

(4)与直接使用长春碱相比,将长春碱与双特异性单克隆抗体结合后给药,对人体的副作用更小,原因是_____。

25.(14分)phb2蛋白具有抑制细胞增殖的作用。为初步探究某动物phb2蛋白抑制人宫颈癌细胞增殖的原因,研究者从基因数据库中获取了该蛋白的基因编码序列(简称phb2基因),大小为0.9kb(1kb=1000碱基对),利用大肠杆菌表达该蛋白。下图1是phb2基因编码区序列以及两端需添加的能被相关酶识别的序列,图2为研究所用表达载体示意图,表格为有关的限制酶种类及识别序列和切割位点。回答下列问题。

限制酶种类	Spe I	Pvit II	BamH I	Xba I
识别序列	5' A [↓] CTAGT3'	5' CAG [↓] CTG3'	5' G [↓] GATCC3'	5' T [↓] CTAGA3'

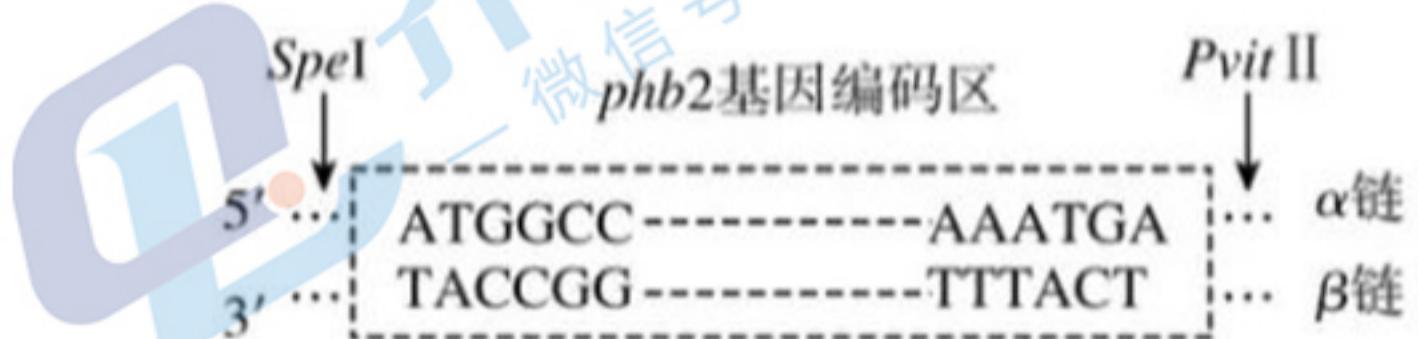


图1

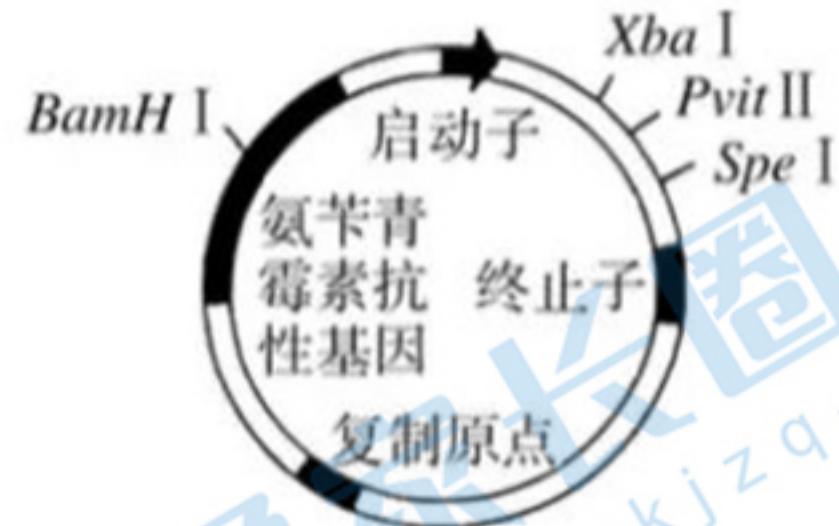


图2

(1)用PCR扩增phb2基因时,为了使PCR产物能被限制酶切割,以便构建基因表达载体,可以考虑在引物的_____ (填“3'端”或“5'端”)添加限制酶识别序列。据图可推断,扩增 α 链时需添加的限制酶识别序列以及所用引物的碱基序列是_____ (写出12个碱基并注明方向)。经过这两种酶酶切的phb2基因和载体进行连接时,可选用_____ (填“E. coliDNA连接酶”或“T4DNA连接酶”)。

