTC—，D 错误。

- 6. 作为基因的运输工具——载体，必须具备的条件及理由是()
- A. 具有某些标记基因，以使目的基因能够与其结合
- B. 具有多个限制酶切点，以便于目的基因的表达
- C. 对宿主细胞无伤害，以便于重组 DNA 的鉴定和选择
- D. 能在宿主细胞中稳定保存并复制，以便提供大量的目的基因

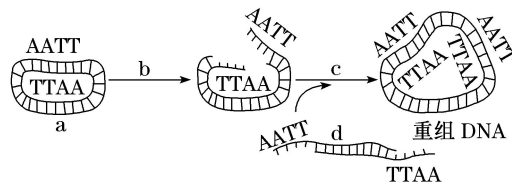
解析：选 D 作为基因工程的载体必须具备的条件是具有某些标记基因，以便于重组后进行重组 DNA 的筛选；具有多个限制酶切点，以便于目的基因的插入；对宿主细胞无伤害，能够在宿主细胞中稳定地保存下来并大量复制，以便提供大量的目的基因。

- 7. 下列关于“DNA 的粗提取和鉴定”实验的操作及原理的叙述，正确的是()
- A. 用蒸馏水使猪的红细胞涨破获取含 DNA 的滤液
- B. 控制 NaCl 溶液的浓度可以实现去除杂质的目的
- C. 可利用 DNA 溶于冷酒精的性质进一步纯化 DNA
- D. 沸水浴条件下，DNA 与二苯胺反应呈紫色

解析：选 B DNA 主要存在于细胞核中，哺乳动物成熟的红细胞没有细胞核，因此不能用来作为提取 DNA 的材料；由于 DNA 和蛋白质等物质在 NaCl 溶液中的溶解度不同，因此可以通过控制 NaCl 溶液的浓度来去除杂质；DNA 不溶于酒精，而其他杂质易溶于酒精，故

利用体积分数为 95% 的冷酒精可进一步纯化 DNA；在沸水浴条件下，DNA 与二苯胺反应呈现蓝色。

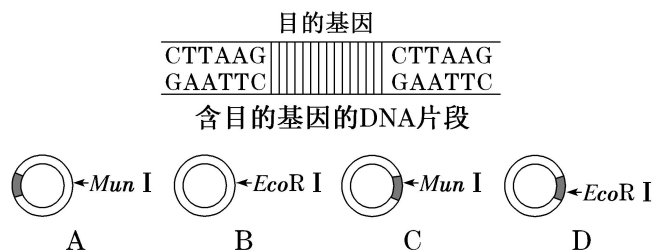
8. 下图表示一项重要的生物技术，下列相关叙述正确的是()



- A. 通常情况下，a 与 d 需用同一种限制酶进行切割
- B. b 能识别特定的核苷酸序列，并将 A 与 T 之间的氢键切开
- C. c 连接双链间的 A 和 T，使黏性末端处的碱基互补配对
- D. b 代表的是限制性内切核酸酶，c 代表的是 RNA 聚合酶

解析：选 A 通常情况下，a 与 d 需要用同一种限制酶进行切割，以形成相同的黏性末端，A 正确；b 代表的是限制酶，能识别特定的核苷酸序列并使 DNA 分子的每条链中特定部位的两个核苷酸之间的磷酸二酯键断开，而不是使氢键断开，B 错误；b 代表的是限制性内切核酸酶，c 是 DNA 连接酶，能连接两个 DNA 片段，形成磷酸二酯键，C、D 错误。

9. 限制酶 *Mun* I 和限制酶 *Eco*R I 的识别序列及切割位点分别是— $\downarrow$ CTTAAG—和— $\downarrow$ GAATTC—。下图表示目的基因和四种质粒，其中，质粒上箭头所指部位为酶的识别位点，阴影部分表示标记基因。适于作为图示目的基因载体的质粒是()



