

普通高中教科书

生物学

实验与活动部分

选择性必修 3 生物技术与工程

学校

班级

姓名

学号

普通高中教科书

生 物 学
实验与活动部分

选择性必修 3 生物技术与工程

上海科学技术出版社

主 编：赵云龙 周忠良

本册主编：张惠展

编写人员：（以姓氏笔画为序）

陈 华 李竹青 高红亮 徐 循 鲍晓云

责任编辑：杨 硕 吴 玥

封面设计：蒋雪静

普通高中教科书 生物学实验与活动部分 选择性必修3 生物技术与工程

上海市中小学（幼儿园）课程改革委员会组织编写

出 版 上海世纪出版（集团）有限公司 上海科学技术出版社

（上海市闵行区号景路 159 弄 A 座 9F-10F 邮政编码 201101）

发 行 上海新华书店

印 刷 上海中华印刷有限公司

版 次 2023 年 1 月第 1 版

印 次 2025 年 1 月第 4 次

开 本 890 毫米 × 1240 毫米 1/16

印 张 3.75

字 数 75 千字

书 号 ISBN 978-7-5478-5982-7/G · 1143

定 价 4.05 元

价格依据文号 沪价费〔2017〕15 号

版权所有 · 未经许可不得采用任何方式擅自复制或使用本产品任何部分 · 违者必究

如发现印装质量问题或对内容有意见建议，请与本社联系。电话：021-64848025

全国物价举报电话：12315

目 录

第 1 章 发酵工程	1
探究 · 实验 1-1 酵母浸粉胨葡萄糖培养基的配制	1
探究 · 实验 1-2 酵母的分离和纯化	5
探究 · 实验 1-3 土壤中分解尿素细菌的分离与计数	10
探究 · 实验 1-4 果酒和果醋的制作	14
探究 · 实验 1-5 酸奶的制作	18
探究 · 活动 1-6 虚拟仿真：发酵条件对微生物发酵的影响	21
第 2 章 细胞工程	25
探究 · 实验 2-1 月季的快速繁殖	25
探究 · 活动 2-2 收集单克隆抗体的应用实例	29
第 3 章 基因工程	32
探究 · 建模 3-1 模拟限制性内切核酸酶的切割作用	32
探究 · 实验 3-2 DNA 的提取和鉴定	36
探究 · 实验 3-3 PCR 扩增 DNA 的原理和操作	39
探究 · 建模 3-4 模拟 DNA 分子重组	42
探究 · 实验 3-5 PCR 扩增产物的凝胶电泳鉴定	46
第 4 章 生物技术安全与伦理	49
探究 · 活动 4-1 辩论：转基因食品是否安全？	49
探究 · 活动 4-2 讨论：你是否支持设计试管婴儿？	51

第1章 发酵工程

探究·实验 1-1 酵母浸粉胨葡萄糖培养基的配制

你能想象德国科学家科赫(R. Koch)最早是用马铃薯片作为固体培养基培养细菌吗?之后,他又采用明胶作为培养基的凝固剂,但明胶容易融化。后来,科赫采用了助手建议的琼脂作为凝固剂,效果理想,从而沿用至今。从马铃薯片到琼脂的应用,科学家们发明的固体培养基使得研究人员可将目标微生物从“混居”环境中分离出来。

实验目标

学习和掌握配制培养基的一般方法和步骤。

实验原理

培养基一般含有微生物所必需的营养物质。酵母浸粉胨葡萄糖培养基中的葡萄糖主要提供碳源,蛋白胨和酵母浸粉主要提供氮源和生长因子。该培养基常用于酵母的培养。

材料器具

烧杯、250 mL 三角烧瓶、三角烧瓶塞、量筒、培养皿、玻璃棒、牛皮纸、纱布、线绳、精密 pH 试纸、酒精灯、火柴、记号笔、1 mol/L NaOH 溶液、1 mol/L HCl 溶液、可加热的磁力搅拌器、天平、灭菌锅、注射器、无菌过滤器、超净工作台等。

实验步骤

1. 称量: 参照表 1-1, 称量配制 500 mL YPD 培养基所需的酵母浸粉 5.0 g、蛋白胨

10.0 g、琼脂 10.0 g。单独配制 20% (质量体积比) 的葡萄糖溶液 50 mL, 备用。

表 1-1 酵母浸粉胨葡萄糖(YPD)培养基配方(1 L)

成分	含量
酵母浸粉	10.0 g
蛋白胨	20.0 g
葡萄糖	20.0 g
琼脂	20.0 g
蒸馏水	补至 1 L

2. 溶解: 在烧杯中加入酵母浸粉和蛋白胨, 并加入约 250 mL 蒸馏水, 搅拌均匀, 在磁力搅拌器上加热溶解后, 再加入琼脂并使之熔化。加热过程中需控制温度, 并用玻璃棒不断搅拌。待琼脂充分熔化后, 停止加热, 补蒸馏水至 450 mL。

3. 调整 pH: 用 1 mol/L NaOH 溶液或 1 mol/L HCl 溶液将 pH 调至 6.5。

4. 分装: 将烧杯中的培养基趁热倒入 250 mL 三角烧瓶中, 每瓶加量约 90 mL, 注意不要让培养基沾到瓶口。用瓶塞和牛皮纸包扎封口。

5. 灭菌: 将上述培养基与洗净、干燥并包扎好的培养皿一起放入灭菌锅于 121 ℃ 灭菌 15~30 min。

6. 倒平板: 在超净工作台中, 将葡萄糖溶液用无菌过滤器除菌后, 加入冷却至 50 ℃ 左右的培养基中(每 90 mL 培养基加入 10 mL)。混匀后, 右手持三角烧瓶, 左手将瓶塞拔出并用小拇指夹住, 瓶口保持对着酒精灯火焰。然后, 左手拿培养皿, 将皿盖在火焰附近打开一缝, 用酒精灯火焰迅速烧瓶口后, 往培养皿中倒入约 15 mL 培养基(图 1-1)。加盖后小心晃动培养皿, 使培养基均匀分布在培养皿底部。最后, 将培养皿平置于台面上, 待凝固后即为平板。

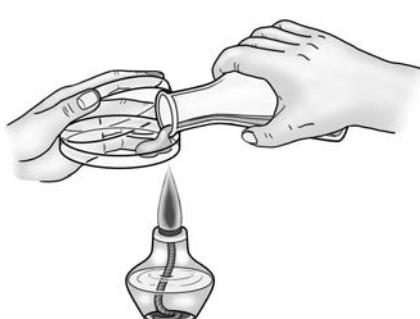


图 1-1 倒平板示意图

小贴士💡

分装时, 若培养基沾到瓶口, 会造成污染。如已沾到瓶口, 可用镊子夹一小块脱脂棉擦去瓶口的培养基。

⚠ 注意

- 在使用超净工作台之前, 务必先关闭超净工作台的紫外灭菌灯, 同时按下“照明”和“启风机”开关。
- 倒平板时不要讲话交流, 以免飞沫污染平板。

实验结果

观察制作完成的培养基平板，在表 1-2 的实际情况栏中填入“√”或“×”。

表 1-2 培养基平板制作结果记录表

要求	实际情况
冷却后的培养基能凝固	
培养皿中的培养基量适中，铺满皿底，厚约 0.5 cm	
培养基表面平整，没有凹凸	

分析与讨论

- 通过什么证据可判断你制作的培养基平板没有被污染？
- 培养基平板若出现冷凝水，会对微生物的分离纯化产生什么影响？在本实验过程中，你是采取什么方法来防止冷凝水出现的？

学业评价

- 设计一种新的培养基去培养目标菌种时，需要考虑的因素有（ ）。(多选)
A. 目标菌种对营养物质的需求
B. 目标菌种的繁殖能力
C. 目标菌种生长繁殖所需的 pH
D. 目标菌种的形态大小
- 配制酵母浸粉胨葡萄糖培养基时，必须在酒精灯火焰旁操作的步骤是（ ）。
A. 称量药品 B. 溶解琼脂
C. 调整 pH D. 倒平板

3. 配制固体培养基的过程中,下列操作与其目的不吻合的是()。

选项	操作步骤	目的
A.	加热时不断搅拌	促使琼脂熔化
B.	高压灭菌	杀死微生物
C.	调整 pH	提供所有细菌适宜的生长环境
D.	将熔化的培养基倒入培养皿	制作培养基平板

4. 将三角烧瓶中的培养基分装至培养皿中时,为什么要用酒精灯火焰先烧一下三角烧瓶的瓶口?

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
实验操作	按照实验步骤进行称量、溶解、调整 pH 和分装	
	按照实验步骤进行倒平板	
	倒平板时能无菌操作	
实验结果	制作的培养基平板符合要求	
	培养基平板倒置安放	
实验心得	(本实验中,你认为实验成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·实验 1-2 酵母的分离和纯化

固体培养基发明后不久,科学家分离出了酿酒酵母,建立了酵母纯种培养方法。纯种酵母被用于酿酒业,使酒的产量和质量有了可靠的保障。可见,分离和纯化微生物是利用微生物资源的重要手段。

实验目标

1. 学会平板划线法和稀释涂布平板法的操作方法。
2. 学会观察与区分平板划线法和稀释涂布平板法的实验结果。

实验原理

通过平板划线法和稀释涂布平板法,使微生物在固体培养基上生长,形成由单个细胞繁殖而成的单菌落,从而可以挑取这种单菌落获得纯种培养物。

材料器具

酵母液、接种环、涂布棒、移液器、0.1 mL 和 1 mL 无菌移液器吸头、酒精灯、火柴、试管、试管架、超净工作台、酵母浸粉胨葡萄糖培养基平板、生理盐水、75% (体积比) 酒精、烧杯、记号笔、恒温培养箱等。