(2)构建的基因表达载体中需要使用大肠杆菌蛋白基因的启动子tac,其原因是_____。

(3)将转化后的大肠杆菌接种在含_____的培养基上进行培养,随机挑取菌落(分别编号为1、2、3、4)培养并提取质粒,用(1)中选用的两种限制酶进行酶切,酶切产物经电泳分离,结果如图3,_____号菌落的质粒很可能是含目的基因的重组质粒。

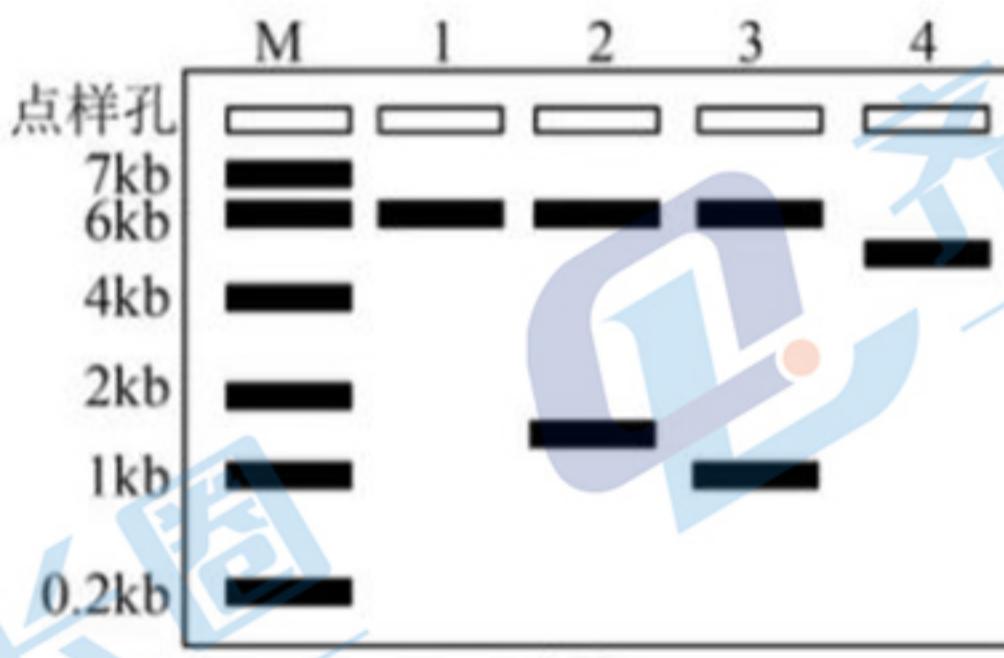
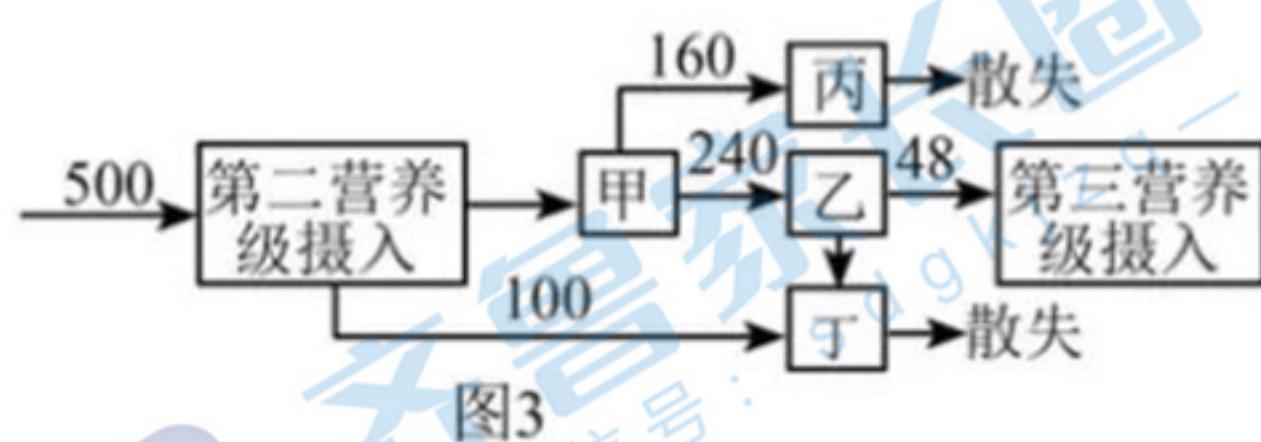
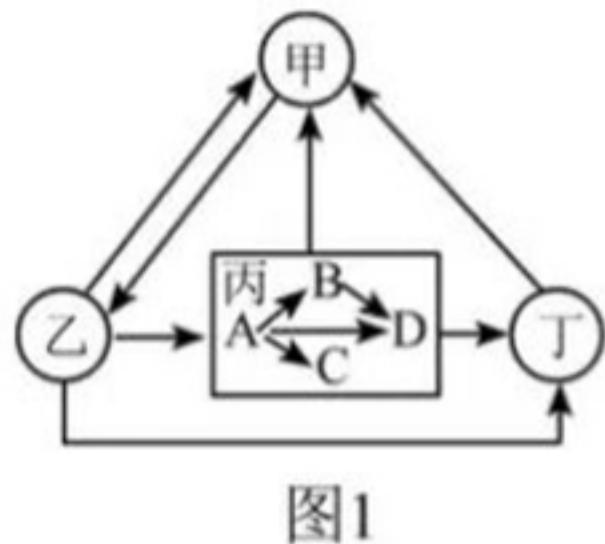


