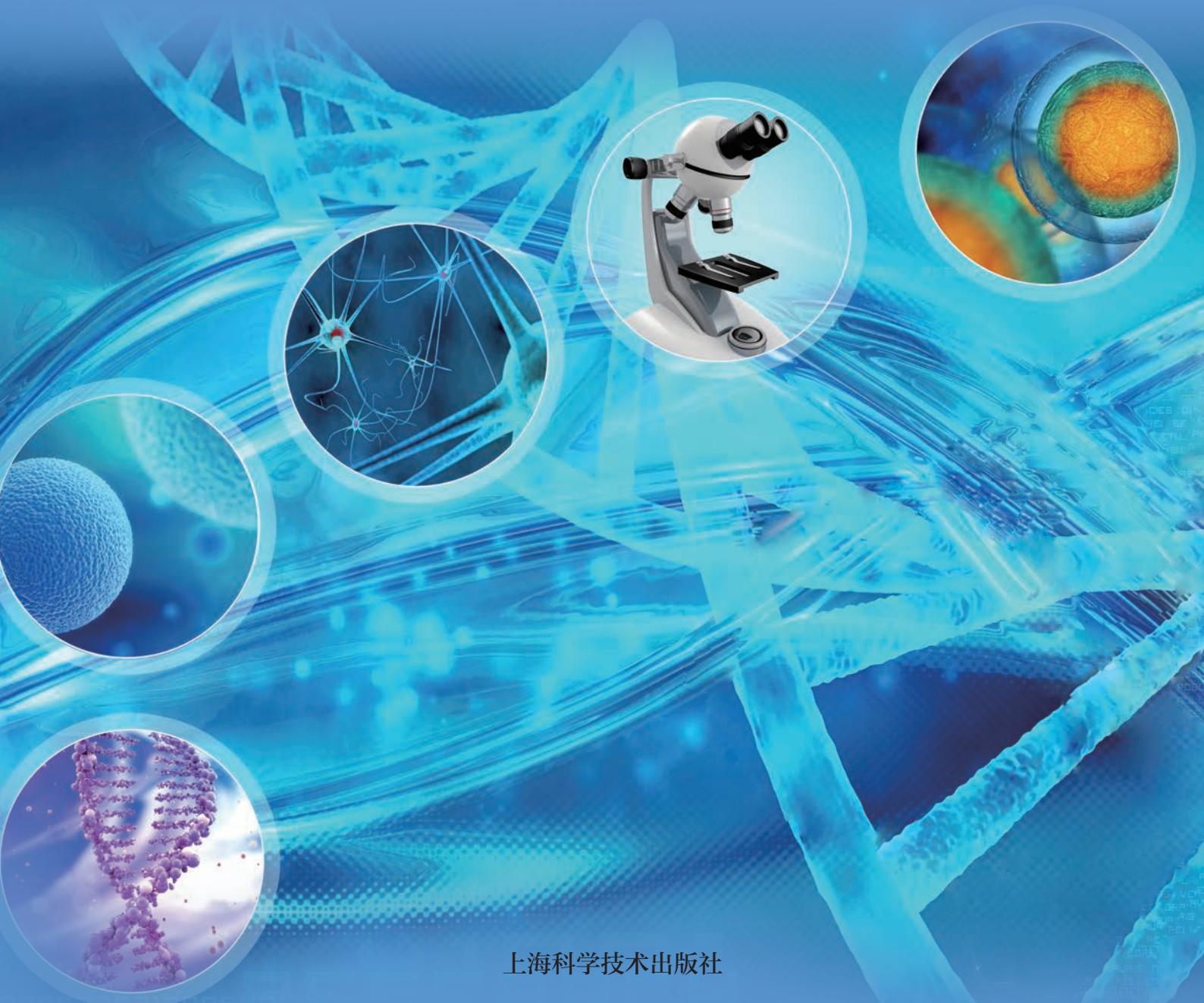


普通高中

# 生物学

## 教学参考资料

选择性必修 3 生物技术与工程



上海科学技术出版社

普通高中

生 物 学  
教学参考资料

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 徐 循 鲍晓云

图书在版编目（C I P）数据

普通高中生物学教学参考资料·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；赵云龙，周忠良主编。-- 上海：上海科学技术出版社，2023.1（2025.8重印）

ISBN 978-7-5478-6024-3

I. ①普… II. ①上… ②赵… ③周… III. ①生物课—高中—教学参考资料 IV. ①G634.913

中国版本图书馆CIP数据核字(2022)第225138号

责任编辑：杨 硕 吴 玥

封面设计：蒋雪静

普通高中 生物学教学参考资料 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8月第5次

开 本 890毫米×1240毫米 1/16

印 张 8

字 数 171千字

书 号 ISBN 978-7-5478-6024-3 / G · 1146

定 价 24.00元

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

# 目 录

## 第1章 发酵工程 / 1

- 第1节 获得纯种微生物是发酵工程的基础 / 6
- 第2节 发酵工程为人类提供多样化生物产品 / 16

## 第2章 细胞工程 / 24

- 第1节 利用植物细胞工程培育新植株 / 29
- 第2节 利用动物细胞工程改良动物细胞 / 34
- 第3节 利用胚胎工程快速繁育优良动物品种 / 45

## 第3章 基因工程 / 49

- 第1节 基因工程赋予生物新的遗传特性 / 54
- 第2节 基因工程是一种重组 DNA 技术 / 60
- 第3节 蛋白质工程是基因工程的延伸 / 75

## 第4章 生物技术安全与伦理 / 82

- 第1节 转基因产品的安全性引发社会广泛关注 / 86
- 第2节 生殖性克隆人带来诸多伦理问题 / 92
- 第3节 全面禁止生物武器 / 97

## 附录 / 100

附录 1 教材“自我评价”与“学业评价”参考答案 / 100

附录 2 《练习部分》参考答案 / 111

附录 3 《实验与活动部分》“学业评价”参考答案 / 121

附录 4 教学参考书目 / 123

# 第1章 发酵工程

发酵是微生物特有的现象。几千年前,人类就利用发酵来酿制酒类,制作酱油、泡菜等食品。发酵工程则通过现代工程技术手段大规模培养微生物,利用微生物的生理代谢来生产有用物质。现代发酵的形式不断多样化,发酵产品也不断涌现,如氨基酸、抗生素、酶制剂等。本章随着传统发酵与发酵工程话题的展开,引领学生走进发酵工程的世界,了解微生物的生长条件和营养需求,通过微生物实验学会分离、纯化目标微生物的方法,探索微生物工业化发酵的调控过程,深入了解发酵产品的应用。通过本章的学习,学生应能结合生活或生产中的发酵实例,基于相关的生命观念,用科学思维方法阐释发酵工程的基本原理和过程,并能关注发酵工程的发展以及发酵产品的生产和应用,尝试提出初步的工程学构想,设计和制作发酵食品。

## 一、本章对应的《课程标准》要求

### 1. 内容要求与教学活动

本章内容框架的确定和主要内容的编写是依据《课程标准》内容要求“3.1 获得纯净的微生物培养物是发酵工程的基础”“3.2 发酵工程为人类提供多样化生物产品”。教材结合学科内在体系和教学目标,分2节进行概述和说明(表1-1)。

表1-1 第1章内容与《课程标准》要求对照表

教材内容	《课程标准》要求
第1节 获得纯种微生物是发酵工程的基础	3.1.1 阐明在发酵工程中灭菌是获得纯净的微生物培养物的前提 3.1.2 阐明无菌技术是在操作过程中,保持无菌物品与无菌区域不被微生物污染的技术 3.1.3 举例说明通过调整培养基的配方可有目的地培养某种微生物 3.1.4 概述平板划线法和稀释涂布平板法是实验室中进行微生物分离和纯化的常用方法 3.1.5 概述稀释涂布平板法和显微镜计数法是测定微生物数量的常用方法
第2节 发酵工程为人类提供多样化生物产品	3.2.1 举例说明日常生活中的某些食品是运用传统发酵技术生产的 3.2.2 阐明发酵工程利用现代工程技术及微生物的特定功能,工业化生产人类所需产品 3.2.3 举例说明发酵工程在医药、食品及其他工农业生产上有重要的应用价值

根据《课程标准》教学提示中提出的活动要求,结合实际课时,本章安排了5个学生实验和1个学

生活活动(表1-2)。

表1-2 第1章实验和活动与《课程标准》要求关系

实验和活动名称	性质	《课程标准》要求
酵母浸粉胨葡萄糖培养基的配制	学生实验	通过配制培养基、灭菌、接种和培养等实验操作获得纯化的酵母菌落
酵母的分离和纯化		
土壤中分解尿素细菌的分离与计数	学生实验	分离土壤中分解尿素的细菌,并进行计数
果酒和果醋的制作	学生实验	利用酵母菌、醋酸菌分别制作果酒和果醋
酸奶的制作	学生实验	利用乳酸菌发酵制作酸奶或泡菜
虚拟仿真:发酵条件对微生物发酵的影响	学生活动	针对人类生产或生活的某一需求,在发酵工程中选取恰当的技术和方法,尝试提出初步的工程学构想,进行简单的设计和制作

## 2. 学业要求

《课程标准》关于本章的学业要求是学生应该能够:结合生活或生产实例,举例说出发酵工程的基本原理;针对人类生产或生活的某一需求,在发酵工程中选取恰当的技术和方法,尝试提出初步的工程学构想,进行简单的设计和制作;面对日常生活或社会热点话题中与生物技术和工程有关的话题,基于证据运用生物学基本概念和原理,就生物技术与工程的安全与伦理问题表明自己的观点并展开讨论。对此,教材从以下几个方面进行落实。

**生命观念:**通过第1节的学习,学会运用物质与能量观、结构与功能观等生命观念,阐释微生物培养基配方的设计依据,并能在新的问题情境中,选择运用不同类型的培养基分离和纯化目标菌种。通过第2节的学习,能以生命观念为指导,阐释微生物大规模发酵的调控过程,以及微生物发酵获得特定发酵产品的原理。

**科学思维:**通过探究·实验1-2“酵母的分离和纯化”,能基于实验现象,归纳和概括平板划线法和稀释涂布平板法的实验结果;通过探究·实验1-4“果酒和果醋的制作”和探究·实验1-5“酸奶的制作”,基于微生物的生命活动这一生物学事实,运用归纳和概括、演绎和推理等科学思维方式,阐释发酵工程的原理和调控过程,并通过对发酵工程产品的学习和了解,论述发酵工程与社会发展之间的关系。

**科学探究:**通过探究·实验1-1“酵母浸粉胨葡萄糖培养基的配制”、探究·实验1-2“酵母的分离和纯化”和探究·实验1-3“土壤中分解尿素细菌的分离与计数”,学会熟练、规范地运用微生物实验方法进行微生物的分离、纯化和计数,如实记录实验数据。通过探究·实验1-4“果酒和果醋的制作”和探究·实验1-5“酸奶的制作”,能够按照实验步骤正确操作,并进行观察、收集数据,得出结论,并能够根据日常生活和生产中的真实情境,查阅相关资料,设计恰当可行的方案。

**社会责任:**通过制作果酒、果醋、酸奶等传统发酵食品,了解传统发酵技术及其运用,在此基础上进一步学习现代发酵技术的原理和过程,关注发酵技术的发展历程、发酵工程与人类生产生活的联系,并主动关注发酵工程产品在医药、食品等领域的应用。

## 二、本章与学科体系内容关系

### 1. 本章与其他章节之间的关系

本册教材共建构 4 个大概念,本章建构的是大概念 3“发酵工程利用微生物的特定功能规模化生产对人类有用的产品”。大概念 3 与大概念 4、大概念 5 具有平行关系,其中,第 2 章“细胞工程”围绕大概念 4 建构,第 3 章“基因工程”围绕大概念 5 建构。发酵工程、细胞工程和基因工程都是当今生物工程技术中不可或缺的内容,三者都是将活的生物体、生命体系或生命过程产业化的过程。三者之间又有着相互联系,就发酵工程而言,发酵过程除了利用天然菌株或变异菌株外,还可利用经人工定向改造获得的基因工程菌株和细胞融合菌株;通过发酵工程可以生产基因工程药物,如胰岛素、干扰素等。事实上,现代发酵工程是在发酵工艺基础上吸收基因工程、细胞工程等其他技术的成果而形成的,发酵工程产品的应用又非常广泛,与化工、医药、食品、能源、环境保护等领域关系密切,很多生物学领域的前沿研究结果需要通过发酵工程才能真正转化为生产力。因此将概念 3 作为本册教材建构的第一个大概念,不仅为学生开启了了解生物工程技术的大门,也为学习第 2、3 章奠定基础。

### 2. 本章各节之间的关系

本章分为两节,第 1 节阐述纯净的微生物培养物在发酵工程中的重要性及其制备方法,第 2 节阐述了发酵技术的发展和发酵过程的调控,列举了多种在各领域广泛应用的发酵产品。发酵工程是利用微生物的特定功能生产人类所需目标产物的技术,其建立和发展过程中有两个重要标志,即微生物纯种培养技术的出现和大规模自动化发酵技术的建立。发酵工程中只有拥有了良好的菌种,才有可能通过改进发酵工艺和设备得到理想的发酵产品。因此,第 1 节和第 2 节主要就获取纯种微生物和发酵过程调控两个环节展开,两节内容既相对独立,又前后联系(图 1-1),可以较为全面地认识和了解发酵工程。

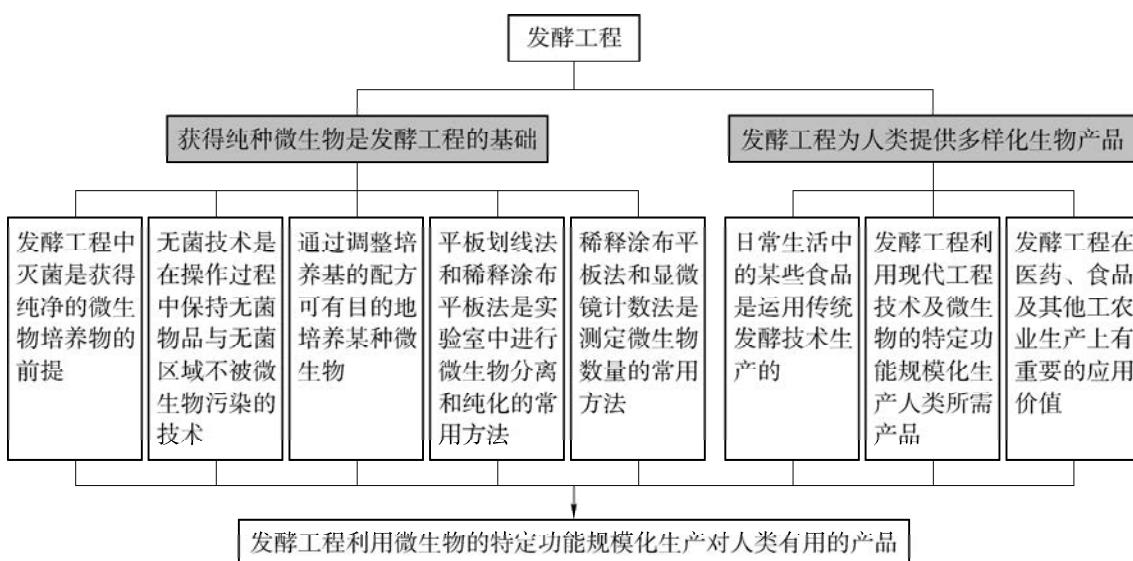


图 1-1 第 1 章各节概念之间的关系

### 三、本章教学目标

列举发酵工程不同发展阶段的发酵产品及其生产工艺,结合生活和生产中微生物发酵的实例,阐明发酵工程的原理,认识获取纯种微生物是发酵工程的关键。能运用物质与能量观、结构与功能观等生命观念,设计合适的培养基,选用合适的方法分离和纯化目标微生物,并能运用归纳和概括等科学思维方式阐释发酵工程的调控过程。能够针对特定情境提出可探究的生物学问题,对发酵技术在生产生活中的运用提出构想。

### 四、本章课时建议

本章建议 11 课时,具体见表 1-3。

表 1-3 第 1 章课时安排

教学内容	课时建议
第 1 节 获得纯种微生物是发酵工程的基础	6
第 2 节 发酵工程为人类提供多样化生物产品	5

其中,第 1 节中的探究·实验 1-1“酵母浸粉胨葡萄糖培养基的配制”1 课时、探究·实验 1-2“酵母的分离和纯化”1 课时、探究·实验 1-3“土壤中分解尿素细菌的分离与计数”1 课时;第 2 节中的探究·实验 1-4“果酒和果醋的制作”1 课时、探究·实验 1-5“酸奶的制作”1 课时、探究·活动 1-6“虚拟仿真:发酵条件对微生物发酵的影响”1 课时。本章的实验较多,教学设计时需要合理规划,统筹安排。

### 五、本章评价建议

#### 1. 评价内容

##### (1) 学生的生命观念

在特定问题情境中,学生是否能以结构与功能观、物质与能量观等生命观念为指导分析微生物生命现象,探讨其生命活动规律;是否能基于生命观念,阐释发酵过程中对微生物代谢活动的调控。

##### (2) 学生科学思维的发展

基于微生物发酵所需的营养和生长条件,学生是否能运用归纳与概括、演绎与推理等科学思维方法,阐明微生物发酵过程和调控过程,探讨和论证发酵工程技术在生产生活中的应用。

##### (3) 学生科学探究的能力

学生是否能掌握正确配制培养基及微生物分离、纯化、计数的方法,是否学会制作果酒、果醋和酸奶;是否能记录和分析实验结果、运用科学术语报告实验结果,是否能在团队活动中合作学习;是

否能根据需求设计某种物质的发酵方案。

#### (4) 学生的社会责任意识

学生是否能主动关注发酵工程产品的开发和应用,认识发酵工程产品可以帮助解决人类社会面临的环境、能源、安全等问题,进一步形成人与自然和谐共处以及可持续发展的观念。

## 2. 评价方式

### (1) 自我评价

本章在每节设置了适量的自我评价题,其目的是帮助学生在学完每节内容后,评价相关学习目标达成情况。通常围绕重要概念和学科核心素养进行。例如:第1节第2题是在分离特定土壤细菌的情境下对培养基的种类和特点进行了分析,学生在掌握相关知识的基础上应表现出能够解决新情境中问题的能力,体现出科学思维、社会责任等素养;第2节第4题针对日常生产中的真实情境,提出有价值、可探究的生物工程需求,要求学生设计恰当可行的方案,考查学生科学探究能力。

### (2) 学业评价

本章设置了2道学业评价题,其评价目标是以真实情境为题干,围绕学科核心素养,侧重生物学概念的建构、生命观念的理解和应用及信息的分析能力。

**第1题:**链霉素的发酵生产是一个真实的案例,从链霉素种子液的准备到发酵条件的优化和控制,涉及培养基的设计、分离和纯化的方法、温度等发酵条件的控制等,学生进入这一情境后,将像科研人员一样去探究和分析获取链霉素的最佳方案,这需要学生运用已有的知识,基于结构与功能观、物质与能量观等生命观念,运用归纳与概括、演绎与推理等科学思维方法去解决问题。

**第2题:**围绕生物浓缩饲料的发酵生产创设情境,考查学生运用本章所学内容解决实际问题的综合能力,体现其学科素养。

# 第1节 获得纯种微生物是发酵工程的基础

## 一、教材分析

### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

- (1) 归纳和概括微生物所需营养物质和生长条件,进一步形成结构与功能等生命观念,并能基于这些观念设计合适的培养基,选择合适的培养和计数方法,有目的地培养纯种微生物。
- (2) 归纳和概括无菌技术对微生物研究和发酵的影响,阐释无菌技术的方法和应用。
- (3) 关注微生物特定功能在生产和生活中的应用。

这三项目标是依据《课程标准》内容要求 3.1.1、3.1.2、3.1.3、3.1.4 和 3.1.5 设定的。目标(1)要求了解微生物生长和繁殖所需的碳源、氮源、生长因子、水和无机盐等营养物质以及生活条件,在此基础上知道通过人工配制的培养基可以培养微生物,且可以有意图地设计特定的培养基,或利用一定的生活条件去分离目标微生物,并将其纯化或者计数,用于微生物研究或发酵生产。目标(2)要求学生结合探究实验经历,充分认识无菌技术的内涵和外延,体会无菌技术在微生物分离、纯化等操作过程中的应用价值。目标(3)要求通过一系列关于微生物的学习和探究实践后,能充分认识微生物在人类生产生活中的应用价值,对开发微生物的特定功能有初步的设想,并能用学习获得的知识设计相关方案。

### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》内容要求 3.1.1、3.1.2、3.1.3、3.1.4 和 3.1.5 而选取的,教材通过系列生物学事实来阐明和举例说明(表 1-4)。

表 1-4 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
	培养基为微生物提供所需营养物质
根据培养微生物的目的,可以有针对性地设计培养基。分离和纯化微生物常用平板划线法和稀释涂布平板法。测定微生物数量的常用方法是稀释涂布平板法和显微镜计数法	通过调整培养基的配方可有目的地培养某种微生物 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 微生物的生长表现为细胞数目的增加
无菌技术是保障获得纯种微生物的关键技术	无菌技术是在操作过程中保持无菌物品与无菌区域不被微生物污染的技术。无菌技术是微生物研究和发酵工程的基础

### 3. 学习内容

在本章学习之初,课前活动列出多种抗生素的生产菌种,结合学生已有知识,让学生明确一些事实,例如,自然界存在着多种微生物,不同微生物有着不同的生理特性;微生物是混居生活的。在这样的背景下,引导学生思考“如何通过分离纯化得到纯种微生物?在分离纯化微生物时应考虑哪些条件?”从而让学生带着对问题的思考进入正文的学习。

教材分4目,从培养基的用途、类型到无菌技术的介绍,再到分离和纯化微生物常用的方法,最后介绍如何间接了解微生物的生长状况。

第1目:培养基为微生物提供所需营养物质。以维生素B<sub>2</sub>发酵的一种培养基配方为例,说明微生物生长所需的营养物质,进而说明可根据不同微生物的特点及实验目的设计或选用合适的培养基,最后根据不同的分类依据说明不同培养基的特点和作用。

第2目:无菌技术是微生物研究和发酵工程的基础。区分了“灭菌”和“消毒”两个概念,并介绍常用的一些灭菌方法,以及在无菌操作室的无菌规范操作,所列举的这些内容均与学生的实验操作以及对发酵工艺的理解相关。

第3目:分离和纯化微生物常用平板划线法和稀释涂布平板法。图文并茂地呈现两种接种方法的特点和原理。

第4目:测定微生物数量可间接了解微生物的生长状况。介绍稀释涂布平板法和显微镜计数法的原理和特点。

在探究·实验1-1“酵母浸粉胨葡萄糖培养基的配制”中学习配制培养基,掌握培养基配制的基本步骤,该培养基将在探究·实验1-2中用于分离与纯化酵母。在探究·实验1-2“酵母的分离和纯化”中学习平板划线法和稀释涂布平板法的操作方法,学会观察菌落,并能区分和描述两种接种方法培养后的结果差异。在探究·实验1-3“土壤中分解尿素细菌的分离与计数”中学习用选择培养基分离土壤中的分解尿素细菌,并学会用稀释涂布平板法计算平板上的菌落数。

## 二、教学建议

本节内容建议6课时。其中,课堂教学3课时,实验与活动3课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 依托发酵情境认识微生物在发酵工程中的重要性

本节学习可创设与发酵有关的现实问题情境,让学生在情境中发现和认识与发酵有关的产品,进而引出微生物,探讨纯种微生物及其获取方法。通过现实问题,紧扣本章的内容主题。在对问题讨论和分析的互动过程中,逐步引入学习内容,激发学习动机。

教学中可利用本章引言和课前活动栏目提及的抗生素作为导入情境。抗生素是一类人们熟知的抗菌药物,很多人可能知道青霉素、链霉素等几种主要的抗生素,但并不清楚它们是怎么获得的。本章引言从治疗肺结核的链霉素等抗生素导入,课前活动栏目列举了多种抗生素及其生产菌种,借此话题,沿着“抗生素的作用→抗生素的来源,即生产菌种→如何大量获取抗生素→获得纯种微生物”的逻辑顺序,引导学生思考纯化微生物的方法。

可以保证发酵的质量→如何获得纯种微生物”这一思路说明获得纯净的微生物培养物是研究和应用微生物的前提,也是发酵工程的基础。

教学中也可创设对学生有亲切感的生活情境,例如在郊游野餐的画面中,有哪些物品的生产或使用过程中需要用到酶?激发学生思考,可能找到的结果有:野餐食物(面包、饮料等)的制作、人们服饰的清洗等。在找出多个相关线索后,教师进一步指出这些酶的分离提纯主要过程中有微生物的参与,由此引出微生物的发酵作用,说明微生物和发酵工程的关系。这样利用学生已有的酶知识,自然地引出发酵工程,既可以让学生感受发酵产品广泛存在于生活中,又能体会生物工程技术的应用价值,进而产生继续探索发酵工程技术的兴趣。

### (2) 基于事实归纳和概括培养基的种类和特点

微生物的生长繁殖依赖于从外界吸收的营养物质,进而通过新陈代谢来获取能量和中间代谢产物以合成新的细胞组成成分。不同微生物对培养基的需求是不同的,不同的发酵生产所需要的原料也是不同的。在学习第1目时,教师可通过设计引导学生结合具体事例,根据事实自主归纳和概括,深入了解培养基。

教学中可利用教材提供的维生素B<sub>2</sub>发酵的一种培养基配方,通过分析此配方成分,知道微生物生长所需的营养物质后,可在此基础上引导学生针对不同种类的微生物培养进行思考:如自养微生物、固氮菌、土壤中分解纤维素的细菌等。学生自主分析认识若要针对某种特定的微生物,可以在培养基中通过添加或减少某种物质来达到目的,从而认识培养基按照功能可分为不同种类。

教学中还可以提供2~3个培养不同微生物的培养基配方,如:培养细菌的牛肉膏蛋白胨培养基、培养酵母的酵母浸粉胨葡萄糖培养基、培养霉菌的查氏合成培养基等,注意这些配方中的成分应尽可能齐全。学生阅读和分析这些配方,从中找出微生物生长都需要的成分,并分析每种成分所起的作用,从而归纳出微生物生长和繁殖所需的共同的营养物质。

此外,同种微生物在发酵生产的不同阶段还会使用不同的培养基,如种子培养基、发酵培养基等不同种类。其中,发酵培养基是用于菌体生长繁殖和合成大量目的产物的培养基。教学中可适当补充说明发酵培养基的用途和特点,以增进了解发酵工程过程中的不同阶段。

## 2. 实验与活动建议

本章的三个实验涵盖了微生物实验的基本操作,以帮助学生学会分离纯化和筛选微生物的方法。实验过程中需运用到多种无菌技术,如:一些材料器具的高压灭菌、无菌操作室的无菌处理、实验操作者的无菌操作等,只有在所有环节均保证无菌的情形下才能获得纯种微生物。因此,学生建构灭菌、无菌技术概念后,就能更好地理解微生物实验的方法与步骤,尝到实验成功的喜悦。本节第2目阐述了无菌技术及其应用,能让学生知道一些常规的无菌技术,但是对此有真正的认识和真切的体验应是在实验过程中逐步实现的,因此教学过程中应着重引导学生做中学、学中思,从而去建构概念。在实施实验过程中,教师应注意指导学生进行规范操作,引导学生主动辨析无菌物品和无菌区域,在各个环节帮助学生逐步形成“无菌”意识,使学生一旦进入微生物实验环境,即能主动自觉使用无菌技术。建议先实施实验1-1和实验1-2,再学习第2目内容,这样或会对概念3.1.1和3.1.2有更高的认同性。

## 探究·实验 1-1 酵母浸粉胨葡萄糖培养基的配制

学生在已有学习经验上,应该能够较为熟练地进行称量、溶解、调整 pH 等操作。但关于倒平板和过滤除菌的操作,在进入无菌操作室之前,建议先以课堂实物演示或视频展示等形式,让学生观看制作平板的整个过程,明白规范操作的步骤和要点,保证制作的平板不被污染。本实验若要在在一个课时内完成,建议将学生分组,每个小组 2~4 人(视学校硬件设施而定),并由教师提前做好材料器具准备。

### (1) 材料器具准备

① 教师在课前称量好培养基配方中的部分药品,用纸包好备用;事先准备好合适长度的线绳(也可以用橡皮筋替代线绳,但橡皮筋经高压灭菌后可能会断裂或失去弹性);准备好温热的蒸馏水用于配制培养基。

② 葡萄糖是微生物培养过程常用的碳源,但是含葡萄糖的培养基经高温灭菌后,容易产生有害色素,其色素成分比较复杂,多呈焦糖色,主要是由于还原糖与氨类物质在高温条件下的美拉德反应所致。因此,一般培养基中的葡萄糖都要求单独灭菌。本实验配制的酵母浸粉胨葡萄糖培养基中的葡萄糖也需单独配制和灭菌,建议采用过滤除菌方法灭菌。学校若没有配备无菌过滤器,则可以将葡萄糖溶液单独进行高压灭菌,温度控制在 115 ℃、15 min,注意这个条件与其他材料器具的灭菌条件是不一样的。教师可以在课前完成 20% 葡萄糖溶液的配制,按照每 50 mL 容量分装,提供给学生。

③ 结合实验 1-2,确定每个学生需使用的培养基平板数量,估算需配制的培养基总量。根据预设的每个小组需制备的培养基平板数量,将一定数量的干净培养皿用报纸进行包扎并灭菌,以提供给学生倒平板时使用。不要一次包扎过多数量的培养皿,以免未被使用的平板被污染。

### (2) 注意事项

① 将配好的培养基分装到三角烧瓶时,教师需提醒学生不要把培养基沾到瓶口,造成污染。如操作不小心,培养基沾到瓶口,可用镊子夹一小块脱脂棉擦去瓶口的培养基。用线绳封口时教师提醒学生不要打成死结。除了常用瓶塞和牛皮纸封口外,也可采用既通气又能高压灭菌的塑料封口膜直接包在三角烧瓶上。这种封口膜能保证良好通气和过滤除菌,操作也更简便。

② 教师需在无菌操作前的 20 min 开启无菌操作室的紫外灯,以及超净工作台的紫外杀菌灯。在学生进入房间前,务必关闭房间的紫外灯。在使用超净工作台之前,务必先关闭超净工作台的紫外杀菌灯,同时按下“照明”和“启风机”开关。若没有超净工作台,或是没有足够多的超净工作台容纳所有学生操作,实验时要求学生在酒精灯火焰周围进行规范操作,同样能达到实验效果。

③ 教师需提醒学生在制作平板的过程中,不能讲话交流,以免飞沫污染平板。

④ 灭菌后的培养基一般需进行无菌检查:将培养基置于 37 ℃ 恒温箱中培养 1~2 天,确定无杂菌生长之后方可使用。

⑤ 鉴于高压灭菌时间较长,为保证配制培养基的操作步骤完整,可在第一个班级做实验前,由教师预先配制一定量的培养基并灭菌,将这些培养基提供给学生倒平板。第一个班级配制的培养基在灭菌后提供给第二个班级倒平板,以此类推。待平板冷却凝固后,学生可以在培养皿底部做好小组编号标记,以便在后续实验中继续使用自己制备的平板。

## 探究·实验 1-2 酵母的分离和纯化

本实验的主要目标是学会两种接种方法,即平板划线法和稀释涂布平板法。由于学生是第一次操作,所以在动手操作前需明确实验原理,了解和熟悉接种所要用到的各种实验用具等,以保证学生规范地进行实验。建议先演示或播放两种接种方法的视频,让学生清楚每一步的操作和注意事项。

可安排每个学生分别划线和涂布接种 2 个以上培养基平板,这样既有样本的重复,也可避免不规范操作带来的干扰,如接种环划破培养基,或用未完全冷却的接种环去划线等。

### (1) 材料器具准备

- ① 学校若没有微量移液器,可以用无菌移液管替代。
- ② 实验前,需将移液器吸头和盛有 9 mL 生理盐水的试管进行高压灭菌。

### (2) 注意事项

① 检查接种环,环的直径需保持约 3 mm,直径过大或过小都不能携带适量液体。使用灼烧后的接种环时,需将接种环冷却 10~15 s,直到接种环不再发出嘶嘶声。

② 未进行涂布操作时,涂布棒需放在盛有乙醇的容器中。使用时,取出涂布棒,在容器壁轻敲涂布棒,以去掉多余的乙醇。然后将涂布棒掠过火焰燃尽表面乙醇,再将涂布棒移开火焰并冷却。

- ③ 涂布菌液时,转动培养基平板会使菌液涂布得更均匀。

④ 若要在培养基平板上标注小组编号、样品名称、稀释梯度、日期等信息,应标注在培养皿的底部,且字尽量小一些,以免影响观察实验结果。

⑤ 接种好的培养基一般需培养 24 h 和 48 h 后,进行观察。可将实验结果的观察和分析与本节第 4 目“测定微生物数量可间接了解微生物的生长状况”的教学整合为 1 课时,或者也可利用课余时间让学生进行充分观察,需提示学生注意观察菌落的形态和菌落的分布,观察结束后及时处理培养基平板。为了不污染环境,微生物废液和接触微生物的容器一般需进行高压灭菌后再作处理。

## 探究·实验 1-3 土壤中分解尿素细菌的分离与计数

本实验的探究目标是让学生学会用选择培养基对土壤中分解尿素细菌进行分离和计数,因此应重视对实验现象的观察和分析,促使学生清楚地认识到选择培养基的作用,也学会根据菌落数目来推算细菌数量的方法。

### (1) 实验准备

① 教师应进行预实验,确保所采集的土壤中含有较丰富的分解尿素细菌,同时探索出合适的菌液样品稀释梯度。可依据预实验确定学生在课堂上需制备的土壤稀释液浓度,建议教师在课前制备好 10<sup>2</sup> 倍土壤稀释液。最后一个稀释度的平板中应该有 30~300 个菌落。因为少于 30 个菌落将无法满足统计分析的要求,而多于 300 个则因为菌落彼此太接近而不能区分不同的菌落形成单位。菌落的计数单位严格意义上应为克隆形成单位(Colony-Forming Units, 即 CFU),但一般菌落数俗称“个”。

- ② 教师需在课前预估所需的每种培养基的总量和平板数量,然后确定每个小组配制的量。不建

议让学生配制大容量培养基,因为容量越大,配制的时间就会越长。培养基总量的缺口由教师配制完成。若要在一个课时内完成实验,建议采取以下流程实施实验(图 1-2)。

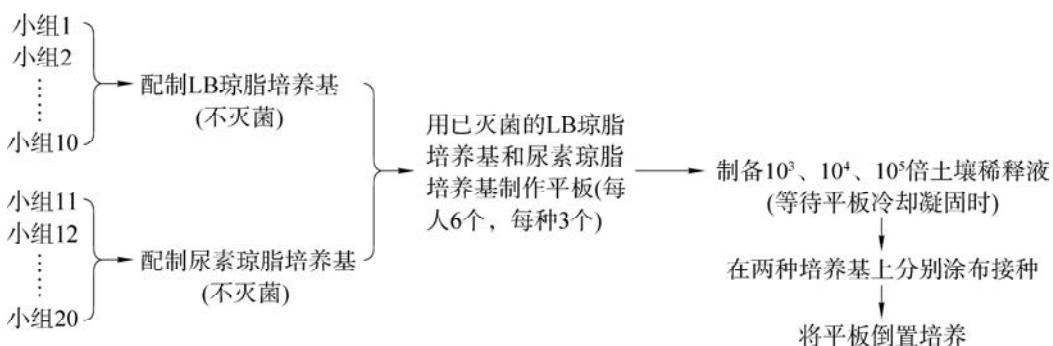


图 1-2 探究·实验 1-3 的实施流程图

③ 实验前需将制备平板的培养皿、移液器吸头、盛有 90 mL 无菌水的三角烧瓶、盛有 9 mL 无菌水的试管进行高压灭菌。

④ 建议将班级学生进行分组,进行不同主题的实验探究,如对不同地区土壤中分解尿素细菌的分离和计数、对不同深度土壤中分解尿素细菌的分离和计数等。

## (2) 注意事项

① 土壤样品溶液需混合均匀,包括稀释后的样品。

② 由于微生物的培养需要 24~48 h,因此本实验的观察和计数只能留在后续课时或课后进行,也可以将观察、计数和分析与单元学习的总结评价放在一节课。无论何时何种形式进行,都需重视对实验现象的观察和分析,学生通过记录和统计真实数据,学会计算微生物数量,达成本实验的目标。

## 3. 栏目使用建议

### (1) 学习提示

第一个学习提示指出微生物生长还需要能源。学生在必修课程的学习中已经建构概念“细胞的生存需要能量和营养物质”,因此可以提示学生根据物质与能量观自主分析在微生物所需的营养物质中哪些可以作为能源物质。第二个学习提示介绍了细菌芽孢,这一提示信息可以帮助学生理解高压蒸汽灭菌的必要性。

### (2) 广角镜

广角镜“高压蒸汽灭菌”介绍了高压蒸汽灭菌的方法。本章实验中所使用的培养基、无菌水、培养皿、移液器吸头等材料器具均需经过高压灭菌,但是学生可能不知道如何使用高压灭菌锅,因此建议学生阅读本栏目内容,了解高压蒸汽灭菌的原理和方法,也对无菌技术的方法增进了解。

广角镜“根据菌落特征区分微生物”介绍了根据菌落特征区分微生物的方法。在探究·实验 1-2 和探究·实验 1-3 中,学生会分别观察到酵母菌落和分解尿素细菌的菌落,那么如何描述菌落,根据怎样的特征判断菌种?本栏目做了基本说明,教师可组织学生阅读了解,有助于实验现象的观察和分析,具有实践指导作用。

### 三、拓展资料

#### 1. 发酵工程发展史

发酵工程的发展可分为五个阶段,如表 1-5 所示。

表 1-5 发酵工程的发展阶段

发展阶段	主要产品	反应器	发酵过程控制特点	菌种选育
第一阶段 (1900 年之前)	酒精、醋	生产能力达 1 500 桶的木制容器	采用分批培养方式; 使用温度计、比重计和热交换器; 发酵过程无实质控制	由自然接种到使用纯培养物, 用优质醋接种发酵
第二阶段 (1900~1940 年)	面包酵母、链霉素、柠檬酸和丙酮-丁醇	用于面包酵母生产的空气喷雾器; 生产丙酮-丁醇能力达 $2 \times 10^5$ L 的铁质容器等	采用分批和补料系统进行培养; 利用 pH 电极以及温度计离线控制; 利用机械搅拌; 发酵过程无实质控制	利用筛选的野生型纯菌发酵; 采用无菌操作技术以及纯培养技术
第三阶段 (1940~1960 年)	青霉素、链霉素、赤霉素、氨基酸、核苷酸以及酶	机械通气容器、真正的发酵罐	采用分批补料以及连续培养系统; 采用灭菌的 pH 电极和溶解氧电极以及计算机化的循环控制系统在线监测发酵过程	利用人工诱变野生型菌株; 采用有效的程序筛选正向突变菌株
第四阶段 (1960~1979 年)	用烃和其他储存物生产单细胞蛋白质	在第三阶段的基础上, 开发出压力循环和压力喷射容器以克服气和热交换问题	采用连续培养+培养基再循环系统; 使用计算机联用控制循环系统监测控制发酵过程	通过遗传工程技术调节微生物代谢途径, 获得发酵工程菌株
第五阶段 (1979 年至今)	通常微生物不产生的异质化合物, 如胰岛素和干扰素	在第三、四阶段基础上开发的大规模生物反应器	采用分批补料或连续补料方式; 在第三、四阶段基础上发展出其他的控制手段和感应器	利用基因工程技术, 在系统生物学以及合成生物学的指导下, 定向改造微生物, 获得优良的发酵工程菌株

#### 2. 培养基的种类

##### (1) 根据培养基的成分来源分类

① 天然培养基: 是一类利用动植物或微生物体(包括用其提取物)制成的培养基。这类培养基营养成分既复杂又丰富, 难以说出其确切化学组成。其优点是营养丰富、种类多样、配制方便、价格低廉; 缺点是成分不清楚, 不稳定。因此, 这类培养基只适合于一般实验室中的菌种培养、发酵工业中生产菌种的培养和某些发酵产物的生产。

② 合成培养基: 是一类按微生物的营养要求精确设计后, 用多种高纯化学试剂配制而成的培养基。其优点是成分精确、重现性高, 缺点是价格较贵、配制过程复杂, 因此仅适用于营养、代谢、生理、生

化、遗传、育种、菌种鉴定或生物测定等对定量要求较高的研究工作中。

③ 半合成培养基：是一类主要以化学试剂配制，同时还加有某种或某些天然成分的培养基。例如，培养真菌的马铃薯蔗糖培养基。严格地讲，凡含有未经特殊处理的琼脂的任何合成培养基，因其中含有一些未知的天然成分，故实质上也只能看作是一种半合成培养基。这种培养基在生产和实验中使用较多。

## (2) 根据培养基的物理状态分类

① 液体培养基：是一类呈液体状态的培养基。

② 固体培养基：是一类呈固体状态的培养基。根据固态的性质又可分为固化培养基、非可逆性固化培养基、天然固态培养基。

固化培养基由液体培养基中加入适量凝固剂而成，例如，在液体培养基中加入1%~2%琼脂或5%~12%明胶，就可制成遇热可熔化、冷却后则呈凝固态的用途广泛的固化培养基。除琼脂和明胶外，海藻酸胶、脱乙酰吉兰糖胶和多聚醇F127也可以用作凝固剂。

非可逆性固化培养基是指一类一旦凝固后不能再重新熔化的固化培养基，如血清培养基或无机硅胶培养基，后者专门用于化能自养细菌的分离和纯化等方面。

天然固态培养基是由天然固态基质直接配制而成的培养基，例如，培养真菌用的由麸皮、米糠、木屑、纤维或稻草粉配制而成的培养基；由马铃薯片、胡萝卜条、大米、大豆、面包或动植物组织直接制备的培养基等。

此外，滤膜是一种坚韧且带有无数微孔的薄膜，若把滤膜制成圆片覆盖在营养琼脂或浸有液体培养基的纤维素衬垫上，就形成具有固化培养基性质的培养条件。滤膜多为醋酸纤维、硝酸纤维、尼龙、聚碳酸酯、聚四氟乙烯或聚偏二氯乙烯等材料制成的薄膜，一般放在合适的漏斗中在加压下进行过滤。滤膜主要用于对含菌量很少的水中微生物进行过滤、浓缩，然后揭下滤膜，把它放在含有适当液体培养基的衬垫上培养，待长出菌落后，就可计算单位水样中的实际含菌量。

③ 半固体培养基：是在液体培养基中加入少量的凝固剂而配制而成的半固体状态培养基，例如“稀琼脂”，它们在小型容器倒置时不会流出，但在剧烈振荡后则呈破散状态。一般可在液体培养基中加入0.5%左右的琼脂制成。半固体培养基可放入试管形成“直立柱”，它常用于细菌的动力观察、趋化性研究，也可用于厌氧菌的培养、分离和计数，以及细菌和酵母的菌种保藏等，若用于双层平板法中，还可测定噬菌体的效价。

④ 脱水培养基：是含有除水以外的一切营养成分的商品培养基，使用时只要加入适量水分并加以灭菌、分装即可，是一类成分精确、使用方便的现代化培养基。

## (3) 根据培养基的基本用途分类

① 选择培养基：是一类根据某微生物的特殊营养要求或其对某化学、物理因素抗性的原理而设计的培养基，具有使混合菌样中的劣势菌变成优势菌的功能，广泛用于菌种筛选等领域。

若原始混合菌样中的微生物数量很少，按常规方法直接用平板划线法或稀释法较难进行分离。这时，第一种办法是可利用该分离对象对某种营养物有特殊“嗜好”的原理，专门在培养基中加入该营养物，从而把它制成一种加富性选择培养基，采用这类“投其所好”的策略后，就可使原先极少量的筛选对象很快在数量上接近或超过原混合菌样中其他占优势的微生物，因而达到富集或增殖的目的。第二种办法则是利用该分离对象对某种抑菌剂所特有的抗性，在筛选的培养基中加入这种抑菌

剂,经培养后使原混合菌样中对此抑菌剂敏感的优势菌的生长受抑制,而原先处于劣势的分离对象却趁机大量增殖,最终在数量上反而占了优势。通过这种“取其所抗”的办法,也可达到富集培养的目的。因此,后一种培养基实为一种抑制性选择培养基。在实际应用时,所设计的选择培养基通常都兼有上述两种功能,以充分提高其选择效率。

选择培养基中的营养物主要是一些特殊的碳源或氮源,如甘露醇可富集自生固氮菌,纤维素可富集纤维分解菌,石蜡油可富集分解石油的微生物,较浓的糖液可用来富集酵母等;用作抑制其他微生物的选择性抑菌剂有染料(结晶紫等)、抗生素、脱氧胆酸钠和叠氮化钠等;也可通过调控温度、氧、pH 和渗透压等理化因素实现选择。

② 鉴别培养基:是一类在成分中加有能与目的菌的无色代谢产物发生显色反应的指示剂,从而达到用肉眼辨别颜色就能方便地从近似菌落中找出目的菌落的培养基。最常见的鉴别培养基是伊红美蓝乳糖培养基,它在饮用水、牛奶的大肠菌群数等细菌学检查和在 *E. coli* 的遗传学研究工作中有着重要的用途。

### 3. 高压蒸汽灭菌

高压蒸汽灭菌是微生物实验、发酵工业生产以及外科手术器械等方面最常用、最有效的一种灭菌方法。一般培养基、玻璃器皿、无菌水、无菌缓冲液、金属用具、接种室的实验服等都可采用此法灭菌。待灭菌物品中的微生物种类、数量与灭菌效果直接相关。一般试管、锥形瓶中小容量的培养基,用 121 ℃灭菌 20 min;大容量的固体培养基传热慢,灭菌时间适当延长至 30 min(灭菌时长是指从达到所要求的温度时开始计时);天然培养基中含微生物和芽孢较多,较合成培养基灭菌时间略长。