实验步骤

一、微生物的平板划线

1. 点燃酒精灯,将接种环在火焰上灼烧灭菌(图 1-2)。

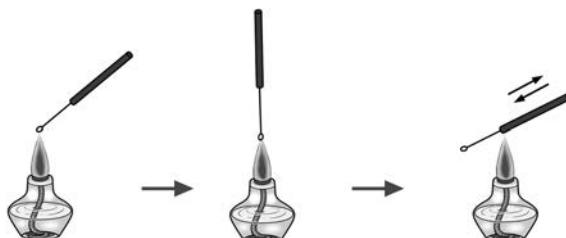


图 1-2 接种环的灭菌示意图

2. 拔掉盛有酵母液的三角烧瓶塞,使三角烧瓶口迅速通过火焰后,将冷却的接种环伸入酵母液中蘸取一环酵母液,再次将三角烧瓶口通过火焰后塞上瓶塞。

3. 小心揭开培养皿盖,以能使接种环轻松进入为宜。将接种环上的酵母液在平板边缘的一块区域连续划“之”字线,然后烧去接种环上的残余菌液,待冷却后,从第1区域划线的末端开始往第2区域内划线,继续在第3区域内重复以上操作。划线时一定要轻,不要划破培养基(图1-3)。



图1-3 划线方法示意图

二、微生物的稀释涂布

1. 酵母液的稀释

- (1) 取6支试管,分别加入9 mL生理盐水后封口,按 $10^1\sim10^6$ 的顺序编号,灭菌。
- (2) 用移液器吸取1 mL酵母液,注入 10^1 倍稀释的试管中,混合均匀。
- (3) 从 10^1 倍稀释的试管中吸取1 mL稀释液,注入 10^2 倍稀释的试管中,混合均匀。依此类推,直到完成最后一支试管 10^6 倍的稀释(图1-4)。

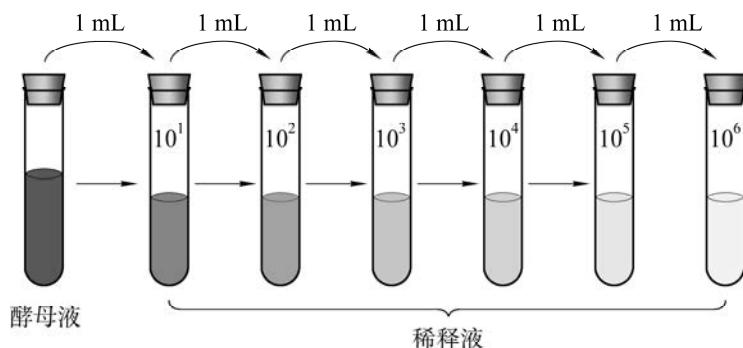


图1-4 稀释操作示意图

2. 涂布方法

- (1) 将涂布棒浸在盛有75%酒精的烧杯中。
- (2) 用移液器吸取0.1 mL稀释倍数为 10^4 倍的酵母液,滴加到培养基平板表面的中央。

小贴士

灼烧后的接种环需冷却10~15 s,直到不再发出嘶嘶声时再接种。

小贴士

涂布菌液时,转动培养基平板会使菌液涂布得更均匀。

(3) 取出沾有少量酒精的涂布棒快速穿过火焰,待酒精燃尽后,冷却几秒钟。

(4) 用涂布棒将酵母液均匀地涂布在整个平板的表面,确保整个平板的表面都被覆盖(图 1-5)。

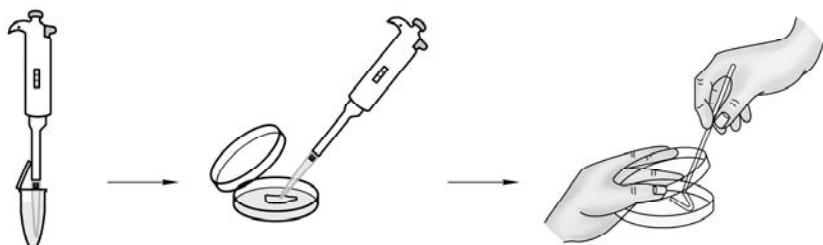


图 1-5 涂布操作示意图

(5) 另取培养基平板,重复上述操作,分别涂布 10^5 和 10^6 两个稀释倍数的酵母液。

三、微生物的培养和菌落的观察

将划线和涂布后的平板以及一个未接种的平板都置于 30°C 恒温培养箱中,倒置培养 24 h 和 48 h 后,分别观察并记录结果。

小贴士

恒温培养前,应在培养皿底部标注组名、样品名称、稀释梯度、日期等必要信息,避免样品混淆,标注时,字尽量小一些,以免影响观察实验结果。

实验结果

将培养 24 h 和 48 h 后观察到的实验结果记录在表 1-3 中。

表 1-3 平板划线法和稀释涂布平板法培养结果记录表

平板类型	菌落分布情况		菌落特征		48 h 后 有无污染杂菌
	24 h	48 h	形态	颜色	
划线的平板					
涂布的平板	10^4 倍稀释				
	10^5 倍稀释				
	10^6 倍稀释				
未接种的平板					

分析与讨论

1. 平板划线法和稀释涂布平板法培养的结果有何异同?
2. 采用什么措施能确保获得单菌落?
3. 稀释倍数不同的酵母液涂布后的平板培养结果有何差异?
4. 若培养基平板生长了杂菌,那么可能是哪些因素导致了污染?

学业评价

1. 图 1-6 显示的是两种微生物接种方法。若想通过两种接种方法分别得到单菌落,则关于两者的接种物表述正确的是()。(多选)

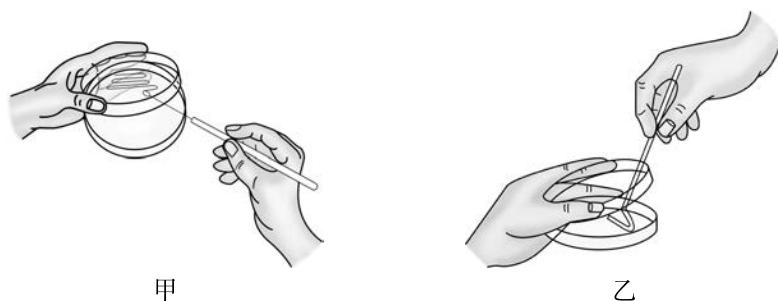


图 1-6 两种微生物接种方法

- A. 甲的接种物需多次划线稀释
- B. 乙的接种物需用无菌水稀释
- C. 甲的接种物只能是固体
- D. 乙的接种物只能是液体

2. 用图 1-6 所示的两种接种方法分别接种同一菌种于同种培养基上, 培养相同时间, 则两者得到的菌落()。
- A. 数量基本一致 B. 单个菌落特征基本一致
C. 分布均匀程度一致 D. 聚集成片的程度一致
3. 如果培养酵母的培养基里不添加琼脂, 酵母的生长情况是()。
- A. 正常生长 B. 无法存活 C. 少数存活 D. 无法判断
4. 在划线接种操作结束时, 仍然需要灼烧接种环吗? 为什么?

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
实验操作	按照实验步骤进行平板划线	
	按照实验步骤稀释酵母液	
	按照实验步骤进行涂布	
实验结果	得到理想的划线培养结果	
	得到理想的稀释涂布培养结果	
	观察到单菌落	
实验心得	(本实验中, 你认为实验成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·实验 1-3 土壤中分解尿素细菌的分离与计数

土壤是微生物生活的大本营,一些微生物的生命活动增加了土壤的肥力。因此,土壤是寻找和发现有应用潜力的微生物的重要来源。尿素是农业上一种常用的氮肥,但是农作物不能直接利用尿素,只有脲酶将尿素分解成氨之后,才能被农作物利用。土壤中的脲酶是由一类能分解尿素的细菌产生的。

实验目标

- 学会从土壤中分离得到分解尿素细菌的方法。
- 通过计数,统计 1 g 土样中分解尿素细菌的数量。

实验原理

若培养基中唯一的氮源是尿素,那么只有能合成脲酶的细菌才能分解尿素,以尿素作为氮源。无法合成脲酶的其他微生物则由于缺乏氮源而不能生长和繁殖。所以,用这种选择培养基就能从土壤微生物中分离出分解尿素细菌。

材料器具

土壤样品、烧杯、量筒、250 mL 和 100 mL 三角烧瓶、三角烧瓶塞、15 mm×150 mm 试管、试管架、培养皿、玻璃棒、涂布棒、移液器、0.1 mL 无菌移液器吸头、酒精灯、牛皮纸、线绳、精密 pH 试纸、火柴、无菌水、1 mol/L NaOH 溶液、1 mol/L HCl 溶液、记号笔、过滤除菌器、可加热的磁力搅拌器、天平、振荡器、恒温培养箱、超净工作台等。

实验步骤

一、配制培养基

- 参照表 1-4,配制 500 mL LB 琼脂培养基,灭菌,制作平板。

2. 参照表 1-5, 配制 500 mL 尿素琼脂培养基, 灭菌后待冷却至 60 °C 时, 加入过滤除菌后的 10 mL 尿素溶液(内含 0.5 g 尿素), 摆动, 混合均匀后, 制作平板。

表 1-4 LB 琼脂培养基配方(1 L)

成分	含量
胰蛋白胨	10.0 g
酵母浸粉	5.0 g
NaCl	10.0 g
琼脂	20.0 g
蒸馏水	补至 1 L
配制完成后, 将 pH 调至 7.0	

表 1-5 尿素琼脂培养基配方(1 L)

成分	含量
葡萄糖	10.0 g
尿素	1.0 g
KH ₂ PO ₄	1.4 g
Na ₂ HPO ₄	2.1 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2 g
琼脂	20.0 g
蒸馏水	补至 1 L

尿素需要单独过滤除菌; 配制完成后, 将 pH 调至 7.2

二、制备细菌悬液

在无菌条件下, 将 10 g 土样加到盛有 90 mL 无菌水的三角烧瓶中, 振荡 10 min, 即成 10¹ 倍土壤稀释液。依次用试管稀释制备 10²、10³、10⁴、10⁵ 稀释倍数的土壤稀释液。取样时, 尽量只取悬液。

小贴士

土壤样品溶液需振荡, 混合均匀, 包括稀释后的样品。

三、微生物的涂布

取 10³、10⁴ 和 10⁵ 倍土壤稀释液各 0.1 mL, 分别加到 LB 琼脂培养基平板和尿素琼脂培养基平板上, 用涂布棒将菌液涂布到整个培养基平板上, 每个稀释倍数的土壤稀释液至少涂布 3 个平行对照。

