**高二年级生物学第3课时《选修3专题1基因工程的基本操作程序（1）》 拓展练习**

**参考答案**

1.【答案】

（1）鸡干扰素基因两端的部分核苷酸序列 GAATTC GGATCC AC

（2）复制原点 Ca2+

（3）逆转录 鸡干扰素基因未能导入烟草愈伤组织细胞或导入烟草愈伤组织细胞的鸡干扰素基因未能转录

（4）22 实验得到的干扰素表达量较低，未能很好启动机体产生抗性或病毒接种量过大，相对来说干扰素诱导调控作用滞后或植物体内缺乏干扰素受体，导致外源基因表达的干扰素诱导或调控作用减弱

【解析】（1）步骤①中，利用PCR技术扩增干扰素基因时，设计引物序列的主要依据是干扰素基因两端的部分核苷酸序列；由于需要用EcoRⅠ、BamHⅠ两种限制酶切割目的基因和质粒，因此科研人员还在两种引物的一端分别加上了GAATTC和GGATCC序列，以便于后续的剪切和连接。为防止酶切产物自身环化，构建表达载体需用两种限制酶，Ti质粒内，每种限制酶只有一个切割位点，A正确；目的基因编码蛋白质的序列中，不能有限制酶的切割位点，B错误；酶切后，目的基因形成的两个黏性末端序列不相同，否则会自我环化，C正确；酶切后，Ti质粒形成的两个黏性末端序列应该不同，否则会自我连接，D错误。

（2）基因表达载体必需具备的成分有目的基因、标记基因、启动子、终止子和复制原点，图中还缺复制原点；微生物细胞作为受体细胞时，需要钙离子处理使其变为感受态细胞，因此过程③中需先用Ca2+（或CaCl2）处理农杆菌以便将基因表达载体导入细胞。

（3）提取的愈伤组织细胞的RNA通过逆转录过程得到DNA；最终未能检测出干扰素基因，可能是因为鸡干扰素基因未能导入烟草愈伤组织细胞或导入烟草愈伤组织细胞的鸡干扰素基因未能转录。

（4）据图分析，接种后第19天对照组植株进入病情指数为100的平台期，而转基因植株在第22天才进入平台期，且此时的病情指数为79，说明转基因烟草植株对病毒的侵染表现出一定的抗性，但抗性较低，可能是因为实验得到的干扰素表达量较低，未能很好启动机体产生抗性（或病毒接种量过大，相对来说干扰素诱导调控作用滞后；或植物体内缺乏干扰素受体，导致外源基因表达的干扰素诱导或调控作用减弱）。

2. 【答案】

（1）两 耐高温的DNA聚合酶（Taq酶）

（2）Nco I、BamH I 磷酸二酯

（3）重组质粒1酶切片段自身连接（或“相互连接”）

（4）CaCl2  草丁膦

（5）死亡害虫数

（6）有利：可以减少害虫数量；提供农业产量；减少农药使用量等

有害：可能扩散到自然界中，破坏生态平衡；也可能造成基因污染；或成为优势物种，威胁生态系统中其他生物的生存等

【解析】

（1）利用PCR技术扩增目的基因时需要两种引物；由于该技术是在较高温度下进行的，因此需要耐高温DNA聚合酶（Taq酶）。

（2）根据图中毒蛋白基因两侧的限制酶切割位点可知，将毒蛋白基因和质粒连接获得重组质粒l的过程需要用到的限制酶是NcoI、BamHI，它们破坏的是DNA分子中的磷酸二酯键。

（3）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XbaI酶处理，得到酶切片段。重组质粒l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酶切片段自身连接（或“相互连接”）。

（4）将目的基因导入微生物细胞常用感受态细胞法，即将重组质粒2与用CaCl2处理后处于感受态的白僵菌菌液混合进行转化。由于不含有Bar基因的白僵菌对除草剂草丁膦敏感，因此一段时间后用含有草丁膦的平板培养基进行筛选，获得含有Bar基因的重组白僵菌。

（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，记录单位时间内的死亡害虫数，并与非重组白僵菌杀虫效果对比，判断重组白僵菌的杀虫效果。

（6）利用基因工程获得的重组白僵菌对生态环境可能造成的影响（本题属于开放题，言之有理即可）：

有利：可以减少害虫数量；提供农业产量；减少农药使用量等；

有害：可能扩散到自然界中，破坏生态平衡；也可能造成基因污染；或成为优势物种，威胁生态系统中其他生物的生存等。