高压蒸汽灭菌时,高温对培养基造成的不良影响有:①出现浑浊、沉淀(天然培养基成分加热沉淀出大分子多肽聚合物;培养基中  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  等阳离子与培养基中的可溶性磷酸盐共热沉淀)。②营养成分破坏或改变(酸度较高时淀粉、蔗糖、乳糖在灭菌过程中易水解;pH7.5、121 ℃灭菌 20 min 时,葡萄糖破坏 20%,麦芽糖破坏 50%)。③pH7.2 时,培养基中的葡萄糖、蛋白胨、磷酸盐在 121 ℃灭菌 15 min 以上会产生影响微生物生长的某种抑制物。④高压蒸汽灭菌后,培养基 pH 下降 0.2~0.3。⑤高压蒸汽灭菌过程会增加冷凝水,降低培养基成分的浓度。

为降低前三种不良影响,可采用低压灭菌或将培养基几种成分分别灭菌,临使用前再进行无菌混合(如磷酸盐与 Ca、Mg、Zn、Cu 等阳离子溶液),特殊情况时可采用巴氏消毒法、间歇灭菌法、过滤除菌法。

### 4. 液体过滤除菌

液体过滤除菌的原理是:微生物虽小,但有一定的体积(如细菌,一般直径约 0.5 μm,长度约 0.5~5 μm),用一些比它们直径更小的“筛子”通过过滤去除这些微生物。这是一种不通过高温或射线灭菌,而采用过滤介质除去液体中微生物的方法。

按照过滤的对象和滤板的材质,液体过滤除菌适用于一些对热不稳定、体积小的液体(如血清、酶、毒素)及各种在高温灭菌条件下易遭破坏的培养基成分(如尿素、碳酸氢钠、维生素、抗生素、氨基酸等)。实验室小量液体过滤常用玻璃过滤器和滤膜过滤器等。过滤器的形式有:一次性针头式滤

膜过滤器(图 1-3)、杯式过滤器(图 1-4)、桶式过滤器、不锈钢或塑料滤膜过滤器几种。一次性过滤器不需换滤膜和清洗滤器,是过滤小量样品的首选方法。过滤器的微孔滤膜材质包括混合纤维素滤膜、硝酸纤维素滤膜、醋酸纤维素滤膜、聚偏二氟乙烯滤膜、聚四氟乙烯滤膜和尼龙滤膜等。前三种微孔滤膜适合于水相溶液,不耐酸、碱、有机溶剂,可作为缓冲液、血清、培养基等过滤除菌的理想用膜。孔径  $0.1\text{ }\mu\text{m}$  的微孔滤膜,可去除支原体;孔径  $0.22\text{ }\mu\text{m}$  的微孔滤膜,可去除一般细菌;若滤膜孔径超过  $0.22\text{ }\mu\text{m}$ ,滤膜极可能不能除菌。



图 1-3 一次性针头式滤膜过滤器



图 1-4 杯式过滤器

## 第2节 发酵工程为人类提供多样化生物产品

### 一、教材分析

#### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

- (1) 结合微生物发酵的实例,基于结构与功能、物质与能量等观念,阐明现代发酵技术的基本原理。
- (2) 在制作发酵食品、模拟发酵过程调控等探究过程中,记录和分析微生物发酵过程的动态变化,阐释微生物发酵的调控过程。
- (3) 关注发酵工程产品的应用,能对发酵技术在生产、生活中的应用提出初步构想。

这三项目标是依据《课程标准》内容要求 3.2.1、3.2.2 和 3.2.3 设定的。目标(1)要求学生结合微生物发酵事例,能对特定微生物的结构与功能的统一性、物质之间的转变、能量代谢与物质代谢的关系予以正确分析,在此基础上能应用相关的生命观念阐明发酵工程技术的原理。目标(2)要求学生在制作果酒、果醋和酸奶等发酵食品的实验探究过程中,根据实验步骤规范操作,如实记录实验现象和数据,分析发酵过程中的物质变化,获得发酵食品。在此基础上,能够理解并阐释微生物发酵过程的条件和调控。目标(3)要求学生结合实验探究经历以及对发酵工程产品在各个领域应用的认识,能够对发酵工程技术的应用价值有更为深入的认识,并能初步构想相关发酵产品,应用于生活、生产中。

#### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》概念 3 和内容要求 3.2.1、3.2.2 和 3.2.3 而选取的,教材通过系列生物学事实来说明(表 1-6)。

表 1-6 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
运用传统发酵技术可以生产果酒、酸奶等食品	果酒是以新鲜水果或果汁为原料、经酵母发酵而成的、含有一定酒精的发酵酒。酸奶是以牛奶为主要原料,经乳酸菌发酵生产的一种具有较高营养价值的特殊风味产品
微生物的菌种筛选及其生长代谢调控是发酵工程的基础	利用现代发酵工程技术可大量获得发酵产品,但需要先获得纯种微生物,并根据微生物的特点调控微生物发酵的条件

#### 3. 学习内容

课前活动简介了“酱油的制作”,用流程图的形式呈现了酱油的制作工艺,表明酱油的制作过程

中需要多种微生物的参与,需要控制一定的条件。基于所提供的情境信息,学生可利用已有知识分析微生物在酱油制作过程中的作用,并推测发酵过程中物质的转化作用,进而进入正文去探索发酵食品及其制作。

教材分 3 目,从传统发酵技术到现代发酵工程,再到发酵工程产品的重要应用价值。

第 1 目:运用传统发酵技术生产多种食品。从人类很早就掌握制作果酒技术的话题切入,说明人类在生产生活过程中已学会利用自然发酵的特性生产多种食品,如果酒、果醋、酸奶等,并借此引导学生进入到制作这三种食品的实验探究中。

第 2 目:发酵工程是生产特定产品的现代生物工程技术体系。阐述了发酵工程技术的一些重要环节,如微生物菌种的获取、生物反应器(发酵罐)的结构及其工艺控制等,并以青霉素生产为例阐述了发酵过程的调控。

第 3 目:发酵工程产品在多个领域具有重要应用价值。列出了与发酵工程联系的多个领域,如食品工业、医药工业、能源环境等,举例阐述了发酵工程产品的应用价值。

学生在探究·实验 1-4“果酒和果醋的制作”中利用酵母和醋酸菌的不同特性,学习制作果酒和果醋。学生在探究·实验 1-5“酸奶的制作”中利用乳酸菌的特性,学习制作酸奶。学生在探究·活动 1-6“虚拟仿真:发酵条件对微生物发酵的影响”中自主设计不同的条件组合,探究对酿酒酵母发酵的影响。

## 二、教学建议

本节内容建议 5 课时。其中,课堂教学 2 课时,实验与活动教学 3 课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 以发酵食品案例贯穿学习过程,建构相关概念

本节的学习以传统发酵食品导入,结合两个制作发酵食品的实验,帮助学生了解果酒、果醋和酸奶发酵的过程及应用,由此推进到现代发酵工程技术的学习。虽然教材内容的编排上分为传统发酵技术和现代发酵技术两个板块,但是现代工业化发酵是在传统发酵技术的基础上改革和创新而来的。随着生物技术的进步和发展,越来越多的产品可以通过生物发酵来进行生产,现代发酵工业产品向各个领域扩散,传统的酒、调味品酿造如今已实现工业规模生产。因此,本节的教学设计可以围绕发酵食品这一内容进行前后呼应的设计处理,即本节的学习以传统发酵食品导入,在本节学习结束之际再切入介绍当今发酵食品的工业化生产。此外,酱油、果酒、果醋等传统食品的制作工艺是劳动人民在生产生活实践中创造出来的技术,前后呼应的处理方式也可让学生感受到发酵工程技术的传承和发展。

教学中可利用课前活动栏目,由“酱油的制作”主题进行呼应处理。在导入环节,除了栏目提供的图片信息外,教师还可提供更详细的制作视频,通过思考与讨论的分析,让学生知道酱油制作的基本原理、微生物在物质转变过程中的作用、传统的酱油制作方法等。在学习现代发酵技术内容后,教师可补充介绍现代酱油发酵生产。

教学中还可以基于果酒、果醋、酸奶的制作实验延续传统发酵食品生产话题。学生经历实验活

动后,对传统发酵食品的制作初步具有感性认识,在此基础上再了解现今果酒、果醋、酸奶等产品生产过程中的发酵调控,比较和认识大规模生产中的工业化程度,可促使学生更好地认识发酵工程。

### (2) 以青霉素发酵案例为例,学习并阐释发酵工程的调控过程

发酵过程中细胞始终处于动态变化中,其变化受环境影响,也对环境产生影响。从接种开始,发酵罐中细胞的数量、营养物质浓度、溶解氧、pH 等始终处于变化之中,各个阶段环境条件微小的差异都可能导致发酵过程的变化。因此,若要大规模获得高质量、低成本的发酵产品,需要相应的硬件设施和技术保障,即生物学与工程学相结合,才能实现工业化生产。学生认识到这一点,才算是真正了解发酵工程。学习“发酵调控过程”内容时,重点不在于记住发酵过程的各项状态参数的具体数值,而是要了解为什么要监测和控制这些状态参数,人类是如何利用微生物的特性最大程度获取代谢产物的。教材提供了青霉素发酵案例,教师也可以选择氨基酸、维生素等产品发酵案例,引导学生了解和学习发酵调控过程。

例如,以青霉素为例,可结合科学史话栏目内容,还原青霉素从发现到实现工业化发展的历程,创设一个完整的青霉素情境,重点关注青霉素是如何从“小作坊生产”演变到“工业化生产”的。在关注这一过程中,引导学生特别注意一些生产技术的更新或创新,如:密封发酵罐的发明、发酵罐搅拌装置的安装、液体发酵法的研究成功等。随着对这些技术发明及其应用价值的分析,学生脑海中逐步勾勒出青霉素工业化生产的画面,对发酵工业高质量、大规模获取发酵产品形成全面认识。建议教师在介绍早期青霉素的固体表面培养法后,设计问题串,驱动学生像科学家一样思考,主动提出实现青霉素大规模生产办法。例如,如何保证纯种青霉菌的发酵?哪些环境因素会影响发酵的进行?为什么会影响?可以通过何种方式来控制这些环境因素?这些问题均可引导学生利用已有知识来思考解决,从而主动获取新认知。

### (3) 关注发酵工程产品与现代人类社会发展的关系,彰显其应用价值

发酵工业是生物技术产品实现大规模生产的基础和必要条件,由于国家需求和社会发展,发酵工程产品主要目标已从生活资料的生产转向资源、能源和环境问题的解决。教材从食品工业、医药工业、能源环境等方面举例说明了多种发酵工程产品的应用,表明发酵工程产品与人类日常生活密切相关。学习第 3 目时,可以围绕下列两点进行教学设计:①凸显现代发酵工程产品在能源、环境等方面的作用。鉴于学生对酒类、酱油和食醋等传统发酵食品已有一定的熟悉度,因而可以将更多课时用于介绍现代发酵工程产品,说明发酵工程技术可帮助人们解决人类社会面临的环境、能源、健康等诸多难题和挑战。如在生物能源制造方面,可介绍燃料乙醇在发酵工程技术的促进下,将进入试用阶段,形成大规模生产能力;生物柴油生产工艺取得突破后,生产成本将大幅下降,逐步成为新的可替代能源;生物制氢、沼气技术将进一步发展,为世界提供清洁能源等。学生可以通过这些例子开阔认识发酵工程技术及其产品的视野。②侧重说明发酵工程产品和“绿色制造”。例如,教材中提及塑料工业中利用微生物发酵生产可降解塑料,这不仅可减少石油用量,也有利于保护环境。其实发酵工程产品在各个领域中正在实现“绿色制造”,如食品工业中使用新型添加剂、保鲜剂,发展功能食品;饲料生物技术产品逐步替代传统添加剂,加速我国饲料工业与发达国家饲料标准的接轨;化学工业中使用生物催化剂进一步提高效益,大幅减少废物产出量,提高产品纯度;纺织工业中采用生物技术,减少纺织品在染色和修整过程中毒性副产物的产生。举出这些事例,可以帮助学生认识到生物工程技术与环境保护之间的关系,对于可持续发展有新的认知高度。

## 2. 实验与活动建议

### 探究·实验 1-4 果酒和果醋的制作

本实验实施的基本过程分为三个阶段：第一阶段是搭建制作果酒的装置，包括实验材料的处理、装瓶、接种酵母等操作；第二阶段是获取果酒原浆和搭建制作果醋的装置，包括检测酒精含量、过滤、记录果酒特征、接种醋酸菌等操作；第三阶段是获取果醋，包括测定果醋 pH、记录果醋特征等。此外，实验期间需要进行放气等操作。因此，教师应妥善安排教学进程，组织学生持续观察并完成实验。

#### (1) 材料器具准备

教师需提前准备好实验所用的新鲜水果，可以选择香蕉、苹果、西瓜等时令水果作为实验材料，一般选择含糖量高的水果。若采用葡萄制作果酒，将葡萄去梗后，用水洗净，破碎，尽量将果汁榨出，果肉破碎，将汁液连同皮渣一起放入发酵瓶中。

#### (2) 注意事项

① 需将发酵瓶放到阴凉温暖处发酵，环境温度 20 ℃ 比较适宜。如果室温太低，可将发酵瓶放到恒温箱内培养。

② 经过 10~12 d 左右的发酵后观察温度计，会发现发酵液的温度逐渐接近环境温度，内外温差减小并趋于稳定，说明酒精发酵基本完成。

③ 蒸馏时，取一洁净、干燥的 100 mL 容量瓶量取 100 mL 发酵液，置于 500 mL 蒸馏瓶中，用 50 mL 水分三次冲洗容量瓶，洗液全部并入蒸馏瓶中。然后接连冷凝器，以取样用的原容量瓶作接收器，缓慢加热蒸馏。

④ 可以将发酵液从发酵瓶中倒出用纱布过滤，得到果酒原浆。过滤时用的纱布要多用几层，最后将滤渣倒在纱布上，用纱布包裹，用力挤出液体来。

⑤ 本实验的周期较长，无法在一个课时内完成观察和分析，教师需根据实际情况合理组织教学设计。例如，将实验放在正文学习之前进行，待果酒和果醋制作完成后，结合实验过程和结果的分析来学习传统发酵技术，了解发酵食品；或者仍按照教材编排顺序进行，待实验结果出来后，将传统发酵技术与现代发酵技术进行比较学习，在类比的基础上更好地认识工业化发酵。

### 探究·实验 1-5 酸奶的制作

部分学生在生活中已有制作酸奶经历，如利用酸奶机自制酸奶等。在完成探究·实验 1-4 的基础上，可让学生自行进行实验方案的设计，对实验原理、步骤、现象等做出分析和预设。针对乳酸菌的特点，本实验也可以设置更为细化的探究目标，探究温度、发酵时间、碳源种类对乳酸菌的代谢影响等。例如，按照碳源的种类，设置无糖、蔗糖、葡萄糖组；按照培养温度的变化，设置 35 ℃、40 ℃、45 ℃ 组。在对酸奶评定的过程中，综合温度、碳源种类、乳酸菌含量对乳酸菌代谢的影响，充分认识乳酸菌的代谢特点，了解传统发酵技术在生活中的应用；同时，对于发酵过程的调控也有初步的认识。

实验中需注意以下几个方面：

① 本实验应选取无添加的全脂奶粉或新鲜牛奶作为原料。选用市售酸奶时,要购买新鲜的冷藏酸奶,因为随着储藏时间的延长和储藏温度的上升,活菌数量会下降。若选购市售酸奶菌粉,复合菌株中只要含有保加利亚乳杆菌(即德氏乳杆菌保加利亚种)、嗜热链球菌(即唾液链球菌嗜热亚种)这两种即可。

② 发酵时间不超过 24 h。发酵终点判断的方法是:将三角烧瓶倾斜 30°,观察无液体流动时确定为发酵终点,记录发酵时间。

③ “后熟”环节可以抑制霉菌和酵母的生长,也可以抑制乳酸杆菌的生长,防止产酸过度。另外,可以降低脂肪和乳清的析出速度,延长酸奶保质期。因此,发酵制得酸奶后,不要忽略后熟环节。

④ 为了保证学生能及时观察和参与整个实验进程,最好安排在上午进行接种,之后有较充裕的时间进行观察。

### 3. 栏目使用建议

#### (1) 学习提示

第一个学习提示提示了巴氏消毒法的作用原理和使用方法。巴氏消毒法也是一种无菌技术,主要用于牛乳灭菌,可提示学生课后阅读,并可与其他一些灭菌方法作比较。第二个学习提示提示了溶解氧的浓度高低对发酵过程的影响,便于学生理解为何在发酵调控过程中需控制溶解氧水平。在进行发酵调控过程的教学中,可主动结合这一提示内容。

#### (2) 广角镜

广角镜“微生物菌种的逐级扩大培养”介绍了微生物菌种的逐级扩大培养过程。广角镜“液体发酵与固态发酵”介绍了液体发酵与固体发酵两种不同的发酵方式。这两个内容都是配合本节第 2 目的学习设计的,可帮助学生多了解一些大规模生产发酵产品过程中的具体操作,开阔眼界,以便更好地了解现代发酵工程技术。

广角镜“酵母合成青蒿素前体——青蒿酸”介绍了科学家利用酵母生产青蒿酸的研究。本栏目所介绍的科学家最新研究,再一次说明人类利用微生物的特定功能、发酵特性可以获取对人类有用的产品,发酵工程产品有着广泛的应用前景。

#### (3) 科学史话“青霉素:从发现到工业化生产”

该栏目以青霉素为例,将青霉素被发现、应用于医学,到实现工业化大规模生产的过程娓娓道来,重现这段历史,定格青霉素工业化发酵实现技术突破的重要画面,展现生物技术转化为生产力的过程,有助于学生能更好地理解和阐释发酵调控过程;同时,学生在关注这一艰辛研究过程中,也能深刻感受到科学家不懈的研究精神。本栏目与第 2 目中关于青霉素的发酵生产内容紧密相关,教师可将两者整合设计。

#### (4) 生物学与社会“垃圾分类与发酵工程”

该栏目主要介绍了湿垃圾的处理方式,在与传统处理方式进行比较的基础上,凸显了发酵工艺处理的优势。建议学生课后阅读本栏目,深入理解垃圾分类的原理,借此也了解发酵工程技术与日常生活的紧密联系、生物技术在现实生活中的应用价值,促使学生更主动参与垃圾分类,践行社会责任。

### 三、拓展资料

#### 1. 发酵工艺过程

对于任何发酵类型(除一些转化过程外),一个确定的发酵过程由6个部分组成:①确定菌种以及种子培养基和发酵培养基的组成;②培养基、发酵罐和辅助设备的灭菌;③大规模活力旺盛的纯种培养物的生产;④发酵罐中产物的大规模生产;⑤产物的提取、纯化;⑥发酵废液的处理。它们的相互关系如图1-5所示。因此,有必要不断进行研究以逐步提高整个发酵过程的效率。如在一个发酵过程建立之前,生产菌株必须分离出来,通过改造使其合成目标产物,并且其产量应具有经济价值;应确定微生物在培养上的需求,并设计相应的设备;同时必须确定产品的分离提取方法。此外,整个研究计划也应包括在发酵过程中不断地优化微生物菌种、培养基和提取方法。

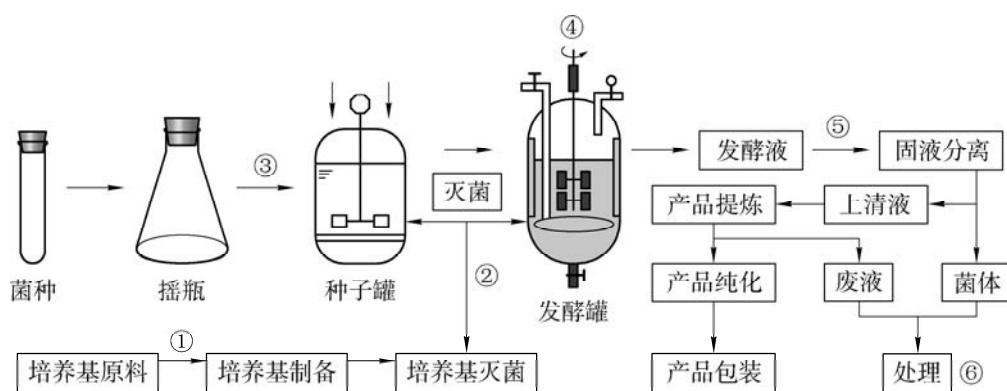


图 1-5 典型发酵过程的示意图

#### 2. 发酵工程发展趋势

生物学和工程学是发酵工程发展的基础,生物学和工程学相关领域的蓬勃发展为现代发酵工程的发展进步奠定了基础。未来的生物学领域,基于各种组学和实验生物科学的进步,对细胞功能的认识将进一步深入,对细胞功能进行优化的方法将不断丰富,相关发酵工艺将不断提高。未来工程学领域的研究,基于对细胞群体效应的解析,将向着过程的系统与集成优化方向发展,最终提高目标产品的产量。未来,系统生物学和合成生物学技术、发酵过程的细胞群体效应解析技术、发酵过程的复杂多相体系放大技术、基于多产物联产目标的全局调控技术、发酵过程集成和系统优化技术等将成为发酵工程发展的主要技术平台。

产业方面,未来10~20年的时间,我国将逐步从发酵工业大国转变为发酵工业强国。发酵工业产品将更加集中于国内已形成较大规模、对国民经济产生重大影响的产品和已具有出口能力、能参与国际竞争的产品,以及受知识产权限制、长期依赖进口、急需技术突破的产品。技术发展方向将集中于原料拓展、菌株改造、工艺优化、综合利用。我国发酵工业的发展目标是提升发酵工业整体技术水平,提高产品经济技术指标,增强国际竞争力,创造重大的社会和经济效益。

### 3. 酱油生产

#### (1) 酱油生产工艺过程

酱油是以大豆(或脱脂大豆)、小麦(或麦麸)为原料,经微生物发酵并加盐水制成的具有特殊色、香、味的液体调味品。酱油起源于我国,至今已有 2 000 多年的历史,是我国的传统发酵食品之一。以固态低盐法制作酱油为例,其工艺过程如下(图 1-6):以豆饼与麸皮为原料,利用纯种培养的米曲霉制曲,固态低盐制醅,保温发酵,浸出淋油……大致分为制曲、发酵、浸出和加热调配四个阶段。

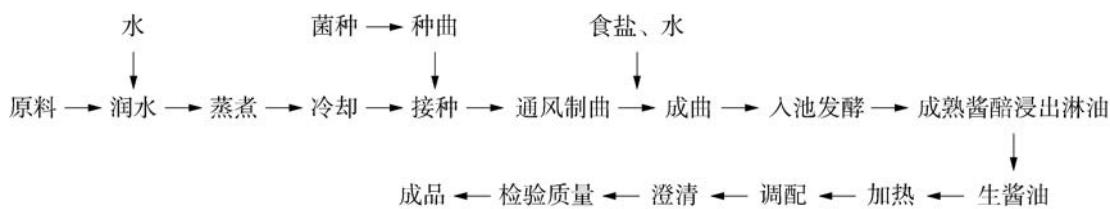


图 1-6 酱油的生产工艺流程

#### (2) 发酵过程中的生物化学变化及色、香、味的形成

① 酱油生产中蛋白质及淀粉的水解: 酱醅中的中性蛋白酶、碱性蛋白酶和谷氨酰胺酶使蛋白质逐渐转化为多肽和氨基酸, 谷氨酰胺转化为谷氨酸。成熟酱醅除含氨基酸外, 还存在着蛋白胨和多肽等。成品酱油中氨基氮的含量应达到全氮的 50% 以上。

淀粉在淀粉酶的作用下, 被水解为糊精和葡萄糖。生成的单糖一部分构成了酱油的甜味, 另一部分在耐盐酵母及乳酸菌作用下发酵生产醇和有机酸, 成为酱油的风味成分。由于曲霉菌中有其他水解酶存在, 糖化作用生成的单糖, 除葡萄糖外还有果糖及五碳糖。

② 酱油生产中酒精和有机酸的发酵: 酵母通过酒精发酵将酱醅中的部分葡萄糖转化为酒精和二氧化碳。除主要产物酒精外, 还有少量副产品生成, 如甘油、杂醇油、有机酸等。酱醅中的酒精, 一部分被氧化成有机酸类, 一部分挥发散失, 一部分与有机酸化合成酯, 还有少量则残留在酱醅中, 这些物质对酱油香气形成十分必要。

酱醅中乳酸菌的发酵作用, 可使糖类转变为乳酸。其他有机酸如葡萄糖酸和醋酸, 是由醋酸菌脱氢酶系催化的葡萄糖和乙醇的氧化反应生成的。米曲霉分泌的解脂酶能将油脂水解成脂肪酸和甘油。乳酸是酱油中的重要呈味物质, 对形成酱油风味起着重要作用。

③ 酱油生产中色素的形成: 酱油色素形成的主要途径是美拉德反应和酶褐变反应。美拉德反应是氨基化合物和羰基化合物间发生的非酶促反应, 最后生成褐色的类黑色素。参与反应的氨基化合物包括氨基酸、肽、蛋白质、胺类等, 羰基化合物有单糖、醛、酮及多糖分解产物等。与美拉德反应相比, 通过酶褐变反应生成的色素量则要少得多。酶褐变是氨基酸在有氧条件下发生的, 所生成的黑色素的颜色比非酶褐变生成的色素要深。

另外, 色素的形成与原料的种类、配比、制曲和发酵温度、酱醅含水量等条件也有关。除酱油酿制过程中产生色素外, 酱油生产原料也带入部分色素。对于颜色过浅的酱油, 必要时可添加酱色。

④ 酱油生产中香气的形成: 酱油香气成分是由原料中的蛋白质、碳水化合物、脂肪等成分经米曲霉酶系及耐盐酵母、耐盐乳酸菌等微生物的发酵作用和化学反应生成的。

⑤ 酱油的味: 酱油的咸味来自所含的食盐。由于酱油中的肽、氨基酸、有机酸和糖类缓和了食盐

的咸味,从而使酱油的咸味变得柔软。鲜味来源于原料中蛋白质分解形成的氨基酸和肽类,以谷氨酸为代表物质。有小部分谷氨酸是在酱醅发酵过程中由微生物生成的,而大部分则来源于蛋白质的分解。另外,微生物细胞内的核酸经水解后产生的鸟苷酸和肌苷酸钠盐也是强鲜味物质。甜味主要来源于糖类,如葡萄糖、果糖和麦芽糖等。另外,甘氨酸、丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、脯氨酸等甜味氨基酸和甘油、肌醇等多元醇也赋予酱油甜味。苦味物质有酪氨酸和缬氨酸等苦味氨基酸及部分二肽、发酵过程中产生的乙醛、食盐中带入的  $MgCl_2$ 、 $CaCl_2$  等杂质。苦味物质因为量少而感觉不到,这些微量苦味物质能增加酱油的醇厚感。以乳酸为代表,另外还有乙酸、丙酮酸、琥珀酸、柠檬酸、 $\alpha$ -酮戊二酸、丙酸、异丁酸等有机酸的少量存在,起到了助消化、增食欲、防腐、调味、增香等作用,并使酱油的强咸味变得柔和爽口。

⑥ 酱油的体态:酱油的浓稠度俗称为酱油的体态,它是由各种可溶性固形物构成的。酱油固形物是指酱油水分蒸发后留下的不挥发性固体物质,主要有可溶性蛋白质、氨基酸、维生素、矿物质、糊精、糖类、色素、食盐等成分。

# 第2章 细胞工程

细胞工程是生物工程领域的一个重要分支,它以细胞生物学和分子生物学为基础,进行细胞水平上的遗传操作以及大规模的细胞和组织培养,从而获得有用的生物体或产品。本章从植物细胞工程、动物细胞工程以及胚胎工程三方面建构“细胞工程通过细胞水平上的操作,获得有用的生物体或产品”的大概念。通过本章的学习,学生应能够对细胞工程有较为全面的认知,能够主动关注植物细胞工程技术在社会生产、生活等方面的应用,认识动物细胞工程技术可能对未来医学带来的变革,主动关注胚胎工程在畜牧业中的应用,并能根据该技术的原理,推理和演绎实现目标最大化的可行方案。

## 一、本章对应的《课程标准》要求

### 1. 内容要求与教学活动

本章内容框架的确定和主要内容的编写是依据《课程标准》内容要求“4.1 植物细胞工程包括组织培养和体细胞杂交等技术”“4.2 动物细胞工程包括细胞培养、核移植、细胞融合和干细胞的应用等技术”“4.3 对动物早期胚胎或配子进行显微操作和处理以获得目标个体”。教材结合学科内在体系和教学目标,分3节进行概述和说明(表2-1)。

表2-1 第2章内容与《课程标准》要求对照表

教材内容	《课程标准》要求
第1节 利用植物细胞工程培育新植株	4.1.1 阐明植物组织培养是在一定条件下,将离体植物器官、组织和细胞在适宜的培养条件下诱导形成愈伤组织,并重新分化,最终形成完整植株的过程 4.1.2 概述植物体细胞杂交是将不同植物体细胞在一定条件下融合成杂合细胞,继而培育成新植物体的技术 4.1.3 举例说明植物细胞工程利用快速繁殖、脱毒、次生代谢产物生产、育种等方式有效提高了生产效率
第2节 利用动物细胞工程改良动物细胞	4.2.1 阐明动物细胞培养是从动物体获得相关组织,分散成单个细胞后,在适宜的培养条件下让细胞生长和增殖的过程。动物细胞培养是动物细胞工程的基础 4.2.2 阐明动物细胞核移植一般是将体细胞核移入一个去核的卵母细胞中,并使重组细胞发育成新胚胎,继而发育成动物个体的过程 4.2.3 阐明动物细胞融合是指通过物理、化学或生物学等手段,使两个或多个动物细胞结合形成一个细胞的过程 4.2.4 概述细胞融合技术是单克隆抗体制备的重要技术 4.2.5 简述干细胞在生物医学工程中有广泛的应用价值
第3节 利用胚胎工程快速繁育优良动物品种	4.3.1 简述胚胎形成经过了受精及早期发育等过程 4.3.2 简述胚胎工程包括体外受精、胚胎移植和胚胎分割等技术

根据《课程标准》教学提示中提出的活动要求,结合实际课时,本章安排了1个学生实验和1个学生活动(表2-2)。

表2-2 第2章活动与《课程标准》要求关系

实验和活动名称	性质	《课程标准》要求
月季的快速繁殖	学生实验	利用植物组织培养技术培育菊花或其他幼苗,并进行栽培
收集单克隆抗体的应用实例	学生活动	收集单克隆抗体在临幊上实际应用的资料,并进行交流分享

## 2. 学业要求

《课程标准》关于本章的学业要求是学生应该能够:举例说出细胞工程及相关技术的基本原理;针对人类生产或生活的某一需求,在细胞工程中选取恰当的技术或方法,尝试提出初步的工程学设想,进行简单的设计和制作;面对日常生活或社会热点话题中与生物技术和工程有关的话题,基于证据运用生物学基本概念和原理,就生物技术与工程的安全与伦理问题表明自己的观点并展开讨论。对此,教材从以下几个方面进行落实。

**生命观念:**通过植物快速繁殖、脱毒技术、动物细胞培养、动植物细胞融合等原理的学习,学生形成结构与功能、稳态与平衡、物质与能量等生命观念。同时,通过收集或讨论细胞工程的实际案例,学生形成科学的自然观和世界观,并以此为指导探究生命活动规律。

**科学思维:**通过探究·实验2-1“月季的快速繁殖”和课前活动“试管婴儿的资料收集与分析”等,学生能发展归纳与概括、演绎与推理等科学思维,能够探讨、阐释生命现象及规律,审视或论证生物学相关社会议题。

**科学探究:**通过探究·实验2-1“月季的快速繁殖”,学生能够进行实验设计、方案实施,并对结果进行交流和讨论,也能尝试对其他植物组织培养进行工程化设计。通过探究·活动2-2“收集单克隆抗体的应用实例”和课前活动“试管婴儿的资料收集与分析”等,能够增强对生物技术的好奇心和求知欲,并在交流和讨论中,乐于并善于团队合作,勇于创新。

**社会责任:**通过紫杉醇案例的学习,学生能够意识到细胞工程对于生态效益、经济效益以及人类生产生活的巨大贡献,增强可持续发展的意识,树立和践行“绿水青山就是金山银山”的理念;通过克隆技术、干细胞技术及动物细胞融合技术的学习,能够认同生物技术对人类生产实践活动带来的影响和推动作用,并能对相关问题作出理性的解释和宣传。

## 二、本章与学科体系内容关系

### 1. 本章与其他章节之间的关系

本章内容和前后两章一起组成了现代生物工程的3大分支,学生经历这三章的学习,能举例出现代生物工程的基本原理,并能基于原理和证据探讨其对人类社会的影响。本章细胞核移植技术及“试管婴儿的资料收集与分析”活动等为第4章的学习做准备,也是建构大概念6的基础,结合第4章的学习,学生就生物技术与工程的安全与伦理表明自己的观点并展开讨论,养成社会责任感。

任意识。

## 2. 本章各节之间的关系

本章分为三节,第1节阐述了植物组织培养的过程,列举了植物快速繁殖、植物脱毒、单倍体育种、生产次生代谢产物等应用实例。第2节阐述了动物细胞培养的特点、步骤及单克隆抗体的制备过程,介绍了动物细胞培养技术、动物细胞融合技术、细胞核移植技术、干细胞技术等关键技术。第3节阐述了胚胎工程的基本原理及应用价值,其中包含体外受精、胚胎移植技术、胚胎分割移植等技术。因此,第1、2节的学习主要就植物细胞工程和动物细胞工程两大生物工程展开,第3节内容建立在第2节内容学习的基础之上,在了解胚胎工程应用价值的同时,强化结构与功能相适应和稳态维持的生命观念(图2-1)。学生通过三节内容的学习,可以理解细胞工程的理论基础和技术原理,感受细胞工程技术在人类生产、生活中的广泛应用,体会生物技术对人类社会的可持续发展具有重要意义。

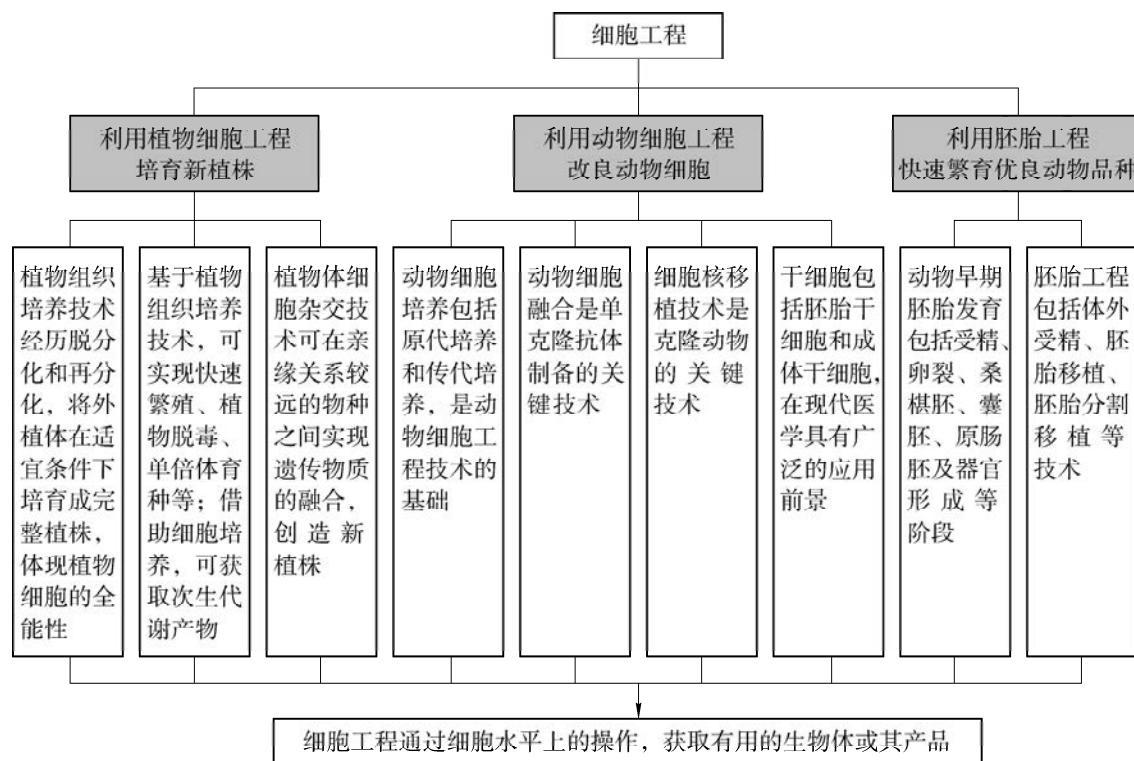


图2-1 第2章各节概念之间的关系

## 三、本章教学目标

在掌握植物细胞全能性理论的基础上,进一步加强结构与功能相适应和稳态维持的生命观念,基于植物组织培养的事实,说出植物快速繁殖、脱毒等技术原理;经历植物快速繁殖的实验操作,归纳并演绎植物组织培养的一般步骤,增加工程体验、提高实践能力,并能对实验结果展开分析和交流,提高科学思维。通过对动物细胞培养关键步骤和培养基特点的学习,强化结构与功能相适

应、能量与代谢的生命观念；基于细胞核移植技术的理论基础，归纳并演绎动物克隆技术及其应用，培养科学思维。能够主动关注动植物细胞和组织培养、单克隆抗体、治疗性克隆等在社会生产生活、医学等方面的应用，认识其对社会可持续发展的重大推动作用，增强社会责任。主动关注胚胎工程在畜牧业中的应用，并能根据该技术的原理，初步提出实现目标最大化的可行方案，培养工程思维。

## 四、本章课时建议

本章建议 8 课时，具体见表 2-3。

表 2-3 第 2 章课时安排

教学内容	课时建议
第 1 节 利用植物细胞工程培育新植株	3
第 2 节 利用动物细胞工程改良动物细胞	3.5
第 3 节 利用胚胎工程快速繁育优良动物品种	1.5

其中，第 1 节中的探究·实验 2-1“月季的快速繁殖”1 课时，本实验周期共约 9 周，需要在课余时间或在后续课时教学中妥善安排，包括实验现象的观察、实验结果的分析等；第 2 节中的探究·活动 2-2“收集单克隆抗体的应用实例”0.5 课时。

## 五、本章评价建议

### 1. 评价内容

#### (1) 学生的生命观念

学生是否能基于结构与功能观阐明动植物细胞工程的原理和区别；是否能应用适应、稳态维持的观点理解植物快速繁殖、脱毒等实际应用的技术原理。

#### (2) 学生科学思维的发展

学生是否能运用归纳与概括、演绎与推理等方法，阐明并认同植物组织培养技术、植物体细胞杂交技术、动物细胞培养技术、动物细胞融合等技术的步骤、原理、区别及对人类生产生活的价值。

#### (3) 学生科学探究的能力

学生是否能针对人类生产或生活的某一需求，在细胞工程领域选取恰当的技术或方法，尝试提出初步的工程学构想，进行简单的设计和制作。

#### (4) 学生的社会责任意识

学生是否能面对日常生活或社会热点话题中与生物技术和工程有关的话题，基于证据运用生物学基本概念和原理，就生物技术与工程的安全与伦理问题表明自己的观点并展开讨论。

## 2. 评价方式

### (1) 自我评价

本章每节后的自我评价主要考查了细胞工程及相关技术的基本概念、原理和事实。学生通过本章内容的学习,应能辨析、解释细胞工程及相关技术的基本概念、原理和事实,并能在简单情境中运用归纳、演绎、论证等科学思维,阐释生命现象和规律。例如,第1节第3题“尝试整理并比较你所学过的植物育种技术”,引导学生对所学知识进行整理和归纳,提升科学思维能力;第2节第5题“若要制备针对H1N1的单克隆抗体,请简述该抗体的制备步骤并分析其优势”,结合H1N1流感病毒的真实情境,检测学生对细胞融合技术的原理和步骤的理解,并引导学生关注和生物技术有关的话题,提升社会责任。第3节第3题“设计一套在生产实践中能最大限度提高和牛繁殖力”,结合真实情境,引导学生主动关注胚胎工程在畜牧业中的应用,并能针对人类的需求,运用所学知识进行简单的方案设计,解决具体问题。

### (2) 学业评价

本章设置了2道学业评价题,包括植物细胞工程和动物细胞工程两个方面。试题均以真实情境作为题干,每道试题设置若干小题,题型包括填空、选择及问答等形式。

**第1题:**围绕科学家进行单克隆抗体制备的情境,通过分析融合细胞的种类、阐明杂交瘤细胞的原理等引导学生回顾所学知识,同时要求学生“阐明第二次筛选的原理和方案”“思考并设计能减少甚至杜绝这种影响的特异性抗体制备的技术流程”等,着重考查学生归纳和演绎的科学思维及初步设计工程方案的科学探究素养;启发学生思考“运用单克隆抗体进行靶向治疗的优势体现在哪里,其原因是什么?”,希望学生关注癌症治疗的方法和原理,运用稳态与平衡的生命观念、归纳和演绎的科学思维关注社会议题并提升社会责任感。

**第2题:**以牡丹组织培养过程为情境,引导学生回顾植物组织培养原理、步骤等知识,并通过“分析表2-2数据,阐述紫斑牡丹组织培养过程中BA/NAA的浓度配比与诱导愈伤组织形成之间的关系,并寻找最合适的浓度配比”着重考查学生分析、处理实验数据的科学探究能力。通过“比较并阐明种子繁殖和组织培养的优缺点”,引导学生主动关注不同技术的特点,从而根据该技术的原理,初步提出实现目标最大化的可行方案。

# 第1节 利用植物细胞工程培育新植株

## 一、教材分析

### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

- (1) 在掌握植物组织培养理论的基础上,进一步加强结构与功能相适应和稳态维持的生命观念,并能通过归纳与推理等科学思维方式,理解植物快速繁殖、脱毒等应用实例的技术原理。
- (2) 通过植物快速繁殖的实验操作,阐释组织培养的一般步骤,增强实践动手能力,并能对实验结果展开分析和交流。
- (3) 能够主动关注植物细胞工程技术在社会生产、生活等各方面的应用,认识其对社会可持续发展的重大推动作用。

这三项目标是依据《课程标准》内容要求 4.1.1、4.1.2、4.1.3 设定的。目标(1)要求从结构与功能的角度认识植物细胞全能性,之后通过具体实例关注植物细胞和组织培养技术在生产生活中的应用。目标(2)要求学生进一步学习植物组织培养技术,验证植物细胞全能性的理论。在实验过程中增强实践动手能力,并能对实验结果展开分析和交流,提高科学探究能力。目标(3)要求在学习过程中,通过理论及实践两个环节,能够主动关注植物细胞工程技术在社会生产、生活等各方面的应用,认识其对社会可持续发展的重大推动作用,提升参与社会事务讨论的责任感。

### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》内容要求 4.1.1、4.1.2 和 4.1.3 而选取的,教材通过系列生物学事实来阐明(表 2-4)。

表 2-4 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
植物组织培养包含脱分化和再分化过程	离体的植物细胞、组织或器官(外植体)在适宜的培养条件下经脱分化形成愈伤组织,然后经过再分化,形成芽、根并最终发育成完整植株
借助植物细胞培养技术可以生产次生代谢产物	通过对红豆杉细胞的悬浮培养,可以从中分离出高纯度的紫杉醇
植物体细胞杂交能够克服远缘植物之间无法进行有性杂交的障碍	植物体细胞的杂交可以避开生殖细胞的受精过程,在亲缘关系较远的物种之间实现遗传物质的融合,从而创造出自然界中没有的新物种

### 3. 学习内容

本节内容主要帮助学生建构概念“植物细胞工程包括组织培养和体细胞杂交等技术”，在介绍植物组织培养、体细胞杂交等技术的基础上，介绍快速繁殖、植物脱毒等植物细胞工程技术的应用案例，引导学生认同植物细胞工程技术对生产生活实践的推动作用及应用前景。

节引言以中国传统“花中四君子”引入，介绍“兰花工厂”可以实现兰花的大规模培育，激发学生的学习兴趣和探究欲望。课前活动用生动的图片介绍了兰花快速繁殖的技术路线，让学生通过浏览图片对植物快速繁殖的过程有一个初步的了解，并与本节的探究·实验相呼应。课前活动设置了两道思考与讨论题，引导学生关注细胞分裂和分化过程中遗传物质的含量、表达状况等是否发生变化，并用“为什么部分细胞经过特定的体外操作可以发育成为一个完整的生物体？”这一问题，引入正文的教学。

教材分 2 目，通过若干案例，阐明植物组织培养和体细胞杂交技术。

第 1 目：植物组织培养技术可将离体器官、组织或细胞再生为完整植株。教材从植物学家哈伯兰特关于“植物细胞全能性”的假说开始，介绍这一假说证实的过程。之后，详细介绍植物组织培养的步骤，并阐明生长素和细胞分裂素浓度配比对愈伤组织分化的影响。最后，从植物快速繁殖、植物脱毒和单倍体育种等几个方面介绍组织培养技术的应用价值；以紫杉醇的生产为例，介绍借助植物细胞培养技术生产次生代谢产物，凸显这一技术对社会可持续发展的重大推动作用。

第 2 目：植物体细胞杂交技术可创造新植株。教材首先从结构与功能的角度比较动植物细胞融合的区别。随后以“白菜-甘蓝”的培育为例，图文并茂地介绍植物体细胞杂交的技术路线，最后指出该技术在理论和实践方面的意义。制备原生质体是植物细胞融合的基础，教材介绍了制备原生质体的方法，并选用图 2-10 展示真实的植物体细胞融合的显微照片。图中的融合细胞内，来自叶片细胞和花瓣细胞的色素借助细胞融合出现在一个细胞中，直观呈现了植物原生质体融合的结果。

## 二、教学建议

本节内容建议 3 课时。其中，课堂教学 2 课时，实验与活动 1 课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 遵循“假说→论证→演绎”的教学思路组织教学