四、微生物的培养、观察和计数

1. 将平板倒置于 37 °C 恒温培养箱中培养 24~48 h。观察和统计两种培养基平板上的菌落数。

2. 根据平均菌落数推算, 每克样品中分解尿素细菌的菌株数为 $(C \div V) \times M$ 。其中, C 表示某一稀释倍数下平板上生长的平均菌落数; V 表示涂布平板上所用的稀释液的体积; M 表示稀释倍数。

实验结果

将两种培养基平板培养后的结果记录在表 1-6 中。

表 1-6 稀释涂布平板法培养结果记录表

记录项		LB 琼脂培养基			尿素琼脂培养基		
		10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ³	10 ⁴	10 ⁵
菌落数	平板 1						
	平板 2						
	平板 3						
平均菌落数(C)							
每克样品中的菌株数							

分析与讨论

1. 两种培养基平板的菌落数量有何差异？为什么会出现这种差异？

2. 若培养基平板上的菌落数太少，或是太多，对计算活菌数量有何影响？

学业评价

1. 为筛选土壤中分解尿素细菌，你会在表 1-7 所列出的三种培养基中（配方中仅列出氮源）选择哪一种？为什么？

表 1-7 三种培养基中的氮源

培养基编号	氮源
甲	NH ₄ NO ₃
乙	尿素
丙	NH ₄ NO ₃ +尿素

2. 生物固氮是固氮菌特有的一种生理功能。土壤中存在多种固氮菌，它们能直接利用大气中的 N₂，这对于增加土壤中的氮素有重要意义。

(1) 在合适的培养基（配方见表 1-8）上接种土壤浸出稀释液，可从土壤中分离固氮菌。下列相关叙述错误的是（ ）。

表 1-8 培养基配方

成分	葡萄糖	CaSO ₄	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄	NaCl	蒸馏水
含量	5.0 g	2.5 g	0.1 g	0.1 g	0.1 g	补至 500 mL

- A. 葡萄糖既是碳源又是能源物质 B. 该培养基还需加入琼脂
C. 固氮菌生长不需要培养基中的氮源 D. 所有土壤微生物都能在该培养基上生长

(2) 从土壤中分离并纯化固氮菌, 主要的应用价值是()。(多选)

- A. 制作固氮菌菌肥, 增加土壤肥力
B. 减少氮素化肥的使用, 降低化学污染
C. 提取固氮基因并转入植物体内, 使其具有固氮能力
D. 增加大气中 N₂ 的含量

3. 与显微镜计数法相比, 稀释涂布平板法计数有何特点?

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
实验操作	规范配制培养基	
	规范制备细菌悬液	
	规范进行涂布操作	
实验结果	正确记录和分析两种培养基平板的培养结果	
	正确计算土壤样品中的细菌数量	
	通过本实验认识到选择培养基的作用	
实验心得	(本实验中, 你认为实验成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·实验 1-4 果酒和果醋的制作

我国水果资源非常丰富,从汉代开始就有果酒生产的相关记载,包括枸杞酒、梅子酒、大枣酒等。果酒以其独特的风味受到人们的喜爱。

实验目标

掌握果酒和果醋的制作原理;学习果酒和果醋的制作方法。

实验原理

果酒的制作利用了酵母在有氧和无氧条件下的不同生理过程。在有氧条件下,酵母将有机物彻底分解为二氧化碳和水,大量繁殖;在无氧条件下,则进行酒精发酵。果醋是在果酒基础上,利用醋酸菌进行发酵酿制而成。醋酸菌是好氧菌,在氧气充足的条件下,可将果酒中乙醇转化为乙醛,再将乙醛转化为醋酸。

材料器具

新鲜、成熟的葡萄或苹果等水果、预先配制好的酿酒酵母液和醋酸菌液、烧杯、广口瓶、三孔胶塞、温度计、纱布、硅胶管、止水夹、过滤器、榨汁机、可加热的磁力搅拌器、玻璃酒精计、pH计、玻璃瓶等。

实验步骤

一、果酒的制作

1. 将去梗的水果洗净后捣碎,用榨汁机榨汁,或用纱布滤出果汁。
2. 将果汁迅速倒入灭过菌的发酵瓶内(图 1-7),留出 1/3 的空间,添加适当体积的酿酒酵母液,塞好瓶塞,

注意

用纱布滤出果汁时,尽量将果汁榨出,果肉破碎,将汁液放入发酵瓶中。

夹紧进气管和出气管,在18~25℃条件下厌氧发酵10~12 d。发酵期间通过打开出气管,间或放气几次。

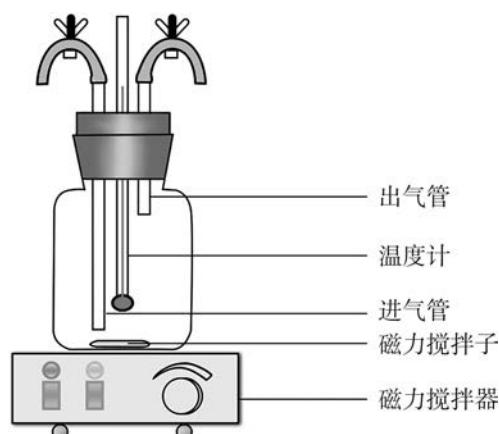


图1-7 发酵瓶装置示意图

小贴士

发酵液的温度与环境温度差异越大,说明发酵越剧烈;当温差逐渐接近时,说明发酵基本完成。据此可以判断发酵结束的时间。

- 待发酵结束后,用玻璃酒精计检测酒精含量。果酒的酒精含量一般在15%(体积比)以下。
- 将酒液从发酵瓶中倒出,用多层纱布过滤,装入经消毒的玻璃瓶中,完成果酒的制作。
- 记录果酒的色泽、香气等特征。

二、果醋的制作

- 将制作好的果酒加入适当体积的醋酸菌液,塞好瓶塞。打开进气管和出气管,在30~35℃条件下发酵3~4 d。
- 待发酵结束后,用pH计测定果醋的pH。果醋的pH一般约为3。
- 记录果醋的外观、香气等特征。

实验结果

- 根据表1-9列出的果酒鉴定指标,对自己制作的果酒进行评定。

表1-9 自制果酒评定记录表

鉴定指标		评定结果
感官评定	色泽 具有特有的色泽,清亮透明,无明显悬浮物,无沉淀	(满分5分)
	香气 具有原果实特有的香气和浓郁的果酒香	(满分5分)
酒精含量(体积比)		(%)

2. 设计一个表格,记录自制果醋的外观、香气等特征。

分析与讨论

1. 为什么果酒和果醋的发酵要控制不同的温度范围?
2. 在制作果酒和果醋的过程中,你认为可以从哪些方面防止产物被污染?

学业评价

1. 制作葡萄酒时,需将每一颗葡萄粒破裂后再进行发酵,这是为了()。(多选)
A. 加快发酵起始速度 B. 便于氧气的溶入
C. 增加酒精的积累量 D. 便于二氧化碳释放
2. 用已灭菌并充入氧气的麦芽汁为原料,接入啤酒酵母菌种后在发酵罐中进行发酵,最终可获得啤酒。这其中涉及的化学反应有()。(多选)
A. 麦芽糖+水→葡萄糖 B. 葡萄糖+氧气→二氧化碳+水
C. 葡萄糖→乳酸 D. 葡萄糖→乙醇+二氧化碳
3. 以蓝莓为原料进行天然发酵可以制作蓝莓酒,蓝莓酒继续发酵可产生蓝莓醋。图1-8是蓝莓酒和蓝莓醋制作的流程图。下列有关叙述正确的是()。

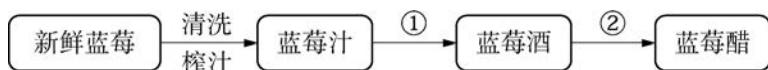


图1-8 蓝莓酒与蓝莓醋的制作流程图

- A. 过程①和②均需严格控制氧气 B. 过程①和②需控制相同的温度
C. 蓝莓汁需经高压灭菌后才能使用 D. 蓝莓醋可用“巴氏消毒法”消毒

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
实验操作	按照要求搭建果酒发酵装置，并将发酵瓶置于适宜条件下进行发酵，发酵期间进行放气操作	
	会测定酒精含量	
	按照要求搭建果醋发酵装置，并将发酵瓶置于适宜条件下进行发酵	
	会测定果醋的 pH	
实验结果	记录自制果酒的特征	
	设计表格记录果醋的特征	
实验心得	(本实验中,你认为实验成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·实验 1-5 酸奶的制作

19世纪,俄国科学家梅契尼可夫(I. I. Mechnikov)研究发现,保加利亚的很多百岁老人很喜欢吃一种用牛奶发酵而成的、味道酸酸的“小零食”。梅契尼可夫从中分离出了使牛奶变酸的乳酸菌,并指出该菌在人体的肠道内可以抑制有害菌的繁殖,从而逐渐引发人们对酸奶的关注。

实验目标

掌握酸奶的制作方法;了解微生物在生产实践中的应用。

实验原理

乳酸菌在发酵过程中产生乳酸,乳酸可以使牛奶中的蛋白质凝固,同时产生酸奶独特的风味物质。

材料器具

优质全脂奶粉或新鲜牛奶、蔗糖、新鲜优质酸奶或市售酸奶菌粉(含活菌)、250 mL 三角烧瓶、封口膜、恒温水浴锅、恒温培养箱、冰箱等。

实验步骤

- 原料配制:将12.0 g全脂奶粉和5.0 g蔗糖加入三角烧瓶中,再加96 mL蒸馏水;或在100 mL新鲜牛奶中加入5.0 g蔗糖,摇匀,用封口膜封好三角烧瓶的瓶口。
- 消毒:将上述三角烧瓶置于85~90 °C的恒温水浴锅中消毒15 min,注意要将瓶中液体部分完全浸没在热水中,并不时摇动。
- 冷却:将消毒好的三角烧瓶冷却至45 °C左右。
- 接种:开启封口膜,按约10%的体积比将新鲜酸奶作为菌种或按0.1%~1%的质量体积比将酸奶菌粉接入冷却后的原料中,充分搅匀,封好封口膜。

