

23. 赖氨酸是人体不能合成的必需氨基酸，而人类主要食物中的赖氨酸含量很低，利用生物技术可提高食物中赖氨酸含量。回答下列问题：

（1）植物细胞合成的赖氨酸达到一定浓度时，能抑制合成过程中两种关键酶的活性，导致赖氨酸含量维持在一定浓度水平，这种调节方式属于_____。根据这种调节方式，在培养基中添加_____，用于筛选经人工诱变的植物悬浮细胞，可得到抗赖氨酸类似物的细胞突变体，通过培养获得再生植株。

（2）随着转基因技术与动物细胞工程结合和发展，2011 年我国首次利用转基因和体细胞核移植技术成功培育了高产赖氨酸转基因克隆奶牛。其基本流程为：

①构建乳腺专一表达载体。随着测序技术的发展，为获取富含赖氨酸的酪蛋白基因（目的基因），可通过检索_____获取其编码序列，用化学合成法制备得到。再将获得的目的基因与含有乳腺特异性启动子的相应载体连接，构建出乳腺专一表达载体。

②表达载体转入牛胚胎成纤维细胞（BEF）。将表达载体包裹到磷脂等构成的脂质体内，与 BEF 膜发生_____，表达载体最终进入细胞核，发生转化。

③核移植。将转基因的 BEF 作为核供体细胞，从牛卵巢获取卵母细胞，经体外培养及去核后作为_____。将两种细胞进行电融合，电融合的作用除了促进细胞融合，同时起到了_____重组细胞发育的作用。

④重组细胞的体外培养及胚胎移植。重组细胞体外培养至_____，植入代孕母牛子宫角，直至小牛出生。

⑤检测。DNA 水平检测：利用 PCR 技术，以非转基因牛耳组织细胞作为阴性对照，以_____为阳性对照，检测到转基因牛耳组织细胞中存在目的基因。RNA 水平检测：从非转基因牛乳汁中的脱落细胞、转基因牛乳汁中的脱落细胞和转基因牛耳组织细胞，提取总 RNA，对总 RNA 进行_____处理，以去除 DNA 污染，再经逆转录形成 cDNA，并以此为_____，利用特定引物扩增目的基因片段。结果显示目的基因在转基因牛乳汁中的脱落细胞内表达，而不在牛耳组织细胞内表达，原因是什么？_____。