教材首先介绍哈伯兰特提出的“植物细胞全能性”假说，教师可以结合受精卵发育成个体的过程，引导学生分析这一假说提出的理论背景。然后介绍斯图尔德的胡萝卜根韧皮部细胞组织培养实验，证实了哈伯兰特提出的假说。在这一部分内容的教学中，建议始终围绕植物细胞表现出全能性的条件，引导学生进行分析和讨论。最后用组织培养的应用案例：植物快速繁殖、植物脱毒、单倍体育种等演绎植物细胞全能性的假说。教师在教学时，引导学生经历“假说→论证→演绎”的教学思路，培养学生推理、演绎等科学思维。

#### (2) 充分利用真实情境，激发学生学习热情

为了帮助学生建构大概念 4，教材使用了大量的案例及照片，如兰花、青蒿的大规模组织培养、植物体细胞融合、紫杉醇的提取等。教师可以充分利用这些情境，进行创造性的教学设计，引导学生关

注植物细胞工程技术在社会生产、生活等各方面的应用,认同其对社会可持续发展的重大推动作用,激发学习热情;在植物细胞培养的教学中,教师可以结合当今卵巢癌的发病率及治疗方法,结合教材图解,说明紫杉醇的功用,之后结合红豆杉的濒危处境,认识植物细胞大规模培养的价值。通过这些实例的教学,帮助学生建构概念,同时引导学生关注植物细胞工程对社会可持续发展的重大推动作用,增强社会责任。

### (3) 经历工程任务,培养学生严谨的科学思维和科学探究能力

本节内容设置了探究·实验 2-1“月季的快速繁殖”,学生在实验室中经历选材、消毒、接种、培养和移栽等完整的组织培养过程,通过师生讨论、生生讨论,解决实验中遇到的实际问题,在此过程中培养科学探究能力。如果学生有兴趣,在有条件的情况下,教师也可以引导学生进行其他植物的快速繁殖。除此之外,教师也可以在兰花培育、紫杉醇的大规模生产等情境中引导学生经历工程学的设计,关注植物细胞工程对人类生产生活带来的变革,激发学生的学习兴趣。

## 2. 实验与活动建议

### 探究·实验 2-1 月季的快速繁殖

在第 1 章中,学生已经学习并通过实验掌握了无菌技术,该技术是实现植物组织培养的基础。在实验前,教师可引导学生先阅读教材,归纳该实验涉及的无菌技术。本实验通过月季的快速繁殖,为学生理解植物细胞的全能性奠定基础,并且通过实践操作提升学生的动手操作能力,加深对无菌技术的认识并体验生物工程技术。

#### (1) 材料器具准备

① 准备具腋芽的月季嫩茎,需经过消毒处理(具体步骤见《实验与活动部分》)。

② 准备基本 MS 培养基(表 2-5),它是以发明者穆拉西(T. Murashige)和斯科格(F. Skoog)的姓氏来命名的。配制完成后,将 pH 调至 5.8。在基本 MS 培养基的基础上,需要改变生长素和细胞分裂素的比例,分别诱导芽分化和生根。

表 2-5 基本 MS 培养基配方

大量元素(mg/L)		微量元素(mg/L)		有机营养(mg/L)	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1 650	KI	0.83	甘氨酸	2.0
KNO <sub>3</sub>	1 900	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2	烟酸	0.5
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	440	MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	22.3	维生素 B <sub>1</sub>	0.5
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	370	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	8.6	维生素 B <sub>6</sub>	0.1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.25	肌醇	100
		CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.025	蔗糖	30 000
		CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.025		
		FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	27.8		
		Na <sub>2</sub> · EDTA	37.3		

## (2) 注意事项

① 教师需提醒学生操作前要洗净双手,进入超净工作台后用 75% 酒精擦拭双手,并用酒精擦拭试剂瓶口。消毒过的月季嫩茎要始终处于无菌条件下,接种时去掉直接接触药品的末端。

② 教师需提醒学生无菌操作在火焰附近进行。经过灼烧的金属器械需冷却后再夹取植物组织,以免烧焦组织。

### 3. 栏目使用建议

#### (1) 学习提示

第一个学习提示从结构和功能的角度阐释了植物细胞全能性的原理,凸显了生命观念;第二个学习提示基于植物细胞壁的组成及酶的特异性,引导学生加深思考。

#### (2) 广角镜“植物原生质体融合技术”

该栏目介绍了植物原生质体融合的物理和化学方法,拓展学生的视野,同时也证明植物细胞融合可行,培养严谨的科学思维。

## 三、拓展资料

### 1. 植物细胞全能性

植物细胞全能性是指植株的每个细胞都包含着该物种的全部遗传信息,从而具备发育成完整植株的遗传能力。植物细胞全能性是植物组织培养的理论基础。

为什么植物细胞具有全能性呢?植物体内的每一个体细胞都具有和受精卵完全一样的 DNA 序列。当这些细胞在植物体内的时候,由于受到所在器官和组织环境的束缚,仅仅表现一定的形态和局部的功能。但它们的遗传潜力并未丧失,全部遗传信息仍然被保持在 DNA 序列之中。一旦脱离了原来器官组织的束缚,在一定的营养条件和植物激素的诱导下,细胞的全能性就能表现出来。植物的体细胞可以像一个受精卵那样,由单个细胞或离体组织形成愈伤组织,然后成为胚状体,进而长成一棵完整的植株。1902 年,德国植物学家哈伯兰特就预言了植物体的任何一个细胞都有长成完整个体的潜在能力,这种潜在能力就叫植物细胞的“全能性”。1934 年,美国科学家怀特用无机盐、糖类和酵母提取物配制成怀特培养基,用于培养番茄根尖切段。400 多天后,他发现在切口处长出了一团愈合伤口的新细胞,这团细胞被称为愈伤组织。与之类似,法国科学家制成了固体培养基,能使山毛柳、黑杨形成层组织增殖,最后形成了类似藻类的突起物。

1943 年,我国科学家在世界上首次实现了裸子植物的胚胎体外培养,又建立了植物茎尖离体培养技术,成功地利用该技术使菟丝子在试管中长成植株并开花,开创性地将组织培养技术应用于实验研究。1958 年,美国科学家斯图尔德等将高度分化的胡萝卜根的韧皮部组织细胞放在合适的培养基上培养,发现根细胞会失去分化细胞的结构特征,发生反复分裂,最终分化成具有根、茎、叶的完整的植株。1965 年,沃索和海德布兰德用悬浮培养的胡萝卜单个细胞培养成了可育的植株。至此,经过科学家们 60 余年的不断试验,植物分化细胞的全能性得到了充分论证,建立在此基础上的组织培养技术也得到了迅速发展。20 世纪 80 年代以来,我国科学家开展了一系列重要植物发育和生理过

程的研究,例如,利用风信子球茎鳞片外植体培养体系,在试管中实现了植物生殖器官的重新发生;通过柑橘、水稻等植物的胚乳培养,获得了三倍体植株,证明了胚乳三倍体细胞的全能性等。

## 2. 植物原生质体制备

植物原生质体可以采用机械分离和酶解分离的方法进行制备。机械分离法的原理是植物细胞在高渗糖溶液中会发生轻微的细胞壁和质膜的分离,原生质收缩成球形。此时,使用机械方法对植物组织进行研磨,破坏细胞壁的完整性,原生质体会从受损的细胞壁中释放出来。这种方法的缺点是获得的完整原生质体的数量较少,优点是可以避免酶制剂对原生质体可能的破坏作用。酶解分离法是目前制备植物原生质体的最常用方法。根据植物细胞壁组成的不同,该方法利用含有纤维素酶、果胶酶和其他多种细胞壁降解酶的混合物降解植物细胞壁,获得大量完整的植物原生质体。其中果胶酶消化植物细胞间的果胶,把组织分离成单个植物细胞,而纤维素酶则消化细胞壁。酶解分离法的缺点在于,所使用的酶制剂经常会有核酸酶、蛋白酶、过氧化物酶等其他物质的污染,可能影响原生质体的活力。

## 3. 植物原生质体融合技术

植物原生质体可以通过多种化学方法或物理方法发生融合。其中化学方法中使用最广泛的是使用聚乙二醇(PEG)促融。PEG 具有很强的脱水作用,能够扰乱分散在原生质体表面的蛋白质和脂质排列,提高脂质胶粒的流动性,从而促进原生质体融合。另外,添加一定浓度的  $\text{Ca}^{2+}$ ,可以促进脂质分子的扰动,提高融合频率。最常用的物理方法是电融合。在一定强度电场的作用下,原生质体膜会被击穿,从而导致融合的发生。

融合后的原生质体具有生物活性,但不具有细胞壁,无法表现优良的性状,不能在普通培养基上生长,必须设法让它长出细胞壁。原生质体重新形成细胞壁的过程称为再生。再生培养基必须具有与原生质体内相同的渗透压,常用含有  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  或增加渗透压稳定剂的完全培养基。把融合的原生质体涂布于添加渗透压稳定剂的高渗琼脂培养基上,或者把原生质体悬液混合在培养基中,进行琼脂夹层培养,使其再生细胞壁。增加高渗琼脂培养基的渗透压或添加蔗糖可增加再生率,恢复正常细胞形态后,才能在普通培养基上正常生长。

## 4. 青蒿国家种质资源库

2017 年 9 月,中国中医科学院中药研究所青蒿种质资源库在广西融安县建立,这里收集了全球 1 200 余份青蒿种质资源,为青蒿分子育种提供了丰富的材料储备。植物分子育种是改善药用植物品质的重要途径,通过该方法,结合青蒿表型和基因型来提高育种效率和缩短育种年限,筛选优质、高产、抗性强的青蒿新品种,以提高青蒿原料的品质和产量,降低生产成本,加强优质原料保障。研究人员对不同青蒿品种中青蒿素含量、产量、抗性相关的性状进行了收集,对得到的优良性状植株进行了固定和扩繁。通过发掘已发表的青蒿全基因组、叶绿体基因组、转录组、遗传图谱等遗传信息,获得了与产量、含量、抗性等关键基因。未来,可以通过将遗传标记与表型相关联,实现青蒿优良性状的快速筛选,并通过基因工程、设计育种等分子育种手段,实现青蒿优良新品种的快速培育。

## 第2节 利用动物细胞工程改良动物细胞

### 一、教材分析

#### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

(1) 通过对动物细胞培养关键步骤和培养基特点的学习,强化结构与功能相适应、能量与代谢的生命观念。

(2) 阐明细胞核移植技术的理论基础,归纳并演绎动物克隆技术及其应用。

(3) 通过单克隆抗体制备、治疗性克隆等实例的学习,认识动物细胞工程技术可能对未来医学带来的变革,并探讨其对人类社会的影响。

这三项目标是依据《课程标准》内容要求 4.2.1、4.2.2、4.2.3、4.2.4 和 4.2.5 设定的。目标(1)和目标(2)要求学生通过对动物细胞培养技术、细胞核移植技术等原理和关键步骤的学习,强化结构与功能观、物质与能量观。目标(3)要求学生开展单克隆抗体应用实例的资料收集等实践活动,理解单克隆抗体制备过程的原理,关注基于细胞核移植技术的动物克隆应用,认识动物细胞工程技术可能对未来医学带来的变革,增强社会责任意识。

#### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》概念 4 和内容要求 4.2.1、4.2.2、4.2.3、4.2.4 和 4.2.5 而选取的,教材通过系列生物学事实来说明(表 2-6)。

表 2-6 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
动物细胞培养是在适宜的条件下使细胞生长和增殖的过程	动物细胞培养包括原代培养和传代培养,动物细胞培养对适宜的外界环境设定和维持有严苛的要求
细胞核移植技术是目前动物克隆技术的主要手段	克隆羊“多莉”是人类首次利用成年动物的体细胞细胞核移植获得的克隆后代 克隆技术在农牧业、科学研究、制药行业及野生动物保护中具有极大的应用前景
细胞融合技术是单克隆抗体制备的重要技术	细胞融合的方法包括物理、化学和生物方法 单克隆抗体可用于肿瘤的靶向性治疗,以降低对健康组织与细胞的伤害
干细胞在生物医学工程中具有广泛的应用价值	干细胞按来源可分为胚胎干细胞和成体干细胞;成体干细胞按分化潜能可分为多能干细胞和单能干细胞 干细胞在生物医学领域有巨大应用前景 诱导性多能干细胞可拥有和胚胎干细胞类似的分裂和分化能力

### 3. 学习内容

本节内容从动物细胞培养、细胞核移植、细胞融合和干细胞应用等方面,阐明动物细胞工程技术的原理、一般步骤及应用前景。节引言和课前活动介绍体细胞克隆猴“中中”和“华华”培育成功的案例,激发学生的学习兴趣、探究欲望,增强民族自豪感。“中中”和“华华”诞生的技术路线让学生了解克隆猴的培育过程,并和正文“细胞核移植技术”部分呼应,思考与讨论引导学生关注“中中”和“华华”培育过程和有性生殖的差异,并分析克隆猴的性状表现。最后,通过“‘中中’和‘华华’培育过程运用了哪些关键技术?”这一问题,导入正文的教学。

教材分 4 目,从动物细胞工程的基础——动物细胞培养技术开始,到动物细胞融合技术、细胞核移植技术和干细胞技术的介绍。

**第 1 目:**动物细胞培养技术是动物细胞工程的基础。教材首先指出培育克隆猴“中中”和“华华”要借助动物细胞培养技术,保障细胞在体外的存活,衔接课前活动并引入动物细胞培养技术。在简短的科学史之后,介绍动物细胞培养的“原代培养”和“传代培养”,最后详细介绍动物细胞培养的诸多条件,确保培养的成功率。

**第 2 目:**动物细胞融合是单克隆抗体制备的关键技术。教材首先界定了天然“细胞融合”和现代生物工程中“细胞融合”,阐述现代生物工程中细胞融合的概念,之后介绍各种促融的方法。细胞融合技术是单克隆抗体制备的重要技术,教材着重介绍单克隆抗体的制备过程,真实再现科学家在制备单克隆抗体时面临的困惑以及解决的思路。教材图 2-14 配合正文介绍单克隆抗体的制备过程,该图片呈现经过筛选之后的杂交瘤细胞具有多种类型,需要再次筛选才能克隆培养。随后,教材介绍单克隆抗体在医学上的应用,体现生物技术对医学带来的重大变革。

**第 3 目:**细胞核移植技术是克隆动物的关键技术。教材从分子、细胞和个体水平上对“克隆”这一名词进行了清晰的界定。随后,图文并茂地介绍细胞核移植技术的操作过程和实例,并呈现克隆技术的应用前景。最后,对克隆技术本身做出客观的评价,指出该技术本身还存在很多问题,引出可能会导致的伦理问题,为第 4 章“生物技术安全与伦理”埋下伏笔。

**第 4 目:**干细胞技术是组织或器官修复和再生的主导技术。在《分子和细胞》分册中,已经界定了“干细胞”的概念,所以本册教材直接介绍干细胞的类型及其应用,随后指出胚胎干细胞的获取及应用可能涉及的复杂伦理问题,而诱导性多能干细胞的培育及应用可以避免类似的伦理问题。前沿视窗栏目详细介绍了获得诱导性多能干细胞的过程。

## 二、教学建议

本节内容建议 3.5 课时。其中,课堂教学 3 课时,实验与活动教学 0.5 课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 创设真实情境,引入课堂学习

充分利用“中中”“华华”的培育过程,采用师生对话的方法,了解学生对于克隆技术概念的理解;

也可以结合“多莉”的培育过程导入新课。这些情境的创设,可以激发学生学习和探究的欲望,顺势引入动物细胞培养技术和细胞核移植技术的教学。

### (2) 开展“任务驱动式”教学,合理安排和统整教材内容

任务一:阅读并分析“中中”和“华华”培育的技术路线,思考“中中”和“华华”的性状最像谁,为什么?学生在此之前已经学习过遗传,知道性状主要由基因控制,基因主要在细胞核,对该问题应能作出理性的解释。教师在此基础上,展开细胞核移植技术的教学,并分析“中中”和“华华”培育成功在理论及实践中的重要意义。

任务二:引用微生物传染病传播的真实生活情境,让学生设计大规模生产抗体的工程方案。师生讨论大规模生产过程中可能碰到的技术瓶颈,从而引出单克隆抗体的必要性和优势。

### (3) 拓展教材内容,强调学生主动参与教学过程

动物细胞工程的教学内容比较抽象,教师可以引导学生开展资料的收集和讨论,主动参与教学过程。教师引导学生通过克隆羊“多莉”的培育过程及该技术可能涉及的伦理问题,了解细胞核移植技术的应用实例;教师可以引导学生收集单克隆抗体的应用实例,如癌症的靶向治疗、早孕试纸的工作原理等,用于交流或展示。学生在此过程中,能感受到生物工程技术对人类生产生活带来的影响,提升社会责任意识。广角镜“治疗性克隆”展现了生物医学的光明前景,能极大激发学生的学习热情。教师在教学时,可以使用教材案例或结合更多前沿案例,也可以倡导学生搜集相关资料,展现动物工程技术的广阔应用前景。

## 2. 实验与活动建议

### 探究·活动 2-2 收集单克隆抗体的应用实例

本活动通过引导学生收集单克隆抗体的应用实例,加深对单克隆抗体的认识,了解其在生物医学上的应用价值,理解生物技术为现代医学带来的巨大变革。

实施建议:①建议上课的场所为学校网络教室。②为了提高搜索效率,建议可分小组、分专题进行搜集。③建议将搜集的资料制作成海报,在班级或学校集中展示,增强学生参与并宣传社会事务的责任心。

## 3. 栏目使用建议

### (1) 学习提示

第一个学习提示提示学生从结构和功能的角度理解细胞融合现象,是核心素养的显性化呈现方式;第二个学习提示引导学生对干细胞的类型和功能进行归纳和概括。

### (2) 广角镜

广角镜“无血清培养基”可以作为阅读材料供学生课外阅读,了解动物细胞培养技术的进展,感悟科学家解决实际问题的毅力。广角镜“治疗性克隆”介绍了干细胞广阔的应用前景,教师可以引导学生在课外阅读,也可以作为课堂教学案例。学生在阅读该资料过程中,拓宽了视野,同时感受到细胞工程技术可能为未来医学带来美好前景以及巨大的社会效益。

### (3) 科学史话“克隆猴的‘前世今生’”

该栏目介绍了几代科学家为了证实“动物细胞全能性”所作出的努力。学生在阅读科学史的过程中,感悟科学家在解决技术难题过程中表现出来的坚持不懈的毅力、严谨睿智的科学精神,激发探索和实践的热情及投身科学的研究的勇气。

### (4) 前沿视窗“诱导性多能干细胞与组织工程”

该栏目介绍了诱导性多能干细胞的培育过程、组织工程的研究范围及两者在未来医学上具备的巨大应用价值,能极大激发学生科学的研究的热情。

## 三、拓展资料

### 1. 动物细胞培养历史

1907年,哈里森(R. G. Harrison)在无菌条件下用淋巴液作培养基,培养蛙胚神经组织存活数周,并观察到神经细胞突起的生长过程,由此创建了盖玻片覆盖凹窝玻璃悬滴培养法,奠定了动物组织体外培养的基础。之后,又有人将悬滴培养法改良为双盖片培养,提高了传代效率并减少了污染;1923年,卡雷尔(A. Carrel)设计了卡氏瓶培养法,扩大了组织生存空间。1951年,厄尔(H. Eagle)发明了体外培养动物细胞的人工合成培养基。1951年,波米拉(C. M. Pomerat)设计了灌流小室,使细胞生活在不断更新的培养液中,便于显微摄影和细胞代谢的研究。1957年,杜尔贝科(R. Dulbecco)等人采用胰蛋白酶消化处理和应用液体培养基的方法,获得了单层细胞。单层培养法的出现,对组织培养的发展起了很大的推动作用。此后单层培养成为组织培养普遍应用的技术。20世纪60年代后,动物细胞大规模培养技术开始起步,并逐步发展。20世纪80年代后,随着基因工程和其他细胞工程技术的发展,细胞培养技术已成为转基因技术、生物制药及其他许多技术的基础,在现代生物技术中发挥着重要的作用。2007年,我国第一个自动化大规模哺乳类动物细胞培养技术平台全线贯通,推动了我国生物医药产业的跨越式发展。

### 2. 动物细胞培养条件

细胞培养是指在体外模拟体内环境(无菌、适宜温度、酸碱度和一定营养条件等),使细胞生存、生长、繁殖并维持主要结构和功能的一种方法。在各种细胞离体培养中,最困难的是动物细胞培养,大多数动物细胞有贴壁生长的习惯。离体培养常用玻璃、塑料等作为支持物。

#### (1) 动物细胞培养对环境因素的要求较为复杂

动物细胞培养需要注意的环境因素包括:①无菌环境:无毒和无菌是体外培养细胞的首要条件。细胞在活体内,免疫系统可抵抗微生物或其他有害物质的入侵。但细胞在体外培养的过程中,缺乏机体免疫系统的保护而丧失对微生物的防御能力和对有害物质的解毒能力。为保证细胞能在体外环境中生长,必须确保工作区域、试剂和培养基无菌以及操作人员无菌操作规范。②合适的温度:一般哺乳类与禽类细胞在体外培养的适宜温度是37~38℃,不适宜的环境温度会影响细胞的生长。细胞对低温的耐受能力要强于对高温的耐受能力,在低温下,细胞的代谢活力及核分裂能力降低。若温度不低于0℃,虽然细胞代谢受到影响,但无损伤作用;25~35℃时,细胞以缓慢的速度生长;但若

被置于 40 ℃数小时，则不仅不利于细胞生存、生长，甚至可导致其死亡。③适宜的渗透压：高渗溶液或低渗溶液会引起细胞发生褶皱、肿胀、破裂。因此，渗透压是体外培养细胞的重要条件之一。④气体环境与 pH：细胞的体外培养需要理想的气体环境，氧气、二氧化碳是细胞生存的必要条件。氧气参与细胞的三羧酸循环，为细胞生存、代谢与合成提供能量；二氧化碳既是细胞的代谢产物，是细胞生长的必需成分，又与维持培养液的 pH 有关。大多数细胞适宜的 pH 范围是 7.2~7.4。在开放式培养中，以 5% 的二氧化碳气体比例为宜。

## （2）动物细胞培养对营养条件有严格的要求

动物细胞培养的主要营养成分包括：①培养基：细胞培养基包含细胞生长所需的各种营养物质，包括碳水化合物、氨基酸、无机盐、维生素等。针对不同细胞的营养需求，有多种合成培养基可供选择。②其他添加成分：在各种合成培养基提供基础营养物质之外，还需根据不同细胞和不同的培养目的添加其他成分，如血清等。血清提供的是细胞外基质、生长因子和转铁蛋白等重要物质，常用的是胎牛血清。要根据不同的细胞和不同的研究目的决定添加血清的比例。但血清中也存在有害于细胞生长和繁殖的物质，如补体、免疫球蛋白和一些生长抑制因子；血清成分不明确，影响对结果的分析；不同动物、不同批次的血清活性差别较大，影响培养效果的稳定性。谷氨酰胺是细胞生长重要的氮源，在细胞生长代谢过程中起重要作用，但由于谷氨酰胺在溶液中容易降解（4℃下放置 7 天即可分解约 50%），故谷氨酰胺需在使用前添加。为防止污染，培养基中还需添加一定量的抗生素。

## 3. 动物细胞的培养流程

### （1）准备工作

准备工作对开展细胞培养非常重要，工作量也较大，应给予足够的重视，准备工作中某一环节的疏忽可导致实验失败或无法进行。准备工作的内容包括器皿的清洗、干燥与消毒，培养基与其他试剂的配制、分装及灭菌，无菌室或超净台的清洁与消毒，培养箱及其他仪器的检查与调试等。

### （2）取材

在无菌环境下从机体取出某种组织细胞，经过一定的处理（如消化分散细胞、分离等）后接入培养器皿中，这一过程称为取材。从机体取出的组织细胞的首次培养称为原代培养。理论上讲各种动物和人体内的所有组织都可以用于培养，实际上幼体组织（尤其是胚胎组织）比成年个体的组织容易培养，分化程度低的组织比高分化的容易培养，肿瘤组织比正常组织容易培养。取组织细胞时应严格保持无菌，同时也要避免接触其他的有害物质。

### （3）培养

将取得的组织细胞接入培养瓶或培养板中的过程称为培养。细胞接入培养器皿后，立即放入培养容器中，使细胞尽早进入生长状态。正在培养中的细胞应每隔一定时间观察一次，对培养温度和 CO<sub>2</sub> 浓度也要定时检查。动物细胞培养可分为原代培养和传代培养两种。

原代培养也称初代培养，是指动物的组织或器官从机体取出后，经机械法或各种酶类（常用胰蛋白酶）和螯合剂（常用 EDTA）处理，使之分散成单个细胞，加入适量培养基，置于合适的培养容器中，在无菌、适当温度和一定条件下，使之生存、生长和繁殖的过程。严格地说原代培养是指从体内取出组织接种培养到第一次传代阶段，一般持续 1~4 周，但实际上，通常把第一代至第十代以内的培养细

胞统称为原代培养细胞。此期细胞呈活跃地运动,可见细胞分裂,但不旺盛。原代培养细胞与体内原组织在形态结构和功能上相似性大。由于培养的细胞刚刚从活体组织分离出来,故更接近于生物体内的生活状态。这一方法可为研究生物体细胞的生长、代谢、繁殖提供有力的手段,同时也为后续的传代培养创造条件。

当原代培养成功以后,随着培养时间的延长和细胞不断分裂,细胞之间相互接触而发生接触性抑制,生长速度减慢甚至停止;此外,因营养物不足和代谢物积累,原培养液不利于细胞生长或细胞可能发生中毒。为使细胞能继续生长,同时也将细胞数量扩大,就必须进行传代(再培养)。传代培养是一种将细胞种保存下去的方法,同时也是利用培养细胞进行各种实验的必经过程。通常,传代培养是指扩大培养,也就是将一份细胞一分为二或者一分为三进行培养。但严格说来,不论稀释与否,将细胞从一个培养瓶转移或移植到另一个培养瓶即称为传代或传代培养。

#### (4) 冻存及复苏

为了保存细胞,特别是不易获得的突变型细胞或细胞株,要将细胞冻存。将细胞收集至冻存管中加入含保护剂(一般为二甲亚砜或甘油)的培养基,以一定的冷却速度冻存,最终保存于-196℃的液氮中。在极低的温度下,细胞保存的时间几乎是无限的。复苏一般采用快融方法,即从液氮中取出冻存管后,立即放入37℃水中,使之在一分钟内迅速融解,然后将细胞转入培养器皿中进行培养。冻存过程中保护剂的选用、细胞密度、降温速度及复苏时温度、融化速度等都对细胞活力有影响。

### 4. 细胞系和细胞株

细胞系(cell line)指原代细胞培养物经首次传代成功后繁殖的细胞群体,也指可长期连续传代的培养细胞。如细胞系的生存期有限,则称之为有限细胞系(finite cell line);已获无限繁殖能力的细胞系,称连续或无限细胞系(infinite cell line)。无限细胞系大多已发生异倍化,具异倍体核型,可能成为恶性细胞,因此本质上是发生转化的细胞系。由某一细胞系分离出来的、在性状上与原细胞系不同的细胞系,称亚系(subline)。因此,细胞系狭义的是指可连续传代的细胞,广义是指可传代的细胞。大多数二倍体细胞为有限细胞系。

通过选择法或单细胞分离培养法(即克隆培养法)从原代细胞培养物或细胞系中获得具有特殊性质或标志物的培养物称为细胞株(cell strain),也就是说,细胞株是用单细胞分离培养或通过筛选的方法,由单细胞增殖形成的细胞群。细胞株的特殊性质或标志物必须在整个培养期间始终存在。

### 5. 早孕检测试纸的原理

人绒毛膜促性腺激素(HCG)是由胎盘的滋养层细胞分泌的一种糖蛋白,它是由 $\alpha$ 和 $\beta$ 亚基形成的二聚体。受精的卵子移动到成熟女性子宫腔内着床后,形成胚胎。在发育为胎儿的过程中,胎盘滋养层细胞会产生大量的HCG,并通过孕妇血液循环进入尿液中。当妊娠1~2.5周时,血清和尿液中的HCG水平可迅速升高,并在第8周孕期达到峰值。早孕检测试纸是应用了免疫层析双抗体夹心法原理制成的HCG检测试纸,以胶体金为指示标记,可快速测定尿液标本中的HCG,来确定女性是否受孕。

胶体金是氯金酸(HAuCl<sub>4</sub>)在还原剂作用下,聚合成的一定大小的金颗粒,其在静电作用下形成

带负电的疏水胶溶液,所以被称为胶体金。这种球形的粒子对蛋白质有很强的吸附能力,可以与包括免疫球蛋白在内的多种生物大分子非共价结合,而且这种结合是静电结合,并不影响蛋白质的生物特性,因而在基础研究和临床试验中成为非常有用的工具。胶体金标记,实质上是蛋白质等大分子被吸附到胶体金颗粒表面的包被过程。当这些胶体金蛋白标记物在相应的配体处大量聚集时,会形成肉眼可见的色斑或色带,已被广泛用于定性或半定量的快速免疫检测方法中。

早孕试纸检测过程中,当被检尿样虹吸通过胶体金标记抗体时,样本中的HCG会与抗体形成抗原-抗体胶体金复合物。复合物继续“爬行”,到达检测线的位置,会与此处的抗-HCG单克隆抗体形成双抗体夹心胶体金复合物,并呈现色带(图2-2)。过量的胶体金抗体继续“爬行”,在控制线的位置,抗体会与此处的兔抗鼠IgG抗体形成胶体金免疫复合物,并呈现另一色带。因此,如仅在试纸控制线位置出现一条有色带,表示阴性,说明未怀孕;如在检测区出现明显的色带,而控制线没有显色,则结果无效;当控制线和检测线出现两条色带,表示结果阳性,说明已经受孕。

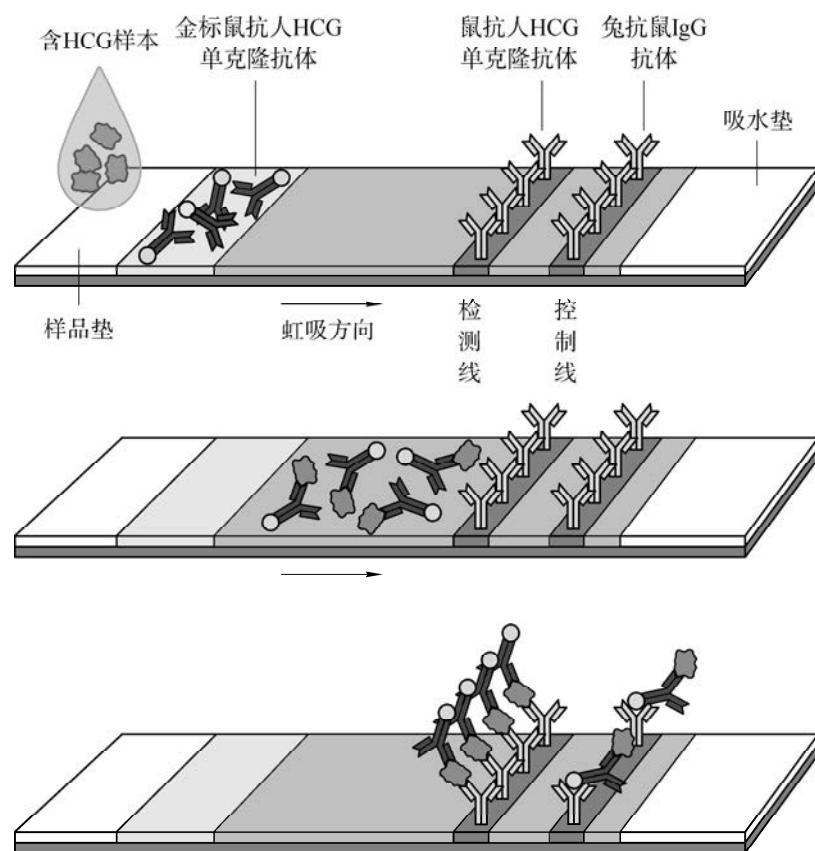


图2-2 早孕检测试纸原理示意图

## 6. 单克隆抗体药物

单克隆抗体药物一般分为:治疗疾病(尤其是肿瘤)的单克隆抗体药物、抗肿瘤单抗偶联物、治疗其他疾病的单克隆抗体药物。单抗药剂针对的靶点通常为细胞表面的疾病相关抗原或特定的受体,如最早被美国批准用于治疗肿瘤的单抗药物利妥昔单抗;抗肿瘤单抗偶联物,或称免疫偶联物,由单抗和有治疗作用的物质(如放射性核素、毒素和药物等)两部分构成,其中包括放射免疫偶联物、免疫毒素、化学免疫偶联物,此外还有酶结合单抗偶联物、光敏剂结合单抗偶联物等。

## (1) 作为肿瘤治疗药剂的单克隆抗体药物

① 利妥昔单抗:在自身免疫性疾病形成过程中,B细胞起重要作用。CD20 是前 B 细胞向成熟淋巴细胞分化过程中表达的表面抗原,参与调节 B 细胞的生长和分化。利妥昔单抗是一种针对 CD20 抗原的人鼠嵌合型单克隆抗体,进入人体后可与 CD20 特异性结合导致 B 细胞溶解,从而抑制 B 细胞增殖,诱导成熟 B 细胞凋亡,但不影响原始 B 细胞。

② 西妥昔单抗:西妥昔单抗为 IgG1 单克隆抗体,是表皮生长因子受体拮抗剂,可与正常细胞和多种肿瘤细胞表面的表皮生长因子受体(EGFR)特异性结合,并竞争性阻断 EGF 和其他配体,如  $\alpha$ -转化生长因子(TGF- $\alpha$ )的结合。它通过增加细胞周期抑制因子 p27kip 使得细胞周期停留在 G<sub>1</sub> 期;增加 Bax 表达和减少 bcl-2 表达,诱导癌细胞的凋亡;它还可减少基质金属蛋白酶和血管内皮生长因子(VEGF)的产生。相关实验表明,西妥昔单抗可抑制过度表达 EGFR 的肿瘤细胞的增殖(图 2-3)。

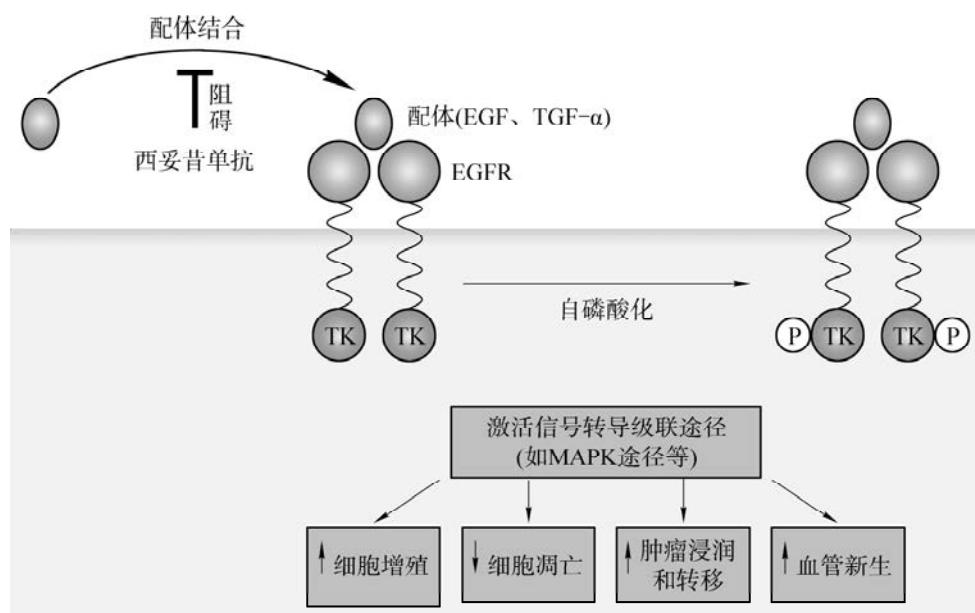


图 2-3 西妥昔单抗作用示意图

## (2) 抗肿瘤单抗偶联物

① 放射免疫偶联物:放射免疫治疗(RIT)是以单克隆抗体为载体,以放射性核素为弹头,通过抗体特异性结合肿瘤细胞相关抗原,将产生高能射线的放射性核素靶向到肿瘤细胞,实现对肿瘤的近距离内照射治疗。RIT 利用携带放射性核素的单克隆抗体特异地结合到病灶部位,减少了对正常组织的损伤。

② 免疫毒素:免疫毒素是用化学方法或基因工程方法将肿瘤选择性单抗与经修饰的多肽毒素共价连接而成的肿瘤治疗药物。免疫毒素可与肿瘤细胞表面受体或与细胞表面的靶抗原相结合后内化,继而在胞内抑制细胞蛋白合成,导致肿瘤细胞死亡(图 2-4)。毒素有很多种,如植物毒素、细菌毒素、动物毒素,其中应用最广泛的是植物毒素中的

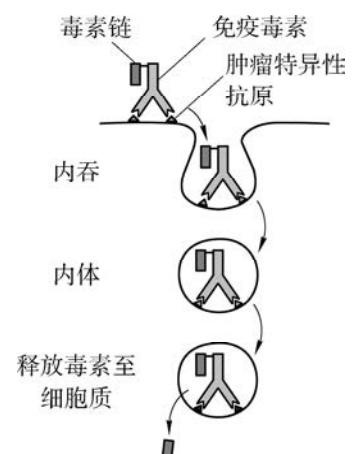


图 2-4 免疫毒素作用示意图

白喉毒素。

③ 化学免疫偶联物：单克隆抗体是药物良好的靶向性载体，通过药物分子上特殊的功能基团如羟基、巯基、氨基等，将治疗药物与单克隆抗体相连接而组成化学免疫偶联物，避免了药物对其他正常组织的毒害作用，选择性地发挥治疗作用。常与单克隆抗体进行偶联的药物有阿霉素、柔红霉素、平阳霉素、博安霉素、丝裂霉素、新制癌菌素、氨甲蝶呤等。

### (3) 治疗其他疾病的单克隆抗体药物

单克隆抗体药物不只在肿瘤的治疗中取得了很好疗效，在其他疾病的治疗中也取得了一些疗效。例如，奥马珠单抗通过与游离 IgE 结合而显著降低游离 IgE 的水平，阻断 IgE 与肥大细胞、嗜碱粒细胞结合，防止炎症介质的释放，可显著减轻哮喘病人的症状，改善肺功能及生活质量，减少哮喘恶化的发作次数，减少糖皮质激素的用量。利妥昔单抗对类风湿和系统性红斑狼疮也有很好的治疗作用；英夫利昔单抗对类风湿性关节炎患者疼痛、晨僵、关节肿胀等临床症状减轻程度可达 60%。

## 7. 脐带血干细胞

脐带血是指胎儿娩出、将脐带结扎并离断后，残留在胎盘和脐带中的血液。脐带血中含有大量的干细胞，包括造血干细胞和多种其他干细胞，统称为脐带血干细胞。通过造血干细胞移植，可以重建人体造血和免疫系统，治疗血液系统、免疫系统、遗传代谢性及先天性疾病。因此，脐带血作为造血干细胞的重要来源，已经被广泛地应用于临床，是宝贵的人类生物资源。目前，已有 80 多种严重疾病可以用脐带血干细胞进行治疗。还有多项脐带血在再生医学方面的临床研究，目的是利用脐带血干细胞促进机体组织和器官的损伤修复。

为了方便存储和临床应用，脐带血经过分离制备的过程，尽可能地去除红细胞及血浆，其有核细胞成分被富集起来。富集的细胞里既含有多种干细胞，具有自我更新能力及分化为多种成熟细胞的潜能；同时还含有大量的免疫细胞，具有很好的免疫调节和抗感染作用。富集的脐带血细胞最终将被保存在深低温的液氮罐中，处于休眠状态。研究显示，脐带血冷冻 23.5 年后，活性依然很高。

保存脐带血以备将来使用的干细胞库称为脐带血造血干细胞库，简称脐血库，包括公共库和家庭库（自体库）。自 20 世纪 90 年代全球第一家脐血库成立以来，世界范围内已建立脐血库 300 余个，脐带血储存量估计达到 500 万份。我国已经批准设置的公共脐血库有 7 个，分布于北京、天津、山东、上海、浙江、广东和四川。

## 8. 细胞重编程及诱导性多能干细胞

在目前的动物细胞工程领域内，干细胞技术以及由此而衍生的类器官技术无疑是研究的前沿和热点。在受精卵发育成一个成熟个体的过程中，特定类型的细胞一般都是沿“单行道”形成。随着发育的不断进行，这些细胞就会逐渐失去可塑性，不可逆地成为某一特定类型细胞。例如，一个皮肤细胞不会自动地转变成为一个脑细胞，而小肠细胞也不会转变成心脏细胞。各种高度分化的特异化体细胞与发育早期具有分化全能性或多能性的胚胎细胞相比，其细胞核所包含的遗传信息是一致的。因此，至少存在理论上的可能性，通过人为地改变体细胞内的基因表达，将体细胞的分化能力恢复到胚胎细胞的水平，甚至可以直接将一种体细胞转分化为另一种体细胞。在科学家的不懈努力下，已

经有一些实验方法可以使不同类型细胞之间的转换成为可能。这些方法都是利用细胞重编程的原理,也就是说让一种类型细胞的基因表达转变成为胚胎细胞或者其他类型细胞的状况。

科学家将细胞命运比作一个大理石球滚到山坡几处山谷中一处(对应于完全分化了的细胞类型),重编程操作显示细胞(大理石球)能滚回山顶(图 2-5)。目前已经清楚,细胞能沿着部分路径朝山上旅行,也可以滚下若干处分开的山谷,甚至从一处山谷滚动至另一处山谷,根本无需先返回山顶。

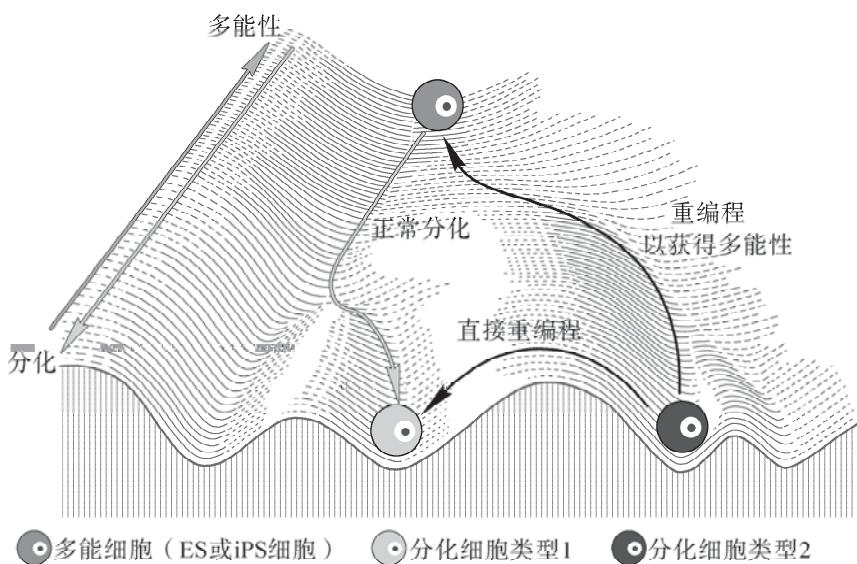


图 2-5 用于表征细胞重编程的 Waddington 模型修正版

细胞重编程领域的突破性进展来自 2006 年日本科学家山中伸弥(S. Yamanaka)的发现。山中伸弥在《细胞》上率先报道了 iPS 细胞的研究,采用病毒载体向小鼠成体成纤维细胞里转入四种转录因子,能使部分体细胞被重编程为具有胚胎干细胞特征的细胞,这样的细胞被称为诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS 细胞)。2007 年 11 月,由中国科学家和山中伸弥实验室几乎同时报道,利用 iPS 细胞技术同样可以诱导人皮肤成纤维细胞成为几乎与胚胎干细胞完全一样的多能干细胞。所不同的是日本实验室采用了用逆转录病毒引入 Oct3/4、Sox2、c-Myc 和 Klf4 四种因子组合,而我国实验室采用了以慢病毒载体引入 Oct4、Sox2、Nanog 和 LIN28 这种因子组合。2009 年,中国科学家的工作表明,利用 iPS 细胞能够得到成活的具有繁殖能力的小鼠,从而在世界上第一次证明了 iPS 细胞与胚胎干细胞具有相似的多能性。这一研究成果表明,iPS 细胞或许同胚胎干细胞一样可以作为治疗各种疾病的潜在来源。

在基础研究方面,iPS 细胞的出现,让人们对多能性的调控机制有了突破性的新认识。细胞重编程是一个复杂的过程,除了受细胞内因子调控外,还受到细胞外信号通路的调控。对于 Oct4、Sox2 和 Nanog 等维持干细胞自我更新能力的转录因子的研究正在逐渐地展开;利用 iPS 细胞作为实验模型,只操纵几个因子的表达,这更会大大加速对多能性调控机理的深入研究。

在实际应用方面,iPS 细胞的获得方法相对简单和稳定,不需要使用卵细胞或者胚胎。这在技术上和伦理上都比其他方法更有优势,iPS 细胞的建立进一步拉近了干细胞和临床疾病治疗的距离,iPS 细胞在细胞替代性治疗以及发病机理的研究、新药筛选方面具有巨大的潜在价值。

此外,iPS 细胞在神经系统疾病、心血管疾病等方面的作用也日益呈现,iPS 细胞在体外已成功地被分化为神经元细胞、神经胶质细胞、心血管细胞和原始生殖细胞等,在临床疾病治疗中具有巨大应用价值。

用 iPS 细胞治疗人类疾病仍然需要克服许多关键障碍。比如,添加 4 个“编程”基因或取代疾病细胞中有缺陷基因的方法都可能有致癌的副作用。在 iPS 细胞能被考虑用于人类疗法之前,研究人员需要发展出安全的方法来解决这些以及其他可能的问题。