解析：选 A 用限制酶 *Mun* I 切割 A 项中的质粒后，不会破坏标记基因，而且还能产生与目的基因两侧黏性末端相同的末端，因此 A 项中的质粒适于作为目的基因的载体，A 符合题意；B 项中的质粒没有标记基因，不适于作为目的基因的载体，B 不符合题意；C、D 中的质粒含有标记基因，但用限制酶切割后，标记基因被破坏，因此不适于作为目的基因的载体，C、D 不符合题意。

10. 以下关于基因工程的操作工具，说法正确的是()

- A. 限制酶可以切割 DNA 和 RNA
- B. DNA 连接酶能将两碱基间通过氢键连接起来
- C. 载体的作用是将目的基因导入受体细胞使之稳定存在并表达
- D. 切割质粒的限制酶均能特异性地识别 6 个核苷酸序列

解析：选 C 一种限制酶只能识别一种特定的核苷酸序列，并在特定的切点上切割 DNA

分子，A 错误；DNA 连接酶的作用是将两个 DNA 片段通过磷酸二酯键连接起来，B 错误；载体的作用是携带目的基因导入受体细胞中，使之稳定存在并表达，C 正确；大多数限制酶的识别序列由 6 个核苷酸组成，少数限制酶的识别序列由 4 个、8 个或其他数量的核苷酸组成，D 错误。

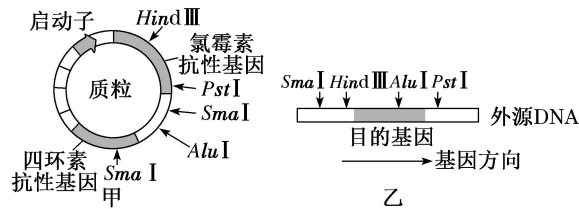
11. 以下是几种不同限制酶切割 DNA 分子后形成的部分片段。下列叙述正确的是()

①---CTGCA ②---G ③---TG ④---G ⑤---GC
---G ---CTTAA ---AC ---CTGCA ---CG

- A. 以上 DNA 片段是由 3 种限制酶切割后产生的
- B. 用 DNA 连接酶可以把③⑤连接起来
- C. 上述①④是能用 DNA 连接酶连接起来的两个片段
- D. 限制酶和 DNA 连接酶作用的部位不同

解析：选 C 图中只有①④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；③⑤具有不同的末端，DNA 连接酶可将具有相同末端的 DNA 片段连接起来，因此不能将③⑤连接起来，B 错误；由于①④具有互补的黏性末端，所以能用 DNA 连接酶连接起来，C 正确；限制酶和 DNA 连接酶作用的部位都是磷酸二酯键，其中限制酶能将磷酸二酯键切断，而 DNA 连接酶能将磷酸二酯键连接起来，D 错误。

12. 某科研小组利用质粒(图甲)和目的基因(图乙)构建重组 DNA。下列分析错误的是()

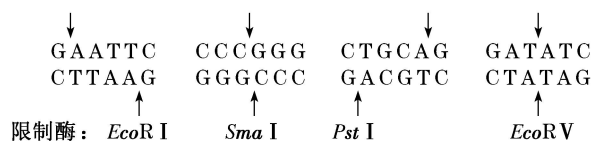


- A. 用限制酶 *Hind*III 和 *Pst* I 切割质粒，可得到 2 条 DNA 片段
- B. 不能用 *Alu* I 酶切割质粒和外源 DNA 的原因是 *Alu* I 酶会破坏目的基因
- C. 构建重组 DNA 时，需选择 *Sma* I 酶和 *Pst* I 酶同时切割质粒和外源 DNA
- D. 导入了重组 DNA 的细菌能在含四环素的培养基上生长，而不能在含氯霉素的培养基上生长