5. 保温：将接种后的原料置于40~42℃的恒温培养箱中保温4~6 h(具体时长视凝乳速度而定)，待凝固后从恒温培养箱中取出，停止发酵。

6. 后熟：已形成凝固态的酸奶在4℃左右的低温下保持12~24 h。

7. 感官评定：记录酸奶的色泽、组织状态、气味和滋味等特征。

小贴士

“后熟”可以抑制霉菌和酵母的生长，也可以抑制乳酸菌的生长，防止产酸过度。同时可以降低脂肪和乳清的析出速度，延长酸奶保质期。

实验结果

设计一个表格，用于记录自制酸奶的色泽、组织状态、气味和滋味等特征，并进行感官评定评分。

分析与讨论

1. 好的酸奶外观色泽均匀一致，呈乳白色，组织均匀细腻，无大块颗粒，具有酸奶特有的香味且酸甜可口。你制作的酸奶达到这个标准了吗？
2. 若酸奶发酵中污染了杂菌，酸奶会出现什么现象？
3. 制作酸奶时，可以不加糖吗？
4. 在我们的生活中，还有哪些食品具有和酸奶类似的生产制作工艺？

学业评价

1. 市场上销售的低温酸奶和常温酸奶在生产加工时,均需对鲜奶采用高温灭菌或巴氏消毒法杀菌。随后,在经过杀菌处理后的鲜奶中加入发酵菌种,制作成酸度适中的酸奶。前者需在低温下储藏、运输;后者再经过一次杀菌,常温下储藏、运输。
 - (1) 制作低温酸奶和常温酸奶时,为什么均需在发酵前进行杀菌?
 - (2) 比较低温酸奶和常温酸奶的制作工艺,分析低温酸奶对人体营养与健康的主要作用。
2. 乳酸菌是能够将碳水化合物转化为乳酸的一类细菌的总称。除酸奶制作外,下列食品生产过程中,也涉及乳酸菌发酵的有()。(多选)
A. 奶酪 B. 泡菜 C. 零添加酱油 D. 啤酒
3. 乳酸是一种在食品、医药、日用化工等领域中广泛应用的产品,工业上主要利用细菌发酵生产乳酸。为提高乳酸产率和提取效率,你会优先选择具有哪些特点的发酵菌种?()(多选)
A. 产酸迅速 B. 营养要求简单 C. 副产物少 D. 容易保存

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
实验操作	按比例要求配制原料	
	按照要求将盛有原料的三角烧瓶进行消毒并冷却	
	在无菌环境下完成接种	
	保温过程中注意观察并确定发酵终点	
	完成后熟操作	
实验结果	设计表格记录自制酸奶的特征	
实验心得	(本实验中,你认为实验成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·活动 1-6 虚拟仿真：发酵条件对微生物发酵的影响

酿酒酵母与工业生产和人们的日常生活密切相关，其广泛应用于食品、饲料、医药等领域。在实际生产中，酿酒酵母细胞的数量和活力是影响产品品质的关键因素。因此，需要通过增殖培养来获得足够数量、高活性的酵母细胞。通常用细胞干重来表示酵母细胞的数量，用细胞生长速率来表示酵母细胞的活性。

细胞生长速率用单位时间内细胞干重的增加来计算，公式如下：

$$r_x = \frac{\Delta x}{\Delta t}$$

其中， Δx 表示细胞干重的增加量； Δt 表示细胞培养时间。

在发酵过程中，温度、pH、营养物质的浓度等因素会影响微生物细胞的生长和代谢、产物的生成、发酵液的物理性质等。因此，采用适当的检测方法，掌握温度、pH、发酵液成分等引起的变化规律，可以使菌体生长和产物合成处于最佳状态。

活动目标

通过仿真实验，模拟调控酿酒酵母的发酵过程，了解葡萄糖浓度、温度、pH 这三种发酵条件对酿酒酵母生长的影响。

活动内容

1. 设定培养条件参数：启动仿真实验程序，点击“葡萄糖浓度(g/L)”，在下拉式菜单中选定一个葡萄糖浓度；点击“温度(℃)”，在下拉式菜单中选定一个培养温度；点击“pH”，在下拉式菜单中选定一个 pH。
2. 记录细胞干重：点击“下一步”后，在已设定培养参数下，屏幕会呈现相应酿酒酵母的生长曲线，记录细胞干重的最大值。
3. 尝试不同的培养参数组合：重复以上步骤，至少尝试 3 种葡萄糖浓度、3 种 pH 和 3 种温度，共 27 种组合条件下的细胞干重值，将数据记录至表 1-10。

结果记录

表 1-10 酿酒酵母发酵虚拟仿真数据记录表

培养条件参数	葡萄糖浓度(g/L)	温度(℃)	pH	培养所得细胞最大干重(g/L)
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				

分析与讨论

- 不同的葡萄糖浓度、温度和 pH 分别对酿酒酵母细胞生长速率产生了什么影响？
- 从本小组的实验数据中分析，若要获得酿酒酵母细胞干重的最大值，葡萄糖浓度、温度和 pH 的最优条件分别是什么？与其他小组的结论进行对照，结论是否一致？为什么？
- 除了仿真实验中的葡萄糖浓度、温度、pH 三个因素外，还有哪些因素与酿酒酵母细胞干重有关？

学业评价

- 发酵过程中需要检测各种参数，下列参数中可直接测量和控制的是（ ）。(多选)
A. 空气流量 B. 搅拌转速 C. 补料速度 D. 发酵液成分
- 研究者筛选到一株产生耐高温蛋白酶的菌株，在对该菌株进行发酵条件优化的研究过程中，获取了菌体重量、还原糖含量以及蛋白酶产量数据，如图 1-9 所示。图中曲线 S、X、P 分别表示 _____、_____、_____。

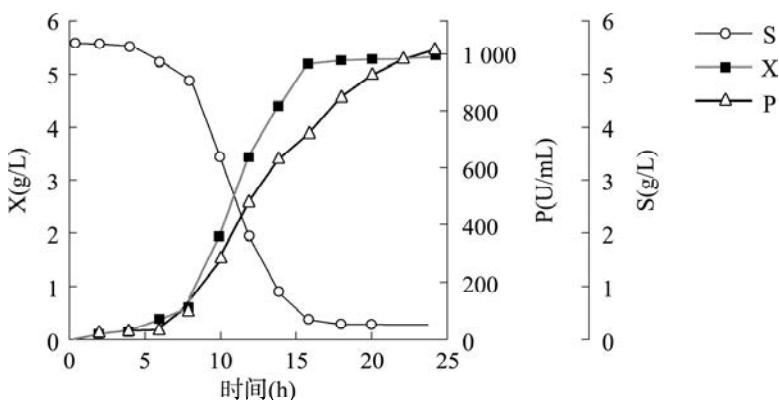


图 1-9 一株产生耐高温蛋白酶的菌株发酵过程中的实验数据

3. 在通气发酵过程中,会产生一定数量的泡沫,若对产生的泡沫不加以控制,会出现的现象有()。(多选)

- A. 菌体代谢异常
- B. 阻碍搅拌的正常进行
- C. 可能污染杂菌
- D. 气泡相互碰撞而破裂

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
活动过程	设置培养条件参数时,将参数设置为不同梯度,从而得出相对准确的结论	
	不同参数组合合理,从而得出相对准确的结论	
	如实记录活动数据	
活动结果	正确分析数据	
	根据数据得出合理的结论	
活动心得	(本活动中,你认为活动成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

第2章 细胞工程

探究·实验 2-1 月季的快速繁殖

将植物的茎尖或叶片等器官进行离体培养，在短时间内就可以获得大量遗传性状一致的植株，实现植物的快速繁殖。

实验目标

利用组织培养技术培育月季，掌握植物的快速繁殖技术。

实验原理

植物细胞具有全能性，在一定条件下可以经过脱分化和再分化形成完整的植株。

材料器具

月季当年生幼嫩枝条、培养瓶、超净工作台、剪刀、镊子、大烧杯、无菌培养皿、无菌滤纸、75%酒精、9%~10%(质量体积比)的次氯酸钙(即漂白粉)、无菌水、2.0 mg/L 6-BA(6-苄氨基嘌呤，一种细胞分裂素)、0.02 mg/L 和 0.05 mg/L NAA(萘乙酸，一种生长素类似物)、MS 培养基、营养土(蛭石：田园土=1:1)、0.1%(质量体积比)的多菌灵等。

实验步骤

1. 选材和消毒

(1) 选取枝条中具腋芽的月季嫩茎作为外植体。

(2) 外植体消毒：将外植体用自来水冲洗干净，分装到烧杯中，放到超净工作台上。加入 75% 酒精，预消毒 0.5~1 min；弃酒精，加入 9%~10% 的次氯酸钙，消毒 10 min；弃次氯酸钙溶液，加入无菌水清洗 4~5 次。取出外植体，用无菌滤纸吸尽多余水分备用。

2. 接种

- (1) 在超净工作台上，将外植体用无菌剪刀剪成 1~2 cm 带腋芽的茎段。
- (2) 用无菌镊子夹取外植体，插入装有 MS 培养基的锥形瓶中。每瓶接种 6~8 块外植体。
- (3) 接种后，用封口膜将培养瓶封口。

3. 培养

- (1) 诱导芽分化：待外植体长出腋芽后，将其转至芽分化培养基，置于培养间培养。每周更换培养基，约 5~6 周后，形成许多丛生芽。
- (2) 诱导生根：将上述丛生芽接种于生根培养基上，置于培养间培养。每周更换培养基，约 3 周后长出数条根，形成幼苗。

4. 移栽

- (1) 炼苗：采取放风、降温、适当控水等措施对幼苗进行锻炼 2~3 天。
- (2) 移苗：将幼苗移出锥形瓶，用自来水洗去幼苗根上黏附的培养基，栽植至营养土中，置于温度为 20℃，湿度为 85% 以上、适当遮阴且通风的环境中种植。
- (3) 定期用 0.1% 多菌灵喷雾保苗。