在 iPS 细胞的基础上,科学家们通过尝试不同的转录因子组合和化合物鸡尾酒组合,在细胞直接重编程领域也取得了巨大的进展。多种实验动物来源的体细胞已经成功地通过重编程,在体内外直接转分化为心肌细胞、神经元细胞、多能性神经祖细胞、多能性心脏祖细胞、胰腺  $\beta$  细胞,甚至是在哺乳动物中不能再生的视网膜和内耳的感觉受体细胞。这些进展使得细胞的体内原位直接重编程作为再生医学领域一种无需进行细胞移植的优选策略越来越接近于为人类健康造福。

## 9. 类器官技术

近年来干细胞研究领域取得的另一个关键进展就是类器官体系的发展。类器官属于三维(3D)细胞培养物,包含其代表器官的一些关键特性。此类体外培养系统包括一个自我更新的干细胞群,可分化为多种器官特异性的细胞类型,与对应的器官拥有类似的空间组织并能够重现对应器官的部分功能,从而提供一个高度生理相关的微型系统。含有成体干细胞的组织样本、单一成体干细胞或者通过多能干细胞的定向诱导分化都能够产生类器官。

虽然不同的组织需要对应特定的培养方法,但是一般来说,将适当的多能干细胞或者特定组织的祖细胞嵌入适当的细胞外基质中,使用含有特定生长因子的细胞培养基模拟维持干细胞群所需的体内信号。在这样的生长条件下,嵌入细胞外基质中的细胞通过增殖并自发组织成 3D 类器官结构,而且在许多系统中能够进行无限期传代和维持培养,从而形成不同的类器官。目前为止,类器官培养已用于各种组织,其中包括肠道、肝脏、胰腺、肾脏、前列腺、肺和大脑等。

目前类器官技术的研究处于起步阶段,但是作为一种工具,它已经展现出了广泛的应用前景。其潜在的应用领域包括发育生物学、疾病病理学、细胞生物学等基础研究领域,以及再生医学、精准医疗、个性化治疗、药物毒性和药效试验等临床领域。对于这些应用以及可能的其他应用,类器官培养实现了对现有 2D 培养方法和动物模型系统的高信息量的互补。例如,通过类器官繁殖的干细胞群可以取代受损或者患病的组织,这提供了自体和同种异体细胞疗法的可行性。未来,这一技术在再生医学领域拥有巨大的潜力。将类器官技术与基因编辑技术相结合,能够对遗传异常加以纠正,随后将健康的转基因细胞再次回输入患者体内,并在后期整合入组织内,这为基因治疗提供了一种理想的载体。而在精准医疗和个性化医疗中,由患者细胞所衍生的类器官也是一种极有价值的诊断工具。在进行治疗之前,可以采用患者样本来源的类器官筛查患者对特定药物的反应,为包括癌症在内的患者的治疗和护理提供指导并预测治疗结果。

## 第3节 利用胚胎工程快速繁育优良动物品种

### 一、教材分析

#### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

(1) 理解胚胎工程的基本原理,了解胚胎工程的应用价值。在此基础上,强化结构与功能相适应和稳态维持的生命观念。

(2) 主动关注胚胎工程在畜牧业中的应用,并能根据该技术的原理,推理和演绎实现目标最大化的可行方案。

这两项目标是依据《课程标准》内容要求 4.3.1 和 4.3.2 设定的。目标(1)要求学生结合动物胚胎形成经历的过程,理解体外受精、胚胎移植、胚胎分割移植等技术的原理;目标(2)要求学生通过关注胚胎工程的应用实例,认识到胚胎工程在畜牧业上发挥了重要作用,从而结合所学知识,设计在生产实践中能实现目标最大化的可行方案。

#### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》概念 4 和内容要求 4.3.1、4.3.2 而选取的,教材通过系列生物学事实来说明(表 2-7)。

表 2-7 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
动物胚胎发育的过程经历卵裂、桑椹胚、囊胚、原肠胚等阶段	胚胎形成经过了受精及早期发育等过程
胚胎工程包括体外受精、胚胎移植、胚胎分割移植等技术	体外受精包括卵的采集及成熟培养、精子的采集与体外获能、卵与精子的体外受精等环节
	胚胎移植需将早期胚胎移植到同种且生理状态相同的受体动物体内
	胚胎分割移植可获得同卵双生或同卵多生的后代

#### 3. 学习内容

胚胎工程是对早期胚胎或配子进行显微操作和处理,以获得目标个体的工程技术。教材以“如何提高良种母畜的繁殖力?”这一生产实际问题导入,指出该问题的解决需要用到胚胎工程的相关技术。随后提出胚胎工程除了可以在畜牧业发挥作用,在解决人类不孕不育症方面也有一定作用,并设计了课前活动“试管婴儿的资料收集与分析”,通过“三代试管婴儿技术”的资料收集、整理和分析,

引发学生的探究欲望,引导学生主动关注生活实践中胚胎工程的进展,并在此过程中渗透“生物技术的发展和人们生活的改善密切相关”这一社会责任,展现科学家应有的探究精神和责任担当。思考与讨论引导学生关注并比较三代试管婴儿在技术路线及应用范畴的差异,发展归纳、分析、表达等科学思维能力;并通过“培育试管婴儿的过程中,运用到哪些关键技术?”这一问题,导入正文教学。

教材分2目,先介绍动物胚胎的形成过程,再阐述胚胎工程的原理、技术及应用。

第1目:动物胚胎的形成经历受精及早期发育。胚胎发育是胚胎工程的理论基础,教材详细介绍了高等动物胚胎发育的历程,分成受精、卵裂、桑椹胚、囊胚、原肠胚及器官形成等阶段,并配以精美的图片使胚胎发育过程形象化。

第2目:胚胎工程快速繁育优良动物品种。从体外受精、胚胎移植和胚胎分割移植三个方面介绍胚胎工程如何实现良种母畜繁殖力最大化,并阐述该技术在生产生活实践中的应用前景。考虑到这部分内容比较抽象,教材用图2-30呈现了体外受精和胚胎移植过程。图2-31展示胚胎分割技术的显微操作,直观呈现了工程技术的严谨和精确。

## 二、教学建议

本节内容建议1.5课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 丰富教学资源,开展可视化教学

动物胚胎发育的过程是生动而形象的,也是学生非常感兴趣的话题。教师可以充分利用视频资源,使该过程形象化地呈现在学生面前,加强教学的趣味性和互动性;也可以组织学生进行课前预习,了解胚胎发育典型时期的特征,并加以归纳和概括,理解胚胎发育的特点。

#### (2) 基于真实任务的解决,凸显生物工程技术的价值

教师可以充分利用节引言“怎样才能提高良种母畜的繁殖力?”的真实任务,或者提出“如何解决不孕不育?”等问题,引导学生进行探讨、交流,感悟生物工程技术给人们生产生活带来的变革。教师也可以在新授知识之后,引导学生进行工程化设计,探讨最大限度提高良种母畜繁殖力的方案,解决实际问题。通过任务驱动的教学,学生在解决问题的过程中,发展概括、演绎、推理等科学思维,并感受生物工程技术的价值,提高参与社会问题讨论的意识和能力,增强社会责任。

#### (3) 经历资料收集和整理,培养归纳和概括能力

本节的课前活动、提高良种母畜繁殖力的方案设计等活动,教师均可以动员学生经历资料收集、整理的过程,开展汇报交流,从而提高学生检索、整理资源及分析、评价的能力,在此过程中提升归纳、概括和逻辑表达的科学思维。

### 2. 栏目使用建议

学习提示“三代试管婴儿技术的创建表明生物技术的发展与人们生活的改善密切相关,这也是科研的社会责任”,凸显科研工作者造福人类的态度和价值观,提升社会责任意识,是学科育人价值

的体现。

### 三、拓展资料

#### 1. 动物胚胎发育的历程

虽然动物的种类繁多,但是胚胎的发育拥有相似的过程,能够分成受精、卵裂、桑椹胚、囊胚、原肠胚与器官形成等阶段。

**受精:**获能的精子与减数第二次分裂中期的次级卵母细胞相遇后,发生顶体反应,释放出顶体酶。精子通过顶体酶溶解出的通道与卵黄膜接触,触发透明带反应以阻止其他精子通过透明带,这是防止多个精子进入卵细胞的第一道屏障。精子与卵黄膜接触后,被其表面大量的微绒毛抱合。随后,精子外膜与卵黄膜发生融合,精子的尾脱落,细胞核进入卵细胞,后者随即发生卵黄膜封闭作用,这是阻止多个精子受精的第二道屏障,卵细胞被激活进行减数第二次分裂,排出第二极体。同时发生的还有精子的细胞核核膜破裂,重新形成一个更大的细胞核,称雄原核。减数第二次分裂后的卵细胞形成的细胞核,称雌原核。两原核相互靠近并彼此融合,最后则形成了一个二倍体合子,受精过程基本完成。

**卵裂:**精子与卵结合之后形成受精卵。由于卵黄的分布具有不对称的特性,因此受精卵可以分为动物极(发展成外胚层)和植物极(发展成中胚层与内胚层)。在卵裂时期,受精卵会先分裂成两个细胞,之后细胞通常会逐次倍增(对哺乳类动物而言,有时候会有不同时分裂并造成只有奇数个细胞的现象)。在这个阶段,胚胎的总体积大致不变。

**桑椹胚与囊胚:**细胞分裂成 16 到 32 个细胞的阶段,称为桑椹胚。在这个阶段,动物极的分裂频率会超越靠近植物极且具有卵黄的细胞群。到了 32 个以上细胞数目的阶段,称为囊胚,囊胚内部靠近动物极的区域会形成一个囊胚腔。

**原肠胚:**当细胞分裂成为囊胚之后,会经过一段称为原肠形成的过程,之后形成原肠胚。原肠形成过程有许多不同方式,动物的胚胎利用这些方式形成了外胚层、中胚层与内胚层的组合,之后这三种胚层会形成各种细胞。

**器官形成:**外胚层、中胚层与内胚层形成各种组织和器官的过程,称为器官形成,也称为器官发生。

#### 2. 试管婴儿技术

试管婴儿技术又称体外受精联合胚胎移植技术(IVF - ET),是指分别将卵子与精子取出后,置于试管内使其受精,再将受精卵移植回母体子宫内发育成胎儿的技术。试管婴儿是用人工方法让卵子和精子在体外受精并进行早期胚胎发育,然后移植到母体子宫内发育而诞生的婴儿。

试管婴儿是伴随体外受精技术的发展而来的,最初由英国产科医生帕特里克·斯特普托(C. Steptoe)和生理学家罗伯特·爱德华兹(R. Edwards)合作研究成功。试管婴儿一诞生就引起了世界科学界的轰动,甚至被称为人类生殖技术的一大创举,也为治疗不孕不育症开辟了新的途径。这一技术给那些可以产生正常精子、卵细胞但由于某些原因无法生育的夫妇带来了希望。比如对于患有输卵管堵塞等疾病的妻子,可以通过手术直接从卵巢内取出成熟的卵细胞,然后在试管里将它与丈

夫的精子混合,让它们在体外结合成受精卵;对于精子少或精子活动能力弱的丈夫,则可通过一枚极其微细的玻璃吸管,从精液中选出健壮的精子,直接注入卵细胞中,形成受精卵。受精卵在体外形成早期胚胎后,就可以移入妻子的子宫了。该技术从诞生开始,已经发展到了第三代。

**第一代试管婴儿技术:**即原始的体外受精-胚胎移植技术,是指分别将卵细胞与精子取出后,置于试管内使其受精,再将胚胎前体——受精卵移植回母体子宫内发育成胎儿的技术路线。第一代试管婴儿技术可以解决因女性因素引起的不孕不育问题。

**第二代试管婴儿技术:**又称卵母细胞胞浆内单精子显微注射(ICSI),是在第一代体外受精-胚胎移植基础上发展起来的显微受精技术,通过直接将精子注射入卵母细胞胞浆内达到助孕目的。该技术可以解决常规受精失败的问题。第二代试管婴儿技术可用于男性少精、弱精、精子畸形、无精子和常规体外受精周期失败等导致的不孕不育,能够解决因男性因素引起的不孕不育问题。

**第三代试管婴儿技术:**也称胚胎植入前遗传学诊断/筛查,是指在第一代试管婴儿技术的胚胎移植前,取胚胎的遗传物质进行分析,筛选健康胚胎移植,防止遗传病患儿出生的方法。检测物质通常是取4~8个细胞期胚胎的1个细胞(取样不影响胚胎发育)。检测用单细胞DNA分析法,可以通过PCR技术检测单基因遗传病,或是通过荧光原位杂交技术检测染色体病。第三代试管婴儿在技术上可以进行性别选择,但只有当子代性染色体有可能发生异常并带来严重后果时,才允许进行性别选择。第三代试管婴儿技术所取得的突破是革命性的,它从生物遗传学的角度,帮助人类选择生育最健康的后代,为患有遗传病的父母提供生育健康孩子的机会。

# 第3章 基因工程

基因工程又称重组DNA技术,是以分子生物学为基础,按照人们的设计意愿在分子水平上对生物的DNA进行重组,赋予细胞或个体新的遗传特性的技术。基因工程自20世纪70年代诞生以来发展迅速,逐渐成为生物工程领域的核心技术,并带动了其他生物技术的发展。随着分子生物学理论和技术不断发展,生物信息研究技术不断成熟,人们对蛋白质结构与功能之间关系的理解日趋广泛和深入,蛋白质工程得到飞速发展,广泛应用于新药设计及其他领域。本章以人胰岛素的开发制造和性能改善为单元情境,呈现了基因工程的诞生、原理、技术和发展,展示了生物工程技术巨大的应用前景。通过本章的学习,学生能运用相关生命观念阐明基因工程和蛋白质工程的原理和基本操作程序,在探究活动中提升模型与建模等科学思维,习得分子生物学实验技能,能根据人类生产或生活的实际需求提出工程学设计,并基于事实理性看待生物工程技术的飞速发展对人类生活产生的巨大影响。

## 一、本章对应的《课程标准》要求

### 1. 内容要求与教学活动

本章内容框架的确定和主要内容的编写是依据《课程标准》内容要求“5.1 基因工程赋予生物新的遗传特性”和“5.2 蛋白质工程是基因工程的延伸”。教材结合学科内在体系和教学目标,分3节进行概述和说明(表3-1)。

表3-1 第3章内容与《课程标准》要求对照表

教材内容	《课程标准》要求
第1节 基因工程赋予生物新的遗传特性	5.1.1 概述基因工程是在遗传学、微生物学、生物化学和分子生物学等学科基础上发展而来的 5.1.4 举例说明基因工程在农牧、食品及医药等行业的广泛应用改善了人类的生活品质
第2节 基因工程是一种重组DNA技术	5.1.2 阐明DNA重组技术的实现需要利用限制性内切核酸酶、DNA连接酶和载体三种基本工具 5.1.3 阐明基因工程的基本操作程序主要包括目的基因的获取、基因表达载体的构建、目的基因导入受体细胞和目的基因及其表达产物的检测鉴定等步骤
第3节 蛋白质工程是基因工程的延伸	5.2.1 概述人们根据基因工程原理,进行蛋白质设计和改造,可以获得性状和功能更符合人类需求的蛋白质 5.2.2 举例说明依据人类需要对原有蛋白质结构进行基因改造,生产目标蛋白的过程

根据《课程标准》教学提示中提出的活动要求,结合实际课时,本章安排了3个学生实验和2个学生活动(表3-2)。

表3-2 第3章实验和活动与《课程标准》要求关系

实验和活动名称	性质	《课程标准》要求
模拟限制性内切核酸酶的切割作用	学生活动	阐明DNA重组技术的实现需要利用限制性内切核酸酶、DNA连接酶和载体三种基本工具
DNA的提取和鉴定	学生实验	DNA的提取和鉴定
PCR扩增DNA的原理和操作	学生实验	利用聚合酶链式反应(PCR)扩增DNA片段,或运用软件进行虚拟PCR实验
模拟DNA分子重组	学生活动	阐明基因工程的基本操作程序主要包括目的基因的获取、基因表达载体的构建、目的基因导入受体细胞和目的基因及其表达产物的检测鉴定等步骤
PCR扩增产物的凝胶电泳鉴定	学生实验	利用聚合酶链式反应扩增DNA片段并完成电泳鉴定

## 2. 学业要求

《课程标准》关于本章的学业要求是学生应该能够:结合生活或生产实例,举例说出基因工程及相关技术的基本原理;针对人类生产或生活的某一需求,在基因工程中选取恰当的技术或方法,尝试提出初步的工程学构想,进行简单的设计和制作。对此,教材从以下几个方面进行落实。

**生命观念:**基于DNA分子的结构,通过重组DNA技术实现不同生物间基因的转移及表达,以及据此实现的基因的定点突变和定向进化,都凸显了结构和功能观。学习本章时,应基于基因工程和蛋白质工程的原理、步骤,进一步发展结构与功能观、进化与适应观等生命观念,并能基于生命观念综合运用科学、技术、工程学原理和数学方法设计方案,结合特定情境如利用聚合酶链式反应扩增DNA片段、目的基因的检测和鉴定、利用转基因改良某种植物品质等问题,提出解决问题的思路。

**科学思维:**本章通过一系列建模活动如“模拟DNA重组”培养学生模型与建模的科学思维,并希望学生能基于模型搭建的结果,交流讨论可能的实验结果,如限制性内切核酸酶切割后的连接结果,发展创造性思维;本章的思维训练栏目凸显了归纳和概括、演绎和推理等科学思维能力,比如“细菌应如何协调表达限制性内切核酸酶和DNA甲基化酶?”“大多数生物体在细胞内为什么使用短链RNA作为DNA复制的引物?”等问题,引导学生基于资料,推理并演绎生命现象及其规律;“PCR和体内DNA复制有什么异同点?”发展学生基于所学知识归纳和概括的能力。

**科学探究:**经历本章的探究·实验“DNA的提取和鉴定”“PCR扩增DNA的原理和操作”和“PCR扩增产物的凝胶电泳鉴定”,学生能初步认识分子生物学的实验方法,进一步理解基因工程的技术和原理。在实验的过程及结果讨论中,逐渐增强对重组DNA技术的好奇心和求知欲,提高实验能力。同时通过分组实验探究,增强团队合作意识。

**社会责任:**本章从重组DNA技术的原理、操作及应用实例,全景式呈现了该技术的发展历史和现状,并展望了第二代基因工程(蛋白质工程)的应用前景。学习时可以结合具体的实例,说明基因工程为人类生活品质带来的重大变革,客观地评价基因工程对人类生活生产的积极作用及可能涉及

的安全问题,提高参与相关社会话题讨论的愿望和能力。

## 二、本章与学科体系内容关系

### 1. 本章与其他章节之间的关系

本章内容主要是对必修分册《遗传与进化》内容的扩展和应用。在学习本章内容之前,学生已经学习了遗传的分子基础,从结构与功能角度认识DNA结构、基因、基因表达、性状之间的联系,理解遗传信息及其传递的改变是生物进化的内在动力,运用适应与进化观解释生物进化的现象;基于模型与建模的科学思维搭建DNA分子模型。这些是本章学习的基础。此外,本章为第4章“生物技术安全与伦理”的学习进行了铺垫,在充分理解基因工程原理的基础上,理性看待转基因等技术带来的影响。

### 2. 本章各节之间的关系

本章分为三节,第1节概述了基因工程诞生的理论基础和技术支撑,基于具体实例帮助学生初步了解基因工程诞生的意义和价值,有助于学生认识科学与技术之间的关系,认同科技发展对人类社会和生活的影响;第2节阐明了DNA重组所需要的工具、基本步骤,并设计了多个探究活动,引导学生经历工程学实验,帮助其从分子水平理解实现基因工程的途径;第3节是基因工程的延伸——蛋白质工程,是对前两节内容的补充和扩展,引导学生认识基于人类需求改造蛋白质的可行性和发展前景,进一步体现科技发展的社会价值。本章各节概念之间关系如图3-1所示。

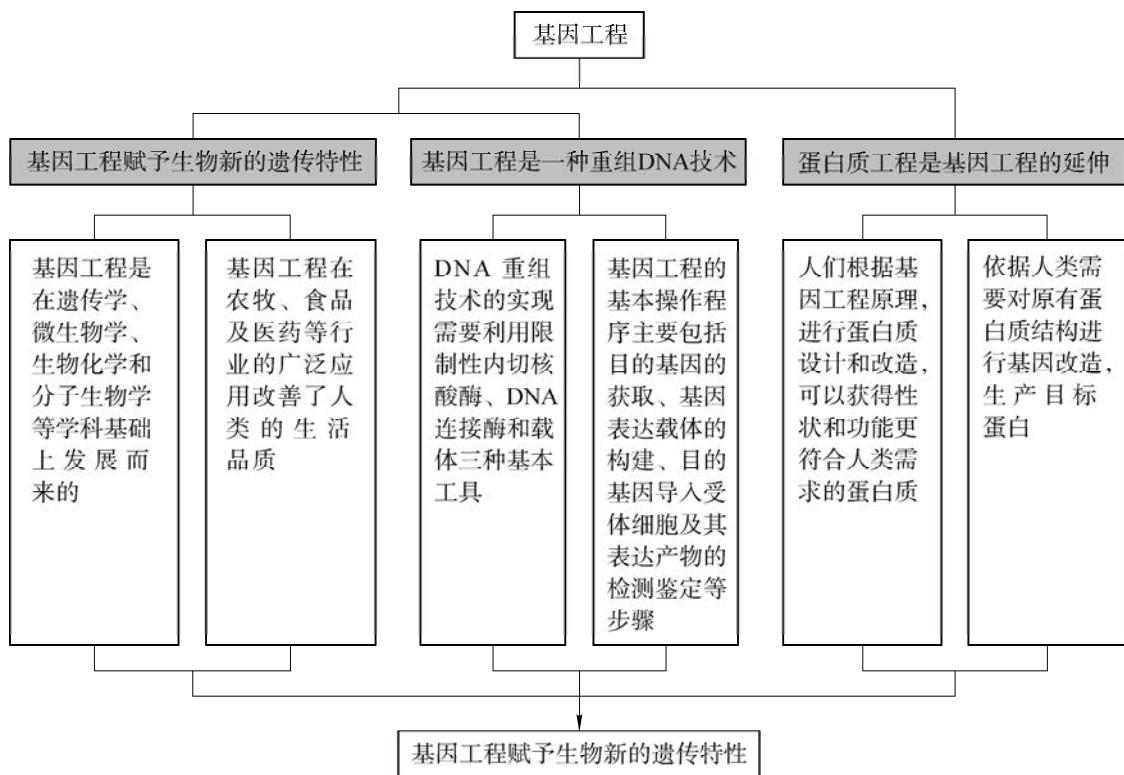


图3-1 第3章各节概念之间的关系

### 三、本章教学目标

结合在人类生活和社会实践中的广泛用途,能举例说明基因工程为人类生活品质带来的重大变革,确立利用科学技术造福于人类的价值观和社会责任感;经历模型和建模活动,阐明限制性内切核酸酶、DNA连接酶等基本工具的作用原理,发展科学思维;在完整阐述基因工程四大操作步骤的基础上,能从PCR获取目的基因以及目的基因表达产物检测和鉴定中举例总结科学探究的基本程序,并能对给定的基因工程项目提出合理的设计操作方案;从蛋白质工程的基本定义出发,能举例说明基于基因工程原理设计和改造蛋白质分子的研究意义和产业化应用价值;在理解蛋白质工程设计原理的基础上,能运用结构与功能观和进化与适应观阐明定点突变和定向进化的蛋白质工程基本策略,并能分析蛋白质工程基本过程所涉及的科学思维基本要素。

### 四、本章课时建议

本章建议9课时,具体见表3-3。

表3-3 第3章课时安排

教学内容	课时建议
第1节 基因工程赋予生物新的遗传特性	1
第2节 基因工程是一种重组DNA技术	7
第3节 蛋白质工程是基因工程的延伸	1

其中,第2节中的探究·建模3-1“模拟限制性内切核酸酶的切割作用”0.5课时、探究·实验3-2“DNA的提取和鉴定”1课时、探究·实验3-3“PCR扩增DNA的原理和操作”1课时、探究·建模3-4“模拟DNA分子重组”0.5课时、探究·实验3-5“PCR扩增产物的凝胶电泳鉴定”1课时。

### 五、本章评价建议

#### 1. 评价内容

##### (1) 学生的生命观念

学生是否能基于结构与功能观、进化与适应观说出基因工程的理论基础及技术基础,解释基因工程的原理;是否能阐明限制性内切核酸酶、DNA连接酶和载体的特点和作用;是否能通过具体实例,介绍和分析基因工程的基本操作步骤;是否能运用科学、技术、工程学原理和数学方法,在特定情境中,提出解决问题的思路;是否能举例说明基因工程和蛋白质工程在实践中的应用。

##### (2) 学生科学思维的发展

学生是否能面对日常生活或社会热点中与基因工程有关的话题,运用归纳和概括、模型与建模、

演绎和推理等科学思维,基于证据运用生物学基本概念和原理进行分析论证;在模拟活动中是否能运用模型与建模、创造性思维等科学思维解释和分析建模结果。

### (3) 学生科学探究的能力

学生在探究活动中,是否能结合实验室条件实施实验,对 DNA 进行粗提取和鉴定,进行 PCR 并通过电泳鉴定产物,提升分子生物学实验技能水平;是否能通过结果分析和讨论,进一步理解基因工程的原理;是否能针对人类生产或生活的某一需求提出探究性问题,尝试基于基因工程和蛋白质工程的原理和步骤给出初步的工程构想。

### (4) 学生的社会责任意识

学生是否能认同基因工程对人类生产或生活带来的正面影响,面对日常生活或社会热点话题中的转基因话题,是否能基于生物学的基本观点表明自己的观点,进行理性评价。

## 2. 评价方式

### (1) 自我评价

本章在每节设置了适量的自我评价题,主要考查基因工程、蛋白质工程的基本原理、过程和方法。学生通过本章内容的学习,应能辨析并解释相关生物学原理。例如,第 1 节第 2 题“如何理解重组 DNA 技术在基因功能探究中的应用价值?”、第 3 题“如何理解重组 DNA 技术改变生物体遗传信息的进化学意义?”要求学生从结构与功能观、适应与进化观理解基因工程诞生的意义和应用价值;第 2 节第 3 题“归纳 pBR322 质粒的筛选机理及方案”、第 8 题“收集资料归纳和概括 PCR 技术的应用实例”等,引导学生针对所学内容进行整理和归纳,发展归纳和概括的科学思维;第 3 节第 3 题“对天然蛋白质进行改造,你认为直接对蛋白质分子进行操作还是通过基因操作来实现更好?”希望学生基于所学知识,在整理和归纳的基础上,进行推理和演绎,提出简单的工程学设想。

### (2) 学业评价

本章设置了 2 道学业评价题,基于基因工程和蛋白质工程的步骤和原理,在真实情境下检测学生对相关概念的理解和应用,以及在此过程中表现出的核心素养水平。

**第 1 题:**真实再现了重组人胰岛素的研发过程。图 3-25 用不同配色展示了胰岛素 mRNA 各区段与胰岛素原前体之间的对应关系,以及胰岛素原前体经酶的作用先折叠成胰岛素原,再经酶的切割形成活性胰岛素的过程。图 3-26 展示了基因工程技术所用的质粒及相应的酶切位点,并平行呈现了 AB 表达法和 BCA 表达法的技术路线。本题共设 9 道小题,基于真实情境考查学生对基因工程中限制性内切核酸酶的作用特点、表达载体的构建、筛选方法和结果等知识的迁移和应用能力,以及在此过程中表现出的推理、判断及创造性思维等科学思维。

**第 2 题:**以 t-PA 药物的研发为背景,指出利用基因工程开发的 t-PA 在使用过程中存在严重的副作用,是因为蛋白分子的第 84 位氨基酸对 t-PA 的功能有着重要影响,由此提出基于蛋白质工程定点改造蛋白质的策略。图 3-27 展示了人 t-PA 基因示意图,用不同颜色标注了 t-PA 蛋白包含第 1 位、第 84 位和第 527 位氨基酸的编码序列的部分碱基序列。本题共设 5 道小题,从 PCR 定点突变技术的引物设计和过程、定向进化的策略等考查蛋白质工程基本原理,通过“设计能筛选与血纤维蛋白结合最强的 t-PA 突变蛋白的技术路线”引导学生尝试进行工程化设计,提出自己的设想,培养创造性思维。

# 第1节 基因工程赋予生物新的遗传特性

## 一、教材分析

### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

- (1) 根据自然条件下不同物种间难以交换遗传信息的事实,准确阐述重组 DNA 技术的科学意义,巩固进化与适应观。
- (2) 基于基因工程的基本概念,列举遗传学、微生物学等生物学理论所起的基础作用。
- (3) 结合在人类生活和社会实践中的广泛用途,举例说明基因工程为人类生活品质带来的重大变革,确立利用科学技术造福于人类的价值观和社会责任感。

这三项目标是依据《课程标准》内容要求 5.1.1 和 5.1.4 设定的。目标(1)和目标(2)要求在了解基因工程理论概念的基础上,列举其理论基础和技术支撑,阐述重组 DNA 技术诞生的科学意义在于打破不同物种间的生殖隔离,使跨物种间基因的定向转移成为可能,体现进化与适应观。目标(3)要求列举基因工程在医学、农牧业、食品工业等众多领域的广泛应用改善了人类的生活品质,说明基因工程的产业化应用已深入人类生活的方方面面。

### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》内容要求 5.1.1 和 5.1.4 而选取的,教材通过系列生物学事实来阐明和举例说明(表 3-4)。

表 3-4 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
基因工程(或重组 DNA 技术)的实质是对不同物种的遗传信息进行组合,使其表达出新性状应用于产业化	遗传学实验揭示了 DNA 是遗传物质,发现基因可以在生物个体之间转移
	基因通过 DNA 复制、转录、翻译指导蛋白质合成,不同生物 DNA 的碱基排列序列为蛋白质的氨基酸序列,使用统一的遗传密码
	运载工具的发现、工具酶的开发为实现 DNA 体外重组奠定了技术基础
	微生物生长迅速,易于基因操作
	基因工程技术实现了大规模生产重组乙肝疫苗。基因工程朝着高等动植物物种的遗传性状改良以及人体基因治疗等方向发展
	研究人员借助重组 DNA 技术构建出抗虫棉和抗除草剂大豆品种
	基因工程可改良谷氨酸棒状杆菌,大幅度提高谷氨酸的产量

### 3. 学习内容

本节内容基于“全球糖尿病患者高达数亿,对胰岛素需求巨大”的现实,提出如何大规模获取人胰岛素的问题,引出基因工程技术诞生的必然性。课前活动介绍重组人胰岛素的研制历程,说明基因工程技术的应用价值。思考与讨论的问题承接了必修分册《遗传与进化》中关于遗传信息改变和表达的内容,体现了学习的进阶。

教材分 2 目,从多学科综合发展的成果——基因工程的诞生开始,到基因工程经历的飞速发展,说明基因工程正在改善着人类的生活品质。

第 1 目:基因工程的诞生是多学科综合发展的成果。教材首先给出基因工程的定义,随后从两方面阐述基因工程的理论意义,一方面是能打破自然界不同物种之间存在的生殖隔离,可以定向改造生物性状;另一方面可以为发酵工程、细胞工程提供改造后的菌株,是现代生物工程的核心技术。基因工程的诞生需要一定的理论基础和技术支撑,教材结合这两方面内容描述了基因工程的诞生过程,同时也为本章的后续教学奠定基础。

第 2 目:基因工程改善着人类的生活品质。举例说明基因工程在医学、农牧业和食品工业领域的应用,引导学生关注并理性看待基因工程的应用价值。在医学领域,基因工程实现了制备乙肝疫苗的技术革新,解决了第一代疫苗可能存在的问题;农牧业方面,以转基因抗虫棉的成功培育和转基因大豆的商业化推广为例,说明基因工程可以定向改造生物的性状,加快了育种的进程;食品工业中,以改良谷氨酸棒状杆菌大规模生产谷氨酸为例,说明基因工程可改良生产菌株的遗传性状,从而提高代谢物的产量,在食品工业中具有广泛应用价值。

## 二、教学建议

本节内容建议 1 课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 创设单元情境,激发学生学习动力

本章教材始终围绕“人胰岛素的大规模生产及其性能改良”这一单元情境展开。教师进行单元教学设计时,可以从整体上审视本章内容,基于单元情境组织并开展各节的教学,激发学生兴趣和动力,推进单元学习活动,落实核心素养。

本节教师可通过展示重组人胰岛素诞生历程的视频,或利用课件介绍胰岛素制备工艺的变化,提出问题如“治疗糖尿病所需的胰岛素从何而来?”“传统制备胰岛素的方法有何局限?”引导学生思考,引入新课教学。

#### (2) 设置问题串回顾已学知识,建构基因工程的概念

基因工程的概念较为抽象,为帮助学生理解,教师可以将概念进行拆解,通过“生物的性状是如何体现的”“基因是如何控制性状的”等问题引导学生回忆基因表达的相关知识。而后通过问题“如果要把细菌的抗虫基因导入棉花细胞,你认为应该如何操作”,引导学生推导操作流程,并在此基础上进行修正,构建基因工程的概念并阐明所需要的工具。

### (3) 指导学生阅读科学史话,发展科学思维

科学史话介绍了第一例基因工程诞生的过程。在教学过程中,教师可以通过指导学生阅读该栏目内容,并结合思考与讨论进一步理解基因工程是一种重组 DNA 技术,归纳和概括科学家取得成功的原因,发展科学思维和科学探究能力。

### (4) 利用信息手段开阔视野、分享信息,提升社会责任

教材列举了一些基因工程在医学、农牧业和食品工业领域的应用实例,实际应用案例还有很多,也更为广泛。课前可安排学生分小组根据本节自我评价中的关键词,查阅并收集基因工程的应用实例,在课上进行交流和分享。学生经历资料搜集、整理及交流,提高收集所需资料的能力,主动认同科学技术造福于人类,提升社会责任。同时就基因工程可能带来的伦理问题作出理性的解释和判断,培养批判性思维,提高参与社会议题讨论的愿望和能力。

## 2. 栏目使用建议

### (1) 学习提示

第一个学习提示从进化与适应观的角度点明了基因工程的理论意义,凸显生命观念;第二个学习提示指出传承与创新相统一的科学发展观,点明了理论研究对于科学发展的重要性,对于学生理解学习的意义具有重要的引领作用。

### (2) 科学史话“基因工程的诞生”

该栏目从神话故事导入,激发学生阅读热情,详细阐述科学家从试管中重组 DNA 开始至基因工程诞生的科学历史。教师可将其作为课堂教学的素材,进一步加深基因工程概念的认识,培养学生学习兴趣。思考与讨论的问题 1 可以在第 2 节教学内容完成后组织学生讨论,问题 2 是开放式的问题,问题 3 可以结合必修 1 分册中科学探究的基本步骤引发学生思考。

## 三、拓展资料

### 1. 基因工程的诞生历史

基因工程是伴随着分子生物学、遗传学、生物化学和微生物学等研究领域的一系列重大突破而兴起的。

表 3-5 基因工程的诞生历史

年份	重 大 突 破
1953	克里克(F. Crick)等阐明了 DNA 双螺旋结构,为人类揭示生命现象的本质以及整个生物学的发展奠定了基础
1958	克里克提出了描述 DNA、RNA 和蛋白质三者关系的中心法则。该法则认为,生物遗传信息的流向是从 DNA 流向 RNA,再由 RNA 流向蛋白质
1966	科学家成功破译 64 个遗传密码,并证明了除了线粒体和叶绿体存在个别例外,所有的生物,包括真核生物、原核生物以及病毒都使用同一套遗传密码。遗传密码的通用性是进行基因工程研究的重要理论依据

(续表)

年份	重大突破
1968	梅塞尔森(M. Meselson)等从大肠杆菌B菌株中首次发现了I型限制性内切核酸酶
1970	史密斯(H. Smith)等进一步发现了II型限制性内切核酸酶,这类酶能识别特异性核苷酸序列并进行切割,从而为基因工程研究提供了一种重要工具
1972	伯格(P. Berg)等第一次DNA体外重组实验成功,利用限制性内切核酸酶EcoRI,在体外对猿猴病毒SV40的DNA和λ噬菌体的DNA分别进行酶切消化,然后再用T4-DNA连接酶将两种消化片段连接起来,结果获得了包含SV40和λDNA的杂交DNA分子
1973	考恩(S. Cohen)等第一次基因克隆实验成功。科学家将编码有卡那霉素抗性基因的大肠杆菌R6-5质粒,和编码有四环素抗性基因的另一种大肠杆菌质粒pSC101 DNA混合后,加入限制性内切核酸酶EcoRI,对DNA进行切割,再用T4-DNA连接酶将它们连接成重组的DNA分子。用这种连接后的DNA混合物转化大肠杆菌,结果发现,某些转化子菌落的确表现出既抗卡那霉素又抗四环素的双重抗性特征。这说明像pSC101这样的质粒分子可以作为基因克隆的载体,将外源DNA导入宿主细胞

## 2. 重组乙肝疫苗

由乙型肝炎病毒(HBV)感染引起的急慢性乙型肝炎是世界范围内的严重传染病,每年约有200万患者死亡,并有3亿人成为HBV携带者,其中相当一部分人有可能转化为肝硬化或肝癌患者。目前对乙肝病毒还没有一种有效的治疗药物,因此高纯度乙肝疫苗的生产对预防病毒感染具有重大的社会效益,而利用重组酵母生产人乙肝疫苗为这种疫苗的广泛使用提供了可靠的保证。

乙肝病毒在体外细胞培养基中并不能生长,因此第一代的乙肝疫苗是从病毒携带者的肝细胞质膜上提取出来的。虽然这种质膜来源的疫苗具有较高的免疫原性,但其大规模生产受到病毒表面抗原来源的限制,而且提取物需要高度纯化,纯化过程中往往会发生失活现象。此外,最终产品还必须严格检验其中是否混有患者的致病病毒。所有这些工序导致制造成本高居不下,因此这种传统的乙肝疫苗生产方法不能满足几亿接种人群的需求。

乙肝病毒是一种双链环状蛋白质包裹型的DNA病毒,具有感染能力的病毒颗粒呈球面状,直径为42nm(即所谓的Dane颗粒),基因组大小仅为3.2kb。Dane病毒颗粒的主要结构蛋白是病毒表面抗原多肽(HBsAg或S多肽),它具有糖基化和非糖基化两种形式,颗粒中的其他蛋白成分还包括核心抗原(HBcAg)、病毒DNA聚合酶以及微量的病毒蛋白。除此之外,乙肝病毒感染者的肝细胞还能合成和释放大量的22nm空壳亚病毒颗粒,这些颗粒由病毒的包装糖蛋白组成,并结合在宿主细胞的脂双层质膜上,其免疫原性是未装配的各种包装蛋白组分的1000倍。包装蛋白共有三种转膜糖蛋白成分,分别命名为S多肽、M多肽和L多肽,这些蛋白组分是从一个开放阅读框翻译出来的三种不同分子量的产物(图3-2),阅读框中含有三个翻译起始密码子,将阅读框架分为pre-S1、pre-S2、S



图3-2 乙型肝炎病毒表面抗原编码基因的结构

三个区,但只有一个终止密码子。S 区翻译产物为 S 多肽,由 226 个氨基酸残基组成,M 多肽(pre-S2-S)和 L 多肽(pre-S1-pre-S2-S)则分别由 281 个和 400 个氨基酸残基组成。

重组乙肝疫苗的开发研究起源于 20 世纪 70 年代末,那时由乙肝病毒 DNA 的序列可以推出病毒表面抗原多肽 HBsAg 完整的一级结构。当时人们对大肠杆菌表达重组 HBsAg 做了大量尝试,结果表明原核细菌的表达水平极低,可能是由于重组产物对受体菌具有强烈的毒性作用,因此从 20 世纪 80 年代初开始选择酿酒酵母表达重组 HBsAg。目前,由酿酒酵母生产的这种重组 HBsAg 颗粒已作为乙肝疫苗商品化。

### 3. 基因治疗

基因治疗的基本定义是用正常基因矫正甚至取代患者体细胞中的缺陷型、突变型或入侵型基因(即病变基因),以达到战胜基因病之目的。基因病根据病变基因所处的细胞类型可分为遗传性基因病和非遗传性基因病两大类,前者的病变基因位于生殖细胞中,具有遗传倾向性,如血友病等;后者的病变基因则定位于体细胞内,如大多数的癌症及病毒感染性疾病。目前已知的单基因疾病共有 7000 余种,其中已明确的人类单基因遗传病多达 5 000 种以上,绝大多数尚不存在任何治疗选项。

1990 年,美国政府批准了世界上第一项人类基因治疗临床研究方案,对一名患有重度联合免疫缺陷病(SCID)的四岁女童进行基因治疗并获得部分成功,从而开创了医学的新纪元。事实上,对人体实施基因治疗的尝试可追溯到 1980 年,那时就有人对两名重度地中海贫血症患者实施了基因治疗,但限于当时的技术而未获得成功。基因治疗领域克服了很多阻碍安全且高效基因投送的屏障,对一些单基因遗传病实施了史无前例的治疗,如原发性免疫缺陷病、脑白质营养不良症、血友病等。此外,在心脏病、神经退行性疾病、脑卒中、糖尿病等复杂慢性疾病的研究治疗中,基因治疗也正在显示出巨大潜力。

基因治疗包括基因诊断、基因分离、载体构建、基因转移四项基本内容。病变基因形成的原因除了进化障碍和病毒入侵因素外,主要包括点突变、缺失、插入、重排等 DNA 分子畸变事件的发生。随着分子生物学原理和技术的不断发展,目前已建立起多种病变基因的诊断和定位方法,如限制性片段长度多态性分析法、PCR 扩增靶序列法、单链构型多态性分析法、人类基因组疾病关联分析法等。

基因分离是指采用 DNA 重组技术克隆、鉴定、扩增、纯化用于治疗的正常基因,并根据病变基因的定位,与特异性整合序列(即同源序列)和基因表达调控元件进行体外重组操作。上述重组基因在大多数情况下需安装在合适的载体上。

基因转移是关系到基因治疗成败的关键单元操作。根据治疗基因导入病变细胞的类型不同,基因治疗理论上可分为性细胞治疗和体细胞治疗两种。性细胞治疗将正常基因转入生殖细胞或胚胎细胞,进一步置换病变基因,有可能彻底阻断病变基因的纵向遗传,但这一策略存在技术安全与伦理隐患被绝大多数国家所禁止。体细胞治疗又可分为直接体内疗法和间接体内疗法,前者是将治疗基因通过病毒载体直接导入患者的病变组织或器官(如肝脏、视网膜);后者则首先从机体内分离出健康细胞或病变细胞(如造血干细胞或 T 淋巴细胞),体外导入治疗基因,经鉴定和增殖后再将这种转基因细胞系输回患者体内。此外,根据治疗基因在细胞核内的存在形式,基因治疗可分为游离型

和整合型两种疗法。根据治疗原理的不同,基因治疗又可分为矫正型和置换型两种治疗策略,前者治疗基因与病变基因共存于细胞中,主要用于矫正孟德尔隐性遗传病(如血友病B等);后者或以治疗基因原位取代病变基因,或将病变基因敲除后再回补治疗基因,主要用于治疗孟德尔显性遗传病(如某些类型的癌症)。

## 第2节 基因工程是一种重组DNA技术

### 一、教材分析

#### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

(1) 在准确阐述重组DNA技术三大基本工具的基础上,领会并运用DNA分子操作的基本原理;结合限制性内切核酸酶的科学发现过程,提升科学思维。

(2) 在完整阐述基因工程四大操作步骤的基础上,从PCR获取目的基因以及目的基因表达产物检测和鉴定中举例总结科学探究的基本程序,并对给定的基因工程项目提出合理的设计操作方案。

这两项目标是依据《课程标准》内容要求5.1.2和5.1.3设定的。目标(1)要求准确阐明重组DNA技术的实现需要利用限制性内切核酸酶、DNA连接酶、载体三种基本工具。目标(2)要求阐明基因工程的基本操作程序主要包括目的基因的获取、基因表达载体的构建、目的基因导入受体细胞和目的基因及其表达产物的检测鉴定等步骤,并在开展探究活动及实验的同时,提高科学探究能力。

#### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》概念5和内容要求5.1.2、5.1.3而选取的,教材通过系列生物学事实来说明(表3-6)。

表3-6 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
重组DNA技术包含获取目的基因、构建表达载体、导入受体细胞、筛选和鉴定含目的基因的受体细胞等基本操作阶段	基因工程是一种重组DNA技术
	基因工程能实现人胰岛素的大规模生产
	利用三种基本工具可以构建目的基因的表达载体
重组DNA技术的三大基本工具包含限制性内切核酸酶、DNA连接酶、载体	限制性内切核酸酶能识别并断裂识别序列内部或两侧相邻两个脱氧核苷酸之间的化学键
	DNA连接酶能封闭双链DNA分子中一条链上相邻两个脱氧核苷酸之间断开的化学键
	载体能携带外源基因在受体细胞中独立复制
PCR技术是模拟细胞内DNA复制过程的一种体外DNA扩增程序,具有目的基因获取和转基因生物鉴定等广泛用途	PCR技术可以扩增特定区域的DNA序列
	借助标记基因能筛选和鉴定含目的基因的受体细胞,并检测目的基因是否准确表达
	针对特定细胞进行操作可提高转化成功率

### 3. 学习内容

本节内容结合大规模生产人胰岛素的技术策略和工程路线,阐述通过将人胰岛素目的基因导入合适的受体细胞内使之高效表达人胰岛素的重组 DNA 技术。分子层面的重组 DNA 技术对学生而言比较抽象。为了使这一抽象的过程形象地展示在学生面前,教材在编写的时候,顺应学生的认知发展的路径,设计了多个建模和实验活动,帮助学生从宏观到微观、从现象到本质理解基因工程的实质。