图3

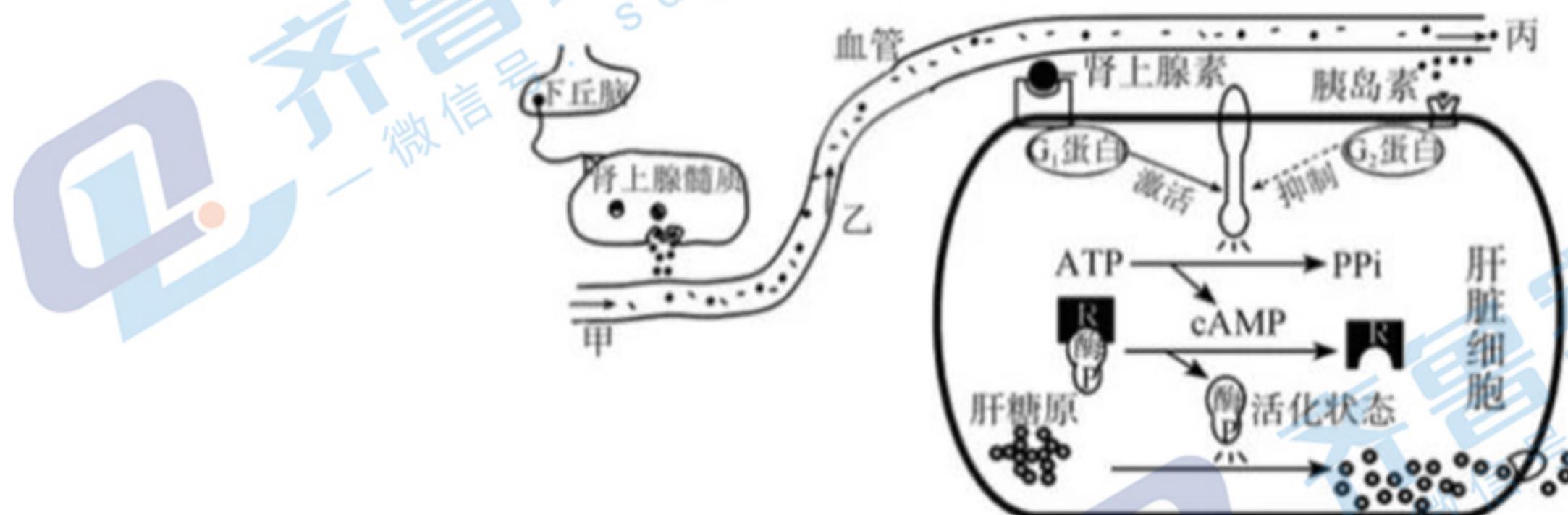
注:M为指示分子大小的标准参照物;小于0.2kb的DNA分子条带未出现在图中

(4)在筛选出成功导入phb2基因的大肠杆菌后,经多代培养仍能提取出phb2基因,你认为phb2基因是否已成功转化?你的观点及理由是_____。

下列叙述正确的是



- A. 若图 1 表示碳循环, 图中方框内有 4 条食物链
- B. 若图 2 中营养级①所固定的太阳能总量为 3200kJ, 则营养级①②之间的能量传递效率是 16%
- C. 分析图 3 中能量关系可知, 乙代表第二营养级用于生长发育繁殖的能量
- D. 第二营养级流入分解者的能量包括第二营养级遗体残骸和粪便中的能量
5. 辅助性 T 细胞(Th)表面具有两大类接受调控细胞活化所需的复杂结构, 一类是 Th 细胞膜的必要组分, 如 CD28 分子, 主要为 Th 识别抗原后的活化提供必需的第二信号, 以完成 Th 的增殖和分化; 另一类只在活化的 Th 表面, 如 CTLA-4 和 PD-1, 通过与相应信号分子结合向 Th 发出抑制信号, 阻断活化 Th 的增殖、分化及发挥免疫效应。下列叙述正确的是
- A. 控制 CD28、CTLA-4 和 PD-1 合成的基因在 Th 内同步表达
- B. 癌细胞可通过 PD-1 抑制 Th 活化, 降低机体免疫自稳功能
- C. APC 将抗原处理后呈递在 Th 表面, 使 Th 活化产生细胞因子
- D. 第二信号缺失或功能障碍, 将导致机体免疫功能不足或缺陷
6. 人处于饥饿状态时, 肾上腺髓质分泌肾上腺素调节血糖浓度过程如图所示。cAMP(环化一磷酸腺苷)是由 ATP 脱去两个磷酸基团后环化而成的一种细胞内信号分子。下列叙述错误的是



- A. 酶 P 转为活化状态需 cAMP 提供信息
- B. 腺嘌呤核糖核苷酸发生环化形成 cAMP
- C. 肾上腺髓质是反射弧效应器的组成部分
- D. 饥饿状态下, 甲、丙两处的血糖浓度大小关系为甲>丙

7. 下列关于实验探究中运用科学方法的叙述错误的是

- A. 利用差速离心法分离细胞中的细胞器
- B. 施莱登和施旺在细胞学说的建立过程中运用了不完全归纳法