实验结果

在表 2-1 中统计外植体经组织培养并移栽后的成活率。

注意

次氯酸钙有一定腐蚀性，操作前后务必用肥皂洗净双手，多余试剂要专门回收，不能倒入下水道。

小贴士

- ① 接种是无菌操作，要防止微生物污染接种过程。
- ② 外植体插入培养基时，应注意方向，不能倒插。

小贴士

- ① 芽分化培养基：MS 培养基 + 2.0 mg/L 6 - BA + 0.02 mg/L NAA。
- ② 生根培养基：1/2 MS 培养基 + 0.05 mg/L NAA。
- ③ 培养间培养条件：光周期 12 h 光照 : 12 h 黑暗, 20℃, 湿度 85% 以上。

注意

多菌灵有一定毒性，喷施多菌灵时，需戴口罩、护目镜和手套，注意防护。操作前后务必用肥皂洗净双手。多余试剂要专门回收，不能倒入下水道。

表 2-1 外植体组织培养及移栽苗成活率

外植体(块)	试管苗(株)	移栽存活苗(株)	成活率(%)

分析与讨论

- 选取月季嫩茎作为外植体的理由是什么？
- 比较诱导芽分化和诱导生根的两种培养基中不同植物激素的添加比例，并分析其原因。
- 整理并分析影响月季组培苗移栽成活率的主要因素。

学业评价

- 在植物组织培养过程中，下列步骤需要无菌操作的是（ ）。
A. 外植体消毒 B. 诱导外植体脱分化
C. 试管苗移栽 D. 选取并清洗外植体
- 将外植体预消毒后，加入 9%~10% 的次氯酸钙，其目的是（ ）。
A. 消毒 B. 清洗外植体
C. 灭菌 D. 诱导芽分化

3. 在诱导芽分化及生根过程中,通常需要每周更换培养基,对此操作最合理的解释是()。
- A. MS 培养基中含有活细胞,其寿命是有限的
 - B. 防止微生物大量繁殖,消耗营养物质从而影响组织分化
 - C. 防止培养基中营养物质消耗和代谢废物堆积,影响组织分化
 - D. 培养基中植物激素的配比会发生变化,需更换培养基

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
实验操作	规范进行无菌操作	
	正确选择外植体	
	正确插入外植体	
	定期更换培养基	
	适时移栽试管苗	
实验结果	能定期观察并记录分化结果	
	能观察到芽分化	
	能观察到根分化	
	试管苗移栽成活	
实验心得	(本实验中,你认为实验成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·活动 2-2 收集单克隆抗体的应用实例

单克隆抗体已广泛应用于生物医学领域,其高度特异性可用于鉴定各种抗原,对多种疾病的诊断、治疗以及生理过程的检测具有重要价值。

活动目标

通过资料的收集和分享,了解更多单克隆抗体的应用实例,关注生物技术对人们生产、生活带来的变革。

活动内容

1. 通过书籍、网络的检索,收集如下内容:

- (1) 单克隆抗体在国内外医学检测和诊断中的应用实例;
- (2) 单克隆抗体在国内外疾病治疗中的应用实例。

要求:搜集并阅读文献不少于 6 篇,按序号列出文献的作者、文章名、期刊或书名、发表年份、页码等;对相关资料的主要内容进行整理,表 2-2 的形式供参考。

表 2-2 单克隆抗体应用实例汇总

用途	年份	研究者	主要工作及贡献
医学检测和诊断			
疾病治疗			

2. 以小组为活动单位,将收集的资料整理成海报,在学校或社区进行交流分享,宣传生物技术给人类生产、生活带来的变革。

活动报告

题目：_____

1. 引言(活动目的及相关原理)

2. 活动过程

3. 活动结果展示(单克隆抗体的应用实例汇总)

学业评价

1. 相对于血清抗体,单克隆抗体具有诸多优点,原因是()。

- A. 来源不同
- B. 杂交瘤细胞可以无限增殖
- C. 成分不同
- D. 只针对唯一抗原决定簇

2. 单克隆抗体技术在疾病诊断和治疗以及生命科学的研究中具有广泛的应用。下列关于单克隆抗体的叙述,错误的是()。
- A. 特异性强、灵敏度高
 - B. 与抗癌药物结合,可进行靶向性治疗
 - C. 体外培养B淋巴细胞可大量分泌单克隆抗体
 - D. 由浆细胞与骨髓瘤细胞融合而成的杂交瘤细胞分泌
3. 单克隆抗体在疾病的诊断、治疗等众多方面有重要的应用价值,下列不属于其应用范畴的是()。
- A. 机体微量成分(如某种激素)的检出
 - B. 针对不同病原体的表面抗原差异,诊断病原体的类型
 - C. 与化疗药物结合,直接杀伤靶细胞,降低对健康组织与细胞的伤害
 - D. 根据其灵敏度高的特点,使用某单克隆抗体检测靶细胞膜所有抗原类型
4. 结合实例,比较并分析单克隆抗体相对于传统血清抗体的优势。

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
活动过程	正确选用检索资源	
	利用资源收集单克隆抗体的应用实例	
活动结果	能对相关应用实例进行归纳和概括	
	能制作海报进行分享和交流	
活动心得	(通过此次活动,你对单克隆抗体的应用有何新的认识?还有哪些疑问?)	
教师点评		

第3章 基因工程

探究·建模 3-1 模拟限制性内切核酸酶的切割作用

限制性内切核酸酶是一种能识别双链DNA特定序列、并断裂识别序列内部或两侧相邻两个脱氧核苷酸之间化学键的酶。不同限制性内切核酸酶的识别序列不同。

建模目标

构建具有限制性内切核酸酶识别序列的DNA双链模型，模拟限制性内切核酸酶在特定位点的切割作用，更直观地认识限制性内切核酸酶的功能。

建模材料

材料选择1：A4纸、剪刀、笔。

材料选择2：用于DNA分子模型搭建的模型组件(包括脱氧核糖、磷酸基团和4种碱基等)。

参考步骤

步骤	材料1的建模过程	材料2的建模过程
1	将A4纸剪成4cm×10cm的长条，在纸条上写出一个识别序列	用模型组件搭建一个识别序列的DNA片段模型
2	用剪刀模拟限制性内切核酸酶识别并切割相应化学键	模拟限制性内切核酸酶识别并切割相应化学键，将模型组件拆下
3	将识别序列断开	
4	(1)记录限制性内切核酸酶的名称和识别序列，用箭头指出切割的化学键； (2)记录限制性内切核酸酶切割后的黏性末端	

附：几种限制性内切核酸酶及其识别序列、切割位点：

$Eco\text{RI}$ ($5'-\text{GAATTC}-3'$)、 $Bgl\text{II}$ ($5'-\text{AGATCT}-3'$)、 $Bam\text{HI}$ ($5'-\text{GGATCC}-3'$)、
 $Mbo\text{I}$ ($5'-\text{GATC}-3'$)、 $Sal\text{I}$ ($5'-\text{GTCGAC}-3'$)、 $Acc\text{I}$ ($5'-\text{GTCTGAC}-3'$)、 $Hinc\text{II}$
($5'-\text{GTCGAC}-3'$)

建模结果

限制性内切核酸酶_____

识别序列：

酶切结果：

(粘贴或绘制建模结果)

分析与讨论

1. $Eco\text{RI}$ 只能切割 G 与 A 之间的化学键,要把该 DNA 片段切割为两部分,还需要破坏什么键? 什么因素可以破坏这个键? 结合 DNA 的分子结构谈谈你的看法。

2. 思考并解释这个键是如何断裂的?

3. 尝试总结用限制性内切核酸酶从 DNA 上切下某个特定区域需要满足什么条件?

学业评价

1. 限制性内切核酸酶 *Sal*I 的识别序列是 5'-GTCGAC-3', 其切割的化学键是图 3-1 中的 ()。

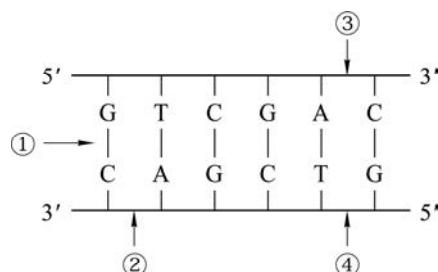
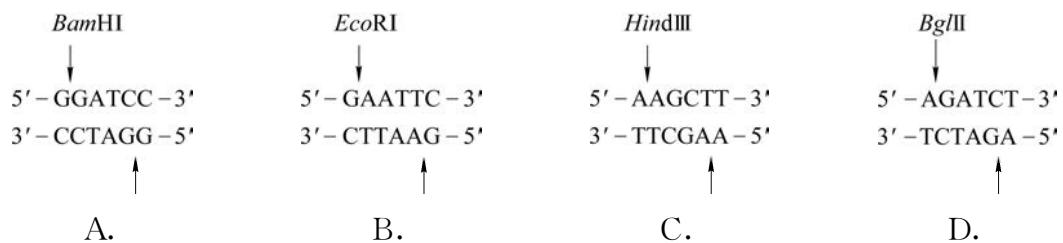


图 3-1 限制性内切核酸酶 *Sal*I 的识别序列

- A. ① B. ② C. ③ D. ④
2. 图 3-2 是基因工程中目的基因一端, 可切割得到该黏性末端的限制性内切核酸酶是 ()。



图 3-2 目的基因黏性末端



3. 若要用限制性内切核酸酶从以下 DNA 片段中切下目的基因, 不能用来切割该目的基因的酶是()。



图 3-3 DNA 片段

- A. *Bam* HI B. *Hind* III C. *Eco* RI D. *Pst* I

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
建模过程	合理选用建模材料	
	小组成员分工合作, 建模过程顺利	
建模结果	正确表示限制性内切核酸酶的切割作用	
	构建的模型达到了预期的效果	
建模心得	(本次建模中, 你认为关键步骤是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·实验 3-2 DNA 的提取和鉴定

DNA 主要存在于动、植物细胞的细胞核内,往往与蛋白质结合,形成染色质。从细胞中有效分离和鉴定 DNA 用于克隆目的基因是基因工程产业化应用的前提。那么,如何提取 DNA,又如何鉴定提取的物质是 DNA 呢?