课前活动提出具体问题“如何才能将人胰岛素基因与另一种 DNA 分子重组在一起呢?”,然后通过实物模拟,引导学生感悟重组 DNA 必须先获取目的基因、剪开载体。通过这一简单的实物模拟,引出实现重组 DNA 技术必需的三种工具。这一活动将重组 DNA 技术模型化、可视化,对于学生的学习和理解有较大的帮助。

教材分 6 目,从 DNA 重组需要的三种基本工具、获取目的基因的主要方法、构建表达载体的主要方式到如何将 DNA 分子导入受体细胞、如何筛选和鉴定含目的基因的受体细胞、如何构建转基因动植物,分别作了详细介绍。

第 1 目:DNA 重组需要三种基本工具。教材紧接课前活动的模拟活动提出了用于“切”的限制性内切核酸酶,图文并茂地描述限制性内切核酸酶的识别序列和切割后可能产生的黏性末端。为了帮助学生理解这一过程,教材设置了探究·建模 3-1“模拟限制性内切核酸酶的切割作用”,帮助学生理解限制性内切核酸酶的作用机理。此外,教材还设置思维训练栏目,介绍细菌体内限制性内切核酸酶对于细菌本身的意义,并在此基础上设置了查阅资料环节,指出细菌对于入侵的 DNA 有免疫记忆的可能,拓展学生的视野,也为学有余力的学生提供更大的学习空间。教材用详细的图解解析 DNA 连接酶的作用机理。之后阐明将外源基因导入受体细胞时为何要使用载体,并指出任何具备在受体细胞内独立复制的 DNA 分子理论上均可作为基因工程的载体。该部分内容的最后,教材选用电镜照片使细菌的拟核 DNA 和质粒 DNA 直观形象地展现在学生面前,教师可据此描述基因工程常用载体——质粒的概念内涵。

第 2 目:PCR 是获取目的基因的主要方法。教材介绍了几种获取目的基因的方法,重点阐述 PCR 法的原理和过程。在必修分册《遗传与进化》中,学生已经理解了 DNA 分子的结构和方向性,所以这部分教材内容在图解 PCR 技术时也标明了方向性。之后基于课程标准的学业要求,设置了探究·实验 3-2“DNA 的提取和鉴定”和探究·实验 3-3“PCR 扩增 DNA 的原理和操作”,学生能在实验室初步接触分子生物学的实验,体验 PCR 技术的操作过程。思维训练栏目则从 DNA 聚合酶的催化特点和引物的特异性结合等角度阐明了 PCR 技术需要耐热 DNA 聚合酶。

第 3 目:切割和连接是构建表达载体的主要方式。从探究·建模 3-4“模拟 DNA 分子重组”开始,学生通过限制性内切核酸酶切割双链 DNA 和质粒、目的基因和载体的连接等模拟操作,能形象直观地了解重组 DNA 的过程,并在此基础上讨论连接的多种可能性,为该部分正文内容的教学提供很好的支持。

第 4 目:将 DNA 分子导入受体细胞。教材简单介绍了导入的方法,并指出不管何种导入方法,成功率都比较低,从而提出“筛选含目的基因的受体细胞”的必要性。

第 5 目:借助标记基因筛选和鉴定含目的基因的受体细胞。通过详细的文字描述并结合含有标记基因的载体的图示,详细介绍了两种筛选方法:抗药性筛选法和显色筛选法,培养学生演绎和推理

的科学思维。对应课程标准的学业要求,教材中探究·实验 3-5“PCR 扩增产物的凝胶电泳鉴定”让学生通过凝胶电泳这一技术,完成 DNA 分子的分离和鉴定。结果分析引导学生思考该技术的原理及适用范围。

第 6 目:构建转基因动植物需要针对特定受体细胞进行操作。教材详细介绍了转基因动物和植物的构建过程中,表达载体导入的方法及受体细胞的选择,并指出构建转基因动植物不仅需要导入重组 DNA,还需借助细胞工程将受体细胞培育成完整个体,最后鉴定目的基因是否正确表达。

## 二、教学建议

本节内容建议 7 课时。其中,课堂教学 3 课时,实验与活动教学 4 课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 基于 DNA 分子结构开展教学,凸显结构与功能观

基因工程是从分子水平对 DNA 进行重组拼接,教师在开展相关教学时,可以通过引导学生回忆必修 2 中 DNA 分子的结构、DNA 复制等相关内容,结合模型、图片或视频,运用结构与功能观阐释工具酶的作用机理以及 PCR 技术的原理和过程。

教学中可组织学生开展课前活动“模拟 DNA 重组”,指出关键步骤“切”和“接”都需要分子工具,引出工具酶“限制性内切核酸酶”和“DNA 连接酶”。然后,通过展示各种限制性内切核酸酶的识别序列及酶切位点,引导学生通过观察和比较,归纳识别序列的特点,回忆 DNA 分子的结构,理解限制性内切核酸酶的作用特点。由于 DNA 分子是反向互补的,多数限制性内切核酸酶的识别序列呈回文结构,因此,限制性内切核酸酶在酶切时需在两条链相同位置切开相邻脱氧核苷酸之间的化学键。此时,教师可以让学生观察各种酶切后的 DNA 片段末端,从而发现有些酶识别位点不同,但切出的 DNA 片段具有相同的末端序列;有些酶识别相同的序列,但切点不同,为操作步骤“接”的结果讨论做铺垫。

教学中也可结合思维训练栏目中噬菌体侵染大肠杆菌的实验素材,提出问题“限制性内切核酸酶来自原核细胞,为什么不会切割自身的 DNA?”引发学生兴趣,然后提供模型或图片,组织学生观察限制性内切核酸酶的作用过程,比较 DNA 甲基化对限制性内切核酸酶识别的影响,认识限制性内切核酸酶的作用机制,理解限制-修饰机制对原核细胞的意义。

此外,在开展“PCR 技术”的教学时,建议先让学生回忆 DNA 分子的结构及方向性,再通过建模或图片、视频等,呈现完整 DNA 复制的过程,说明“引物”的作用,引导学生讨论、推理出 PCR 技术的条件,如模板、原料、过程、酶、引物、温度等。然后,通过比较 PCR 和体内 DNA 复制的异同,理解 PCR 技术的原理,巩固结构与功能观,进一步发展归纳和概括的科学思维。

#### (2) 充分利用模型与建模,使抽象的教学内容具象化,培养科学思维

基因工程的内容比较微观、抽象。为了将这一抽象的过程形象地展示在学生面前,教材在编写的时候,循着学生的认知发展的路径,先用纸片模拟 DNA 重组时必须经历的“切”和“接”两步操作,使学生意识到不同生物之间完成基因的转移必须要有恰当的工具;而后设计了一系列模拟操作,如

限制性内切核酸酶的切割、表达载体的构建等。教师在教学设计的时候,可以充分利用这些模拟操作,引导学生先“动动手”,在此基础上“动动脑”,加深对基因工程步骤的理解。

例如,在学生掌握限制性内切核酸酶、DNA连接酶功能和作用特点的基础上,教师可以指导学生构建人胰岛素基因所在DNA以及载体的纸片模型,并在基因两端和内部,以及载体上预设若干限制性内切核酸酶的识别序列,然后通过小组活动的方式,组织学生运用模型模拟不同的酶切方案,讨论更多的连接产物形式,进而归纳选择限制性内切核酸酶的关键依据,分析不同酶切方案,让学生在动脑、动手的过程中,加深对基因工程概念的理解,逐步发展科学思维。

### (3) 基于单元情境进行工程化设计,培养科学探究素养

教师在教学过程中可以拆分单元情境为课时情境,通过问题和活动引导学生利用所学知识进行工程设计,尝试提出初步的工程学设想,有助于学生通过实例从整体上理解基因工程,培养科学探究能力且感悟基因工程的应用价值。

例如,首先以“如何通过改造生物大规模生产人胰岛素”为课时情境,提出问题“如何利用微生物生产人胰岛素”,引导学生先从基因工程的定义出发,概述改造微生物的过程。然后,逐一对每一个步骤进行阐述。“目的基因的获取”“基因表达载体的构建”两个步骤建议组织学生通过构建模型直接呈现重组DNA的过程;“目的基因导入受体细胞”“目的基因及其表达产物的检测鉴定”两个步骤建议通过问题引导学生思考,如“重组DNA上的人胰岛素基因表达需要什么条件?”引出基因必须导入特定的受体细胞才能表达或改变生物遗传特性,对于不同的受体细胞,往往采取不同的导入方法;再通过“如何知道基因已经导入受体细胞?”“基因导入细胞就能表达吗?”“如何判断基因工程是否成功?”等问题引发学生思考,并结合基因的选择性表达以及中心法则提出多个水平的检测和鉴定,如可检测是否存在目的基因、mRNA、目标蛋白,或生物个体性状的改变是否符合预期等,进而结合标记基因解释筛选方案。

### (4) 结合具体案例的讨论,引导学生关注生物伦理,提升社会责任意识

教师在引导学生搜集并讨论基因工程技术的具体应用案例时,需要关注转基因生物产品的安全性问题。教师也可在教学设计时,将这部分内容和第4章第1节进行统整,引导学生科学理性地看待转基因生物产品,能基于证据,运用所学知识,就日常生活或社会热点话题中的相关问题发表自己的观点,提升社会责任意识。

## 2. 实验与活动建议

### 探究·建模 3-1 模拟限制性内切核酸酶的切割作用

本活动在课前活动的基础上从分子水平模拟重组DNA的步骤“切”。教师应充分利用本活动,与课前活动、限制性内切核酸酶的教学内容相结合,引导学生在建模过程中认识限制性内切核酸酶的高效性和专一性,加深对步骤“切”的理解。

#### (1) 材料器具准备

为了清晰展示切割结果,建议选取稍硬的铜版纸或卡纸。然后切成长5cm、宽1cm的纸条。在该纸条上书写EcoRI的识别序列,注明5'和3',建议标明两条链碱基之间的氢键,便于建模结果分析。

和讨论。本活动也可以选择采用必修 2 探究·活动 1-1“探讨 DNA 分子双螺旋结构的发现过程并制作模型”的材料组织学生进行建模。

纸片模型更容易准备和操作,DNA 分子结构模型的材料可重复利用,能更清晰地呈现酶切的特点。教师可根据学情和课时安排灵活使用建模材料。

## (2) 注意事项

*Eco*RI 的切割位点在 G 和 A 之间,即两个相邻脱氧核苷酸之间的化学键。若采用纸片模型,教师需提醒学生剪刀的生物学表征是限制性内切核酸酶,结合它的功能剪断相应化学键,而不是两条多核苷酸链之间的氢键。

## 探究·实验 3-2 DNA 的提取和鉴定

在必修分册《分子与细胞》中,学生已经经历过“叶绿体色素的提取和分离”的实验,掌握了“样品选择—组织破碎—提取—层析分离”等提取和分离生物组织中相应物质的方法。本实验是学生初次经历生物工程的实验,实验难度较大,教师需事先讲清实验原理,做好充分实验准备,而后合理安排学生经历实验过程。

### (1) 材料器具准备

① 建议购买新鲜猪肝,冰箱保存的时间不宜过长,以免实验材料变质或细胞内的核酸降解。市售的猪肝较大,可以在学生实验前先将肝脏切成小块备用。

② 十二烷基硫酸钠( SDS )是一种阴离子去垢剂,可破坏细胞膜、核膜,使组织蛋白和 DNA 分子分离,同时还有降解 DNA 酶的作用,并能与脂质、蛋白质结合。如果采购不方便,也可以使用含有 SDS 的洗涤剂按 1 : 5 稀释。

### (2) 注意事项

① 本实验操作过程复杂,所需时间较长,建议预先让学生充分预习实验原理和步骤。教师也可视实际情况对实验步骤进行适当调整,如在课前完成 DNA 的释放和溶解等。

② 能否提取到较纯净的 DNA 絮状物是本实验成功的关键。学生在实验过程中难免会出现操作失误。如果提取到的 DNA 不是白色絮状物,教师可以引导学生思考可能含有的杂质,并提出鉴定方案,反思操作过程中可能影响结果的关键步骤。

③ 二苯胺试剂应现配现用,否则可能会对实验结果产生影响。二苯胺具有一定毒性,使用时应注意避免接触皮肤等部位。

## 探究·实验 3-3 PCR 扩增 DNA 的原理和操作

PCR 技术是 20 世纪 80 年代诞生的一项极具革命性的实验技术,该技术成为目前实验室获取目的基因和对目标基因进行改造的最常用方法,将基因工程朝着实用化的方向推进了一大步。PCR 实质上是将细胞内发生的 DNA 复制过程移至试管中进行,以达到检测和获取特定 DNA 序列的目的。PCR 的基本原理是在模板、引物、4 种 dNTP 和耐热 DNA 聚合酶存在的条件下,特异性扩增两段已知序列之间的 DNA 区段的酶促合成反应。每一循环的产物作为下一个循环的模板,如此循环 30 次,介于两个引物之间的新生 DNA 片段理论上可达到  $2^{30}$  拷贝(约  $10^9$  个分子)。PCR 技术的特异性

取决于引物与模板的特异性。

### (1) 材料器具准备

① 本实验中使用的试剂可由从生物公司购买的 PCR 试剂盒提供,于-20℃保存,使用前应放在冰浴中缓慢解冻。使用时按说明书建议加入各试剂体积。

② 实验过程中使用的 PCR 管、移液器吸头、双蒸水应在使用前进行高压灭菌,以免外源 DNA 等因素污染实验结果。

### (2) 注意事项

① 实验课前,教师应先带领学生预习 PCR 加样操作的步骤,回顾移液器的使用并进行操作练习,帮助学生熟悉使用移液器进行微量加样的方法。

② 本实验中 PCR 反应体系体积小,各种试剂的用量微小,因此加样要十分准确。教师需提醒学生吸取不同试剂的移液器吸头用完应及时更换,避免交叉污染,影响 PCR 的结果。加样时应按加入试剂的量从大到小加入 PCR 管,方便吸取和混匀。

③ PCR 反应是酶促反应,各种试剂混合后,反应即刻开始进行,因此要求学生加样过程在冰浴中完成,且尽可能速度一致,才能保证各个小组的反应管同时开始反应。

④ PCR 扩增的产物需经过探究·实验 3-5 的凝胶电泳鉴定。如两次实验时间间隔较长,应放置于-20℃保存。

## 探究·建模 3-4 模拟 DNA 分子重组

本活动在课前活动的基础上从分子水平模拟重组 DNA 的步骤“接”,讨论多种可能的连接产物。教师可以组织学生以小组合作的方式引导学生关注“切”的结果,对“接”的多种结果进行讨论,引出第 3 目“切割和连接是构建表达载体的主要方式”的教学内容。教师也可以将本活动与探究·建模 3-1 整合,选择合适的限制性内切核酸酶,完整呈现重组 DNA 的“切”和“接”的过程。

### (1) 材料器具准备

根据建模要求选择材料制作目的基因和质粒的模型,如纸片模型,并标注 *Bam* HI 和 *Mbo* I 的识别序列。

### (2) 实施建议

① 按照 *Bam* HI 的切割位点用剪刀将“目的基因”和“质粒”的纸片模型剪断后,建议将配对的黏性末端从背后用胶带粘在一起完成步骤“接”,同时提醒学生思考 DNA 连接酶在步骤“接”中所起的作用。

② 在了解建模原理和过程的基础上,教师可以组织学生利用手中模型尝试解决结果分析 4 的相关问题,探讨连接产物的可能性。教师基于建模结果展开相关内容的教学。

## 探究·实验 3-5 PCR 扩增产物的凝胶电泳鉴定

该实验在探究·实验 3-3 使用 PCR 扩增 DNA 后,对其扩增产物进行凝胶电泳,观察电泳结果,从而判断扩增的效果。琼脂糖凝胶本身是一种分子筛,使得分子量较小的分子在电场的作用下以较快的迁移速率向所带电荷相反的电极移动。琼脂糖凝胶中琼脂糖的浓度决定分子筛筛孔的大小。浓度越高,分子筛的筛孔越小,分子在其中迁移的速率越低。

### (1) 材料器具准备

实验前,根据教材配方配制 50×TAE 电泳缓冲液,稀释备用。PCR 扩增产物与 5×上样缓冲液混合后备用。学校可根据实际情况由教师在课前进行制胶:用微波炉加热琼脂糖,将琼脂糖溶液倒入放置了电泳梳的胶膜板中。琼脂糖凝胶完全凝固后,将凝胶连同胶模板放入电泳缓冲液中,小心移去电泳梳,如样品槽内有气泡应除去,同时注意胶膜板样品槽的一侧置于电泳槽点负极,缓冲液没过胶面约 1 mm。

### (2) 实施建议

① 市售的核酸染料如 SYBR Green I 与双链 DNA 的结合亲和力很强,在波长为 300 nm 的紫外灯下能检测琼脂糖凝胶中少至 60 pg 的双链 DNA 条带;SYBR Gold 可以检测出琼脂糖凝胶中小于 20 pg 的双链 DNA。溴化乙锭(EB)染色虽然是观察琼脂糖凝胶 DNA 的最简便、最常用的方法,但溴化乙锭具有致癌性、毒性较大,不建议应用在学生实验中。建议教师根据实验室条件选购核酸染料,根据使用说明配置染色溶液,在电泳后,通过将凝胶放入溶液浸泡的方式进行染色。染色后的凝胶可以在透射或入射紫外光下进行拍照观察。注意操作时都应戴手套,避免核酸染料接触皮肤。

紫外灯下 DNA 条带的亮度与 DNA 的上样量有关。为确保观察到实验结果,教师可以在学生实验前通过预实验测定探究实验 3-3 中获得的 PCR 扩增产物浓度,根据选用的核酸染料,确定 DNA 样品和上样缓冲液混合液的上样量。

由于 DNA 能很好地吸收 260 nm 附近的紫外线,因此可用紫外吸收的方法测定 DNA 浓度。 $1 \mu\text{g}$  DNA 溶液在 260 nm 波长下的吸光度约为 0.02,即  $1\text{A}_{260} \approx 50 \mu\text{g/mL}$  DNA。

可用以下方法测定 DNA 浓度:取 DNA 溶液,加双蒸水稀释 n 倍,分光光度计用双蒸水调零,测定 DNA 溶液吸光度,计算 DNA 浓度。紫外线不能透过普通玻璃,测定时应使用石英比色皿。

② 样品槽的加样与 PCR 操作的加样略有不同。操作时,持移液器的手肘部应固定在桌上,用另一只手扶住,避免移液器抖动将样品加到样品槽外,或刺穿凝胶。眼睛观察移液器吸头的尖头伸入样品槽后,缓缓将样品加入,使样品沉积在样品槽底部。

③ 上样缓冲液由溴酚蓝和二甲苯腈蓝 FF 等指示剂及其他成分构成,可用于判断 DNA 片段的电泳情况。当样品槽内的蓝色由负向正泳动至琼脂糖凝胶全长三分之二时,可切断电源,戴上一次性手套,取出凝胶,于紫外灯下观察、成像。DNA 电泳条带在紫外灯下呈亮带。分析结果时需考虑胶膜板在电泳槽中的正负极。

## 3. 栏目使用建议

### (1) 学习提示

第一个学习提示凸显结构与功能观,指出限制性内切核酸酶只能识别特定序列并在特定位点切开 DNA 序列,教师可将此提示和限制性内切核酸酶的作用机理进行整合。第二个学习提示拓展了教材内容,指出除了质粒 DNA 和病毒 DNA 外,生物体内还存在其他能独立于染色体 DNA 而自主复制的小型 DNA,体现了生命世界的复杂性和多样性,建议学生阅读该栏目,有兴趣的学生还可以根据此线索查找更多内容,打开眼界。第三个学习提示指出目的基因插入会导致质粒上原有基因功能丧失,凸显结构与功能观。教师可以在教学中引导学生做筛选方案设计时整合该内容。

## (2) 思维训练

思维训练“细菌合成限制性内切核酸酶的意义是什么?”介绍了限制性内切核酸酶的发现过程,补充说明了细菌内的限制-修饰机制。教师可以结合限制性内切核酸酶的功能引导学生阅读并检索资料,以小组讨论的方式完成思考与讨论,发展学生知识迁移和应用的能力。

思维训练“PCR 扩增技术为什么要使用引物和耐热 DNA 聚合酶?”首先介绍了 DNA 聚合酶的催化特点,指出“引物”对 DNA 复制的重要性和使用中存在的不足,从而提出实现扩增必须在高温下进行,引出耐热 DNA 聚合酶的必要性。教师教学时可以提供细胞内完整的 DNA 复制过程视频或模式图,引导学生将其与 PCR 的过程进行比较和归纳,借助思考与讨论,加深对 PCR 技术原理的理解。

## 三、拓展资料

### 1. 限制性内切核酸酶的类型

细菌中存在限制-修饰机制。限制性内切核酸酶起到限制作用,甲基化酶起到修饰作用。目前,在细菌中已发现了上千种限制性内切核酸酶,根据其性质不同可分为三大类。**I** 类和**III** 类酶严格地说应该称为限制-修饰酶,因为它们的限制性核酸内切活性及甲基化活性都作为亚基的功能单位包含在同一酶分子中。而**II** 类限制性内切核酸酶与其对应的甲基化酶是分离的,不属于同一酶分子,而且由于这类酶的识别切割位点比较专一,因此广泛用于 DNA 重组。三类限制性内切核酸酶的详细特征见表 3-7。

表 3-7 原核细菌中的三类限制性内切核酸酶

结构或性能	I 类酶	II 类酶	III 类酶
酶分子结构	三亚基双功能酶	内切酶和甲基化酶 不在一起	三亚基双功能酶
识别位点	二分非对称序列	4~8 bp 短序列,多呈 回文结构	5~7 bp 非对称序列
切割位点及有无特异性	距离识别位点至少 1 kb 无特异性	位于识别位点内部或两侧 呈特异性	位于识别位点下游 24~26 bp 处 无特异性
限制反应与甲基化反应	相互排斥	相互独立	相互竞争
限制作用是否需要 ATP	需要	不需要	需要

### 2. II 类限制性内切核酸酶的命名

**II** 类限制性内切核酸酶的统一命名由其来源的细菌名称缩写构成,具体规则是:以细菌属名的第一个大写字母和种名的前两个小写字母构成酶的基本名称;如果酶存在于一种特殊的菌株中,则将株名的一个字母加在基本名称之后;若酶的编码基因位于噬菌体(病毒)或质粒上,则还需用一个大写字母表示非染色体的遗传因子。酶名称的最后部分为罗马数字,表示在该菌株中发现此酶的先

后次序,如 *Hind* III 是在流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)d 株中发现的第三个酶,而 *Eco* RI 则表示其基因位于大肠杆菌(*Escherichia coli*)的抗药性 R 质粒上。

### 3. II 类限制性内切核酸酶的识别序列和切割方式

多数 II 类限制性内切核酸酶的识别序列为 4~8 对碱基,且具有 180°旋转对称的特征性回文结构。例如,*Eco* RI 的识别序列为 5'-GAATTC-3' (单链序列),对称轴位于第三与第四位碱基之间;对于由 5 对碱基组成的识别序列而言,其对称轴为中间的一对碱基。一部分 II 类限制性内切核酸酶的识别序列中某一或某两位碱基并非严格专一,但都在两种碱基中,具有可替代性,这种不专一性并不影响内切酶和甲基化酶的切割位点,只是增加了 DNA 分子上的酶识别与作用频率。

绝大多数的 II 类限制性内切核酸酶均在识别位点内部或两侧切割 DNA,使得 DNA 每条链中相邻两个碱基之间的磷酸二酯键断开。一部分酶识别相同的序列,但切点不同,这些酶称为同位酶(如 *Xma* I、*Sma* I、*Ava* I);识别序列与切割位点均相同的不同来源的酶称为同裂酶(如 *Sst* I 与 *Sac* I、*Hind* III 与 *Hsu* I 等);有些酶识别位点不同,但切出的 DNA 片段具有相同的末端序列,这些酶称为同尾酶(如 *Mbo* I、*Bgl* II、*Bcl* II、*Bam* HI);还有极少数酶的 DNA 切割活性依赖于识别序列内部碱基的甲基化作用。

根据切开的 DNA 末端性质的不同(不考虑碱基序列),所有的 II 类限制性内切核酸酶又可分为三大类(图 3-3)。除后者外,任何一种 II 限制性内切核酸酶产生的两个突出末端在足够低的温度下均可退火互补,因此这种末端称为黏性末端(Cohesive End),这是 DNA 分子重组的基础。

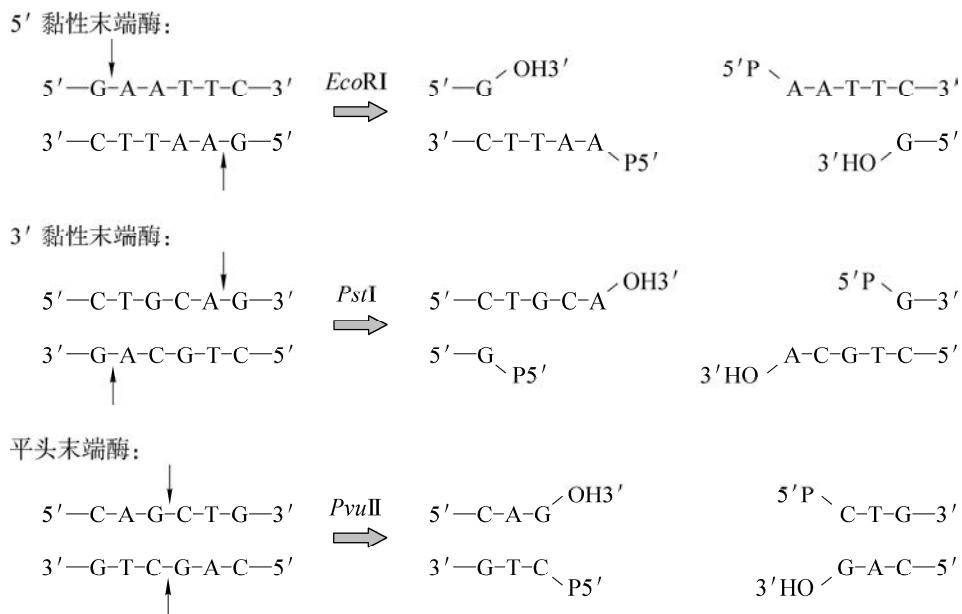


图 3-3 DNA 经限制性内切核酸酶作用切开后的三种末端

### 4. DNA 重组载体的功能及应具备的条件

绝大多数分子克隆实验所使用的载体是 DNA 双链分子,其功能有以下几方面。

(1) 为外源基因提供进入受体细胞的转移能力。从理论上讲,任何 DNA 分子均能以物理渗透的

方式进入生物细胞中,但这种频率极低,以至于在常规的实验中难以检测到。某些种类的载体 DNA 分子本身具有高效转入受体细胞的特殊生物学效应,因此由载体运载外源基因进入受体细胞比外源 DNA 片段单独导入的概率要高几个数量级。

(2) 为外源基因提供在受体细胞中的复制能力或整合能力。外源基因进入受体细胞后面临两种选择,或者直接整合在受体细胞染色体 DNA 的某个区域内,作为其一部分复制并遗传;或者独立于受体细胞染色体 DNA 而存在。在后一种情况下,载体 DNA 分子必须为外源基因提供独立的复制能力,否则外源基因不可能在受体细胞中复制和遗传。

(3) 为外源基因提供在受体细胞中的扩增和表达能力。外源基因的扩增依赖于载体分子在受体细胞中的高拷贝自主复制能力,这种能力通常由载体 DNA 上的若干相关元件和基因编码。同时,外源基因高效表达所需的调控元件一般也由载体分子提供。

应当指出的是,上述三大功能并非所有载体分子都必须具备,DNA 重组克隆目的不同,对载体分子的性能要求也不同。但对于所有不同用途的载体而言,为外源基因提供复制或整合能力是必不可少的,因此通常选择生物体内天然存在的质粒 DNA 或病毒(噬菌体)DNA 作为载体蓝本,并采用分子克隆操作技术对之进行必要的修饰和改造,以满足 DNA 重组克隆和基因表达对载体的性能要求。

一个理想的载体至少应具备四个条件:①具有对受体细胞的可转移性或亲和性,以提高载体导入受体细胞的效率;②具有与特定受体细胞相匹配的复制位点或整合位点,使得外源基因在受体细胞中能稳定复制并遗传;③具有多种且单一的限制性内切核酸酶识别切割位点,有利于外源基因的拼接插入;④具有合适的选择性标记,便于重组 DNA 分子的检测。载体的可转移性和可复制性取决于它与受体细胞之间严格的亲缘关系,不同的受体细胞只能使用相匹配的载体系统。

## 5. 质粒载体及其改造

质粒是一类天然存在于细菌和真菌细胞中、能独立于染色体 DNA 而自主复制的闭合环状双链 DNA 分子,其大小通常在 1~600 kb 内。质粒并非其宿主生长所必需,但能赋予宿主抵御外界环境因素不利影响的能力,如抗生素的抗性、重金属离子的抗性、细菌毒素的分泌以及复杂化合物的降解等,上述性状均由质粒上相应的基因编码。野生型质粒具有下列基本特性。

### (1) 质粒的自主复制性

质粒 DNA 含有自己的复制起始位点以及控制复制频率(或质粒拷贝数)的调控基因,有些质粒还携带特殊的复制因子编码基因,形成一个独立的复制子结构。因此,质粒 DNA 能够摆脱宿主染色体 DNA 复制调控系统的束缚而进行自主复制,并产生少则几个、多则成百上千个拷贝。

### (2) 质粒的可扩增性

在革兰氏阴性细菌中,质粒的复制呈严紧型(Stringent)复制和松弛型(Relaxed)复制两种模式。严紧型质粒(如 pSC101 和 p15A 等)的复制由宿主细胞内的 DNA 聚合酶Ⅲ介导,并受质粒编码型蛋白因子正调控,这些蛋白因子极不稳定,因而在宿主正常生长过程中,每个细胞通常只能复制产生 1~5 个质粒拷贝;松弛型质粒(如 pMB1 和 ColE1 等)的复制需要半衰期较长的 DNA 聚合酶 I、RNA 聚合酶以及其他复制辅助蛋白因子的参与,当宿主细胞内蛋白质合成减弱或完全中断时,质粒

仍能持续复制,因此这类质粒在每个宿主细胞中通常具有较高的拷贝数(30~50)。作为一种极端情况,当宿主细胞进入生长后期,加入氯霉素(最终浓度为 10~170 g/mL)抑制蛋白质的生物合成,阻断宿主菌的大部分代谢途径,松弛型质粒则利用丰富的原料及能量大量复制,最终每个细胞可积累上百个拷贝,这种操作称为质粒的氯霉素扩增。

### (3) 质粒的可转移性

在天然条件下,许多野生型质粒可以通过细菌接合作用从一个宿主细胞横向转移至另一个宿主细胞甚至另一种亲缘关系较近的宿主菌中,这一转移过程依赖于质粒上的 *mob* 基因表达产物与其他蛋白因子的相互作用,具有这种天然横向转移能力的质粒称为接合型质粒。

### (4) 质粒的不相容性

具有相同或相似复制子结构及其调控模式的两种不同的质粒不能稳定地共存于同一受体细胞内,这种现象称为质粒的不相容性。对于单拷贝质粒来说,当两种不相容的质粒同时进入受体细胞后,由于它们含有相同或相似的复制子结构以及质粒拷贝控制机制,因此两者并不复制,待受体细胞分裂时,两者被分配在两个子细胞中;在多拷贝质粒的情况下,虽然两种不相容的质粒均可复制,但由于两者复制的起始频率是随机的,且相互竞争宿主细胞内的复制蛋白因子(如 Rep 蛋白),因而在细胞分裂前夕两种质粒的拷贝数并不完全均等。又因为这些不相容的质粒在两个子细胞中的分配只能按照拷贝数均分,无法辨认质粒的身份,因此造成两个子代细胞中含有拷贝数并不均等的两种质粒。这样经过若干次细胞分裂后,必然导致两种质粒在细胞中的独占性。具有不同复制子结构的相容型质粒,尽管它们由于复制机制不同而造成各自的拷贝数有差异,但在细胞分裂时每种质粒在两个子细胞中均可保持等同的拷贝数,因而它们可以稳定地存在于同一受体细胞中。

外源基因克隆的目的不同,对质粒载体的性能要求也不同。野生型质粒存在着多种缺陷,不能满足需要,必须对之进行修饰和改造,其内容包含:①删除不必要的 DNA 区域,尽量缩短质粒的长度,以提高外源 DNA 片段的装载量。一般来说,大于 20 kb 的质粒很难导入受体细胞,而且极不稳定;②灭活某些质粒的编码基因,如促进质粒在细菌种间转移的 *mob* 基因,杜绝重组质粒扩散污染环境,保证 DNA 重组实验的安全;同时灭活那些对质粒复制产生负调控效应的基因,以提高质粒的拷贝数;③加入易于识别的选择标记基因,最好是双重或多重标记,便于检测含有重组质粒的受体细胞;④在选择性标记基因内部引入具有多种限制性内切核酸酶识别切割位点的 DNA 序列,即多克隆接头,便于多种外源基因的重组;同时删除重复的酶切位点使其单一化,以便环状质粒分子经酶处理后只在一处断裂,保证外源基因的准确插入;⑤根据外源基因克隆的不同要求,分别加装特殊的基因表达调控元件或用于表达产物检测和分离的标签编码序列,如 His-tag 和 Flag-tag 等。

## 6. DNA 重组常用的工具酶

### (1) T4-DNA 连接酶

与限制性内切核酸酶不同,DNA 连接酶广泛存在于各种生物体内,其催化的基本反应形式是将 DNA 双链上相邻的 3' 羟基和 5' 磷酸基团共价缩合成 3',5'-磷酸二酯键,使原来断开的 DNA 缺口重新连接起来,因此它在 DNA 复制、修复以及体内重组过程中起着重要作用。

T4-DNA 连接酶由 T4 噬菌体基因编码,分子量约为 60 kD。商品化的 T4-DNA 连接酶均由

大肠杆菌基因工程菌生产,这种工程菌的染色体 DNA 中整合了一个含噬菌体 DNA 连接酶编码基因的 DNA 片段。当培养温度上升至 42 ℃时,处于溶原状态的重组大肠杆菌大量合成重组 T4 - DNA 连接酶,从而大大简化了纯化过程。

### (2) Klenow 酶

Klenow 酶实际上是大肠杆菌 DNA 聚合酶 IC 端的大片段(约占总长的三分之二),首先由汉斯·克列诺(H. Klenow)采用枯草杆菌蛋白酶位点特异性裂解的方法从 DNA 聚合酶 I 中制备,故得此名。目前已将 DNA 聚合酶编码基因的相应编码序列克隆表达,并由重组大肠杆菌大规模生产。

大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 在其单一多肽链上具有如下活性:① $5' \rightarrow 3'$  的 DNA 聚合活性,使 DNA 链在模板的指导下延伸。② $3' \rightarrow 5'$  的核酸酶外切活性,其主要功能是识别并切除错配的碱基,通过这种校正作用确保 DNA 复制的准确性。③ $5' \rightarrow 3'$  的核酸酶外切活性,这一功能具有三个特征,首先,待切除的核酸分子必须具有 5' 端游离的磷酸基团;其次,核苷酸在被切除之前必须是已经配对的;最后,被切除的核苷酸既可以是脱氧的也可以为非脱氧的。④核酸内切酶活性,当一段 DNA 带有游离 5' 端磷酸基团的不配对单链时,该酶可作用在与此单链相连的两对配对碱基之间,切断其磷酸二酯键。

### (3) 末端脱氧核苷酰转移酶

末端脱氧核苷酰转移酶(TdT)来源于小牛胸腺,它是一种不需要模板的 DNA 聚合酶,其合适的底物为带有 3' 游离羟基的双链 DNA 分子。当底物为 3' 端突出的双链 DNA 时,TdT 在  $Mg^{2+}$  的存在下可将脱氧核苷酸随机聚合在两条链的 3' 端。对于平头或 3' 凹端 DNA 底物,则需要  $Co^{2+}$  激活,但聚合反应仍不按模板要求进行。TdT 在人工黏性末端的构建中极有用处。

### (4) S1 核酸酶

S1 核酸酶来源于米曲霉菌,催化反应通常由  $Zn^{2+}$  激活,并在酸性 pH(4.0~4.5)条件下进行。其特征是:降解单链 DNA 或 RNA,包括不能形成双链的区域(如发夹结构中的环状部分),但降解 DNA 的速度大于降解 RNA 的速度;降解反应的方式为内切和外切;酶量过大时会伴有双链核酸的降解,因为该酶的双链降解活性比单链低 7.5 万倍。在 DNA 重组及分子生物学研究中,S1 核酸酶常用来切平突出的单链末端或制作 S1 图谱。

### (5) BAL31 核酸酶

BAL31 核酸酶来源于埃氏交替单胞菌(*Alteromonas espejiana*)BAL31 株,主要表现为 3' 端的核酸外切酶活性,同时伴有 5' 端外切和内切活性。这些酶活性均严格依赖于  $Ca^{2+}$  的存在,因此可在反应的不同阶段加入二价阳离子螯合剂乙二醇双四乙酸(EGTA)终止反应。

### (6) T4 - 多核苷酸磷酸激酶(T4 - PNP)

T4 - 多核苷酸磷酸激酶(T4 - PNP)由 T4 噬菌体感染的大肠杆菌中制备,它催化 ATP 的磷酸基团转移至 DNA 或 RNA 的 5' 末端上,其中包括两种反应:①磷酸激酶的正向反应:将 ATP 的磷酸基团转移到单链或双链 DNA 或 RNA 的 5' 端游离羟基上,其催化 5' 突出末端的磷酸化速度比平头末端和 5' 凹端快得多,然而只要在反应体系中有足够量的酶和 ATP 存在,后两种末端也能得到完全磷酸化。②磷酸激酶的交换反应:在过量的 ATP 存在下,T4 - PNP 可将单链 DNA 或 RNA 5' 端的磷酸基团转移至 ADP 上形成 ATP,同时从 $^{32}P$  型 ATP 中获得其放射性的磷酸基团,并使单链 DNA 或

RNA 的 5' 端重新磷酸化,这个反应常用于核酸杂交探针分子的同位素末端标记。

#### (7) 碱性磷酸单酯酶

该酶来源于大肠杆菌和牛小肠。细菌的碱性磷酸单酯酶(BAP)和牛小肠的碱性磷酸单酯酶(CIP)均能催化 DNA、RNA、核苷酸的 5' 端除磷反应,因此在 DNA 重组实验中该酶主要用于载体 DNA 的 5' 末端除磷操作,以提高重组效率;而用于外源 DNA 片段的 5' 端除磷则可有效防止外源 DNA 片段之间的连接。

#### (8) T4-DNA 聚合酶

T4-DNA 聚合酶不仅具有 5'→3' 的 DNA 聚合活性和 5'→3' 的核酸外切活性,而且具有极强的 3'→5' 核酸外切活性,后者对单链 DNA 的作用远大于双链 DNA。5'→3' 合成 DNA 与 3'→5' 降解 DNA 是一对方向相反的可逆反应,在高浓度的 dNTP 存在时,模板中双链区的降解和合成反应趋于平衡,从而生成平头 DNA 分子。T4-DNA 聚合酶可用于修平非平头的 cDNA 分子以及由某些限制性内切核酸酶水解产生的 3' 突出末端。

### 7. 重组率及其影响因素

重组率是指在连接反应结束后,含有外源 DNA 片段的重组分子数与所投入的载体分子数之比。虽然重组率与连接反应效率有关,但含义不同。如果外源 DNA 片段与载体 DNA 均用同一种限制性内切核酸酶切开,则连接反应产物可存在多种形式,如含有外源 DNA 片段的重组分子和自我连接的载体分子,后者称为载体的自我环化或空载。连接效率高并不一定等同于重组率高,在连接反应中增加连接酶的用量和延长反应时间,一般只能提高连接效率,但未必对重组率的提高有利。

提高重组率可采用下列方法:①提高外源 DNA 片段与载体 DNA 的分子数之比,理想的比值为 2:1 至 10:1,这样可以增加外源 DNA 片段与载体分子之间的碰撞机会,减少载体 DNA 分子之间以及载体 DNA 两个末端之间的接触,从而降低载体自我环化的能力;②在连接反应前,先用碱性磷酸单酯酶去除载体 DNA 5' 末端的磷酸基团,这样即使载体 DNA 分子的两个黏性末端发生退火互补,也不能形成共价环化结构,而且这种退火互补与重新开环是可逆的,这就为载体分子最大限度地接纳外源 DNA 片段提供了条件。外源 DNA 片段与载体 DNA 退火后,连接酶仍可借助于外源 DNA 片段 5' 端的磷酸基团将两者连接在一起,形成在每一条链上各含有一个缺口的准重组分子,两个缺口之间的距离等于外源 DNA 片段的大小。除非外源 DNA 片段极小(<50 bp),一般情况下这种准重组分子在室温下不会开环。在后续的转化中,准重组分子同样可以进入受体细胞(转化效率稍低),并在受体细胞内得到修复,形成完整的重组 DNA 分子;③在连接反应前,用 TdT 酶在载体分子的 3' 羟基末端聚合一段同种碱基的寡聚核苷酸(即同聚尾),防止载体 DNA 分子之间以及两个末端之间的连接,而在外源 DNA 片段的 3' 末端加上互补性同聚尾,两者退火后甚至不经连接便可导入受体细胞内。

### 8. 重组 DNA 分子的转化与扩增(转与增)

DNA 重组分子在体外构建完成后必须导入特定的受体细胞,使之无性增殖并高效表达外源基因,或者直接改变其遗传性状,这个导入过程及操作统称为重组 DNA 分子的转化(Transformation)。

对于不同的受体细胞往往采取不同的转化策略。

### (1) 细菌的转化方法

① 钙离子诱导的完整细胞转化:将处于对数生长期的细菌置于0℃的CaCl<sub>2</sub>低渗溶液中,使细胞膨胀;同时Ca<sup>2+</sup>使细胞膜磷脂层形成液晶结构,使得位于外膜与内膜间隙中的部分核酸酶离开所在区域,这便构成了大肠杆菌人工诱导的感受态。此时加入DNA,Ca<sup>2+</sup>又与DNA结合形成抗脱氧核糖核酸酶(DNase)的羟基-磷酸钙复合物,并黏附在细菌细胞膜的外表面上。经短暂的42℃热脉冲处理后,细菌细胞膜的液晶结构发生剧烈扰动,随之出现许多间隙致使通透性增加,DNA分子便趁机渗入细胞内。

② 聚乙二醇介导的细菌原生质体转化:在高渗培养基中生长至对数生长期的细菌,用含有适量溶菌酶的等渗缓冲液处理,剥除其细胞壁形成原生质体,后者丧失了一部分定位在膜上的脱氧核糖核酸酶,有利于双链环状DNA分子的吸收。此时,再加入含有待转化的DNA样品和聚乙二醇(PEG)的等渗溶液,均匀混合。离心除去聚乙二醇,将菌体涂布在特殊的固体培养基上再生细胞壁,最终得到转化细胞。

③ 电穿孔驱动的完整细胞转化:电穿孔是一种电场介导的细胞膜可渗透化处理技术。受体细胞在电场脉冲的作用下,细胞壁形成一些微孔通道,使得DNA分子直接与裸露的细胞膜磷脂双层结构接触,并引发吸收过程。几乎所有细菌均可找到一套与之匹配的电穿孔操作条件,因此电穿孔转化方法已成为细菌转化的标准程序。

④ 基于细菌接合的完整细胞转化:接合是指通过细菌细胞之间的直接接触导致DNA从一个细胞转移至另一个细胞的过程。这个过程是由接合型质粒完成的,它通常具有促进供体细胞与受体细胞有效接触的接合功能以及诱导DNA分子传递的转移功能,两者均由接合型质粒上的有关基因编码。在DNA重组中常用的绝大多数载体质粒缺少接合功能区,因此不能直接通过细胞接合方法转化受体细胞,然而如果在同一个细胞中存在着一个含有接合功能区域的辅助质粒,则有些克隆载体质粒便能有效地接合转化受体细胞。因此,首先将具有接合功能的辅助质粒转移至含有重组质粒的细胞中,然后将这种供体细胞与难以用上述转化方法转化的受体细胞进行混合,促使两者发生接合作用,最终导致重组质粒进入受体细胞。

⑤ 基于噬菌体感染的大肠杆菌转染:以DNA为载体的重组DNA分子由于分子量较大,通常采取转染的方法将之导入受体细胞内。在转染之前必须对重组DNA分子进行人工体外包装,使之成为具有感染活力的噬菌体颗粒。用于体外包装的蛋白质可直接从大肠杆菌的溶源株中制备,现已商品化。

### (2) 动物细胞的转化方法

① DNA显微注射法:DNA显微注射是动物细胞基因转移普遍采用的一种物理转化方法,其基本操作程序如下:通过激素疗法使雌鼠超数排卵,与雄性小鼠交配后从其输卵管内取出受精卵;用吸管将受精卵固定在倒置显微镜上,然后借助直径通常为0.1~0.5μm的玻璃注射针依序穿过受精卵透明带、卵母细胞质膜、雄性原核核膜并注入DNA溶液;将25~40个注射了DNA的受精卵移植到母鼠子宫中发育,继而繁殖转基因小鼠子代。进入细胞核内的基因借助细胞DNA修复途径随机整合在受体细胞的基因组中,但整合效率通常只有1%~4%。对此的改进措施是将外源DNA与限制性内切核酸酶共注射,后者通过切割基因组DNA而高效激活受体细胞的DNA修复途径,由此提高

转基因的整合效率。

② DNA 电击转化法:对于精细胞、卵母细胞、胚胎细胞以及其他转移程序难以奏效的某些类型的细胞(如在培养基中悬浮生长的淋巴细胞),可采用电击法进行转化。其基本操作程序如下:将受体细胞悬浮于冰冷的磷酸盐缓冲液中;加入待转化的 DNA 溶液;在盛有上述悬浮液的电击杯两端施加短暂的脉冲电场,使细胞膜产生细小的孔洞并增加其通透性,此时外源 DNA 片段便能不经胞饮作用直接进入胞质。