- C. 鲁宾和卡门利用放射性同位素示踪法发现了光合作用释放的氧来自水
- D. 细胞膜结构的探索过程中, 使用建构模型的方法来解释细胞膜的结构及特点

8. 猴痘病毒是一种双链 DNA 病毒, 成熟后以出芽方式释放, 并形成包膜, 人感染后通常会出现发烧、头痛、皮疹等症状。84 消毒液、75% 酒精等消毒剂可以杀死猴痘病毒。下列叙述正确的是

- A. 离心后的纯猴痘病毒化学组成有核酸、蛋白质、脂质等
- B. 猴痘病毒的遗传物质彻底水解后可得到四种脱氧核苷酸
- C. 猴痘病毒在体外环境可存活数月, 说明病毒的生命活动与细胞无关
- D. 一个猴痘病毒和一个大肠杆菌同属于生命系统结构层次中的个体层次

9. 叶绿素 a ($C_{55}H_{72}MgN_4O_5$) 的头部和尾部分别具有亲水性和亲脂性特点。下列分析错误的是

- A. 尾部对于叶绿素 a 分子在类囊体膜上的固定起重要作用
- B. 华北地区秋天叶片变黄可能是低温导致叶绿素降解加快造成的
- C. 叶绿素 a 的元素组成说明微量元素参与生物体正常的生命活动
- D. 叶绿素 a 被破坏后光反应阶段产生 ATP 和 NADPH 的速率可能减少

10. 细胞坏死性凋亡是一种受调节的细胞死亡形式, 它既以坏死的形态为特征, 又与细胞凋亡类似, 由确定的信号通路控制。坏死性凋亡主要由肿瘤坏死因子受体(TNFR)和干扰素等介导引发, 激活细胞中的蛋白激酶 RIPK 以促使 MLKL 磷酸化, 使膜通透性改变, 细胞内物质释放, 从而导致细胞坏死性凋亡。下列叙述错误的是

- A. 坏死性凋亡是受基因控制的死亡
- B. 被病原体感染细胞的清除属于细胞坏死
- C. MLKL 是治疗与坏死性凋亡相关疾病的潜在靶点
- D. TNFR 和干扰素引起的细胞凋亡, 体现了细胞间的信息交流

11. 紫杉醇是目前已发现的最优秀的天然抗癌药物。如图是通过植物细胞工程技术获得紫杉醇的途径, 下列叙述错误的是



- A. 该途径没有体现植物细胞的全能性
- B. 提取的紫杉醇是红豆杉体内的一种初生代谢物
- C. 过程①中生长素与细胞分裂素的用量比值应适中
- D. 为使培养细胞得到充分营养, 过程③需使用液体培养基