实验目标

在了解细胞内生物大分子组成和性质的基础上,掌握 DNA 提取和鉴定的实验原理,熟悉各步实验操作程序。

实验原理

在一定浓度的乙醇或异丙醇溶液中,DNA 溶解度下降,可沉淀形成纤维状絮团,飘浮其中。DNA 大分子的脱氧核糖在酸性条件下加热,能与二苯胺发生反应,生成蓝色化合物。

材料器具

哺乳动物肝脏、10%(质量体积比)十二烷基硫酸钠(SDS)、NaCl、乙醇、蒸馏水、二苯胺试剂(质量体积比为 1% 的冰醋酸溶液)、50 mL 离心管、漏斗、10 mL 量筒、移液管、解剖刀、玻璃棒、试管、试管架、手套、天平、纸巾、培养皿、纱布等。

实验步骤

一、DNA 的提取和分离

1. 配制 50 mL 生理盐水: 取 50 mL 离心管,将 0.45 g NaCl 溶解到 50 mL 蒸馏水中,备用。
2. 取另外一支 50 mL 离心管,装入 10 mL 乙醇,盖上管盖,放置冰箱冷藏。
3. 用解剖刀将肝脏样品切成小块,取一药匙肝脏样品放入培养皿中。
4. 培养皿中放入 10 mL 生理盐水,用药匙碾压、磨碎肝脏样品,使其在生理盐水中产生

悬浮的肝脏细胞。

5. 在试管架上放置一支试管，再在试管上放置一支漏斗，将纱布折成四层，放入漏斗中形成过滤装置。将肝脏悬浮液倒入漏斗，经纱布过滤，收集肝细胞悬浮液。
6. 用移液管取 0.5 mL 十二烷基硫酸钠 (SDS) 至肝细胞悬浮液试管中，轻轻晃动，混合溶液。
7. 用移液管移取约 4 mL 肝细胞悬浮液到另一支试管中。
8. 握住试管，使其微微倾斜，缓缓加入已预冷的 8 mL 乙醇。
9. 将试管放到试管架上，观察肝细胞悬浮液和乙醇混合液的接触面。在乙醇混合液的接触面上会慢慢形成白色絮状物质，这种物质就是溶液中析出的 DNA。
10. 缓缓将玻璃棒伸入试管，当玻璃棒穿过 DNA 层时，轻轻转动玻璃棒，使析出的 DNA 缠绕在玻璃棒上。

二、DNA 的鉴定

1. 将上述缠绕在玻璃棒上的 DNA 样品放入 3 mL 蒸馏水中，加热 15 min，促进 DNA 溶解。
2. 取上述 DNA 溶液 1 mL 于试管中，加入 2 mL 二苯胺试剂，混匀。另取一支试管，加入 1 mL 蒸馏水和 2 mL 二苯胺试剂，于 60 °C 加热 15 min，作为 DNA 鉴定的空白对照。
3. 上述混合液于 60 °C 加热 15 min，观察并记录实验结果。

实验结果

1. 经提取和分离后，获得的 DNA 颜色是_____。
2. 经鉴定，混合液的颜色由_____色变为_____色，说明溶液中含有 DNA。

分析与讨论

1. 乙醇为什么要冷却？
2. 在本实验中，SDS 的作用是什么？
3. 如果提取得到的 DNA 样品中混有 RNA 和蛋白质杂质，这些杂质会与二苯胺试剂反应吗？为什么？

△ 注意

使用 SDS 和二苯胺试剂时应佩戴手套，注意避免试剂接触皮肤等部位，实验后及时用肥皂洗净双手。

小贴士

转动玻璃棒时应沿着一个方向转动，动作要轻缓，以获得完整的 DNA 分子。

学业评价

1. 下列关于“DNA 的提取和鉴定”实验,叙述正确的是()。
 - A. 乙醇可以与水以任意比例混合,因此可选择任意浓度的乙醇
 - B. 将肝脏细胞放入纯水中让细胞涨破可代替 SDS 溶液
 - C. 将 DNA 缠绕在玻璃棒时只能朝同一个方向,否则 DNA 容易断裂
 - D. 鉴定 DNA 时,应将丝状物直接加入二苯胺试剂中进行沸水浴
2. 有同学认为直接采用猪血提取 DNA 可以减少磨碎、过滤等步骤。实验后发现,没有絮状物缠绕在玻璃棒上,最可能的原因是()。
 - A. 乙醇没有预冷导致 DNA 无法沉淀
 - B. 哺乳动物的红细胞不含 DNA,无法用于 DNA 提取
 - C. SDS 溶液浓度过低,细胞的膜结构没有被完全破坏
 - D. 用玻璃棒搅拌时用力过大导致 DNA 断裂
3. 使用植物材料进行 DNA 粗提取时,往往需要采用研磨等机械方法。与此有关的植物细胞结构是()。
 - A. 细胞壁
 - B. 液泡
 - C. 叶绿体
 - D. 细胞核

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
实验操作	按步骤完成 DNA 提取和分离	
	按步骤完成 DNA 鉴定	
实验结果	得到 DNA 粗提取物	
	鉴定 DNA 的显色结果明显	
实验心得	(本实验中,你认为实验成功的关键点是什么? 你有哪些收获,还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·实验 3-3 PCR 扩增 DNA 的原理和操作

你还记得体内 DNA 是如何复制的吗？PCR(聚合酶链式反应)类似于 DNA 的天然复制过程，是现代分子生物学常用的技术之一，能快速、特异性地在体外扩增目的 DNA。

实验目标

在掌握 PCR 扩增技术工作原理的基础上，熟悉 PCR 所需的试剂、操作条件和仪器使用。

实验原理

PCR 是体外合成特定 DNA 片段的一种方法，变性、退火、聚合三步基本程序组成一个循环，通过多次循环反应使目的 DNA 得以迅速扩增。

材料器具

PCR 扩增仪、移液器、PCR 管、PCR 体系等。PCR 体系由 DNA 模板、目的基因特异性引物、反应缓冲液($10\times$ PCR buffer)、 2 mmol/L 脱氧核苷三磷酸底物 dNTPmix(dATP、dCTP、dGTP、dTTP 各 2 mmol/L)、耐热 DNA 聚合酶(Taq 酶)、双蒸水(ddH₂O)构成。

实验步骤

表 3-1 PCR 体系配方

- 在冰浴中按表 3-1 中的次序加样，将各成分加入 0.2 mL 无菌 PCR 管中。

成分	含量
反应缓冲液	$5\mu\text{L}$
dNTP mix(2 mmol/L)	$4\mu\text{L}$
引物 1($10\mu\text{mol/L}$)	$2\mu\text{L}$
引物 2($10\mu\text{mol/L}$)	$2\mu\text{L}$
耐热 DNA 聚合酶($2\text{ U}/\mu\text{L}$)	$1\mu\text{L}$
DNA 模板($10\text{ pg}/\mu\text{L}\sim 1\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	$1\mu\text{L}$
双蒸水	补至 $50\mu\text{L}$

2. 将上述混合液瞬时离心 10 s, 立即置于 PCR 扩增仪中执行扩增。PCR 参数一般设置如下：95 ℃预变性 3~5 min, 进入循环扩增阶段：95 ℃ 40 s→68 ℃ 30 s→75 ℃ 60 s, 循环 30~35 次, 最后在 75 ℃保温 7 min。

3. 结束反应, PCR 产物放置于 4 ℃保存, 待电泳检测(探究 · 实验 3~5)或 -20 ℃长期保存。

实验结果

请根据探究 · 实验 3~5 的电泳结果, 绘制或拍照保存实验结果图像, 并据此判断实验是否成功。若实验失败, 请分析原因。

分析与讨论

1. 添加各种反应试剂时, 为什么要在冰浴中?

2. PCR 和体内 DNA 复制有什么异同点?

学业评价

1. PCR 的基本步骤包括变性、退火、聚合, 下列叙述错误的是()。
- A. 变性的目的是使双链 DNA 的磷酸二酯键断开
 - B. 退火过程中引物“搭在”DNA 模板上配对遵循碱基互补配对原则
 - C. 聚合的温度是 PCR 使用的 DNA 聚合酶最适温度
 - D. PCR 的全过程通过 PCR 扩增仪自动控制温度变化完成

2. 在进行 PCR 操作时,如果枪头没有经过灭菌处理,最可能影响的是()。
- A. 循环的速度 B. DNA 分子纯度
C. DNA 分子大小 D. DNA 聚合酶的催化活性
3. PCR 是需要 DNA 模板、引物、4 种脱氧核苷三磷酸和缓冲液系统存在的条件下依赖于 DNA 聚合酶的酶促反应。决定 PCR 特异性的是()。
- A. Mg²⁺ 浓度 B. 引物的长度
C. 4 种脱氧核苷三磷酸的数量 D. DNA 聚合酶的量
4. 关于 PCR 和细胞内的 DNA 复制的比较,下列叙述错误的是()。
- A. 都以半保留复制的方式进行
B. 都以脱氧核苷三磷酸为原料
C. PCR 所用的 DNA 聚合酶更耐高温
D. PCR 通过高温提供聚合 DNA 链的能量

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
实验操作	按顺序添加 PCR 体系的各种成分	
	规范使用移液器加样	
	正确设定 PCR 扩增仪相关参数	
实验心得	(本实验中,你认为实验成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·建模 3-4 模拟 DNA 分子重组

通过 PCR 获得的目的基因是如何与载体拼接形成重组 DNA 分子的？拼接的结果有几种可能性？应该如何选择限制性内切核酸酶？让我们通过模型把这个过程模拟出来。

建模目标

模拟重组 DNA 分子(即表达载体)的构建。

材料器具

白纸、胶带、红色和绿色 A4 纸、剪刀。

建模步骤

1. 将红色 A4 纸剪成 $3\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ 的长条，代表目的基因。在纸条两侧写上图 3-4 中限制性内切核酸酶 *Bam* HI 的识别序列。

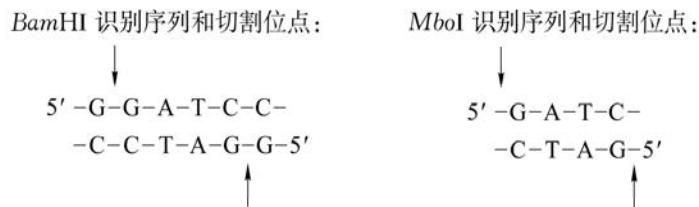


图 3-4 *Bam* HI 和 *Mbo* I 两种限制性内切核酸酶的识别序列和切割位点

2. 将绿色 A4 纸剪下 $3\text{ cm} \times 28\text{ cm}$ 的长条，并粘成圆环，代表质粒载体。在圆环上两处分别写上图 3-4 中 *Bam* HI 和 *Mbo* I 识别序列。
3. 按照 *Bam* HI 和 *Mbo* I 的切割位点，将上述目的基因两侧及质粒都用剪刀剪开。
4. 将配对的黏性末端用胶带粘在一起，使目的基因插入质粒中，构成重组 DNA 分子。

建模结果

(建模结果粘贴处)

分析与讨论

1. 观察切开的目的基因和质粒,其黏性末端有何特点?
2. 切开的目的基因和质粒能够连接的原因是什么?
3. 与小组同学比较并讨论连接结果,这个结果是唯一的吗?
4. 若目的基因用 *Bam* HI 切开,但质粒用 *Mbo* I 切开。两种 DNA 混合连接后,含载体的 DNA 分子共有哪几种类型? 重组 DNA 分子中目的基因两侧还存在 *Bam* HI 或 *Mbo* I 的识别序列吗? 这一结果意味着什么?