③ 磷酸钙共沉淀法:将待转化的 DNA 溶解在磷酸盐缓冲液中,然后加入  $\text{CaCl}_2$  溶液混匀,此时 DNA 与磷酸钙共沉淀;一旦沉淀颗粒达到最优尺寸,将此颗粒悬浮液滴入细胞培养皿或细胞悬浮培养物中,37 °C 保温 4~16 h;除去 DNA 悬浮液,加入新鲜培养基,继续培养 7 天即可进行转化株的筛选。

④ 聚乙烯亚胺转化法:聚乙烯亚胺(PEI)早在 20 世纪 70 年代初便发现能沉淀 DNA,但 20 年后才被用于有效投送 DNA 至各种哺乳动物细胞系中。与 DEAE-葡聚糖相似,聚乙烯亚胺因呈高密度的正电荷而能有效压缩 DNA 分子。由于这种 DNA - PEI 复合物仍带有净的正电荷,因而能与动物细胞表面上的负电荷型糖蛋白、蛋白多糖、硫酸化蛋白多糖非特异性相互作用。与磷酸钙- DNA 共沉淀颗粒一样,DNA - PEI 复合物借助胞饮作用进入细胞,并在随后见于早期或晚期核内体以及一些内吞型溶酶体中。动物细胞捕获 DNA - PEI 复合物是一个相对高效的过程,将复合物加入培养物中 3 h 后便能在所有细胞中检测到其存在。

⑤ 脂质体包埋融合法:将待转化的 DNA 溶液与天然或人工合成的阳离子型脂质化合物混合,后者在表面活性剂的存在下形成包埋水相 DNA 的脂质体结构。这种脂质体悬浮液加入细胞培养皿中便会与受体细胞膜发生融合,外源 DNA 分子随即进入细胞质和细胞核内。

⑥ 病毒转染:通过病毒感染的方式将外源基因导入动物细胞内,是一种常用的高效基因转移策略。根据受体细胞类型的不同,可选择使用具有不同宿主范围和不同感染途径的病毒基因组作为转染载体。相对物理和化学基因转移程序而言,病毒转染型基因转移策略的优势在于转染效率高且细胞特异性强,外源基因在细胞内既可独立复制又可随机或区域倾向性整合,病毒基因组天然存在的强表达元件(如启动子、增强子、终止子、polyA 化信号序列等)能驱动外源基因高效表达;主要缺点是存在野生型病毒颗粒生成的风险以及病毒蛋白对动物体构成免疫原性。

### (3) 植物细胞的转化方法

不同植物的不同组织或细胞往往对应着不同的基因转移操作条件,因此选择使用合适的基因转移程序是成功生成转基因植物的前提。20 世纪 80 年代,人们建立了数十种有效的植物转基因方法,归纳起来有四大类:质粒整合、病毒感染、物理转移、化学介导。其中,Ti 质粒介导的整合转化法和微粒轰击转化法应用最为普遍。

## 第3节 蛋白质工程是基因工程的延伸

### 一、教材分析

#### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

(1) 从蛋白质工程的基本定义出发,举例说明基于基因工程原理设计和改造蛋白质分子的研究意义和产业化应用价值。

(2) 在理解蛋白质工程设计原理的基础上,运用结构与功能观和进化与适应观阐明定点突变和定向进化的蛋白质工程基本策略,并分析蛋白质工程基本过程所涉及的科学思维基本要素。

这两项目标是依据《课程标准》内容要求 5.2.1 和 5.2.2 设定的。目标(1)要求了解蛋白质工程的基本定义,通过突变型人胰岛素、新型的 L-天冬酰胺酶突变蛋白和 t-PA 突变蛋白的例子,理解蛋白质工程是在 DNA 分子水平上改变蛋白质的氨基酸序列,使其表达出比天然蛋白质性能更为优异的突变蛋白,借助蛋白质工程设计和改造新型突变蛋白,具有不可估量的经济和社会效益。目标(2)要求了解如何借助定点突变和定向进化策略改造蛋白质的基因结构,进而产生突变蛋白的过程。

#### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》内容要求 5.2.1 和 5.2.2 而选取的,教材通过系列生物学事实来阐明和举例说明(表 3-8)。

表 3-8 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
蛋白质工程是在 DNA 分子水平上改变蛋白质的氨基酸序列,使其表达出比天然蛋白质性能更为优异的突变蛋白	通过设计 PCR 引物改造人胰岛素 B 链基因,表达出不再聚合成多分子形式的突变型人胰岛素
蛋白质工程包含特定基因的定点突变和定向进化。定点突变是指改变 DNA 的特定序列;而定向进化是指随机改变 DNA 的序列,然后选择具有特定功能的突变蛋白	借助定点突变策略改造蛋白质的基因结构,获得突变型人胰岛素、新型的 L-天冬酰胺酶突变蛋白和 t-PA 突变蛋白,效果优于天然蛋白

#### 3. 学习内容

本节内容基于人胰岛素在使用过程中容易聚合成多分子形式、阻断胰岛素从注射部位进入血液、从而延缓其降血糖作用的事实,指出改造胰岛素分子性能的必要性,同时引出蛋白质工程概念。

课前活动安排了“由蛋白质的氨基酸序列推演基因序列”的活动,引导学生关注蛋白质与基因之

间的序列对应关系，并提出新的问题“如何才能获得改造的目的基因？”顺接上节基因工程的内容，为导入蛋白质工程的概念和策略做好铺垫。

教材正文分2目，先阐述蛋白质工程在基因水平上设计和改造蛋白质的过程，再通过具体案例介绍修饰改造天然蛋白的两大类操作策略——基因的定点突变和定向进化。

第1目：蛋白质工程在基因水平上设计和改造蛋白质。首先说明通过重组DNA技术获得的天然蛋白质不一定能完全符合人类生产和生活的需要，随后提出了蛋白质工程的定义，概述修饰改造天然蛋白的两大操作策略，即基因的定点突变和定向进化的基本流程，并分析基于蛋白质结构与功能基本信息设计制造全新蛋白的可能，说明蛋白质工程的发展现状和广阔的发展前景。

第2目：蛋白质工程根据人类需要改造目标蛋白质。以“赖脯胰岛素”为例，阐述如何依据定点突变策略改造目标蛋白质的过程，帮助学生理解对天然蛋白质进行基因改造以获得突变蛋白的原理，理解蛋白质工程是第二代基因工程。此外，教材还概述了利用蛋白质工程改造和开发新型L-天冬酰胺酶和新型t-PA突变蛋白两种药物。最后，介绍了依据定向进化策略设计和制造全新蛋白的过程，展望蛋白质工程在医学领域巨大的应用前景和价值。

## 二、教学建议

本节内容建议1课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 基于“情境-问题-活动”的教学路径建构概念，发展生命观念

蛋白质工程是通过人工突变基因实现对蛋白质结构和性质改造的过程，是在基因工程的基础上发展起来的生物工程。这部分内容需要学生在理解基因与蛋白质关系的基础上，基于基因工程的原理认识蛋白质工程实施路径。在教学过程中，建议教师通过设问，充分调动学生已学知识，加深学生对蛋白质工程原理的理解。

教学中可结合课前活动提出问题“如何改良重组人胰岛素的性能？”引入新课，引导学生思考基因序列与蛋白质序列的关系，然后组织学生讨论如何获取改良的重组人胰岛素，进而引出“是否可以直接合成改良的人胰岛素？”“如果要改造现有人胰岛素，需要具有怎样功能的分子工具？”“为什么直接改造人胰岛素基因的方案更好？”“几种方案是否都能实现大规模生产？”等问题，帮助学生进一步理解基因和蛋白质的关系，落实结构与功能观。目前，多肽水平上的化学修饰可以在一定程度上改变天然蛋白质的结构和性质，但工艺十分繁杂，并且由于基因未发生突变，所修饰的蛋白质无法再生。所以，改造基因并通过基因工程实现大规模生产改良的人胰岛素是最优途径。

教学中也可利用单元情境引导学生从可遗传变异和生物进化的角度推测，讨论“自然界是否存在性能更佳的人胰岛素？”，让学生运用适应与进化观解释新的蛋白质出现的根本原因，提出获取突变基因的策略。传统诱变及筛选技术能创造一个突变基因并产生相应的突变蛋白，但这种诱变方式是随机的，具有多方向性，而且突变概率很低。此时，教师可以通过学生从PCR获取大量目的基因的角度，从引物设计引入定点突变策略，结合工程学设计实例，建立基因工程和蛋白质工程的联系，建构“蛋白质工程是基因工程的延伸”的重要概念。

### (2) 创设工程学情境,经历工程学设计,提升工程思维

工程思维源于人类生产生活中的某种需求或是工程实践中提出的工程问题,思维路径是“需求分析—设计方案—实施—优化方案—再实施……直到获得理想的工程成果”。教材以“赖脯胰岛素”为例阐述了定点突变改造目标蛋白质的过程。教师可以在此基础上提出新的工程学需求,引导学生设计形成工程学解决方案,提升工程思维。

例如,教师首先基于教材资料给出“赖脯胰岛素”的设计路径,指导学生阐述通过设计 PCR 引物改造基因以获得突变型人胰岛素的过程。然后给出更多人胰岛素氨基酸序列与功能之间的研究结果,指导学生尝试提出工程学设想,加深对蛋白质工程定点突变的理解。突变型人胰岛素除了赖脯胰岛素,还有门冬胰岛素、谷赖胰岛素。门冬胰岛素是将胰岛素 B 链 28 位脯氨酸替换为天门冬氨酸得到的,谷赖胰岛素是将胰岛素 B 链 3 位和 29 位分别替换为赖氨酸和谷氨酸得到的。最后,教师抛出问题“如何获得不同起效时间、达峰时间、作用持续时间的突变人胰岛素以满足不同患者对胰岛素的需求”,引发学生思考,介绍在实验室中模拟自然进化的定向进化策略。

### (3) 感悟生物工程价值,理性分析工程学产品

胰岛素与人类的健康与疾病密切相关,自 1921 年从动物胰脏提取胰岛素开始的百余年时间里,临床使用的胰岛素经历了动物源胰岛素、重组人胰岛素和胰岛素类似物三个阶段。随着基因工程的诞生,胰岛素的制造和生产工艺有了突飞猛进的发展。而通过蛋白质工程则可以获得更多种突变人胰岛素,这为糖尿病患者带来了新的希望。教师可以在教学过程中提供胰岛素研究的历史,引导学生从胰岛素的不断迭代更新感悟生物工程在疾病治疗方面的巨大价值,激发学生继续探究和学习的热情,展望生物工程技术的医学前景。

虽然科研人员一直致力于胰岛素理化性质和生物学特征的改进,但突变型人胰岛素终究不是人体自身产生的物质,在使用时可能存在安全性问题,如不良反应、生理毒性等。教师可以组织学生搜集相关资料,就各种胰岛素类似物可能的安全隐患展开讨论或辩论,理性探讨生物工程产品,对生物工程技术作出科学判断。

## 2. 栏目使用建议

### (1) 学习提示

第一个学习提示通过比较基因工程和蛋白质工程的实质,指出蛋白质工程的设计基于结构与功能的统一,教师可以利用该学习提示组织学生讨论和比较基因工程和蛋白质工程的异同。第二个学习提示点明了蛋白质工程从基因水平改造蛋白质的设计思路,加快了分子演变的历程,凸显了进化与适应的生命观念。第三个学习提示指出 PCR 的引物未必一定和模板 DNA 完全互补,低温下可以有一定的错配,拓宽学生视野,体现生命世界的复杂性,并为基因的定点突变提供了操作思路。

### (2) 广角镜“在实验室模拟并加速蛋白质分子的自然定向进化”

该栏目介绍了在实验室模拟并加速蛋白质分子自然定向进化的实例,以图示的方式介绍了 2018 年所获诺贝尔化学奖的研究内容。这一部分内容自学难度较大,建议教师根据学生的水平进行选择,供学有余力的同学提升思维广度和深度。

### (3) 前沿视窗“基因治疗”

该栏目介绍了首例基因治疗临床案例为代表的基因工程及以 CAR - T 细胞疗法为代表的蛋白质工程在临床上的应用示例,在展现其优越性的同时也存在着诸多社会性问题。该部分内容是基因工程在医学领域的最新研究成果,有助于拓宽学生视野,关注相关社会性议题。

## 三、拓展资料

### 1. 蛋白质工程实施的必要条件

蛋白质工程分子理性设计策略实施的前提条件是必须了解蛋白质结构与功能的对应关系。在多肽链中,往往只有几个氨基酸残基对蛋白质的某一功能负责,但是这些氨基酸残基必须处于一个极其精密的空间状态下才能发挥功能。这里涉及两大元件:即维持蛋白质特定空间构象的结构域,以及赋予蛋白质特定生物活性的功能域。根据日益积累的蛋白质结构域和功能域信息,借助电脑辅助设计和模拟,绘制出特定突变蛋白的一级序列蓝图,并由此演绎出相应的 DNA 编码序列,然后通过体外定点突变甚至化学合成,创建相应的突变基因,最终在合适的受体细胞内表达。

### 2. 基因的体外定点突变

在 DNA 水平上产生多肽编码顺序的特异性改变称为基因的定向诱变。利用这项技术一方面可以对某些天然蛋白质进行定位改造,另一方面还可以确定多肽链中某个氨基酸残基在蛋白质结构及功能上的作用,以收集有关氨基酸残基线性序列与其空间构象及生物活性之间的对应关系,为设计制作新型的突变蛋白提供理论依据。一般而言,含有单一或少数几个突变位点的基因定点突变可选用下列五种策略,而大面积的定位突变则采取基因全合成的方法。

#### (1) 局部随机掺入法

将待突变的靶基因克隆在一个载体质粒的特定位点上,其上游紧接着两个酶切位点 RE1 和 RE2,它们分别能产生 5' 和 3' 突出的单链黏性末端。用大肠杆菌核酸外切酶Ⅲ(ExoⅢ)末端特异性降解经 RE1 和 RE2 双酶切开的重组质粒 3' 凹端,并通过酶解反应时间控制新生成的单链区域大小(单链区域越短,突变精度越高)。终止反应后,单链区域用 Klenow 酶补平,底物除四种正常的 dNTP 外,还包括一种特殊结构的脱氧核糖核苷酸类似物,在缺口填补过程中,该类似物掺入 DNA 链的一处或多处。随后再用 S1 核酸酶处理单链末端,并由 T4 - DNA 连接酶连接成环。重组分子转化大肠杆菌,在体内复制过程中,由于类似物的碱基配对非特异性,50% 的扩增产物分子内部引入了错配碱基,并导致位点突变。由这种方法产生的突变体一般含有几对取代碱基,而突变的区域则取决于外切酶Ⅲ末端降解的程度。

#### (2) 碱基定点转换法

能导致碱基定点转换的最简单方法是使用某些化学试剂在体外诱变 DNA 分子。通常将质粒 DNA 或待突变 DNA 片段用诱变剂处理后,转化大肠杆菌,构建突变体文库。最常见的体外诱变剂为亚硫酸氢钠,在 DNA 单链的情况下,它能特异性地使胞嘧啶残基脱氨形成尿嘧啶残基。处理后的 DNA 单链再由 DNA 聚合酶体外转化为双链结构,在复制过程中,原 DNA 分子上的 CG 碱基对便转

换成 TA 碱基对。

### (3) 部分片段合成法

如果待突变的位点两侧含有合适的限制性内切核酸酶识别序列,尤其当多个待突变位点集中分布在该区域时,可考虑直接化学合成这一片段,在此过程中将欲突变的碱基设计进去,然后以此人工合成的寡聚核苷酸片段置换重组质粒上对应的待突变区域,即可完成基因的定点突变。部分片段合成法特别适用于系统改变功能蛋白的氨基酸序列(即饱和突变),并在体内观察突变位点对蛋白质生物功能的影响,从而确立突变前这些氨基酸残基对蛋白质结构和功能的贡献。

### (4) 引物定点引入法

引物定点引入法实质上是一种寡聚核苷酸介导的定点诱变方法,它能在克隆基因内直接产生各种点突变和区域突变。首先将待突变的目的基因克隆在 M13 - RF DNA 载体上,转化大肠杆菌,挑选重组噬菌斑,从中分离出重组 DNA 正链;人工合成与待突变区域互补的寡聚核苷酸引物,并在此过程中设计引入突变碱基,然后在较温和条件下与重组 DNA 正链退火,经 DNA 体外复制和连接后,双链分子重新转化大肠杆菌;以上述合成的寡聚核苷酸片段为探针,在严格条件下(如将杂交温度提高 5~10 °C)杂交筛选含有突变碱基的噬菌斑,从中分离纯化出 RF DNA 双链分子进行克隆表达。相似地,若要在 DNA 特定位点上插入或缺失一段,也可设计合成特殊结构的寡聚核苷酸引物,并将之引入待突变区域。

采用上述几种定点诱变的方法得到突变子的比率往往很低,排除野生型基因的筛选方法既费时又欠可靠。PCR 技术的发展为基因的体外定点诱变开辟了一条新途径,并衍生出多种操作程序,其中最基本的操作程序如图 3-4 所示。

依照待突变位点旁侧序列设计一对含突变碱基的局部引物 P1 和 P2,同时设计合成突变基因(或片段)两端的全匹配引物 P3 和 P4。由 P1 和 P2 引物介导的 PCR 反应将产生缩短型含突变碱基的扩增产物,而 P3 和 P4 引物的存在又引导其合成各自的互补链。这两组缩短突变型的双链片段在随后的退火过程中,可形成交叉互补结构,并实现两端延伸,最终合成出突变型的全长基因或片段。值得注意的是,由于 P3 和 P4 全匹配引物的存在,基于上

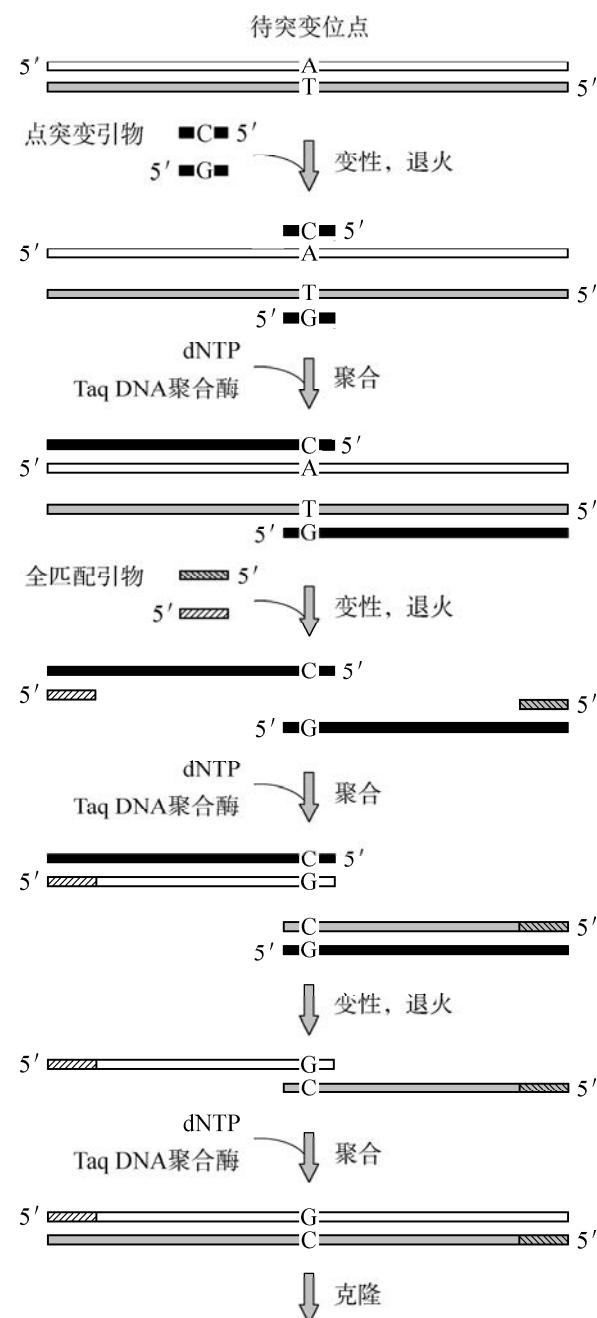


图 3-4 PCR 介导的定点突变程序

述程序合成的 DNA 分子中含有高比例的非突变型基因或片段。然而, P1、P2 与 P3、P4 两对引物的浓度比不同, PCR 扩增产物的产量以及突变型与非突变型扩增产物的比率也会不同。一般而言, 高浓度的 P1、P2 倾向于突变型扩增产物的富集; 而高浓度的 P3、P4 则有利于扩增产物总产量的提高。

### 3. 基因的体外定向进化

基因分子定向进化的主要目标是在短时间内获取任何期望的突变基因及其编码产物, 其基本策略是在体外对特定基因实施随机突变, 然后借助于适当的高通量筛选程序准确、迅速地获得所需要的突变基因。分子定向进化的主要过程包括: ①通过随机突变或基因重组, 创造一个靶基因或一群家族基因的多样性文本, 建立相应的突变文库; ②将上述基因的突变文库在适当的受体生物中转换成对应的蛋白变体文库; ③采用高通量筛选程序检出由氨基酸置换而引起的变体蛋白性状变化, 确定该氨基酸在蛋白分子中的重要作用。必要时, 可以多次重复上述操作, 直到出现最佳性能的变体蛋白。由此可见, 这种分子定向进化策略不仅可以在实验室里选择到自然界不存在的、性能优异且可再生的变体蛋白, 而且也是调查多肽链中氨基酸序列与蛋白质结构和功能关系的重要研究工具。

目前已建立起多种分子定向进化程序, 这些程序大大加快了不同物种的不同基因型之间的重组进化速度, 而且在所产生的突变分子文库中, 个体之间的差异及其与亲本之间的差异达到空前的程度, 这在很大程度上确保了理想变异的出现。

### 4. 蛋白质工程的设计思想与应用

目前, 生物体内已鉴定的数千种酶中只有近百种能直接用于工业规模的生物转化反应, 绝大多数酶类功能蛋白在大规模体外反应时, 或丧失原有的催化特异性, 或在高温高压及有机溶剂条件下结构变性。利用蛋白质工程技术改造酶的催化反应特征则为功能蛋白的工业化应用开拓了广阔的前景。

#### (1) 提高蛋白质或酶类分子的稳定性

借助理性设计策略提高蛋白质或工业用酶的热稳定性始终是蛋白质工程领域中的一个研究热点。一方面, 酶促反应工业中的热处理工序(如淀粉液化中降低反应体系的黏度)通常需要高于 45 °C 的温度, 而天然酶类普遍存在耐受性差的问题; 另一方面, 热稳定性的探究也能在一定程度上解析蛋白质结构与功能之间的对应关系。

#### (2) 减少重组多肽链的错误折叠

将高等真核生物基因克隆至原核细菌往往会遇到重组蛋白表达水平很高但比活下降的现象, 这很可能是由于表达产物在受体细胞内错误折叠所致。研究发现转换重组多肽链中多余的半胱氨酸残基即可有效减少其错误折叠的可能性, 提高表达产物的生物活性。

#### (3) 改善酶的催化活性

大量酶蛋白的晶体 X-衍射结构显示, 酶的催化活性中心位于空间构象中相邻的少数几个关键性氨基酸残基, 其侧链基团之间的相互作用在很大程度上决定了酶催化反应的效率, 因而成为工程化提升酶催化活性的首选操作靶点。

#### (4) 消除酶的诱导机制

有些酶分子的催化活性在天然细胞内呈可诱导性, 这种酶活诱导机制建立在酶分子中抑制型功

能域的基础之上。或许这种诱导机制对天然宿主正常的生理代谢活动具有重要意义,但在异源工程化表达的背景下,消除这种诱导机制不仅不会产生不良影响,还能在很大程度上提高工业用酶的活性。

#### (5) 修饰酶的催化特异性

虽然蛋白质工程的许多研究主要集中在修饰催化特异性高的酶的天然性质,但将底物专一性不强的酶改造成只能转化一种底物的高特异性变体酶,也许意义更大。

如提高 t-PA 和 pro-UK 等溶栓药物的血纤维蛋白专一性,是降低急性心肌梗死患者死亡率的一个重要因素。前期大量的定点突变实验已经鉴定出与纤维蛋白专一性密切相关的区域和氨基酸位点。据此,可构建一种 t-PA 的组合型变体分子 KHRR296-299AAAA,即置换连续排列的四个氨基酸残基。这种突变对血纤维蛋白的专一性增强 14 倍,同时抗 PAI-1 抑制的能力提高 80 倍。

#### (6) 改造配体与其受体的亲和性

广泛存在于生物体内的各类信号转导在很大程度上介导着生命的运动过程,而配体与其受体之间的识别和结合又是细胞信号转导的触发开关。因此,工程化理性设计改造配体与受体之间的亲和性具有重要的临床应用意义。

#### (7) 降低异源蛋白药物的免疫原性

L-天冬酰胺酶是治疗小儿白血病的有效药物,但在临床应用中因其异源性常常引起过敏反应,因此降低其免疫原性是该药研究开发的重要内容。应用定点突变技术对 L-天冬酰胺酶的表位抗原进行结构改造,已证明策略可行。经结构预测,L-天冬酰胺酶中的八条肽段为其抗原表位关键序列,其中第 261 位至第 269 位及第 192 位至第 199 位(TPARKHTS)的两个肽段与重组大肠杆菌 L-天冬酰胺酶抗体的结合力最强。192TPARKHTS199 肽段中含有连续的三个碱性氨基酸残基 RKH,其中的 Lys 与抗体分子的结合功能有关。由此设计针对 Lys 进行定点突变,以 Ala 残基替代 Lys 残基。结果表明,这种 Lys196→Ala(K196A)型的 L-天冬酰胺酶变体活性保持不变,但其免疫原性下降了 2.5 倍。

# 第4章 生物技术安全与伦理

生物技术作为一种前沿科技,在取得种种喜人成就的同时,人们也担心传统的道德伦理和法律面临巨大的挑战,可能引发一系列的社会问题,如生物技术对公民权利的影响、生物技术的安全性问题等。本章开篇首先阐明了生物伦理及其四个原则,然后从转基因产品、生殖性克隆人和生物武器三方面探讨了基因工程技术、细胞工程技术等生物技术的应用所带来的影响,介绍了世界各国对转基因产品、生殖性克隆人和生物武器的态度及应对措施,以及中国在生物技术安全性方面的对策。通过本章的学习以及参加辩论、讨论等活动,学生能基于生命观念以及生物学事实和证据,运用归纳与概括、批判性思维等科学思维方法阐释生物技术的双刃剑效应,能够辩证地看待生物技术所带来的伦理问题,在现实生活中体现一定的社会责任。

## 一、本章对应的《课程标准》要求

### 1. 内容要求与教学活动

本章内容框架的确定和主要内容的编写是依据《课程标准》内容要求“6.1 转基因产品的安全性引发社会的广泛关注”“6.2 中国禁止生殖性克隆人”和“6.3 世界范围内应全面禁止生物武器”。教材结合学科内在体系和教学目标,分3节进行概述和说明(表4-1)。

表4-1 第4章内容与《课程标准》要求对照表

教材内容	《课程标准》要求
第1节 转基因产品的安全性 引发社会广泛关注	6.1.1 举例说出日常生活中的转基因产品 6.1.2 探讨转基因技术在应用过程中带来的影响
第2节 生殖性克隆人带来诸多伦理问题	6.2.1 举例说出生殖性克隆人面临的伦理问题 6.2.2 分析说明我国为什么不赞成、不允许、不支持、不接受任何生殖性克隆人实验
第3节 全面禁止生物武器	6.3.1 举例说明历史上生物武器对人类造成了严重的威胁与伤害 6.3.2 认同我国反对生物武器及其技术和设备的扩散

根据《课程标准》教学提示中提出的活动要求,结合实际课时,本章安排了2个学生活动(表4-2)。

表 4-2 第 4 章实验和活动与《课程标准》要求关系

实验和活动名称	性质	《课程标准》要求
辩论:转基因食品是否安全?	学生活动	搜集文献资料,就“转基因食品是否安全”展开辩论
讨论:你是否支持设计试管婴儿?	学生活动	搜集关于设计试管婴儿的资料,并小组讨论“是否支持设计试管婴儿”

## 2. 学业要求

《课程标准》关于本章的学业要求是学生应该能够:面对日常生活或社会热点话题中与生物技术和工程有关的话题,基于证据运用生物学基本概念和原理,就生物技术与工程的安全与伦理问题表明自己的观点并展开讨论。对此,教材从以下几个方面进行落实。

**生命观念:**通过本章学习,学生认同我国对生殖性克隆人实验不赞成、不允许、不支持、不接受的态度,形成敬畏生命的观念;关注生物武器及其危害,认同中国反对生物武器及其技术和设备的扩散,主动宣传关爱生命的观念和知识。

**科学思维:**在本章学习中,学生需学会用批判性思维去看待生物工程技术的应用。学生已学习了发酵工程、细胞工程和基因工程三章内容,具有一定的生物技术理论基础,那么在审视现实生活中的信息和行为时,是否能结合已有知识去做判断和分析,是否能通过有逻辑的思辨去阐明观点,这就是教师在教学过程中,包括探究活动的指导过程中,对学生的解释和言论需要点拨的地方,以此锻炼和提升学生的科学思维能力。

**科学探究:**在两个探究·活动“辩论:转基因食品是否安全?”“讨论:你是否支持设计试管婴儿?”中,学生搜集和整理资料,学会倾听和合作、思考和辨析,表达自己观点。每一个观点的表达都要求学生能够结合已有的生物工程技术知识,基于搜集、调查等形式获知的事实和证据,对相关议题进行阐释。

**社会责任:**在本章学习中,学生主动关注转基因食品的相关报道,做出理性解释和判断,承担相应的社会责任。两个探究·活动也都是培养和体现学生社会责任的载体,以此达成学业要求“面对日常生活或社会热点话题中与生物技术和工程有关的话题,基于证据运用生物学基本概念和原理,就生物技术与工程的安全与伦理问题表明自己的观点并展开讨论”。

## 二、本章与学科体系内容关系

### 1. 本章与其他章节之间的关系

本章建构的大概念 6“生物技术在造福人类社会的同时也可能会带来安全与伦理问题”是建立在大概念 3、4 和 5 的基础上,也可以说是它们的延续。因为大概念 6 有关生物技术对社会安全、伦理、道德可能带来的争议与影响的思考和分析,需要了解发酵工程技术、基因工程技术和克隆技术等生物技术的原理、过程和应用。所以,学生在前三章的学习基础上,才能辩证地分析和思辨生物技术带来的安全与伦理问题,对相关社会议题进行正确的审视和评判,从而建构相关大概念。

### 2. 本章各节之间的关系

本章第 1 节以转基因产品的安全性为题进行举例说明和阐释,第 2 节围绕生殖性克隆人分析可

能产生的诸多伦理问题,第3节举例说明生物武器的危害并表明全面禁止的态度。每一节是一个相对独立的主题,转基因产品、克隆人和生物武器三者看似是平行关系,但都是利用生物技术生产得到的产物,如利用重组DNA技术制造转基因产品、利用生殖性克隆技术制造克隆人、利用微生物培养技术培养致命微生物,甚至结合重组DNA技术制造基因武器。因此,三者的分析和探讨离不开各自涉及的生物技术,应充分估计生物技术可能对社会各方面产生的冲击,需要理性认识生物技术在造福社会的同时也可能带来安全与伦理问题,尽可能将潜在的负面影响限制在可控范围内(图4-1)。

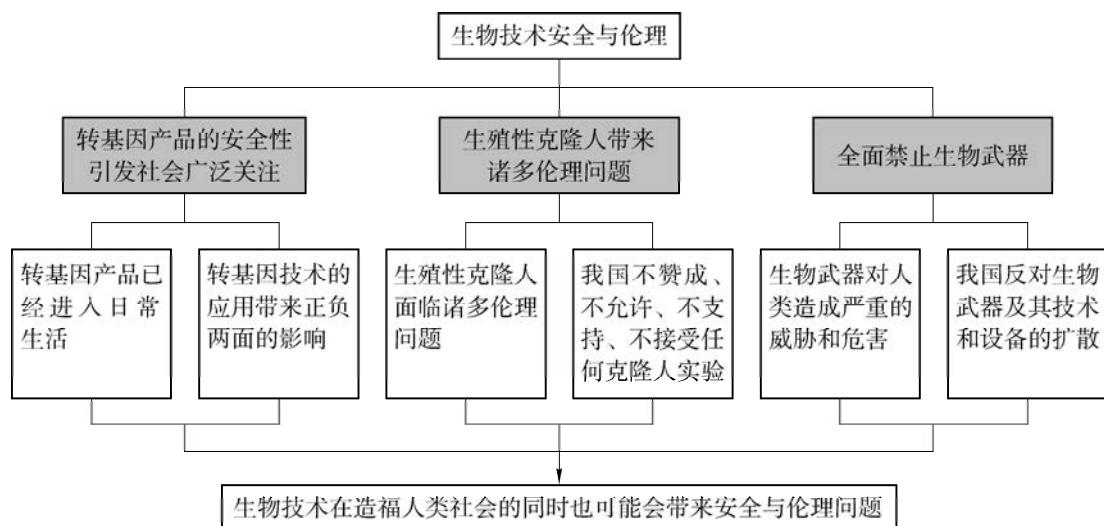


图4-1 第4章各节概念之间的关系

### 三、本章教学目标

通过辩论、讨论、搜集资料等活动,关注转基因技术在社会生活中的应用,审视生殖性克隆人及其产生的伦理问题,分析并阐述生物武器对人类的威胁和危害,并能结合已有的生物技术理论知识,基于生物学原理、事实和证据,运用批判性思维阐释重组DNA技术、生殖性克隆技术等生物技术的应用所产生的效益和风险,对科学研究所应担负的社会责任具有正确的认识。

### 四、本章课时建议

本章建议4课时,具体见表4-3。

表4-3 第4章课时安排

教学内容	课时建议
第1节 转基因产品的安全性引发社会广泛关注	2
第2节 生殖性克隆人带来诸多伦理问题	1
第3节 全面禁止生物武器	1

其中,第1节中的探究·活动4-1“辩论:转基因食品是否安全?”1课时,第2节中的探究·活动4-2“讨论:你是否支持设计试管婴儿?”0.5课时。

## 五、本章评价建议

### 1. 评价内容

#### (1) 学生的生命观念

学生是否能以生命观念为指导来分析生殖性克隆人面临的伦理问题,是否能形成敬畏生命的观念;是否能运用生物学原理,分析并阐述生物武器带来的危害,是否能主动宣传关爱生命的观念。

#### (2) 学生科学思维的发展

在活动中,学生是否能搜集相关资料,并根据自己的论点整理资料信息,再基于这些证据和生物学事实阐释自己的观点,体现科学思维过程。教师应注意学生的思维过程,如学生是否能基于数据和事实阐述,是否能合理运用证据佐证观点等。

#### (3) 学生科学探究的能力

学生是否能搜集有关转基因食品的实验数据或资料,开展辩论,清楚地表达其立场;是否能搜集关于设计试管婴儿的资料,客观评价设计试管婴儿技术及其应用。

#### (4) 学生的社会责任意识

学生在面对转基因产品、生殖性克隆人、生物武器等话题时,能否基于证据运用生物学基本概念和原理,就生物技术与工程的安全与伦理问题表明自己的观点并展开讨论。

### 2. 评价方式

#### (1) 自我评价

本章在每节设置了适量的自我评价题,结合具体情境考查了每节的基础知识,检测学生对基本概念的认知程度。例如第1节第4题,要求学生针对转基因植物的具体情境分析和阐述自己的观点,以反映其对相关概念的建构结果;第2节第3题也要求学生结合具体情境,从技术、伦理或安全性角度进行分析;第3节第3题结合上海举办中国国际进口博览会的情境,要求学生对安全防范提出恰当的建议。对这些评价问题的回答,能够反映学生所具有的科学思维、社会责任等素养,且能比较和区分出不同的学习水平。

#### (2) 学业评价

本章设置了2道学业评价题,两个情境的呈现将学生置身于真实的生活环境中,能真切感受到生物技术的应用已对人类生产生活产生了切身影响。学生就真实问题进行思考,阐述科学技术的应用可能产生的正面和负面效应,以反馈学习结果。

**第1题:**“转基因作物种子”情境的呈现,引导学生回顾学过的生物技术,并且运用生物学基本概念和原理,思考种子的安全性和涉及的伦理学原则。

**第2题:**围绕“基因检测”情境,考查学生对于生物伦理相关内容的理解,引导学生就基因检测的安全与伦理问题表明自己的观点并说明理由。

# 第1节 转基因产品的安全性引发社会广泛关注

## 一、教材分析

### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

- (1) 通过查阅文献资料,基于事实和生物学原理,探讨转基因技术在应用过程中的正负面影响。
- (2) 通过调查转基因产品的标识及知情度,关注转基因技术在社会生活中的应用现状及其安全性。

这两项目标是依据《课程标准》内容要求 6.1.1 和 6.1.2 设定的。目标(1)要求在学习基因工程基本原理和基本操作过程的基础上,进一步了解基因工程技术在不同领域的应用,基于事实等证据,客观地、合理地认识和评价转基因技术在生产生活中的应用及其产生的影响。目标(2)要求调查现实生活中转基因产品标识的使用状况、人们对转基因产品标识的知情度、对转基因产品的认可和接受程度等,在此基础上促使学生更多关注转基因技术的应用和安全性。

### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》内容要求 6.1.1 和 6.1.2 而选取的,教材通过系列生物学事实来说明(表 4-4)。

表 4-4 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
转基因产品已普遍存在于日常生活中	转基因产品涉及人类生活的衣食住行等各方面,已得到广泛的应用
转基因技术在应用过程中与人体健康、环境安全、生物伦理、国家安全等方面有着密切联系	多样化的转基因产品已渗透到人类生活的多个领域,关联着人体健康、环境安全、生物伦理和国家安全等方面

### 3. 学习内容

课前活动栏目设计了“食用油调查与分析”的活动,通过调查关于转基因食用油的标识及销售状况,意图让学生带着自己掌握的真实信息进入课堂学习,由转基因食用油作为切入点,了解已渗入日常生活中的各种转基因产品。

教材本节分 2 目,从日常生活中的转基因产品介绍到转基因技术带来的正负两面的影响。

第 1 目:转基因产品已经渗入日常生活。在定义了转基因生物这一概念后,分别阐述转基因植物、转基因动物和转基因微生物在食品行业、化工行业、医药行业等领域的应用,表明多种多样的转

基因产品已经广泛地存在人们的日常生活中。

第2目：转基因技术的应用带来正负两面的影响。首先以转基因作物为例，与传统作物进行比较，列出转基因作物的优势，也分析其可能对生物多样性产生的影响。其次，提出转基因产品带来的伦理问题、国家安全问题等，表明转基因技术是一把双刃剑。最后，主要介绍我国就转基因技术制定的一些政策和法规，说明我国在最大限度地保证转基因技术和产品的安全性。

本节安排了探究·活动4-1“辩论：转基因食品是否安全？”，以正反方双方辩论的形式或是角色扮演的形式，对转基因食品的安全性进行探讨。

## 二、教学建议

本节内容建议2课时。其中，课堂教学1课时，实验与活动1课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 基于事实和证据，用科学思维方法分析转基因技术应用带来的影响

学生通过第3章的学习，已了解重组DNA技术，知道转基因动植物的培育原理和过程，具有一定的理论基础。本节教材通过举例列出多种转基因产品，说明其在化工生产、农业生产、医药行业等领域的应用和效益。在案例中，有提高生产效益的正面例子，如种植转基因大豆等转基因作物产生了巨大的经济效益；也有负面的例子，如阻止传代的转基因植物种子的制造。这些正、反事例的呈现，意图让学生能客观地认识转基因产品及其应用，形成较为广阔的、全面的认知视野，从而能基于事实和数据进行比较和分析，形成自己的观点。因此在学习过程中，教师需注意引导学生基于转基因产品应用的事实和相关数据去做评价，这种评价应有理论依据、事实支持及正确的逻辑关系，鼓励学生运用科学思维方法去提炼和阐明自己的观点。

#### (2) 通过案例学习，促使学生深入认识转基因产品并形成自己的判断

对转基因技术及其产品的认识和分析，或者说对转基因议题的知识建构过程，是学生完善与扩展科学知识传播内涵、形成科学理性的知识框架的过程。那么，呈现一个真实的转基因产品案例，剖析其从生产到产业化的历程，可以促进学生的思维发展，促使其更为客观地作出判断和评价。此外，学生在第3章第1节的学习中已初步了解转基因产品在医学、农牧业和食品工业的应用，对转基因产品及其应用并不陌生，因此可以选择一个资料信息相对详实的转基因产品进行案例学习。

教学中可结合课前活动栏目“食用油调查与分析”，围绕转基因食用油进行案例分析。大豆、玉米、油菜籽以及大豆油、玉米油和油菜籽油是我国首批进行标识的农业转基因生物产品，它们的上市意味着转基因食品已经商业化。以转基因食用油为关键词，公布和交流学生课前的调查数据和结果，由此反映转基因食用油的销售状况和人们对于转基因食品的风险感知，同时辐射呈现中国发展转基因大豆的原因分析、中国对转基因作物的监管方法、转基因大豆食用油的安全性等资料，帮助学生了解转基因食用油的“前世今生”。在此基础上，引导学生对转基因食用油的选择和使用形成自己的看法。

教学中也可选择其他转基因产品进行案例分析，例如2015年11月，美国食品药品管理局批准一

种可供食用的转基因三文鱼上市销售,这是全球第一种获批准上市的、供食用的转基因动物。学生进一步了解和分析野生三文鱼的繁殖周期和过程、转基因三文鱼的培育过程、转基因三文鱼被培育为三倍体的原因等信息内容,多角度地了解转基因三文鱼诞生的前前后后,能够增进对转基因食品知识以及安全性的了解,从而在生活中对转基因食品有自己的判断。

## 2. 实验与活动建议

### 探究·活动 4-1 辩论:转基因食品是否安全?

#### (1) 活动准备

本活动可根据实际情况,选择以辩论或角色扮演的形式开展。活动可以以班级为单位在课堂内开展,也可以以年级为单位作为一个年级组活动开展。

##### 方案一:辩论

① 人员组织与培训:成立辩论队伍,分为正方和反方,每一方一般由 5 位辩手组成,其中 1 位为候补辩手。确定每方队伍中的一辩、二辩、三辩和四辩。确定主持人和辅助工作人员。辩手学习一些辩论的基本知识和辩论技巧,明确辩论规则,搜集和整理资料,充分准备有利于本方论点的论据。

② 道具准备:布置辩论场地,准备好计时器等道具。

##### 方案二:角色扮演

① 编写脚本:以转基因食品为主题,搜集和整理资料,编写相关情境脚本,确定需要出场的角色,如:科学家、政府官员、种植转基因作物的农民、转基因食品供应商、消费者、新闻媒体等。

② 人员组织与培训:确定各个角色的扮演者,了解所扮演角色与转基因食品的关联、该角色承担的工作职责、应有的立场、工作或生活上的需求等。可根据实际情况设定主持人和辅助工作人员。

#### (2) 活动建议

本活动意图促使学生能利用事实和证据,客观分析和评价转基因食品在生产和生活中所产生的效益和风险。与此同时,能够在日常生活中对转基因技术及其应用进行科学的阐释,帮助人们正确认识转基因技术。因此,无论采用哪种活动形式,都需在活动前搜集和整理相关资料,获取有利的证据佐证自己的观点,同时针对自己的角色(辩方/某个角色)准备好相应发言稿。教师应指导学生搜集和整理资料,完成发言稿的准备,可视实际情况,对学生搜集的资料信息予以补充。在辩论或角色扮演活动结束后,可让学生观众进行点评和交流,让更多的学生参与到活动主题中。

## 3. 栏目使用建议

#### (1) 学习提示

第一个学习提示提示学生主动关注转基因食品的研究现状、发展趋势等方面内容,且能在现实生活中用所学的基因工程知识对“转基因”议题进行科学的阐释。现实社会中,普通公众由于知识结构与个人经历的局限,很难直接对某一科学知识进行全面、深入地了解,因此,本栏目的提示意在促进学生学以致用,帮助公众更好地理解科学知识内涵,参与科学决策,体现一定的社会责任。第二个学习提示旨在提示学生运用批判性思维这一科学思维方法参加辩论。教师可提示学生阅读,并在活

动中学会和增长批判性思维的技能。

### (2) 广角镜“《农业转基因生物标识管理办法》”

该栏目承接教材正文内容,介绍了我国制定的《农业转基因生物标识管理办法》的一些规定,例如,标识的农业转基因生物种类、首批进行标识的农业转基因生物产品等。建议学生课后阅读该栏目内容,对转基因产品及其标识有更具体的了解,积累科学常识。

## 三、拓展资料

### 1. 转基因食品食用安全性评价的原则

#### (1) 科学原则

科学原则是指对生物安全进行评价必须基于严谨的态度和科学的方法,充分利用最先进的技术和公认的生物安全评价方法,通过严格的科学实验,认真搜集科学数据和对数据进行科学的统计分析,才能得出有关生物安全的科学结论。

科学原则是首先需要遵循的原则。基于科学基础的食品安全性评价会对整个技术的进步和产业的发展起到关键的推动作用。长期的科学实践过程中积累起来的科学理论和技术已经为转基因食品的安全性评价打下了较好的基础。

#### (2) 实质等同性原则

对转基因食品各种主要营养成分、毒性物质及过敏性成分等物质的种类与含量进行分析测定,如果与同类传统食品无差异,则认为两者具有实质等同性,不存在安全性问题;如果无实质等同性,需逐条进行安全性评价。目前是否具有实质等同性分为三种情况,第一种:与传统食品及食品成分具有实质等同性;第二种:除了一些物质的种类与含量外,该产品与传统食品及食品成分具有实质等同性,安全性的分析应集中在这些特定的差异上;第三种:与传统食品及食品成分无实质等同性。