解析：选 C 质粒中含有限制酶 *Hind*III 和 *Pst* I 的切割位点，且各含一个，因此用这两种限制酶切割质粒，可得到 2 条 DNA 片段，A 正确；由图乙可知，限制酶 *Alu* I 的切割位点位于目的基因上，因此不能用 *Alu* I 酶切割质粒和外源 DNA，否则会破坏目的基因，B 正确；用 *Sma* I 酶和 *Pst* I 酶同时切割质粒会导致两个抗性基因均被破坏，无法筛选导入重组 DNA 的细菌，因此构建重组 DNA 时，不能选择 *Sma* I 酶和 *Pst* I 酶同时切割质粒和外源 DNA，C 错误；构建基因表达载体时，应该选择 *Hind*III 酶和 *Pst* I 酶同时切割质粒和外源 DNA，这样会破坏氯霉素抗性基因，但没有破坏四环素抗性基因，因此导入了重组 DNA 的细菌能在含四环素的培养基上生长，而不能在含氯霉素的培养基上生长，D 正确。

二、非选择题

13. 用 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 种限制性核酸内切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 *E.coli* DNA 连接酶和 T4 DNA 连接酶。上图中
_____ 酶切割后的 DNA 片段一般应用 T4 DNA 连接酶连接。

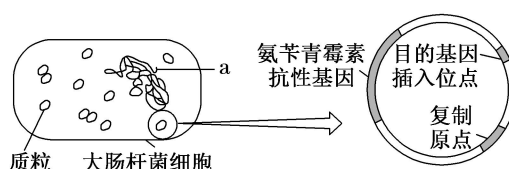
(2) DNA 连接酶催化目的基因片段与质粒载体片段之间形成的化学键是_____。

(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) 限制酶 *EcoR* I 和 *Pst* I 切割形成的是黏性末端, 限制酶 *Sma* I 和 *EcoR* V 切割形成的是平末端, *E.coli* DNA 连接酶连接平末端的效率相对较低, 限制酶 *Sma* I 和 *EcoR* V 切割后的 DNA 片段为平末端, 一般应用 T4 DNA 连接酶连接。(2) DNA 连接酶将两个 DNA 片段连接形成磷酸二酯键。(3) 质粒是小型环状的 DNA 分子, 常作为基因表达的载体。质粒上含有复制原点, 能保证质粒在受体细胞中自我复制; 质粒 DNA 分子上有一个至多个限制酶切割位点, 便于目的基因的导入; 质粒上的标记基因是为了鉴定受体细胞中是否含有目的基因, 具体做法是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) *Sma* I 和 *EcoR* V (2) 磷酸二酯键 (3) 自我复制 一个至多个限制酶切割位点 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

14. 如图为大肠杆菌及质粒载体的结构模式图, 据图回答下列问题:



(1) a 代表的物质和质粒的化学本质相同, 都是 _____ (写中文名称)。自然情况下大肠杆菌能发生的可遗传变异有 _____。

(2) 下列常在基因工程中用作载体的是 _____ (填字母)。

A. 苏云金杆菌抗虫基因

- B. 土壤农杆菌环状 RNA 分子
C. 大肠杆菌的质粒
D. 动物细胞的染色体

(3)氨苄青霉素抗性基因在质粒 DNA 上被称为_____，其作用是_____

_____。

(4)若质粒 DNA 分子的切割末端为 $\begin{matrix} \text{—A} \\ \text{—TGC GC} \end{matrix}$ ，则与之连接的目的基因切割末端应为

_____；切割形成以上片段的限制酶的识别序列是_____。

可使用_____把质粒和目的基因连接在一起。

(5)某种限制酶识别的序列及切点为 $\begin{matrix} \downarrow \\ \text{—GGGCCC—} \end{matrix}$ ，那么含该序列的 DNA 片段被切割后形成的结果是_____。

解析：(1)a 代表的物质是拟核中的 DNA 分子，质粒是细胞质中的 DNA 分子，二者都是环状 DNA 分子，能够自我复制、具有遗传效应、具有双螺旋结构等。大肠杆菌属于原核生物，只能发生的可遗传变异是基因突变。(2)大肠杆菌的质粒是基因工程中常用的载体。(3)质粒上的氨苄青霉素抗性基因是标记基因，可以用于目的基因(或重组质粒)是否导入的鉴定和筛选。(4)根据碱基互补配对原则，目的基因的切割末端应为 $\begin{matrix} \text{CGCGT—} \\ \text{A—} \end{matrix}$ ；目的基因与质粒