学业评价

1. 图 3-5 是通过 PCR 获得的目的基因片段,拟将编码蛋白质 H 的基因插入质粒 pZHY1

中构建重组 DNA 分子 pZHY2。已知在 pZHY1 上存在 *Eco* RI(5'-GAATTC-3')、
Bam HI(5'-GGATCC-3')、*Kpn* I(5'-GGTACC-3')、*Xba* I(5'-TCTAGA-3')4 种限制性内切核酸酶的识别序列,则应选用的酶切组合是()。(多选)

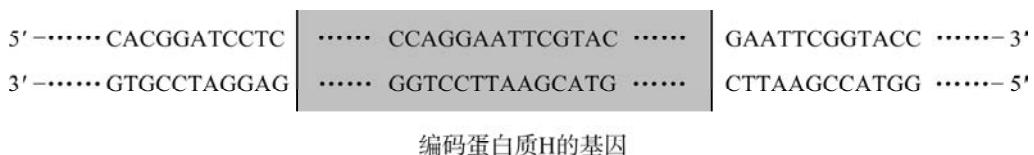


图 3-5 通过 PCR 获得的目的基因片段

- A. *Eco* RI B. *Bam* HI C. *Kpn* I D. *Xba* I

2. 如图 3-6,若要利用某目的基因(甲)和 P1 噬菌体载体(乙)构建重组 DNA(丙),限制性内

切核酸酶的酶切位点分别是 *Bgl* II(5'-AGATCT-3')、*Eco* RI(5'-GAATTC-3')和
Sau 3AI(5'-GATC-3'),则应采取的酶切策略是()。

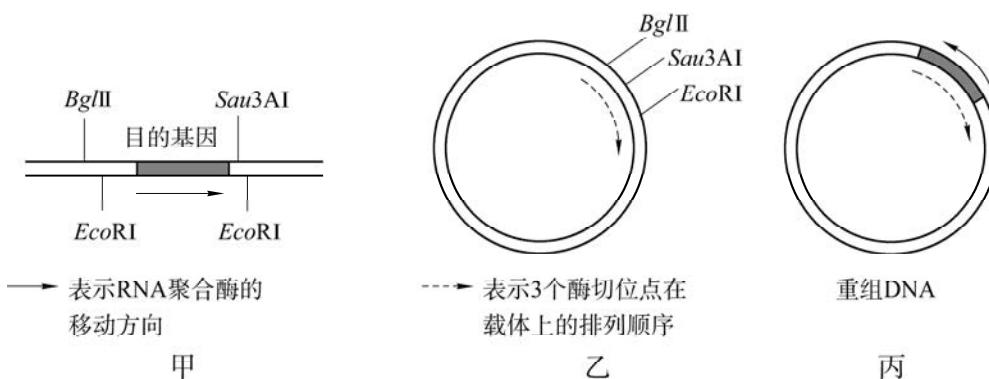


图 3-6 构建重组 DNA 过程

- A. 用 *Eco* RI 切割目的基因和 P1 噬菌体载体
B. 用 *Bgl* II 和 *Eco* RI 切割目的基因和 P1 噬菌体载体
C. 用 *Bgl* II 和 *Sau* 3AI 切割目的基因和 P1 噬菌体载体
D. 用 *Eco* RI 和 *Sau* 3AI 切割目的基因和 P1 噬菌体载体
3. 如图 3-7,质粒 pZH9 上含有 X 抗生素抗性基因(X^R)和 Y 抗生素抗性基因(Y^R)。其中 X^R 内部含有限制性内切核酸酶 *Kas* I 识别序列, Y^R 内部含有限制性内切核酸酶 *Fse* I、
Hpa II、*Nae* I、*Ngo* MIV 识别序列,五种酶的识别序列如图乙(↓ 表示切割位点),且这些

识别序列在整个质粒上均仅有一处,目的基因内部不存在这些识别序列。

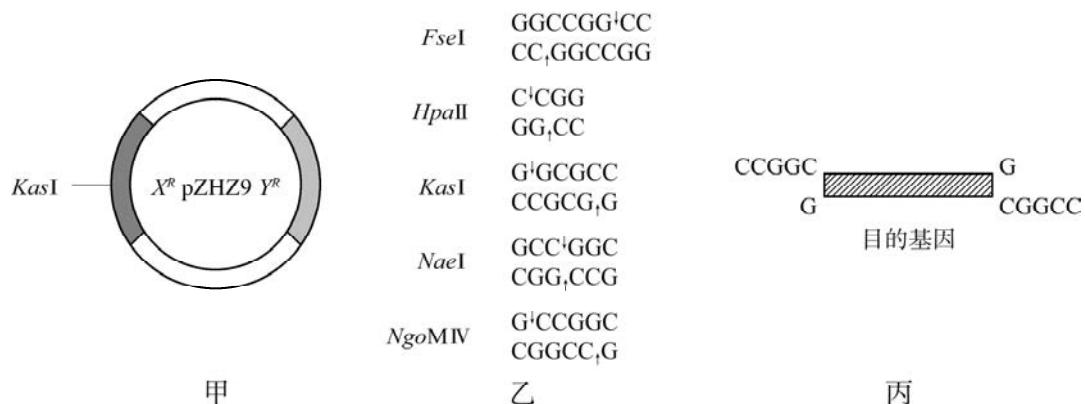


图 3-7 重组质粒形成过程

- (1) 若要将丙图所示的目的基因直接插入 Y^R 内形成重组质粒 pHZ10, 则 pHZ9 需用限制性内切核酸酶 _____ 切开。
- (2) 若用 $KasI$ 和 $FseI$ 联合酶切重组质粒 pHZ10(只含单个目的基因), 则可能产生的酶切片段数为()。(多选)
- A. 1 B. 2 C. 3 D. 4

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
建模过程	合理使用建模材料, 建模过程顺利	
	小组合作愉快, 效率高	
建模结果	正确构建目的基因、质粒和重组 DNA 分子模型	
	构建的模型达到了预期的效果	
建模心得	(本次建模中, 你认为关键步骤是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·实验 3-5 PCR 扩增产物的凝胶电泳鉴定

琼脂糖凝胶电泳是一种简便、快速、常用的鉴定和分离纯化核酸的方法，可以判断 PCR 反应扩增产物的有无及大小。你想知道探究·实验 3-3 获得的 PCR 产物是否为特异性扩增吗？接下来让我们通过实验来验证。

实验目标

- 了解琼脂糖凝胶电泳的工作原理。
- 熟悉 DNA 琼脂糖凝胶电泳的基本操作。

实验原理

由于核苷酸的磷酸基团使 DNA 片段带负电荷，所以电泳开始前应将负电极插在胶模板上靠近 DNA 样品的一端，将正电极插在另一端。通电后，DNA 片段会通过凝胶向正极方向“泳动”。凝胶电泳主要根据核酸分子的大小和结构将它们分离开来。

材料器具

探究·实验 3-3 中获得的 PCR 扩增产物、Tris 碱、冰醋酸、琼脂糖、 $5\times$ 上样缓冲液(市购)、移液器、1.5 mL 离心管、微波炉、电泳梳、胶模板、电泳槽、电泳仪、紫外灯(或核酸蛋白检测仪)等。

实验步骤

- 按表 3-2 配方配制 $50\times$ TAE 电泳缓冲液。
- 将上述 $50\times$ TAE 电泳缓冲液稀释 50 倍(即 $1\times$ TAE)，用 $1\times$ TAE 电泳缓冲液配制 50 mL 浓度为 0.7% (质量体积比) 的琼脂糖悬浮液，在微波炉中加热至琼脂糖溶解(溶液澄清)。

表 3-2 $50\times$ TAE 电泳缓冲液配方

成分	含量
0.5 mol/L EDTA(pH=8.0)	100 mL
Tris 碱	242.0 g
冰醋酸	57.1 mL
蒸馏水	补至 1 L

3. 待琼脂糖溶液冷却至 50 °C 左右, 倒入已放置了电泳梳的胶模板中, 凝胶厚度为 3~5 mm。
4. 待琼脂糖凝胶完全凝固后, 将凝胶连同胶模板一起放入盛有 1×TAE 电泳缓冲液的电泳槽中, 使电泳缓冲液没过凝胶约 1 mm, 然后轻轻拔去电泳梳。
5. 将 PCR 扩增产物溶液(即 DNA 样品)与 5×上样缓冲液按 4:1 比例混匀后, 用移液器取 3~10 μL(体积视 DNA 浓度而定)的上述混合液, 缓缓加入琼脂糖凝胶的样品槽内。
6. 盖上电泳槽后通电, 电压为 80~100 V, 使 DNA 向正极泳动。
7. 当上样缓冲液中的蓝色染料泳动至琼脂糖凝胶全长的三分之二时, 切断电源, 取出凝胶, 在紫外灯(或核酸蛋白检测仪)下观察 DNA 电泳条带。

小贴士

加样时, 用左手托住右手可以稳定移液器, 将吸头垂直插入样品槽(注意不触碰样品槽), 缓慢加入混合液, 使样品沉积在样品槽底部, 然后轻轻将吸头移出。

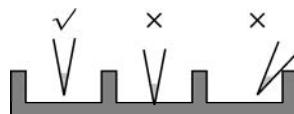


图 3-8 PCR 扩增产物
加样示意图

实验结果

(绘制电泳结果简图, 标出样品槽和电泳槽正负极)

分析与讨论

1. DNA 的什么性质导致其能在凝胶中泳动?
2. 利用凝胶电泳技术能测定特定基因中的碱基序列和基因在染色体 DNA 中的准确位置吗?

3. 如何才能比较准确地测定目的基因的长度?