实质等同性原则是经济合作与发展组织(OECD)于1993年提出的转基因食品安全性分析的原则。1996年,专家建议实质等同性原则适用于所有转基因生物(植物、动物和微生物)的安全性评价。对于转基因动物食品而言,实质等同性本身不是危险性分析,是新的转基因动物食品与传统销售食品的安全性比较。它是一种动态的过程,既可以是很简单的比较,也可能需要很长的时间进行对比,这完全取决于已有的经验和动物食品及其成分的性质。

#### (3) 个案分析原则

个案分析原则是指在对转基因生物进行生物安全评价的过程中,对不同的个案应采取不同的评价方法,必须针对具体的外源基因、受体生物、转基因操作方式、转基因生物的特性及其释放的环境进行具体的研究和评价,通过综合全面的考察得出准确的评价结果。

由于转基因食品的研发是通过不同的技术路线选择不同的供体、受体,转入不同的目的基因(在相同的供体和受体中也会采用不同来源的目的基因)。因此,用个案分析原则分析和评价食品安全性可以最大限度地发现安全隐患,保障食品安全。转基因动物要以个案分析为基础,每种转基因动物都要以它的亲本动物作为对照,只有与亲本动物同样安全,才能进行下一步的评价。

#### (4) 逐步原则

逐步原则是指对转基因生物进行安全评价应当分阶段进行,并且对每一阶段设置具体的评价内容,逐步而深入地开展评价工作。通常对转基因生物的安全评价应该有如下四个步骤:①在完全可控的环境(如实验室和温室)下进行评价;②在小规模的环境下进行评价;③在较大规模的环境条件下进行评价;④进行商品化之前的生产性试验。

逐步原则的理解可以在两个层次上进行,其一:对转基因产品管理实行分阶段审批,在不同的阶段要解决的安全问题不同;其二:由于转入目的基因的安全风险来自不同方面,如毒性、致敏性、抗营养成分或天然毒素等,评价也要分步骤进行。逐步原则可以提高效率,在最短的时间内发现可能存在的风险。

## 2. 我国农业转基因生物安全管理体系

### (1) 农业转基因生物安全法律法规体系

我国目前已经颁布了多种农业转基因生物安全管理法规,形成了多层次、多维度的制度管理体系。2001年,国务院发布《农业转基因生物安全管理条例》(2017年10月7日修订),农业部制定《农业转基因生物安全评价管理办法》(2002年1月5日发布,2017年11月30日修订)、《农业转基因生物进口安全管理方法》(2002年1月5日发布,2017年11月30日修订)、《农业转基因生物标识管理办法》(2002年1月5日发布,2017年11月30日修订)和《农业转基因生物加工审批办法》(2006年7月1日实施)4个配套规章,以及相关公告、技术指南、标准和规范。农业部制定《转基因植物安全评价指南》《动物用转基因微生物安全评价指南》(2010年10月发布,2017年1月修订)和《转基因动物安全评价指南》(2017年1月发布),对植物、动物和动物用转基因微生物等农业转基因生物的评估内容进行了详细介绍。海关总署发布了《进出境转基因产品检验检疫管理办法》(2004年5月24日实施,2018年4月28日修订)。

除此之外,2006年颁布、2018年修订的《农产品质量安全法》指出,对于农业转基因生物农产品的标识应按照相关农业转基因生物安全管理要求进行。2015年修订的《中华人民共和国种子法》对涉及转基因植物品种的选育和审定等内容作了明确规定,转基因作物通过品种审定,并获得生产许可证及经营许可证,才能进行商业化种植与生产。2021年修订的《中华人民共和国食品安全法》对食品安全检测与评估、许可、标签、召回制度和罚则等均作了详细规定,同时为我国转基因食品安全保障提供了法律依据。

### (2) 农业转基因生物安全技术支撑体系

我国建设了较为全面的技术支撑体系,组建了国家农业转基因生物安全委员会。安全委员会委员主要从事农业转基因生物实验研究、检验检疫、环境保护等工作,负责农业转基因生物的安全评价和咨询工作。我国同时组建了转基因生物安全管理标准化技术委员会,开展转基因生物实验研究、检测、加工、进出口等与安全管理方面相关标准的制定和修订。

### (3) 农业转基因生物安全评价体系

参照国际惯例,我国按照植物、动物和微生物三类分别进行科学评价,并遵循个案分析原则,实行分级、分阶段管理。按照其转化受体、基因操作等综合评价对人类、动植物、微生物和生态环境的

危险程度,将转基因生物分为4个安全等级,即安全等级Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ。同时采用分阶段的评价体系,包括5个评价阶段,即实验研究、中间试验、环境释放、生产性试验和安全证书阶段。其中,按照农业转基因生物的用途,安全证书阶段评价又分为生产应用和进口用作加工原料两类。

一个新的农业转基因生物申请生产应用一般需通过上述5个阶段的安全评价,评价合格并被批准的将获得相应的安全证书,而获得安全证书并通过品种审定的才能应用。一个新的农业转基因生物申请进口用作加工原料,前提是该转基因生物已在输出国或地区获得安全证书,并经农业农村部委托的具备检测条件和能力的技术检测机构进行食用安全和环境安全的检测,评价合格、经农业农村部批准后才能获得相应的安全证书。

以转基因植物为例,安全评价主要从分子特征、食用安全和环境安全三个方面进行。分子特征是在分子层面对转基因植物进行安全评价,是整个评价过程的科学基础,有助于从根本的遗传物质上识别该转基因植物是否会带来风险。分子特征主要评价外源基因供体生物安全性、载体各主要元件来源、通过基因操作导入的外源基因或修饰后内源基因的功能特性、外源基因在植物基因组中的插入或基因组删除情况,以及外源插入序列在转录水平和翻译水平的表达等。

除了分子特征,还需分别从食用安全和环境安全方面进行综合评价。从转基因植物新表达的外源蛋白毒理学试验、致敏性生物信息学分析,以及营养学评价、关键成分分析和全食品安全性评价等角度全面评价转基因植物及其产品的食用安全。通过转基因植物的功能效率、生存竞争能力、对生物多样性的影响、基因漂移带来的影响、抗病虫转基因植物对靶标生物以及非靶标生物带来的抗性风险等来评价其环境安全性。

有关转基因作物安全性的争论主要集中在转基因作物的食用安全性、环境安全性、标记基因安全性及长期生态效应等方面。科学研究表明,经过专业安全性评价、获得批准安全证书的转基因生物及其产品是安全的。欧盟组织500多个科学团体参与的130多个项目历时25年研究得出的结果显示,生物技术特别是转基因生物技术,并不比传统育种技术风险大。

#### (4) 农业转基因生物安全监管体系

我国建立了涉及各环节的安全监管体系。国务院建立了部际联席会议制度,由农业农村部牵头,由农业、科技、食药、卫生、商务、环保、检验检疫等部门组成,主要研究农业转基因生物安全评价和管理工作中的重大问题。农业农村部设立了领导小组和农业转基因生物安全管理办公室,负责全国范围内的农业转基因生物安全评价、监督管理、体系建设、标准制定、进口审批和标识管理。县级以上的农业行政主管部门负责本区域内转基因生物的监督管理、生产与加工的审批,其管理机构设在各省农业转基因生物安全管理办公室。

我国是唯一采用定性按目录强制标识方法的国家,也是对转基因产品标识最多的国家,已经建立和完善了转基因标识管理制度。2002年,农业部发布农业转基因生物标识目录。2007年,农业部发布《农业转基因生物标签的标识》,对标识目录内的农业转基因生物或利用农业转基因生物制成的产品强制标识。已明确进行标识的作物有转基因大豆(活性种子、大豆,无活性大豆粉、大豆油、豆粕)、玉米(活性种子、玉米,无活性玉米油、玉米粉)、油菜(活性种子、油菜籽,无活性油菜籽油、油菜籽粕)、棉花(种子)、番茄(活性种子、鲜番茄、番茄酱)。

## 第2节 生殖性克隆人带来诸多伦理问题

### 一、教材分析

#### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

- (1) 通过搜集资料,举例说出生殖性克隆人面临的伦理问题。遵循正确的伦理道德,能对生殖性克隆人的社会热点议题进行科学判断。
- (2) 认同我国对生殖性克隆人实验不赞成、不允许、不支持、不接受的态度,形成敬畏生命的观念。

这两项目标是依据《课程标准》内容要求 6.2.1 和 6.2.2 设定的。目标(1)要求举例说明生殖性克隆技术的应用可能带来的社会、伦理、心理、法律、环境与生态问题等一系列影响,对生殖性克隆人所涉及的伦理、生物、医学和法律等领域问题进行科学的分析和判断。目标(2)要求在分析生殖性克隆人给人类社会带来影响的基础上,理解、认同我国对待生殖性克隆人的态度。

#### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》内容要求 6.2.1 和 6.2.2 而选取的,教材通过系列生物学事实来说明(表 4-5)。

表 4-5 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
生殖性克隆人面临社会、伦理、道德和人口压力等方面的问题	生殖性克隆人在技术上尚不完善
	生殖性克隆人的身份难以认定,将导致人伦关系混乱
	生殖性克隆人会打破遗传多样性,阻碍人类社会的发展
	生殖性克隆人可能被作为工具、研究对象或医疗用品
我国不赞成、不允许、不支持、不接受任何生殖性克隆人实验	大多数国家不支持生殖性克隆人
	我国禁止进行生殖性克隆人的任何研究
	我国政府对治疗性克隆持不反对态度

#### 3. 学习内容

课前活动栏目设计了一个关于克隆人的活动,要求学生搜集关于克隆人的小说、影视等作品,从作品中分析可能面临的伦理问题等。现实生活中人们没有真实地面临过克隆人问题,因此活动的目

的是让学生通过相关作品对克隆人及其所带来的影响有更具象的了解,从而进入正文学习。

本节分 2 目,从生殖性克隆人面临的诸多伦理问题,到我国对生殖性克隆人的态度。

第 1 目:生殖性克隆人面临诸多伦理问题。首先,从技术层面阐述了目前生殖性克隆技术存在的不足之处。其次,对生殖性克隆人将会面临的社会、伦理、道德等问题进行了剖析。

第 2 目:中国禁止生殖性克隆人实验。首先说明国际上多个国家和地区都已立法禁止生殖性克隆人。然后,表明我国对待生殖性克隆人的立场,列举了多种相应法规,说明我国政府所采取的安全保障。最后,展望治疗性克隆的研究和应用。

本节安排了探究·活动“讨论:你是否支持设计试管婴儿?”。学生通过对三个试管婴儿案例及其他资料的分析,学会运用相关证据阐释自己的观点。

## 二、教学建议

本节内容建议 1 课时。其中,课堂教学 0.5 课时,实验与活动 0.5 课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 依托作品中的克隆人情境,探讨克隆人在人类社会中面临的伦理问题

结合课前活动,教师可选择一部克隆人的科幻小说或电影,就其中的故事情境作为课堂学习的主线,学生对克隆人在人类社会中所面对的冲突进行思考和分析。教师可在课堂教学中提供故事梗概,剖析克隆人作为器官捐献者的身份困惑等,并进一步辐射和探讨出克隆人可能面临的其他伦理问题。教师在选择和推荐合适的文学影视作品时,可选择具有代表性的克隆人情境,或是更能激发学生兴趣的克隆人话题,以此作为教学情境组织课堂教学。

#### (2) 设置问题串驱动学生思考克隆人问题,激发相关议题讨论

在创设教学情境后,教师可围绕情境设计一系列问题,从假设的克隆人遭遇、克隆人群体面对的伦理困境、生殖性克隆技术的应用三个层面,驱动学生有针对性地思考和讨论,最终认同我国政府禁止生殖性克隆人的立场。例如,在创设克隆人作为器官捐献者的情境后,教师依据情境设计第一层面问题,将学生代入情境中,就假设的具体情形进行设问,如“假如你在生活中遇到克隆人,你会怎么对待他?”“假如你的亲人接受克隆人的器官后能恢复健康,你会如何看待克隆人?”等。第二层面问题主要针对克隆人面临的伦理问题进行探讨,如“克隆人具有人的生物特征因而获得了生物人身份,其是否有自主性?”“克隆人与细胞核的供体既不是亲子关系,也不是兄弟姐妹的同胞关系,那么在伦理道德和法律继承关系上如何定位?”等。第三层面问题主要针对生物技术的应用所带来的影响进行讨论,如“人类应如何正确处理人与科技发展的关系?”等。

三个层面层层推进,是激发学生深入思考和剖析的过程,也是锻炼学生基于证据进行思维表达的过程。学生回答问题时,都需阐明自己的观点和证据。教师可鼓励学生尝试说服与自己观点不同的同学。同时,若有学生表明不恰当的观点时,教师要及时反馈和纠正。

## 2. 实验与活动建议

### 探究·活动 4-2 讨论:你是否支持设计试管婴儿?

#### (1) 活动准备

学生在第2章第3节的学习中,通过课前活动比较过三代试管婴儿技术的异同点,已初步了解各代试管婴儿技术的主要特点。因此可以根据学生的学习基础将有关试管婴儿的知识内容进行温故知新。

#### (2) 活动建议

建议本活动以小组形式进行案例讨论。每个小组的活动可按下列流程进行:①成立小组,进行组员分工。②在三个案例基础上,再搜集有关设计试管婴儿的资料,讨论选定主要探讨的案例。③一名组员对案例进行简短的概括介绍,并说明相应的问题。④其他小组成员找出案例的重要事实,同时由另一名组员将要点记录并呈现出来。⑤小组成员就呈现的事实共同提出相关的问题。⑥小组讨论所提出问题的答案。⑦总结这些问题的答案。⑧将讨论结果与问题相联系,完成案例分析。

本活动的课堂教学可以视学情采取两种策略:可将上述活动准备中的第③至⑧步放在课堂上实施,教师参与并指导各小组的活动,最后汇总总结;也可以将小组讨论放在课前,课堂上展示小组讨论成果,教师和学生进行评价和交流。

教师在参与交流评价活动的指导过程中,应注意两点:①本活动重在对试管婴儿的“设计”进行探讨。需关注学生在运用证据表明观点时有无偏离主题,需及时提醒和校正。②鼓励小组内部和小组之间进行交流和评价。一个小组成员代表小组发言后,其他成员可适当进行补充和修正,展示集体的智慧。

## 3. 栏目使用建议

学习提示栏目提示学生关注科学技术发展应承担的社会责任。科学技术的发展和完善是一个渐进的过程,其为人类社会发展带来很多创新,使得社会变得更高效和便捷,但是科学技术也离不开伦理道德的规范和指导,应充分发挥伦理对科技的正面引导作用,避免负面影响。因此,该栏目提示学生在看待一种科学技术的应用或是将来自己进行科学的研究时都需辩证地认识科学技术发展与伦理道德的关系。教师在教学过程中应注意渗透落实这一辩证关系。

## 三、拓展资料

### 胚胎植入前遗传学诊断应用进展

#### (1) 定义

胚胎植入前遗传学诊断(PGD)主要是指采用快速遗传学诊断方法,选择无遗传学疾患的胚胎植入宫腔,从而获得正常胎儿的诊断方法,具体操作:待体外受精的胚胎发育到4~8细胞期,显微操作下进行卵裂球细胞活检,取出1个或2个细胞,或者直接取受精前后的极体,对它们进行聚合酶链反应

或免疫荧光原位杂交分析。广义的 PGD 还包括受精前配子的诊断,如精子的筛选和分离、精子或卵子基因型的检测、极体的活检等。

### (2) 应用与发展

种植前遗传学筛查(PGS)是近十几年出现的以提高妊娠率、活产率为目的的早期产前筛查方法。通过对染色体数目异常的筛选,选择染色体核型正常的胚胎进行移植。PGS 是一种低危险度的胚胎植入前遗传学诊断,适用于高龄、反复种植失败、非染色体结构异常的重复性流产等不孕不育夫妇获得可接受的妊娠率,但对其有效性尚存争议。PGD 和 PGS 两种诊断方法的主要区别在于前者检测对象是基因,后者检测染色体。应用胚胎植入前遗传学筛查使胚胎植入子宫前的染色体分析成为可能。胚胎染色体异常不仅易导致自然流产,并且可能是导致许多不孕妇女不能解释的多次种植失败的原因。

PGD 理论雏形是 1967 年由爱德华(R. Edwards)等率先提出的,他在小鼠胚泡期鉴定其性别并成功地将胚胎移入雌鼠体内。20 世纪 80 年代末,汉迪赛德(A. Handyside)率先对人类胚胎进行显微操作,为一对高遗传风险的 X 染色体连锁疾病夫妇的胚胎进行卵裂球性别分析,植入女胚,并于 1990 年诞生了世界上首例 PGD 婴儿。90 年代后期,PGD 逐渐普及,并可常规用于 40 多种遗传病的诊断,包括:单基因疾病,如囊性纤维化;X 染色体连锁疾病,如杜氏肌营养不良;染色体结构异常,如非整倍体。

### (3) 优势

PGD 目的是使有家族遗传病的夫妇可以拥有一个健康的孩子。试管婴儿技术(in vitro fertilization, IVF)临床上的挑战是选出有活力的胚胎并优先将其植入子宫。目前,大多 IVF 实验室采用形态学评估来确定哪些胚胎可以植入,但未能提供有关染色体复制数目的信息,而这些信息对细胞成活具有很重要的影响。PGD 弥补了传统方法的不足,通过染色体基因分析,确保胚胎质量。细胞质内精子注入后,经 PGD 出生儿与未经 PGD 出生儿在妊娠和出生指标上均具有可比性。

PGD 是避免遗传病患儿出生的安全方法,其优点主要体现在:①非侵入性,可避免常规的产前检查如绒毛取样、羊膜腔穿刺活检、羊膜腔穿刺的手术操作所带来的出血、流产、宫腔感染等并发症的危险;②把遗传学疾病控制在胚胎发育的最早阶段,避免了早期或中期妊娠再行产前诊断结果阳性时,使孕妇面临非意愿性流产所带来的生理和心理上的创伤;③可以排除患病胚胎和携带缺陷基因的胚胎,从而可使有遗传风险的夫妇得到完全健康的后代;④相对于对胎儿进行人工流产,销毁有遗传缺陷的胚胎更易被舆论、伦理所接受;⑤在胚胎器官分化之前对疾病作出诊断为进行基因治疗提供可能。

### (4) 不足

PGD 的应用解决了部分有染色体异常或单基因疾病患者的生育问题,明显降低了自然流产率,减少了染色体异常畸形儿、有遗传疾病患儿的出生。然而,这些患者的抱婴率并没有明显地提高,原因主要有:①活检材料的代表性不足;②分析技术缺陷造成误诊,可能是由污染或者染色体嵌合型造成的。许多研究发现,卵裂阶段的人胚存在较高比例的嵌合体,等位基因脱失(allele drop-out, ADO)是导致误诊的主要原因。

此外,关于活检的安全性也遭到了一些学者的质疑。在一些国家,PGD 较产前诊断受到更多的

限制,这些国家认为使用 PGD 技术进行性别选择将有可能导致性别比例失调。此外,随着人类基因组计划的推进,人们不仅能了解致死疾病的单基因突变,同时揭开了身高、智力、长相等的遗传奥秘。有些夫妇为了选择一个优秀的子代,对子代的智商、身高、胖瘦、长相等进行选择,将不可避免地导致非医学指征胎儿的出生。伦理学方面亦有很多争论,应考虑用伦理的视角审视实施胚胎植入前遗传学诊断的行为,赋予生物学行为必要的伦理思想。因此应当权衡利弊,谨慎确定 PGD 的应用范围,建立适合我国国情的 PGD 技术及伦理操作指南。

## 第3节 全面禁止生物武器

### 一、教材分析

#### 1. 学习目标

本节教材中的学习目标包括：

- (1) 通过搜集历史上使用生物武器的资料,运用生物学原理,分析并阐述生物武器带来的严重危害。
- (2) 关注生物武器及其危害,认同中国反对生物武器及其技术和设备的扩散,主动宣传关爱生命的观念和知识。

这两项目标是依据《课程标准》内容要求 6.3.1 和 6.3.2 设定的。目标(1)要求在搜集和整理历史上国内外有关使用生物武器资料的基础上,知道生物武器的概念,了解生物武器的种类,并能基于致命微生物的结构与功能、重组 DNA 技术的应用等方面阐释生物武器的危害。目标(2)要求在了解生物武器及其危害的基础上,认同我国政府全面反对使用生物武器的态度,了解各国为维护世界和平所作出的努力。

#### 2. 概念聚焦

本节聚焦的核心概念是依据《课程标准》内容要求 6.3.1 和 6.3.2 而选取的,教材通过系列生物学事实来阐明和举例说明(表 4-6)。

表 4-6 本节核心概念及相关生物学事实

核心概念	生物学事实
生物武器对人类造成严重的威胁与伤害	历史上生物武器的使用给人类带来严重的危害
我国反对生物武器及其技术和设备的扩散	中国全面反对使用生物武器,各国家都在为维护世界和平和人类安全而努力

#### 3. 学习内容

本节中的课前活动是课程标准要求开展的教学活动,要求学生借助书籍、网络等渠道调查有关资料,或是与相关人士进行访谈,了解有关生物武器的历史事件、生物武器的种类与危害等内容。建议在课前实施,促进学生的主动学习。

本节分 2 目,从生物武器对人类造成的威胁和伤害,到中国全面反对使用生物武器、维护世界和平的坚定立场。

第 1 目:生物武器对人类造成严重的威胁和危害。在定义了生物武器的概念后,先是介绍了生物

武器的种类和危害,举例说明一些被用于生物武器的细菌和病毒,以及基因武器的危害;再列举若干真实事件,从几百年前生物武器被恶意散播的历史事件,到2001年“9·11”恐怖袭击后,恐怖分子又发动生物恐怖袭击,较为全面地展现了生物武器对人类所造成的威胁和危害。

第2目:中国全面反对使用生物武器。简介了《禁止生物武器公约》的创立和主要内容。表明了世界各国对待生物武器的态度和举措,包括中国政府全面反对使用生物武器的立场。

## 二、教学建议

本节内容建议1课时。

### 1. 课堂教学建议

#### (1) 以活动为载体,实现主动学习和合作学习

在本章第1节和第2节的探究活动中,学生经历过辩论、讨论等多种活动,已能运用批判性思维等科学思维方式分析和阐述相关议题,运用证据阐明自己的观点,也有过小组共同探究和学习的经历。因此,在本节课前活动的基础上,课堂学习过程可以交流和评价各个小组活动成果,聚焦“生物武器对人类造成严重的威胁与伤害”这一概念。这种引导式教学过程的顺利开展需要教师和学生在课前做好充分的准备工作,如活动前需对调查内容、调查结果、结果呈现形式等方面有所设计,调查结束后预先查看学生的成果作品等。活动成果可有多元化的表现形式,包括短视频、演讲等。教师将各小组的成果进行有序的整合,形成一个有线索贯穿的呈现次序。在此过程中,教师提出问题,引出一个相关的成果内容;或点拨学生深入思考,实现学生之间以及师生之间的互动。

#### (2) 从多个层面出发,举例说明生物武器的危害

关于生物武器的危害,除了列举致命微生物用于生物武器所产生的危害,以及分析使用生物武器的历史事件外,还可以从以下更多层面分析和阐释,帮助学生比较全面、透彻地去看待生物武器的影响:<sup>①</sup>①生物武器对自然界可持续发展的破坏。因为生物武器的第一施用对象一般是人,第二施用对象一般是作物,第三施用对象是牲畜和家禽,因此生物武器在达成战略目的的同时,会严重打破千百年来形成的农林牧业以至整个自然界生态系统的平衡,有时这种破坏甚至是不可恢复的。<sup>②</sup>②生物武器对人类生命权和生命尊严的威胁。在生物武器不甄别对象的破坏力面前,生命价值受到了严重挑衅和藐视,因而生物武器与人类生命关怀背道而驰。面对生物武器这看不见的凶手,恐惧本身就足以动摇一个社会的正常运转。因此教师可引领学生从不同的层面去深入认识生物武器带来的灾难,帮助树立反对生物武器的观念。

### 2. 栏目使用建议

#### (1) 广角镜

广角镜“生物武器的防护措施”提供了生命安全和健康教育的内容,介绍防护生物武器的安全应急与避险措施,学会保护自身安全方法的同时,在面对公共事件时尽可能贡献一己之力。本栏目推荐学生课后阅读,或将此内容融入教学过程中。广角镜“生物安全”介绍了《中华人民共和国生物安

全法》，通过阅读该栏目了解我国国门生物安全查验和现代口岸核生化有害因子防控的明确要求。

## (2) 生物学与社会“基因工程技术所面临的伦理问题”

该栏目基于人类基因组计划的实施和进展，对将来每个人的“DNA图谱”身份证可能带来的伦理问题提出了思考，如在锁定嫌疑犯、基因治疗等事件中，人类是否对个人基因信息具有隐私权。这些问题可能在现实生活中发生，生物技术的应用和发展将对人类生活产生影响。建议学生课后阅读本栏目内容，深入思考生物技术对人类社会可能产生的各种影响。

## 三、拓展资料

### 生物武器的特点

#### (1) 致病性强，传染性大

生物战剂多数为烈性传染性致病微生物，少量即可使人患病。传染性大，在缺乏防护、人员密集、卫生医疗条件有限的地区，极易传播、蔓延，引起传染病流行。

#### (2) 污染面积大，危害时间长

直接喷洒的生物气溶胶，可随风飘到较远的地区，杀伤范围可达数百至数千平方千米。在适当条件下，有些微生物存活时间长，不易被侦察发现，例如，炭疽芽孢具有很强的生命力，可存活数十年，即使已经死亡多年的朽尸，也可成为传染源；其芽孢可以在土壤中存留40年之久，极难根除。

#### (3) 传染途径多，难以防治

生物战剂可通过多种途径使人感染发病，如经口食入、呼吸道吸入、昆虫叮咬、污染伤口、皮肤接触、黏膜感染等。生物战剂可通过气溶胶、牲畜、植物、信件等多种形式释放传播。如果把100kg的炭疽芽孢经飞机、导弹、鼠携带等方式释放散播在一个大城市，就会危及数百万市民的生命。气溶胶无色、无味，多在黄昏、夜间、清晨、多雾时秘密施放。所投带菌的动物也易与当地原有种类相混，不易发现。

随着基因组学和生物工程技术的发展，某些天然的细菌和病毒有可能被改造成毒力强、危害大的基因武器。这类基因武器是指通过基因重组，在一些不致病的微生物体内“插入”致病基因，或者在一些致病的微生物中“插入”能对抗疫苗或药物的基因，从而增强其抗性。基因武器往往具有抗药性，难以治疗，即使已经发现也很难进行有效治疗。

#### (4) 具有局限性

生物武器易受气象、地形等多种因素的影响，烈日、雨雪、大风均能影响生物武器作用的发挥。生物武器使用时难以控制，使用不当可危及使用者本身。生物战剂进入人体到发病均有一段潜伏期，短则几小时，长则一周以上，在此期间采取措施，可减轻其危害。

# 附录

## 附录 1 教材“自我评价”与“学业评价”参考答案

### 第 1 章 发酵工程

#### 第 1 节 获得纯种微生物是发酵工程的基础

1. (1) 葡萄糖、果糖、纤维素等糖类。 (2) ③ (3) B
2. (1) 碳源、氮源、无机盐和水。 (2) 甲培养基属于固体培养基,乙培养基属于液体培养基。  
(3) 应选择乙培养基。用一种通用培养基与乙培养基接种同种样品,或是将乙培养基中的纤维素换为葡萄糖,与乙培养基接种同种样品。经一定条件培养后观察菌落,进行对照。 (4) ①将纤维素分解菌制成菌肥,播撒于土壤中,其分解纤维素产生的葡萄糖、有机酸等物质可为土壤中其他微生物提供碳源物质和能源;②分离得到的纤维素分解菌可用于发酵工程,提取其产生的纤维素酶,用于工业降解纤维素。
3. 提示:方案需包含 3 方面要点:①能设计合适的培养基配方;②能确定适合淀粉酶产生菌生长的环境条件;③能制定明确的观察指标来筛选淀粉酶产生菌。

#### 第 2 节 发酵工程为人类提供多样化生物产品

1. (1) 菌种 b 是酵母。制备酵母菌种时,应提供氧气和适宜的温度,促使酵母有氧呼吸而大量繁殖。 (2) 据图可知,菌种 b 将葡萄糖转化为酒精,酒精是酵母无氧呼吸的产物,因此需隔绝空气。菌种 c 将酒精转化为醋,故菌种 c 是醋酸菌。醋酸菌是好氧菌,因此需提供氧气。
2. (1) 乳酸菌发酵所需的碳源主要来自龙眼所含的糖类。随着发酵的进行,pH 会逐渐降低。  
(2) 龙眼熬煮过滤后的溶液  

纯牛奶	木糖醇	混合 → 消毒 → 加入乳酸菌 → 保温发酵 → 冷藏后熟 → 成品
-----	-----	------------------------------------
3. ①发酵液转稀:适当补入碳源和氮源。若是污染导致,则应进行灭菌处理;②发酵液过浓:补入大量的水或补入稀糖;③耗糖缓慢:补充适量的氮源或补充一部分磷酸盐,也可以用提高温度的方法促进糖的消耗;④pH 不正常:加入酸或碱进行调节。

4. 提示:方案评价要点:①制作工艺流程科学、准确;②方案具有可行性;③方案格式规范、完整。

## 第1章学业评价

1. (1) 甲培养基的碳源是葡萄糖、豌豆浸汁,氮源是蛋白胨、豌豆浸汁,无机盐是 NaCl、CaCO<sub>3</sub>,生长因子来自豌豆浸汁。乙培养基的碳源是葡萄糖,氮源是酵母浸粉,无机盐是 NaCl、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O,生长因子来自酵母浸粉。(2) 乙培养基属于液体培养基。 C (3) 平板划线法。

(4) A (5) 接种、培养等操作需在无菌条件下进行,且操作要规范。如倒平板、接种等操作应在超净工作台或酒精灯火焰旁进行,倒平板时培养皿盖只需微微打开一条缝,接种环需灼烧灭菌,培养基需高压灭菌等。(6) 据图可知,30 ℃是链霉菌合成链霉素的最适温度,有利于链霉素的合成。当温度低于25 ℃时,合成链霉素的酶活性低,而当温度高于32 ℃时,则会抑制该酶的活性,因此均影响链霉菌发酵产生链霉素。(7) 以30 ℃为中心温度,2 ℃为温度梯度。(8) 接种量低于5%时,链霉素产量随接种量的增加而增加;接种量在5%~10%时,链霉素产量无显著差异;接种量高于10%时,链霉素产量随接种量的增加而降低。接种量过低,链霉菌生长缓慢,发酵时间延长从而影响链霉素产量;接种量过高,链霉菌生长加快,同时也会造成发酵液过稠,影响通气,从而加快菌体衰老,使得链霉素产量下降。

2. (1) 因为样品经适度稀释并涂布后,在培养基平板上能得到单菌落。而平板划线法是经过多次划线逐步稀释直至出现单菌落,因此最初划线区域内,菌落会连成一片,以致无法计算菌落数量。

(2) 在MRS培养基中添加真菌抑制剂等物质抑制酵母生长,在YPD培养基中添加青霉素、链霉素等抗生素抑制枯草芽孢杆菌的生长。(3) 约 $2.22 \times 10^9$ 个。(4) 将玉米纤维饲料等副产品进行发酵,可以变废为宝,既提供了丰富的饲料资源,又降低了环境污染。

## 第2章 细胞工程

### 第1节 利用植物细胞工程培育新植株

1. 植物组织培养的一般步骤包括脱分化和再分化,用该技术快速繁殖植物的优势是子代保留母本的性状,可用于现代农业大规模培育优良植物,劣势是子代没有经过双亲遗传物质重新组合,变异性较低。

2. 不是所有的植物细胞都可以作为外植体,理论上具有个体整套遗传物质的细胞或组织(死细胞和无核细胞不行)都可以作为外植体,但实际上通常会选用分化程度低一些的细胞或组织,提高愈伤组织形成的成功率。

3. 植物体育种技术包括杂交育种、诱变育种、单倍体育种、多倍体育种、细胞融合育种等。比较过程建议从原理、操作流程、优势、缺点等几个方面进行。

4. (1) 不能,因为马铃薯和番茄之间存在生殖隔离。(2) 不能,因为植物细胞最外面是细胞壁,无法直接促融。(3) 融合细胞可能包含3种类型:马铃薯细胞原生质体两两融合、番茄细胞原生质体两两融合、马铃薯和番茄细胞原生质体融合。(4) 在杂种植株中,有大量的关键基因没有表达,导致其既不产马铃薯,也不产番茄。(5) 薯番茄培育过程中运用的植物细胞工程技术包括植物

体细胞杂交技术、植物组织培养技术。

## 第2节 利用动物细胞工程改良动物细胞

1. 动物细胞培养所需的条件:无菌、适宜的温度和 pH、充足的溶解氧、一定浓度的二氧化碳、合适的渗透压、必需的营养物质。动物细胞最外面没有细胞壁,因此相对于植物细胞,它对渗透压更敏感。

2. 哺乳动物体细胞克隆的基本流程:参考图 2-17,具体描述略。克隆猴培育的过程运用了细胞核移植技术、动物细胞培养技术和胚胎移植技术。

3. 分化潜能排序:胚胎干细胞>多能干细胞>单能干细胞。胚胎干细胞几乎可以分化出所有的细胞,可用于治疗性克隆;多能干细胞如骨髓造血干细胞,可以分化出多种血细胞,可用于白血病治疗;单能干细胞如皮肤干细胞,培养并分化出新皮,可用于烧伤处的皮肤原位再生。

4. 生物活性绷带利用了动物细胞培养技术和干细胞技术。制备该绷带所采集的细胞样本中包含皮肤干细胞,可增殖分化为相关细胞,以修复机体受损的表皮、毛囊等结构,形成完整的表皮。由于这些细胞样本采自患者自身,移植后不会产生免疫排斥反应,而且由于移植用的细胞样品来自患者自身,患者的伦理负担较小。但是,细胞样本首先需要进行体外培养并吸附于生物相容性良好的细胞外基质上,所需周期较长,不适于急性伤口的治疗。

5. 制备针对 H1N1 病毒的单克隆抗体,步骤简述如下:用 H1N1 甲流病毒(或基因工程生产的 H1N1 甲流病毒抗原大分子)免疫动物→分离脾脏以获取能产生特异性抗体的浆细胞→将浆细胞和骨髓瘤细胞在促融剂的作用下融合→用选择培养基筛选出杂交瘤细胞→对杂交瘤细胞进行逐个克隆培养,从中筛选出高特异性的单个杂交瘤细胞→收获单克隆抗体。单克隆抗体的优点:针对单一抗原决定簇,所以特异性强、纯度高且灵敏度好。

## 第3节 利用胚胎工程快速繁育优良动物品种

1. 高等动物胚胎发育的历程分为受精、卵裂、桑椹胚、囊胚、原肠胚及器官形成等阶段。外胚层、中胚层和内胚层的细胞 DNA 含量相同,但三者形态结构功能有差异,是细胞分化的结果,其根本原因是基因选择性表达,故三者的基因表达状况存在差异。

2. 胚胎细胞的分化程度越低,胚胎分割移植的成功率越高。

3. (1) 垂体 FSH 等促性腺激素能促进性腺发育,促进性腺分泌性激素,从而促进性细胞的产生及成熟。 (2) 两者的相同点是受精的实质相同,即精子和卵细胞核的融合,使 DNA 数目加倍;不同点在于体外受精需要模拟体内受精的环境,需要首先收集卵子和精子。通常对卵细胞供体进行超数排卵处理,以获得大量的卵细胞。以这种方式采集的卵母细胞是在体内发育成熟的,无需培养即可直接与精子受精。但采集的精子需要进行体内获能或是体外获能处理后,才能用于体外受精。另外,对受体需要进行同期发情处理,以提高体外受精后胚胎移植的成功率。 (3) 胚胎移植技术的基本原理是有性生殖,子代经过双亲遗传物质重组,有较大变异性,其目的是提高母畜的繁殖力;克隆技术属于无性繁殖,子代能保留母本的性状,但变异性较小,且克隆技术用于哺乳动物的繁殖,技术还不够成熟。 (4) 利用以下细胞工程技术和胚胎工程技术,理论上可以最大限度提高和牛的繁殖力。首先,采用细胞核移植技术,扩大具有优良性状的良种和牛数量。随后采集良种和牛的精子,通

过超数排卵技术,取卵进行体外受精,培养成早期胚胎后,对胚胎进行分割移植,植入代孕母畜的子宫。

## 第2章学业评价

1. (1) 3 由于促融剂的促融作用没有选择性,所以融合之后会形成脾脏细胞和脾脏细胞、骨髓瘤细胞和骨髓瘤细胞、骨髓瘤细胞和脾脏细胞这3种两两融合的细胞。 (2) 据题干可知,骨髓瘤细胞缺乏 HGPRT 基因,所以只能利用核苷酸合成主要途径来合成四种核苷酸,而该途径能被氨基蝶呤阻断。因此骨髓瘤细胞及其自身融合细胞无法在 HAT(添加了氨基蝶呤)的培养基中合成核酸而增殖。经绵羊红细胞免疫的小鼠脾脏细胞中能产生抗体的是浆细胞,其虽然含有正常 HGPRT 基因,但不具备体外增殖能力,所以也无法在 HAT 培养基中存活。因此,在 HAT 培养基中,只有由骨髓瘤细胞与脾脏细胞融合产生的杂交瘤细胞能增殖而形成细胞克隆。 (3) AC (4) 第二次筛选的原理:抗原和抗体的特异性结合。筛选方案:将 HAT 培养基上收获的杂交瘤细胞稀释,接种在多孔细胞培养板上,使每孔中的杂交瘤细胞不超过1个。经培养增殖后,在细胞培养板的孔内加入相应的抗原或抗原决定簇,结果呈阳性的就是所需要的杂交瘤细胞。不同的单克隆抗体对抗原也表现出不同的特异性,因此,还需要进一步比较各种单克隆抗体的特异性。 (5) 普通的放化疗药物没有靶向性,在杀灭肿瘤细胞的同时,也会大量杀伤正常组织和细胞。而运用单克隆抗体的靶向作用,可将针对某一肿瘤抗原的单克隆抗体与化疗药物/放疗物质连接,将其携带至靶器官,直接杀伤靶细胞,减少药物对健康组织与细胞的伤害,降低药物的全身毒性。这是因为单克隆抗体只能特异性结合某一抗原决定簇,具有很高的特异性。 (6) 鼠源性单克隆抗体由小鼠的杂交瘤细胞产生,由于人和小鼠的种属特异性,鼠源性抗体虽然能与抗原特异性结合,但在人体内不能激活相应的免疫效应系统。此外,鼠源性抗体作为异源蛋白质,进入人体后会激活人体的免疫应答,被很快清除。这都限制了鼠源性抗体的临床使用。提示:特异性抗体制备可以通过基因工程技术手段将鼠源性抗体人源化,生产人-鼠嵌合型抗体、人源化抗体乃至全人源化抗体。

2. (1) D (2) A (3) 分析并处理表2-2数据,结果如下:

处理方式及结果	培养基编号								
	(7)	(4)	(8)	(5)	(9)	(6)	(1)	(2)	(3)
BA(mg/L)	0.5	0.5	1.5	1.5	3	3	0.5	1.5	3
NAA(mg/L)	3	2	3	2	3	2	0.1	0.1	0.1
BA/NAA	0.167	0.25	0.5	0.75	1	1.5	5	15	30
愈伤组织 诱导成功率(%)	50	66.6	75	91.6	58.4	33.3	16.6	0	0

由此可见,随着 BA/NAA 的浓度配比的提高,愈伤组织诱导成功率先升后降,最合适的浓度配比为 0.75,此时愈伤组织诱导成功率达到 91.6%。

(4) 用种子进行繁殖属于有性生殖,优点是子代经过双亲遗传物质重组,变异性大,有利于培育新品种;缺点是繁殖速度较慢。用组织培养的方法培育牡丹属于无性繁殖,优点是可以进行大规模

培育,且子代性状稳定;缺点是变异性小,且技术要求较高。

## 第3章 基因工程

### 第1节 基因工程赋予生物新的遗传特性

1. 基因工程是指将一种或多种生物(供体)的基因与载体在体外进行拼接重组,然后转入另一种生物体(受体)内,使之按照人们的意愿遗传并表达出新产物或新性状。依据定义,基因工程的理论基础包括基因是具有生物物质编码功能的遗传信息;基因指挥生物物质合成的方式是DNA复制、转录、翻译;DNA的碱基排列序列转化为蛋白质的氨基酸序列需要使用统一的遗传密码。从分子水平对DNA进行重组拼接的具体实施过程需要使用运载基因进入受体细胞的载体(如质粒);将目的基因装在载体上的工具酶类;将重组DNA分子高效导入受体细胞的方法,即技术基础。上述所有理论基础和技术基础均在重组DNA技术和基因工程问世之前形成。

2. 依据基本定义,重组DNA技术和基因工程的两大主要用途是克隆扩增特定的基因以及高效表达特定基因(即目的基因)所编码的蛋白质产物。而基因功能探究的前提条件是要获得足够量纯净的待探究基因(即目的基因)及其表达产物,不难看出,重组DNA技术是建立基因功能探究前提条件的重要途径。需要指出的是,自20世纪80年代PCR技术问世后,克隆扩增特定的基因也可由PCR技术实现,但待探究基因表达产物的制备仍需要使用重组DNA技术。

3. 自然界的丰富多彩是因为多样化生命形式的存在,而生命形式多样化的本质是生物体遗传信息的多样化,后者是经过漫长的进化逐渐形成的。重组DNA技术的问世使得人们在实验室里快速改造生物体的遗传信息成为可能,进而能以更快的速度推进生物的进化。

4. 提示:通过这一活动,重点理解基因工程的三大基本用途(即根据基因工程用途的性质进行分类):基因功能探究、生物产品生产、物种性状改造。

### 第2节 基因工程是一种重组DNA技术

1. 质粒的化学本质是DNA分子,它在重组DNA技术中充当运载目的基因进入受体细胞的载体,其基本功能是为目的基因提供在受体细胞内的复制能力和表达能力。

2. 利用琼脂糖凝胶电泳分离DNA片段的基本原理如下:一定浓度的琼脂糖水溶液凝固后会形成大小不等的微孔,DNA样品因分子结构中的磷酸骨架在中性pH溶液中带负电荷,在电场力的驱动下从阴极向阳极泳动。较小分子量(碱基对数)的DNA分子通过琼脂糖凝胶的空间阻碍较小,因而比大分子量的DNA分子泳动得更快,即相同时间内泳动的距离更长,由此可将DNA样品中的多种片段按分子量大小分开。不仅如此,如果将已知大小或者已知含量的标准DNA片段与待测样品一起电泳,还能大致确定待测样品中各DNA片段的大小以及相对含量。值得注意的是,上述确定分子量大小的方法只适合线形的DNA片段,环状的DNA分子不能直接确定其大小。

3. 大肠杆菌的pBR322质粒含有两个可供筛选的标记基因:氨苄青霉素抗性基因( $Amp^r$ )和四环素抗性基因( $Tet^r$ )。如果外源DNA(或目的基因)插在质粒pBR322的BamHI位点处,由于该限制性内切核酸酶识别切割位点位于 $Tet^r$ 基因内部,因而DNA片段的插入会导致 $Tet^r$ 基因结构破坏和功能丧失,但另一个标记基因 $Amp^r$ 完好无损。因此,只需将经转化和扩增的细菌悬浮液涂布在

仅含氨苄青霉素的固体培养基平板上,理论上能长出的菌落便是转化成功的克隆(即挑选长出来的菌落,这种筛选方式称为“正选择”。

上述经筛选获得的克隆中有两种类型,即含重组质粒的克隆和含空载质粒的克隆。为了进一步区分这两类克隆,需要将这些克隆逐一转移至另一块含氨苄青霉素和四环素的固体培养基平板上进行第二轮筛选。凡是在含四环素平板上长出的菌落即为含空载质粒的克隆,因为  $Tet^r$  基因完好无损(未能插入 DNA 片段);而在含四环素平板上不长的菌落(存在于第一块含氨苄青霉素的平板上),则为含重组质粒的克隆(即挑选长不出来的菌落,这种筛选方式称为“负选择”),因为外源 DNA(或目的基因)插在  $Tet^r$  基因内部导致其功能丧失。

4. ③→④→②→①。

5.  $5'-CGAATTCTAGCGAATTCCGCA-3'$  序列中含有两处限制性内切核酸酶  $EcoRI$  的识别切割位点( $5'-GAATTC-3'$ ),因此当含该序列的 DNA 片段与  $EcoRI$  充分混合后,可切出至少三种 DNA 片段。

6. 在采用琼脂糖凝胶电泳技术分离 DNA 片段时,由于较小的 DNA 片段(如 $\leqslant 50$  bp)泳动速度很快(即很容易跑出凝胶),一般很难观察到其存在;另一方面,分子量(或碱基对数)相差很小(如 $\leqslant 50$  bp)的 DNA 片段泳动的快慢肉眼也很难分辨。因此,一端集中排列了某限制性内切核酸酶三个拷贝识别序列的长 DNA 片段在酶切后,仍呈现单一条带;且与酶切前相比,泳动快慢很难分辨。

7. 早期用于 PCR 的耐高温 DNA 聚合酶源自生活在温泉中的嗜热细菌。长期随机的基因突变使得 DNA 聚合酶的基因产生各种突变版本,根据适者生存的进化与适应原理,在水温很高的温泉中得以生存下来的嗜热细菌,必然选择了耐高温 DNA 聚合酶(其实也包含其他酶类)。PCR 之所以需要使用耐高温 DNA 聚合酶,关键原因是整个 PCR 过程需要反复升温至 95 °C 左右,使双链 DNA 拆成单链才能复制,常规的 DNA 聚合酶在高温下会失活。

8. PCR 技术自问世以来被广泛应用,这项技术有如下应用类型:①从痕量 DNA 样品中特异性扩增获得任何感兴趣的 DNA 序列,如基因工程中的目的基因,或者复原已灭绝的生物物种基因组;②从痕量 DNA 样品中灵敏地检测含特定序列的 DNA 分子是否存在,如确定新冠病毒是否存在的核酸检测以及检测癌基因是否存在的早期诊断;③突变、缺失或插入特定的基因,如用于蛋白质工程的突变引入等。