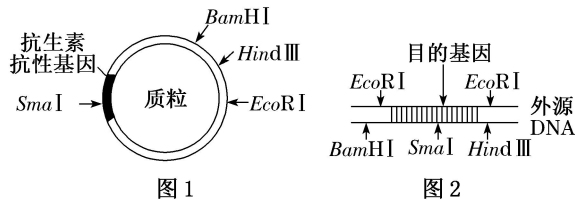
形成重组 DNA 需要用到 DNA 连接酶。切割形成以上片段的限制酶的识别序列是 —ACGCGT— 。(5)某种限制酶识别的序列及切点为 $\begin{matrix} \downarrow \\ \text{—GGGCCC—} \end{matrix}$ ，那么含该序列的 DNA 片

段被切割后形成的结果是 $\begin{matrix} \text{—GGG} & \text{CCC—} \\ \text{—CCC} & \text{GGG—} \end{matrix}$ 。

答案：(1)脱氧核糖核酸 基因突变 (2)C (3)标记基因 用于目的基因(或重组质粒)是否导入的鉴定和筛选 (4) $\begin{matrix} \text{CGCGT—} \\ \text{A—} \end{matrix}$ —ACGCGT— DNA 连接酶 (5) $\begin{matrix} \text{—GGG} & \text{CCC—} \\ \text{—CCC} & \text{GGG—} \end{matrix}$

15. 下表中列出了几种限制酶识别序列及其切割位点，图 1、图 2 中箭头表示相关限制酶的酶切位点。请回答下列问题：

限制酶	<i>Bam</i> H I	<i>Hind</i> III	<i>Eco</i> R I	<i>Sma</i> I
识别序列及切割位点	$\begin{matrix} \downarrow \\ \text{GGATCC} \\ \text{CCTAGG} \\ \uparrow \end{matrix}$	$\begin{matrix} \downarrow \\ \text{AAGCTT} \\ \text{TTCGAA} \\ \uparrow \end{matrix}$	$\begin{matrix} \downarrow \\ \text{GAATTC} \\ \text{CTTAAG} \\ \uparrow \end{matrix}$	$\begin{matrix} \downarrow \\ \text{CCCGGG} \\ \text{GGGCCC} \\ \uparrow \end{matrix}$



- (1)一个图 1 所示的质粒经 *Sma* I 切割前后, 分别含有_____、_____个游离的磷酸基团。
- (2)要用图 1 中的质粒和图 2 中外源 DNA 构建重组质粒, 不能使用 *Sma* I 切割, 原因是_____。
- (3)与只使用 *Eco*R I 相比较, 使用 *Bam*H I 和 *Hind*III 两种限制酶同时处理质粒、外源 DNA 的优点在于可以防止_____。
- (4)为了获取重组质粒, 将切割后的质粒与目的基因片段混合, 并加入_____酶。
- (5)重组质粒中抗生素抗性基因的作用是为了_____。

解析: (1)质粒切割前的环状 DNA 分子, 所有磷酸基团均参与形成磷酸二酯键, 不含游离的磷酸基团。从图 1 可以看出质粒上只含有一个 *Sma* I 的切割位点, 因此切割后质粒变成线性 DNA 分子, 含 2 个游离的磷酸基团。(2)质粒中抗生素抗性基因为标记基因, 由图可知标记基因和外源 DNA 的目的基因中均含有 *Sma* I 酶切位点, 都可以被 *Sma* I 破坏。(3)只使用 *Eco*R I, 则质粒和目的基因两端的黏性末端相同, 会导致质粒和含目的基因的外源 DNA 片段自身环化。(4)需要 DNA 连接酶催化质粒和目的基因连接, 获得重组质粒。(5)重组质粒中抗生素抗性基因的作用是鉴别和筛选含有目的基因的细胞。

答案: (1)0 2 (2)*Sma* I 会破坏质粒的抗生素抗性基因和外源 DNA 中的目的基因 (3)质粒和含目的基因的外源 DNA 片段自身环化 (4)DNA 连接 (5)筛选含有目的基因的细胞