学业评价

1. 利用琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物时,分子量越大的产物()。
A. 泳动距离较长,泳动速度较快 B. 泳动距离较长,泳动速度较慢
C. 泳动距离较短,泳动速度较快 D. 泳动距离较短,泳动速度较慢
2. 在琼脂糖凝胶电泳时,核酸的移动方向是()。
A. 正极向负极 B. 负极向正极
C. 浓度高向浓度低 D. 浓度低向浓度高
3. 关于琼脂糖凝胶电泳的操作,叙述正确的是()。
A. 配制琼脂糖悬浮液时,琼脂糖浓度越高分离效果越好
B. 琼脂糖凝胶凝固后,拔去电泳梳,再放入电泳槽
C. 加样品和上样缓冲液的混合液时,应缓缓加入样品槽内
D. 蓝色染料泳动至凝胶全长 2/3 时,可直接观察 DNA 电泳条带

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
实验操作	按要求制备琼脂糖凝胶,正确放置胶模板	
	规范使用移液器混合样品和上样缓冲液,加样动作规范	
实验结果	DNA 电泳条带清晰	
实验心得	(本实验中,你认为实验成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

第4章 生物技术安全与伦理

探究·活动 4-1 辩论：转基因食品是否安全？

1993年，经济合作与发展组织(OECD)首次提出了转基因食品的实质等同性原则，即如果某个新食品或食品成分与现有的食品或食品成分大体相同，那么它们是同等安全的。那么，转基因食品是否安全呢？

活动目标

运用批判性思维，辩证地看待转基因食品的安全性。

活动内容

1. 收集不同国家和地区的转基因生物研发和安全评估、法规、政策、科研单位实验数据，以及转基因食品的销售情况等资料，开展辩论。
2. 也可进行角色扮演，通过扮演政府官员、科学家、转基因食品供应商、消费者以及新闻媒体等角色，从各自角度出发，表达其立场。

活动报告

题目：_____

1. 活动简介

2. 分析与讨论

(1) 在活动中,你运用了批判性思维中的哪些技能,是否达到了目标?

(2) 本次活动后,你觉得应该如何向家人或公众介绍转基因食品?

学业评价

1. 转基因生物的安全性引起人们争议的技术原因是()。

- ① 外源基因的功能往往未知 ② 外源基因插入宿主基因组的部位往往是随机的
③ 外源基因的结构往往未知 ④ 外源基因往往是异种生物的基因
- A. ①② B. ③④ C. ①③ D. ②④

2. 下列关于转基因植物的叙述,正确的是()。(多选)

- A. 种植转基因作物有可能因基因扩散而影响野生植物的遗传多样性
B. 转基因食品的外源基因产生的异种蛋白质可能引起食物过敏
C. 因存在生殖隔离,转基因作物可以与传统农作物间隔或混合种植
D. 转基因作物的外源基因本身来自自然界,不存在基因污染的问题

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
活动过程	充分搜集资料,了解转基因食品的信息	
	积极参与辩论或角色扮演	
	运用数据、事实等证据阐明观点	
	在活动中主动合作,善于沟通	
活动结果	学会并运用批判性思维中的技能	
	充分论证转基因食品在生产和生活中应用所产生的效益和风险	
活动心得	(本活动中,你认为活动成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

探究·活动 4-2 讨论：你是否支持设计试管婴儿？

试管婴儿技术是一种体外受精—胚胎移植技术。目前，已从第一代的经典法、第二代单精子显微注射法，发展到第三代植入前胚胎遗传学诊断筛查法。第三代技术可对体外受精发育的胚胎逐个进行基因分析，并筛选出一个没有遗传缺陷的胚胎移植到母亲体内。试管婴儿技术的应用，使得生育与性行为分离，传统家庭模式面临解体，部分人甚至把这一技术当做延迟生育的“保险”。此外，多余胚胎如何处理、试管婴儿的代孕问题等也引发巨大伦理争论。为规范试管婴儿技术的应用，我国颁布的《人类辅助生殖技术管理办法》等配套管理文件中，对试管婴儿技术及其实施机构、实施技术的规范管理也加以明确。

活动目标

了解设计试管婴儿的技术；客观评价设计试管婴儿技术及其应用。

活动内容

1. 阅读以下案例并搜集关于设计试管婴儿的资料。

案例 1：2008 年，英国医生为一名 27 岁携带乳腺癌基因的不孕妇女进行胚胎筛选，在 15 个胚胎中找到 2 个不含有致癌基因的健康胚胎，再将之植入母体子宫。

案例 2：2012 年 6 月 29 日，中国首例设计试管婴儿诞生。婴儿的父母均为地中海贫血基因的携带者，已育有一个重度地中海贫血症的女儿。为了拥有一个健康的孩子，婴儿的母亲通过试管婴儿技术受孕，并在胚胎植入手内之前进行遗传学诊断，挑选出一个不携带地中海贫血基因的胚胎。

案例 3：2016 年，“三亲婴儿”哈桑在英国诞生。由于哈桑母亲的线粒体 DNA 上携带致病基因，因此，医生取母亲的卵细胞核和父亲的精子，以及另一位女性捐赠者的去核卵细胞，孕育出“三亲”的哈桑（图 4-1）。

2. 小组讨论，基于资料表达自己的观点，并阐述理由。

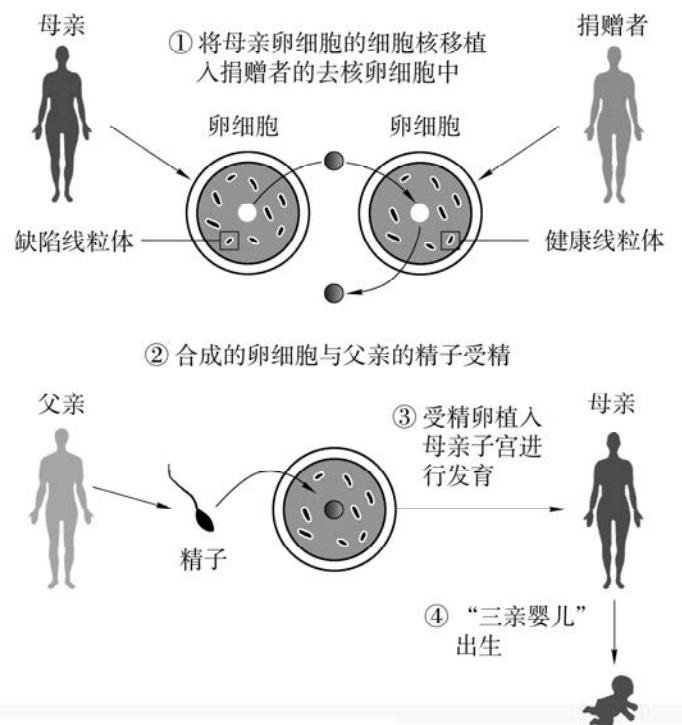


图 4-1 “三亲婴儿”的诞生过程示意图

结果与讨论

1. 我的观点是：
2. 在搜集的资料中,用于支持我观点的证据有：
3. 讨论后,有哪些新的收获?

学业评价

1. 试管婴儿的诞生所运用到的生物技术有()。(多选)
A. 体外受精技术 B. 干细胞技术
C. 胚胎移植技术 D. 细胞核移植技术
2. “设计试管婴儿”与普通试管婴儿的区别在于,前者的胚胎在植入前需()。
A. 进行分割 B. 分离出干细胞 C. 进行克隆 D. 遗传学诊断

自我评价

评价内容		达成情况 (A. 非常满意 B. 满意 C. 还需努力)
活动过程	充分搜集资料,了解设计试管婴儿的事例	
	表明自己的观点	
	合理运用资料信息等证据阐释观点	
活动结果	有理有据地阐述了自己的观点	
活动心得	(本活动中,你认为活动成功的关键点是什么? 你有哪些收获? 还有哪些疑问?)	
教师点评		

说 明

本书根据教育部颁布的《普通高中生物学课程标准(2017年版2020年修订)》和高中生物学教科书编写,经上海市中小学教材审查委员会审查准予使用。

编写过程中,上海市中小学(幼儿园)课程改革委员会专家工作委员会,上海市教育委员会教学研究室,上海市课程方案教育教学研究基地、上海市心理教育教学研究基地、上海市基础教育教材建设研究基地、上海市生命科学教育教学研究基地(上海高校“立德树人”人文社会科学重点研究基地)及基地所在单位华东师范大学给予了大力支持。华东师范大学生命科学学院张伟、罗钊为本书实验设计提供了帮助,还有许多学科专家、教育专家、教研人员及一线教师给我们提出了宝贵意见和建议,感谢所有对教材编写、出版提供帮助与支持的同仁和各界朋友!

欢迎广大师生来电来函指出书中的差错和不足,提出宝贵意见。出版社电话:021-64848025。

声明 按照《中华人民共和国著作权法》第二十五条有关规定,我们已尽量寻找著作权人支付报酬。著作权人如有关于支付报酬事宜可及时与出版社联系。

本书部分图片由视觉中国等提供。

经上海市中小学教材审查委员会审查
准予使用 准用号 II- GB-2022029



绿色印刷产品

ISBN 978-7-5478-5982-7

9 787547 859827 >

定价：4.05 元