### 第 3 节 蛋白质工程是基因工程的延伸

1. 以蛋白质结构与功能相统一的生命观念为指导,采用重组 DNA 技术在 DNA 分子水平上改变基因的序列和结构,从而实现对天然蛋白质的结构和功能(或性能)进行目的性改造,甚至在实验室里设计并制造出全新的非天然蛋白质,以满足人类生产与生活的需求。这种由人为突变或设计基因进而操纵蛋白质结构和性质的理念,便是蛋白质工程的设计思路和精髓。

采用重组 DNA 技术在 DNA 分子水平上改变基因的序列和结构,有两大操作策略,即基因的定点突变和定向进化。其中,通过改变 DNA 的碱基序列而改变蛋白质特定位点的氨基酸序列,称为基因的定点突变;而在 DNA 水平上随机改变蛋白质任一位点的氨基酸序列,则称为基因的定向进化。基因的定点突变通常是在已知蛋白质的特定位点(即特定的氨基酸序列)与该蛋白质的功能有关的

背景下,精准改变蛋白质特定位点的氨基酸序列;而基因的定向进化则是模拟自然进化的过程,随机改变蛋白质任一位点的氨基酸序列,以期鉴别出对蛋白质结构和功能起关键作用的蛋白质位点,同时获得性能更优的蛋白质。因此,两者的差异性主要表现在局部定向与全局随机。

2. 基因工程是将目的基因(编码天然的蛋白质序列)通过载体导入合适的受体细胞中,以克隆和表达目的基因的编码产物(蛋白质);而蛋白质工程则是将定点突变或定向进化的目的基因(编码突变了的蛋白质序列)通过载体导入合适的受体细胞中,以表达突变的目的基因所编码的突变蛋白(又称蛋白变体)。因此,蛋白质工程属于基因工程的范畴,是更高级的基因工程形式,即第二代基因工程。

3. 通过基因操作对蛋白质分子进行结构和功能改造更理想。虽然人们采用化学或生物化学的方法直接修饰蛋白质关键位点的氨基酸性质,也能达到改造蛋白质分子结构和功能的目的,但这种改造好的蛋白质不能复制,用完后需要重复进行繁琐的修饰操作。而针对蛋白质编码基因的改造只需进行一次,之后便可通过基因工程技术一劳永逸地合成相应的突变蛋白。

### 第3章学业评价

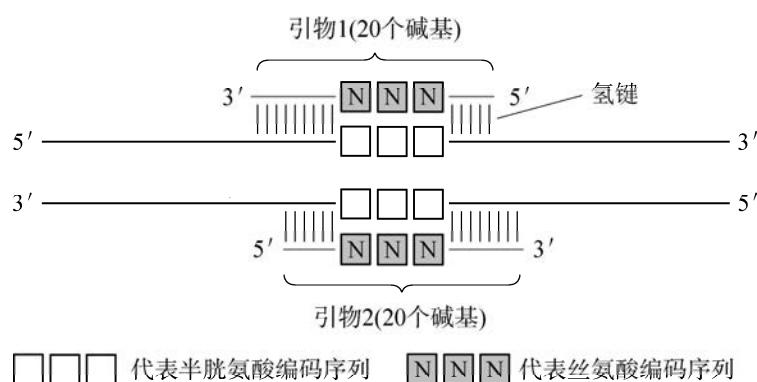
1. (1) 在基因工程问世之前,人们通常从猪或牛的胰脏中分离纯化胰岛素,用于临床治疗糖尿病,其基本原理是高等哺乳动物的胰岛素虽然在结构上与人类胰岛素有所差异,但降低血糖的生理效应基本相同。然而,正因为猪或牛的胰岛素在结构上与人类胰岛素有所不同,所以长期注射动物的胰岛素会诱发糖尿病患者体内产生针对动物胰岛素的抗体,这种抗胰岛素抗体轻则会抵消(中和)注射进人体内的胰岛素的功能,重则甚至会诱发患者休克死亡。因此,从安全的角度而言,采用人的胰岛素治疗糖尿病更理想。而由于受到原料限制,人类胰岛素只能采用基因工程技术方能实现大规模工业化生产。 (2) 为了建立人胰岛素的基因工程生产技术路线,科研人员首先观察到这样一个事实:在人类胰脏 $\beta$ 胰岛细胞中,胰岛素编码基因最初表达的是由110个氨基酸残基(aa)构成的胰岛素原前体分子,其N端的S区在新生多肽链进入内质网腔后被切除,形成无活性的胰岛素原(即B-C-A),其中A区与B区借助于共价键相连。随后,胰岛素原被转运至高尔基体。当机体接到胰岛素的需求指令后,高尔基体内的肽酶再切除胰岛素原中的C区,形成A区与B区相连的活性胰岛素(三对二硫键的正确搭配为胰岛素活性所必需)。于是,科研人员提问:既然C区并非胰岛素发挥活性所必需,那么 $\beta$ 胰岛细胞为什么要表达含C区的胰岛素原呢?针对这一问题的后续研究显示,C区很可能起到正确组装A区和B区的“脚手架”作用。于是,科研人员设计了人胰岛素原(B-C-A)在大肠杆菌中的表达方案,并在大规模生产中得以成功实施。讨论:上述人胰岛素的基因工程工艺开发过程表明,经过数亿年的漫长进化,包括蛋白质在内的大分子在结构和功能上达到了空前的统一;人们只有充分掌握基础理论,才能创新性地建立各种先进生产技术。 (3) 依据题干信息,科研人员是以人 $\beta$ 胰岛细胞的mRNA为原料,采用PCR技术获取胰岛素原的编码序列(即B-C-A目的基因)。而PCR的实施是以DNA为模板的,因此首先需要采用逆转录酶以mRNA为初始模板合成cDNA(即所谓的逆转录操作),然后再以cDNA为最终模板,PCR扩增获得B-C-A目的基因。 (4) D (5) 从图3-26不难看出,化学合成的A区和B区编码序列,以及PCR获得的B-C-A两侧分别为5'-AATT和5'-GATC单链突出末端,即分别与限制性内切核酸酶EcoRI和BamHI切开的末端一致。根据双链DNA的末端单链突出序列方向相同且互补,便可进行有效连

接,因此载体质粒 pBB100 需要用 *Eco*RI 和 *Bam*HI 两种限制性内切核酸酶切开。(注意:*Bmt*I 切开的末端为 5'-TA; *Kpn*I 切开的末端为 5'-GTAC; *Nhe*I 切开的末端为 5'-CTAG; *Pvu*I 切开的末端为 5'-AT,它们与限制性内切核酸酶 *Bam*HI 切开的 5'-GATC 单链末端要么不互补,要么方向不一致)

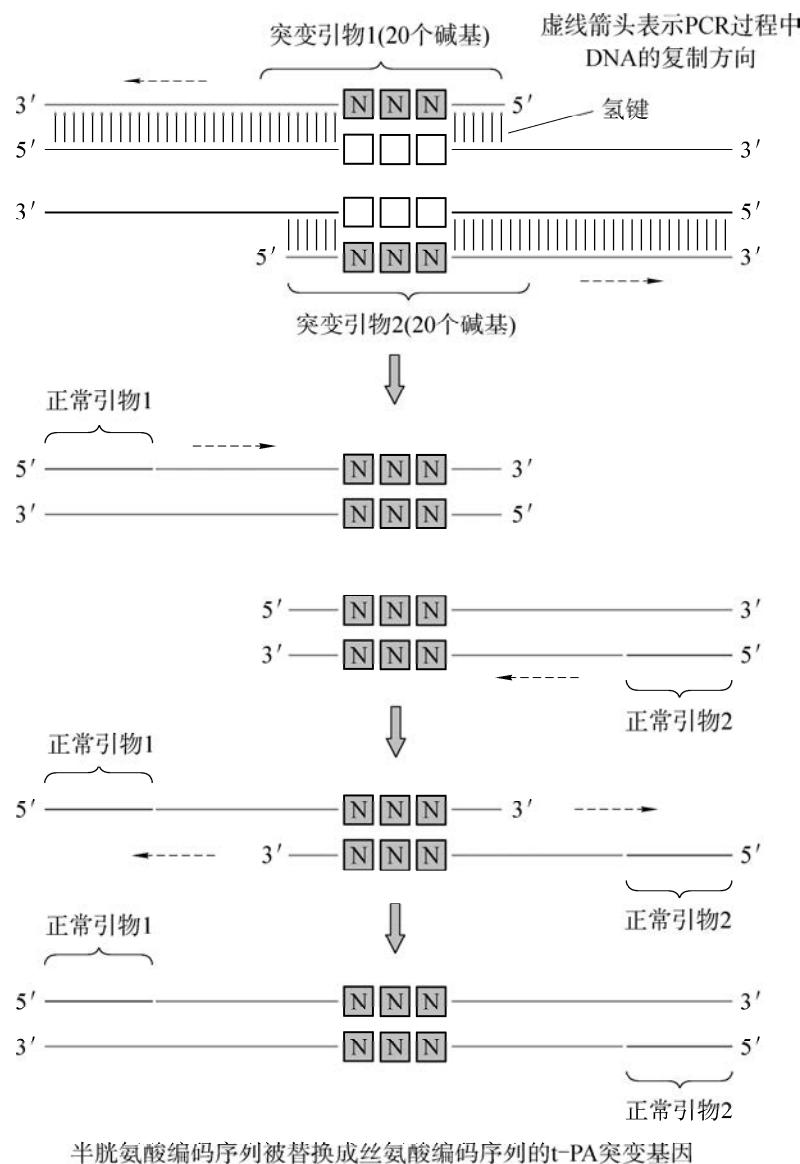
(6) 由于 A 区编码序列的两端以及正确切开的质粒 pBB100 两端均含有不同的突出单链末端,因此单个 A 区编码序列与正确切开的质粒 pBB100 连接,只可能存在一种分子(或序列)形态。 (7) B

(8) 为了筛选到接纳了表达载体 pIB1 的菌落(克隆),需要在培养基中添加氨苄青霉素和无色化合物 X-gal。因为氨苄青霉素强烈抑制大肠杆菌受体细胞的生长,而原载体 pBB100 或重组表达载体 pIB1 携带氨苄青霉素的抗性基因(*Amp*<sup>r</sup>),因此只有接纳了原载体 pBB100 或重组表达载体 pIB1 的大肠杆菌细胞才能在含氨苄青霉素的培养基上长出菌落(克隆)。又因为图 3-26 显示 B 区编码序列插在 pBB100 的蓝色显色基因 *lacZ'* 内部(该基因使细菌在含有 X-gal 化合物的培养基上长出蓝色菌落),导致该基因失去功能(即插入灭活),因此含表达载体 pIB1 的菌落(克隆)呈大肠杆菌菌落本色(即乳白色)。 (9) 因为在胰岛素原(B-C-A)表达法中,C 区的功能是为 A 区和 B 区的正确搭建提供必要的“脚手架”,从而促进 A 区与 B 区之间两处共价键(即二硫键)的正确形成;而在 AB 表达法中,由于 C 区缺席,A 区与 B 区之间形成二硫键的形式会呈随机性,从而降低正确二硫键形成的概率,因此生产具有生物活性的人胰岛素的成本会大大增高。这个案例表明,利用基因工程生产蛋白质产品,应遵循蛋白质结构与功能相统一的原则。

2. (1) 题干信息显示,在构成人组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)蛋白的 527 个氨基酸残基中,第 84 位的半胱氨酸至少对 t-PA 结合并溶解血栓的特异性具有重要影响,因为研究人员在 DNA 水平上将该处的半胱氨酸编码序列定点突变为丝氨酸编码序列,结果发现突变蛋白溶解血栓的特异性和有效性明显提升。这表明,经历了长期进化后,生物体内的蛋白质结构与其生物功能或性能形成了高度统一的关系,即有什么样的分子结构便决定了该分子相应的功能。 (2) 为了从人 t-PA 目的基因获得第 84 位为丝氨酸编码序列的 t-PA 突变基因,可按照下图所示方法设计两条突变引物:



(3) 在一般情况下(除非待突变位点位于基因的端点处),要想借助 PCR 技术获得完整的 t-PA 突变基因,仅凭上题设计的两条突变引物是难以奏效的,另外还需要一对正常引物。突变引物和正常引物的工作原理如下图所示:



(4) B (5) 只需在图 3-22 中将“目的基因”换成经定向进化操作的一系列 t-PA 突变基因, 将“抗体”换成血纤维蛋白, 其他设计和操作不变, 最后通过强力洗脱, 收获仍保持着与血纤维蛋白牢固结合的 t-PA 突变蛋白, 分析这种突变蛋白的氨基酸更换位点, 便可得知哪种或哪些氨基酸负责 t-PA 蛋白对血纤维蛋白的亲和性。

## 第 4 章 生物技术安全与伦理

### 第 1 节 转基因产品的安全性引发社会广泛关注

- 抗除草剂转基因烟草、延熟保鲜转基因番茄、转基因大豆加工的食用油、转基因抗虫棉做成的服装、转基因微生物生产的乙肝疫苗、转基因超级工程菌等。
- 转基因技术对人类健康和生态环境有着正负两面的影响。转基因作物改造了生物性状, 使其营养与消费品质等方面更加符合人们的需求, 食用转基因食品, 并不会改变人的遗传特性, 但部分转基因食品中合成的外源蛋白可能会对一些人造成过敏反应。通过转基因技术制造的疫苗和药物成

本低、效率高,提高了人类健康水平。转基因作物往往具有抗虫、抗逆境、抗感染等特点,在增加产量的同时,减少杀虫剂、化肥的使用,但一些抗除草剂转基因作物的使用反而增加了除草剂的消耗,对环境造成更大污染。转基因作物的种植应在可控制的范围内进行,如果散布到自然界中,可能会对生物多样性构成威胁。

3. 从食品安全角度来看,抗虫基因大豆转入的是苏云金芽孢杆菌伴孢晶体的基因,该晶体仅可杀伤鳞翅目昆虫,对其他目昆虫并无杀伤作用,对所有的脊椎动物更是安全的;抗冻基因番茄转入了冷水鱼抗冻基因,虽然抗冻基因本身应该是安全的,但因为有一些人食用冷水鱼会过敏,因此这些人有可能食用转基因番茄后出现过敏反应;抗除草剂大豆转入了矮牵牛抗广谱除草剂草甘膦的基因。种植抗除草剂大豆时,为了提高除草效果往往过量使用草甘膦,可造成大豆上有较高的草甘膦残留,而草甘膦有较强的致癌性。

对于环境安全来说,由于在种植转基因大豆时抗除草剂的过量使用,可导致除草剂在土壤中的残留,一方面使得生物多样性受到破坏,另一方面也可导致无法实现作物的轮作。而抗虫转基因虽然在食品安全方面相对较安全,但也可导致昆虫生物多样性受到破坏,继而可通过食物链的破坏产生更大的影响。

最后,虽然转基因生物转入基因的序列是已知的,理论上其所编码表达的产物应该也是已知的,但是基因在体内表达产物时除了核苷酸序列的影响外,核苷酸的修饰(如甲基化、磷酸化、乙酰化等)也可改变表达的产物;表达产物立体结构可能会改变从而改变其功能(这有可能会导致疾病,机制类似于朊蛋白)或者机体没有相应的消化酶而无法降解;转入基因的表达受到上下游基因(启动基因、抑制基因、插入序列、转座子等)的调控,或影响上下游基因的表达。

综上所述,转基因作物的安全性迄今尚未能完全确定。故人们应该一方面加强对转基因作物安全性尤其是慢性危害的研究,另一方面对于主粮的转基因尤其应该慎重。

4. 观点 1:我不会食用这种转基因玉米。原因是这种转基因玉米的果实种子中可能含有该蛋白酶抑制剂,食用后可能抑制人体内消化酶的活性,使人无法对食物进行消化而患病。也有可能该蛋白抑制剂进入人体消化道后,诱发人体的过敏反应,对人体造成伤害。

观点 2:我会食用这种转基因玉米。因为人与害虫消化酶结构存在差异,玉米的蛋白酶抑制剂对害虫的消化酶有抑制作用,但对人可能无影响。人类食用的通常是煮熟后的玉米食品,玉米蛋白酶抑制剂在高温下已经被破坏,在人体消化道内会被彻底水解为氨基酸,从而被人体吸收,因此不会造成不良影响。

## 第 2 节 生殖性克隆人带来诸多伦理问题

1. 生殖性克隆是指出于生殖目的使用克隆技术在实验室制造人类胚胎,然后将胚胎植入人体子宫发育成胎儿或婴儿的过程。治疗性克隆的目的不是产生一个活体生物,而是产生胚胎干细胞,并将其在合适的条件下分化成各种特化细胞乃至形成组织或器官,用于治疗疾病。

2. 伴随着克隆羊多莉 1997 年问世后,科学家们已陆续克隆出多种动物。2017 年,中国科学家成功培育出克隆猴,这标志着克隆人在技术上是可行的。然而克隆人将带来社会、伦理、道德、人口压力等多方面问题,这都将使人类面临克隆人是不是人、克隆人能否作为工具、研究对象或医疗用品等伦理难题。所以克隆人就目前来说在法律、伦理、道德和观念上是不可行的。克隆技术的推进应该

是漫长而审慎的,尤其是克隆技术能否应用于人是关乎人类未来命运的,必须保持高度警惕。

3. 通过制造克隆人去替代人类从事危险的工作的这种设想是否可行,首先取决于人类是否把克隆人当作自然人看待,是否也赋予克隆人人权。如果认可通过克隆制造出来的克隆人和自然人一样,那就需要遵循生物伦理的基本原则:尊重原则、不伤害原则、有利原则和公正原则,也就不能把克隆人仅仅视作工具、研究对象或者医疗用品等。

4. 试管婴儿已经被大多数国家认可,但该案例是对胚胎进行遗传学诊断,是设计试管婴儿,涉及的伦理问题是设计试管婴儿对基因是有选择性的,可能带来一些其他基因的选择,例如选择更聪明或更强壮的基因,甚至有人利用设计试管婴儿技术设计畸形婴儿,这些都违反了生物伦理的公正原则。在该技术操作过程中,可能造成的畸形或者不健康的胚胎如何处理,也涉及伦理问题。

### 第3节 全面禁止生物武器

1. 生物武器是指用于生物战的微生物制剂(包括细菌、病毒、生物毒素、真菌等)和各种施放装置构成的用来杀伤人员、牲畜和毁坏农作物的特种武器。较常规武器而言,生物武器由于致病性强,多数具有传染性,用量少且普遍易感;传播的手段简便多样,发病有潜伏期,导致不能及时发现并进行有效的预防和治疗;制备较容易、花费小等特点,更易成为极具威胁的大规模杀伤性武器。

2. 认同。人类现在对核武器的威力已经有所了解,核武器的杀伤力大,可以短时间摧毁敌方全部反击力量,但核武器的设备庞大、造价昂贵、维护费用高,而生物武器在实验室里就可以制造,具有制备容易、用量少、花费小等特点,很难被检测、控制,因此霍金的担心是不无道理的。

3. 在公共场合以及举办大型活动时需要运用安全防范技术以保障安全性,除了运用光场、太赫兹、金属探测等技术外,还需要考虑增加对生物武器的检测。生物战剂目前主要以气溶胶粒子形式传播,应考虑利用气溶胶侦察仪,如:微粒检测器、电子检测器、抗体检测器等设备进行检测,加强安全防范。

### 第4章学业评价

1. (1) 转基因技术。 (2) 导入该种子的基因序列可以表达蛋白质。插入目的基因,使得该种子无法传代,这一性状是由蛋白质来体现,因此目的基因可以表达蛋白质。该种子的有效成分不受影响的原因是,插入该阻止传代的基因表达的蛋白质不影响种子的正常生长和种子的有效成分。

(3) D (4) 该项专利涉及生物伦理学的不伤害原则和有利原则。这种转基因种子从保护专利角度出发有一定的合理性,但如果大面积推广种植,很可能在某时刻产生无粮可种的被动局面,威胁国家安全,对人类造成伤害,不利于人类生存。

2. (1) C (2) ABCD (3) 提示:①要对个人所有基因进行检测,是不现实的。因为现在有不少基因还没得到确定。即使只是对个别或少数基因进行检测,也并不是每个人都需要的;②有某种致病基因,并不一定就会患病;③有很多疾病,测定其致病基因是相当困难的;④需考虑到基因检测对受试者造成的心埋负担或压力;⑤将基因身份证上记录的信息和它的作用等问题弄清楚之后,才能决定要不要基因身份证。

## 附录 2 《练习部分》参考答案

### 第1章 发酵工程

#### 第1节 获得纯种微生物是发酵工程的基础

选择题

1. C 2. B 3. B 4. C 5. B 6. C 7. D 8. D 9. C 10. B 11. C

综合题

1. (1) 蛋白胨、牛肉膏、酵母粉

(2) BD

(3) ④

(4) BCD

2. (1) D

(2) AB

(3) 二

(4) 稀释涂布平板法

(5) S<sub>1</sub>

(6) ABCD

3. (1) 碳源 无机盐

(2) 不是

(3) 液体

(4) 取少许发酵液,加入碘液,观察发酵液的颜色是否呈现紫色。若无紫色,说明淀粉完全水解,碳源已全部转化。或用分光光度法测定发酵液的吸光度,计算发酵液中淀粉含量,以判断淀粉的转化率。

(5) 检测发酵液的黏度。

4. (1) 调整 pH→分装→灭菌

(2) 后

(3) 硝酸铵 琼脂

(4) 通用 选择 使土壤微生物增殖。

(5) 将菌悬液按照 10 倍梯度进行稀释。

(6) 20 mg/L 氯苯培养条件下的微生物最早停止生长,因为培养基中的碳源消耗殆尽,不能满足微生物的生长。

5. (1) 微生物的生长需要碳源、氮源、无机盐、生长因子和水等营养物质,测定混合原料的初始成分,以确定其是否具有满足微生物生长的营养物质,能否被加以利用。

(2) 需要调整。因为不同 pH 影响着微生物的代谢途径和生长能力,所以需调整 pH 以满足不同微生物的正常生长。

(3) 据图和题中信息可知,与初始蛋白质含量相比,三组混合原料经发酵后,终产物中蛋白质含量均有明显提高,其中乙组蛋白质含量增加最大,发酵效果最好。

(4) 蔬菜加工副产品量大,容易积压、浪费,且水分含量大,易发霉变质,污染环境。通过微生物发酵将蔬菜加工副产品转化为蛋白质饲料,不仅可以缓解蛋白质饲料短缺的问题,而且保护了环境,是一种经济实用的生产方法。

## 第 2 节 发酵工程为人类提供多样化生物产品

### 选择题

1. C 2. C 3. A 4. B 5. C 6. B 7. C 8. C 9. B 10. C 11. D 12. C

### 综合题

1. (1) 碳源

(2) 乳糖含量逐渐下降,葡萄糖含量逐渐上升。这是因为在发酵过程中乳糖被分解为葡萄糖。

(3) C

(4) ABC

(5) 稀释涂布平板法

2. (1) C

(2) AB

(3) 8%vol。因为初始酒精度为 8%vol 时,醋酸发酵效率较高,发酵周期较短。在发酵初期,初始酒精度对红心火龙果醋酸度影响不大,随着发酵时间的延长,初始酒精度<8%vol 时,发酵产酸速率与产酸量开始下降,这是因为初始酒精度较低,醋酸菌能利用的物质较少,产酸量较少,生产效率低;而>8%vol 时,过高的酒精度对醋酸菌种繁殖代谢具有一定抑制作用,会降低其代谢活力,延长发酵周期,降低产酸量。

(4) 发酵温度、接种量、初始 pH 等。

3. (1) ②

(2) ABD

(3) ③→②→④→①

(4) 诱变育种,或是利用基因工程技术改造。

(5) 利用计算机自动搜集和分析数据,进行实时检测和调控,可以满足微生物生长和代谢的要求,发挥其最大生产力,提高产品品质与产量。

4. (1) ABD

(2) AB

(3) A

(4) 补充碳源,并控制葡萄糖浓度处于一个稳定、适中的水平,有利于产黄青霉发酵。

5. (1) C

(2) 藻类产生的微生物能源是清洁的可再生能源,其进行光合作用时可以吸收大量的 CO<sub>2</sub>,避免

了使用化石燃料带来的污染问题。而且藻类可以利用农业、工业废物、废水等污染物产生能源,有助于废物的循环利用以及污染物的无害化处理,这是使用其他传统燃料所不能比拟的,对环境保护有重要意义。

## 本章综合练习

1. (1) 乳酸

(2) 划线法 ④

(3) D

(4) 不可行。因为显微镜计数法计算的是所有细胞的数量,包括活细胞和死细胞。菌液用盐酸水溶液处理后,可能包含死细胞,这样就不能准确检测出耐酸的乳酸菌数量。

(5) 据图 1-23 可知,发酵 0~3 d,发酵体系的 pH 下降较为明显,与自然发酵相比,下降速度随着接种量的增加而增加;自然发酵在发酵 12~15 d 的 pH 趋于平缓,泡菜发酵成熟,而接种乳酸菌后,乳酸菌接种量不同,达到同等 pH 所需的时间不同,说明人工接种乳酸菌缩短了发酵泡菜达到所需 pH 的发酵时间,提高了发酵泡菜的生产效率。

2. (1) BCF

(2) 葡萄糖、果糖、蔗糖 果糖

(3) 0~3 h,酵母数量在初步上升,乙醇浓度没有变化,这是因为蔗糖水解,以及胞外的葡萄糖和果糖进入酵母细胞进行转化,需要一定的时间;3~30 h,随着酵母数量的不断增多,乙醇浓度随之上升,这是因为酵母无氧呼吸不断产生乙醇;30~39 h,乙醇浓度趋于稳定,而酵母数量有所下降,这是因为糖类底物基本消耗完,不能满足酵母生长代谢需求。

(4) 主要由发酵后期糖醇转化率低导致。发酵前期酵母数量上升,这表明酵母的繁殖过程中需要利用糖类,而非转化为乙醇,因此糖醇转化率低。发酵后期,葡萄糖已被消耗殆尽,但是果糖利用率明显低于葡萄糖,以致果糖转化为乙醇的量减少,导致糖醇转化率低。

(5) 提高发酵后期的果糖利用率、提高酵母细胞的存活率、提高酵母细胞酶的活性等。

3. 提示:方案中需包括①样品的采集;②菌种的分离纯化(培养基的配制、接种、转接等操作);③抗生素抑菌能力检测,挑选出抑菌能力强的菌株,或是诱变育种,再挑选出抑菌能力强的菌株;④发酵及其调控,包括:菌种发酵不同时期温度的控制、菌种发酵不同时期 pH 的控制、溶解氧水平、泡沫的控制等。

## 第 2 章 细胞工程

### 第 1 节 利用植物细胞工程培育新植株

#### 选择题

1. B 2. B 3. B 4. C 5. D 6. B 7. C 8. C 9. B 10. D 11. A

#### 综合题

1. (1) 植物细胞具有全能性

(2) 无菌 pH 营养物质 植物激素配比(任写两个即可)

- (3) 脱分化 细胞分裂素和生长素的浓度比例大致等于 1
  - (4) 基因的选择性表达
  - (5) 能保持母本的性状,培养周期短、繁殖率高,适合大规模培育经济作物等。
2. (1) 3  
(2) C
- (3) 愈伤组织 无组织结构、松散的细胞团
  - (4) 植物体细胞杂交技术 植物组织培养技术
  - (5) 番茄-马铃薯杂种植株是植物体细胞杂交的结果,具有双亲的遗传物质,可表现出双亲的性状
3. (1) 植物细胞培养 脱分化  
(2) 保证氧气的供应,供细胞代谢所需;使培养的细胞和培养液充分接触  
(3) 云南 云南红豆杉的紫杉醇产量高,特别是在培养相同时间、细胞干重相同的情况下,如第 25 天  
(4) 营养物质消耗,代谢废物堆积 定期更换细胞培养液  
(5) 耗材少,节约资源,减少对红豆杉的破坏;快速高效;不受季节和环境的限制等

## 第 2 节 利用动物细胞工程改良动物细胞

### 选择题

1. A 2. C 3. B 4. A 5. C 6. C 7. A 8. C 9. D 10. C 11. D 12. A 13. D  
14. A 15. C

### 综合题

- 1. (1) 抗原  
(2) 浆 能产生特异性的抗体  
(3) 能无限增殖  
(4) 动物细胞培养技术  
(5) 筛选出杂交瘤细胞
  - (6) 单克隆 高度均一、只针对某一特定抗原决定簇
2. (1) 3 杂交瘤  
(2) D
- (3) 培养液中加入氨基蝶呤,收集在此培养液中依然可以长期存活且增殖的细胞。  
(4) 传代  
(5) ACE
3. (1) 四 Y Y 小鼠的抗体效价最高  
(2) 200
- (3) 动物血清 温度 溶解氧
4. (1) 脐血干细胞可以分化出各种血细胞,替代病变细胞。

- (2) 低
- (3) 干细胞技术、动物细胞培养技术
- (4) 无来源限制、排斥反应小、不易受到病毒或肿瘤的污染等(任意答出两点即可)

### 第3节 利用胚胎工程快速繁育优良动物品种

选择题

- 1. C 2. D 3. D 4. D 5. D 6. C 7. D 8. B

综合题

- 1. (1) 精子的采集和体外获能
- (2) 囊胚
- (3) 体外受精技术、动物细胞培养技术和胚胎移植技术
- (4) 胚胎发育的场所(受体母畜) 同步发情
- (5) 超数排卵技术
- 2. (1) B
- (2) 体外受精技术、动物细胞培养技术、胚胎移植技术
- (3) 植入前对胚胎进行遗传学诊断可以排除有遗传缺陷的胚胎,但也因此会带来定向选择性状等伦理学问题(合理即可)。

### 本章综合练习

- 1. (1) 外植体 外植体各细胞含有本物种整套的遗传物质,保留有分裂分化的潜能,即植物细胞具有全能性
  - (2) ① 细胞分裂素 生长素 ② 若激素 X/Y 的比值等于 1,维持愈伤组织状态;若激素 X/Y 的比值大于 1,愈伤组织先分化出芽;若激素 X/激素 Y 的比值小于 1,愈伤组织先分化生根。
  - (3) 利用该技术可以实现植物的快速繁殖,可以实现植物的脱毒等。
- 2. (1) 纤维素酶和果胶酶 机械分离
  - (2) 维持原生质体正常的形态和功能
  - (3) 绿色 花椰菜幼根的融合细胞无叶绿体,无色;黑芥幼叶融合细胞经紫外照射后,染色体无分裂能力,无法增殖;只有花椰菜幼根和黑芥幼叶融合后的杂种细胞具有叶绿体且能增殖。
  - (4) 脱分化
  - (5) AD
  - (6) 接种黑腐病菌,观察植株生长情况。
- 3. (1) 细胞融合 动物细胞培养
  - (2) A
  - (3) 选择 液体
  - (4) ABC
  - (5) ABCDFG
  - (6) 既能无限增殖,又能分泌特异性抗体

(7) D

4. (1) 植物细胞融合实验需要先去除细胞壁,获得原生质体才能促融,而动物细胞融合可以直接促融。

(2) 植物细胞融合技术可以打破远缘植物有性杂交的不亲和性,创造体细胞杂种植株

(3) 三

(4) 有性 无性

(5) 个体甲可能患有该种遗传病,个体乙肯定患有该种遗传病。因为细胞 a、b 是减数分裂产生的配子,基因型为 A 或 a,则两者受精后的产生的子代,其基因型可能为 AA、Aa 或 aa,所以个体甲可能患病;控制个体乙性状的基因来自细胞 c,而细胞 c 的基因型为 Aa,因此个体乙一定患病。

## 第3章 基因工程

### 第1节 基因工程赋予生物新的遗传特性

选择题

1. C 2. A 3. ACD 4. ABD 5. B 6. A

综合题

(1) 自然界所有生物共用一套密码子。

(2) 虽然不同生物均能表达蛛丝蛋白,但由于家蚕和蜘蛛的亲缘关系比其他生物更近,且都是泌丝动物,家蚕合成与分泌的蛛丝蛋白可能更接近天然蛛丝。利用家蚕合成、分泌的蛛丝蛋白可与蚕丝一起泌丝成茧,最有可能实现蜘蛛丝的大量生物仿造。

### 第2节 基因工程是一种重组DNA技术

选择题

1. A 2. B 3. A 4. C 5. D 6. C 7. C 8. A 9. C 10. D 11. C 12. C 13. C  
14. A 15. C

综合题

1. (1) *Eco*RI

(2) 5'-CCCAAGTTG-3'                    5'-AATTCACGTGCCGAT-3'

3'-GGGTTCAAACCTTAA-5'              3'-GTGCACGGCTA-5'

2. (1) 单链DNA(单链寡聚脱氧核苷酸链)

(2) 引物Ⅱ: 5'-G-A-A-G-OH

引物Ⅱ在退火步骤中的位置如下:

HO-G-A-A-G-5'

5'-G-G-A-G.....C-T-T-C-3'

(3) 3'-C-C-T-C.....G-A-A-G-5'      5'-G-G-A-G.....C-T-T-C-3'

5'-G-G-A-G.....C-T-T-C-3'      3'-C-C-T-C.....G-A-A-G-5'

(4) 1/2<sup>n</sup>

3. (1) ABC  
 (2) 4750  
 (3)

含不同质粒的大肠杆菌	含青霉素的培养基	含四环素的培养基
导入 X - 1	+	-
导入 X - 2	-	+
导入 X - 3	-	-
导入 X - 4	+	+
未成功导入质粒	-	-

4. (1) 利用限制性内切核酸酶切取抗多聚半乳糖醛酸酶基因,经 PCR 扩增后与质粒拼接形成重组质粒(表达载体),转入农杆菌,用含重组质粒的农杆菌转染普通番茄细胞,筛选出含有目的基因的农杆菌转染普通番茄细胞,再经植物组织培养培育出抗软化番茄。
- (2) B DNA 连接酶  
 (3)  $\text{CaCl}_2(\text{Ca}^{2+})$  卡那霉素  
 (4) 抗多聚半乳糖醛酸酶基因转录出 mRNA1,与多聚半乳糖醛酸酶基因转录的 mRNA2 互补配对,导致 mRNA2 翻译过程无法进行,使番茄获得抗软化的性状。
5. (1) 537 bp、790 bp、661 bp  
 (2) *Bam* HI  
 (3) 氨苄青霉素 X-gal 氨苄青霉素抗性,菌落呈白色  
 (4) 由于使用同种限制性内切核酸酶切割形成的末端相同,部分基因 D 可能与质粒反向连接,导致基因无法正常表达。

### 第 3 节 蛋白质工程是基因工程的延伸

选择题

1. B 2. A 3. C 4. B 5. A

综合题

1. (1) ②④①⑤③

- (2) 17

- (3) TCT 或 AGT

2. (1) ABD

(2) 引物突变位点的碱基不能与原序列互补,两边序列能互补,保证突变引物与模板搭上  
 - CCTTAGTTG -

(3) 定向进化 ①采用易错 PCR 技术、改变反应条件等技术对纤维素酶基因进行随机突变;  
 ②将突变纤维素酶基因与载体拼接形成表达载体;③将表达载体导入大肠杆菌;④对大肠杆菌合成

的突变纤维素酶进行筛选和鉴定,筛选出具有优良功能或结构的纤维素酶。

(4) ACDE

## 本章综合练习

1. (1) 编码链

(2) B

(3) BD

2. (1) TaqMan 探针、逆转录酶、Taq 酶

(2) 5'- AGGCAT - 3'

(3) 在后续 PCR 中以合成的 DNA 为模板合成 DNA 新链

(4) 能与新型冠状病毒特有序列配对

(5) ①

(6) 荧光强度与被水解的 R 基团数成正比。当样本中存在病毒核酸时,随着 PCR 的进行,病毒核酸不断被扩增,在此过程中 TaqMan 探针不断被水解释放出 R 基团,荧光信号不断增强;初始样本中病毒核酸越多,荧光强度越早到达阈值。

3. (1) 4

(2) 能 不一定能

(3) *Bam*HI 和 *Hind*III    *Bcl*I 和 *Hind*III

(4) 四环素 氯霉素(或四环素、氯霉素) 4 和 6

(5) 成功导入重组质粒的大肠杆菌是通过抗性基因进行筛选的,只能说明抗性基因成功表达,还需进一步检测重组质粒上的目的基因能否表达以及表达产物的结构和功能是否符合预期。

4. (1) 不具有

(2) *Eco*RI 嘌呤霉素

(3) ②和③

(4) 检测 HepG2 细胞数目增长量或细胞核形态

(5) sgRNA 越短脱靶率越高。最可能的原因是 sgRNA(向导 RNA)越短越容易与 DNA 其他部位错误结合而脱靶。

5. (1) 定点突变

(2)

引物	PCR			
	PCR1	PCR2	PCR3	PCR4
A	√	×	×	√
B	√	×	×	×
C	×	√	×	×
D	×	√	×	√

(3) 将三个批次的大肠杆菌表达的新蛋白 A 与植物病菌共同培养, 比较抑菌圈的大小(或病菌数量), 确定表达产物的抗菌活性。

(4) 蛋白 A 基因的发酵产物是蛋白质, 对人畜和农作物危害小, 不会造成基因污染, 纯度更高, 效果更好。

## 第 4 章 生物技术安全与伦理

### 第 1 节 转基因产品的安全性引发社会广泛关注

选择题

1. B 2. A 3. D 4. C 5. B 6. D

综合题

1. (1) 提高棉花产量, 带来经济效益; 减少杀虫剂的使用, 减轻环境污染。

(2) 转 *Bt* 基因抗虫棉能直接使棉铃虫毒害死亡, 相比转 *GhTPS1* 基因抗虫棉通过释放挥发性物质吸引棉铃虫天敌的杀虫效果更明显。但同时由于转 *Bt* 基因抗虫棉杀死棉铃虫, 会导致其天敌缺乏食物, 种群密度下降。其次, 棉铃虫可能产生抗性, 降低转 *Bt* 基因抗虫棉杀虫效果。而转 *GhTPS1* 基因抗虫棉通过释放挥发性物质吸引棉铃虫天敌, 是一种生物防治的手段, 对生态环境造成的影响较小。

2. (1) 参考答案: 我的观点是支持对转基因食品加注标识, 针对上述反对转基因强制标识者的观点, 理由如下: ①转基因食品虽然在短时间内没有发现存在安全性问题, 但同样也没有直接证据证明长期食用转基因食品是否安全, 或者是否会对后代产生影响。②购买食品时, 食品包装袋上的标注最易引起消费者的关注, 因此需要直接加注标识, 可以减少消费者的困惑。③消费者有知情权, 有权知道自己吃的是不是转基因食品, 同时消费者有选择权, 根据自己的饮食习惯选择吃或不吃。

(2) 2002 年, 农业部颁布了《农业转基因生物标识管理办法》, 规定转基因生物应当进行标识, 保护消费者的知情权。

### 第 2 节 生殖性克隆人带来诸多伦理问题

选择题

1. A 2. C 3. D 4. C 5. B 6. C

综合题

1. ①试管婴儿遵循的是有性生殖方式, 而克隆人是无性生殖方式。②试管婴儿不需要借助代孕母亲, 而克隆人需要借助代孕母亲才能完成生殖。③试管婴儿采取了体外受精方式, 只是改变了原来自然的生殖方式, 而克隆人采取了细胞核移植技术, 有被人为设计的可能。

2. 使用促排卵药物会引起卵巢功能衰退, 甚至有可能增加卵子变异的概率。多胎妊娠对孕妇的身体健康会造成巨大的影响, 同时对胎儿也会产生较大的负面影响, 胎儿存活率会下降。此外, 多胎妊娠产妇增加, 如果不加以合理控制, 将加快人口增长速度, 也会增加多胎妊娠家庭的经济负担和教育负担。

### 第3节 全面禁止生物武器

选择题

1. D
2. A
3. A
4. D
5. C
6. D

综合题

1. 生物武器除了施用于人体外,施用对象还可以是作物、牲畜、家禽等。例如,作物能给人类提供粮、油、棉等生活必需的物资。针对作物进行的生物战,可以导致粮食歉收或不收、作物变异等情况;而染病的牲畜和家禽可能将疾病传染给人,降低人的抵抗力。当动、植物出现种群密度下降,甚至灭亡的情况时,会通过影响食物链最终破坏生态系统的动态平衡,造成难以想象的灾难。

2. 科学家应保证所进行的科学的研究的后果不会危及人类的生存安全,体现科学家的社会责任感,并将其转化为行动。

### 本章综合练习

1. 将转基因鲤鱼培育成不育的三倍体,避免其与野生鲤鱼进行交配。将转基因鲤鱼固定在一定区域养殖,避免其与野生生物竞争食物与空间,对转基因鲤鱼进行各种必要项目的检测,保证其与普通鲤鱼是一样可安全食用的。

2. 例如:①养育父母与孩子的关系由于无血缘纽带的牵引而近似于领养,从而可能会对亲情带来疑问,血缘关系存在的矛盾可能会在家庭生活中带来严重的影响。②代孕母亲在妊娠过程中可能对胎儿产生情感,从而争夺抚养权。③代孕母亲如在妊娠过程中出现严重并发症终止妊娠可能引发纠纷。④若出生婴儿存在严重的先天不足,遗传学父母可能会拒绝抚养孩子。⑤未来孩子寻找遗传学父母,可能使遗传学父母家庭稳定受到影响。

3. 不被允许,我国法律禁止生殖性克隆,其中包括人-兽杂交。

## 附录3 《实验与活动部分》“学业评价”参考答案

### 探究·实验1-1 酵母浸粉胨葡萄糖培养基的配制

1. AC 2. D 3. C
4. 可以利用火焰直接杀死瓶口的微生物。

### 探究·实验1-2 酵母的分离和纯化

1. ABD 2. B 3. A
4. 需要。避免实验所用微生物污染环境。

### 探究·实验1-3 土壤中分解尿素细菌的分离与计数

1. 选择乙。因为甲和丙都含有 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,能分解尿素的细菌和不能分解尿素的细菌都能利用 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,所以不能起到筛选作用。
2. (1) D (2) ABC
3. 稀释涂布平板法可用于活菌计数,但操作较繁琐,需时较长。

### 探究·实验1-4 果酒和果醋的制作

1. AB 2. ABD 3. D

### 探究·实验1-5 酸奶的制作

1. (1) 保证菌种在鲜奶去除杂菌的条件下进行发酵。 (2) 低温酸奶相比于常温酸奶,因其含有活性发酵菌种,进入人体后具有调节胃肠道菌群平衡、促进消化吸收、提高机体免疫力、防止便秘等作用。
2. ABC 3. ABCD

### 探究·活动1-6 虚拟仿真:发酵条件对微生物发酵的影响

1. ABC 2. 还原糖含量 菌体重量 蛋白酶产量 3. ABC

### 探究·实验2-1 月季的快速繁殖

1. B 2. A 3. C

### 探究·活动2-2 收集单克隆抗体的应用实例

1. D 2. C 3. D
4. 与传统血清抗体相比,单克隆抗体具有特异性强、灵敏度高、产量高等优势。

**探究·建模 3-1 模拟限制性内切核酸酶的切割作用**

1. D 2. C 3. B

**探究·实验 3-2 DNA 的提取和鉴定**

1. C 2. B 3. A

**探究·实验 3-3 PCR 扩增 DNA 的原理和操作**

1. A 2. B 3. B 4. D

**探究·建模 3-4 模拟 DNA 分子重组**

1. BC 2. D 3. (1) *NgoMIV* (2) ABC

**探究·实验 3-5 PCR 扩增产物的凝胶电泳鉴定**

1. D 2. B 3. C

**探究·活动 4-1 辩论:转基因食品是否安全?**

1. D 2. AB

**探究·活动 4-2 讨论:你是否支持设计试管婴儿?**

1. AC 2. D

## 附录 4 教学参考书目

1. 中华人民共和国教育部. 普通高中生物学课程标准(2017 年版 2020 年修订). 北京:人民教育出版社,2020.
2. 杜连祥等. 工业微生物学实验技术. 天津:天津科学技术出版社,1992.
3. 钱存柔等. 微生物学实验教程(第 2 版). 北京:北京大学出版社,2008.
4. 周德庆. 微生物学教程(第 3 版). 北京:高等教育出版社,2011.
5. 陈坚等. 发酵工程原理与技术. 北京:化学工业出版社,2012.
6. 侯红萍. 发酵食品工艺学. 北京:中国农业大学出版社,2016.
7. 陈瑞铭. 动物组织培养技术与应用. 北京:科学出版社,1991.
8. 陈因良等. 细胞培养工程. 上海:华东理工大学出版社,1992.
9. 安利国. 发育生物学. 北京:科学出版社,2010.
10. 崔红娟. 干细胞生物学. 重庆:西南师范大学出版社,2014.
11. 安利国等. 细胞工程(第 3 版). 北京:科学出版社,2016.
12. 陈德富等. 现代分子生物学实验原理与技术. 北京:科学出版社,2006.
13. 王旻. 生物工程(第 3 版). 北京:中国医药科技出版社,2015.
14. Michael R. Green 等. 分子克隆实验指南(原书第 4 版)(上册). 北京:科学出版社,2017.
15. 张惠展. 基因工程(第 4 版). 上海:华东理工大学出版社,2018.
16. 吴振等. 转基因食品及其食用安全性评价[J]. 家畜生态学报. 2011,32(02).
17. 吴珊等. 我国转基因作物的研发与安全管理[J]. 中国农业科技导报. 2020,22(11).
18. 牛子儒等. 胚胎植入前遗传学诊断应用进展[J]. 现代妇产科进展. 2012,21(08).
19. 蒋明森等. 生物武器的历史与现状[J]. 武汉大学学报. 2003,24(01).
20. 李宏等. 基因武器及其防护探讨[J]. 灾害医学与救援. 2013,2(03).

# 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。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-GJ-2023001



绿色印刷产品

ISBN 978-7-5478-6024-3

9 787547 860243 >

定价：24.00 元