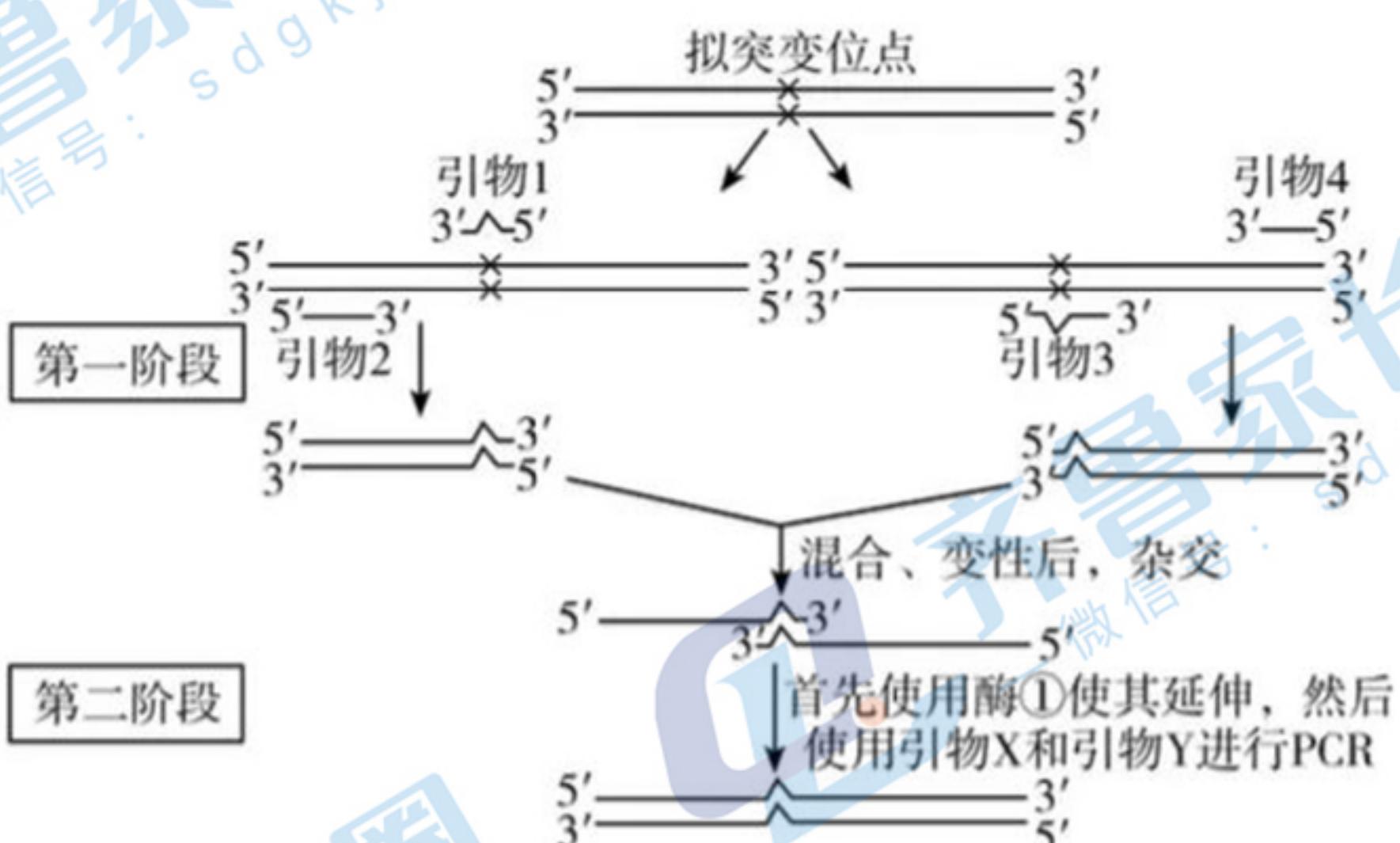
12. 六倍体小麦基因组庞大, 研究困难。拟南芥基因组测序已完成, 遗传背景清晰。用紫外线分别照射小麦愈伤组织的原生质体 30s、1min、2min, 再与拟南芥原生质体进行融合, 可将小麦染色体小片段插入拟南芥基因组, 获得不同种类的融合品种。下列叙述错误的是

- A. 紫外线照射可使小麦染色体发生变异
- B. 所得融合品种含有拟南芥全套染色体
- C. 可设置单独培养的未融合原生质体进行对照
- D. 利用此方法可以获得定向变异的优良新品种

13. 菊花是一种双子叶植物，易感桃蚜。桃蚜不但直接影响植物生长，还是多种植物病毒的传播媒介。雪花莲凝集素基因 GNA 的表达产物能有效抑制桃蚜生长。某科研团队运用农杆菌转化法获得了转 GNA 基因菊花。下列叙述错误的是

- A. 受体细胞可以选择菊花叶片细胞
- B. 将 GNA 插入 Ti 质粒的 T-DNA 上构建表达载体
- C. 获得转 GNA 基因菊花过程需要进行两次转化
- D. 若检测到转基因菊花含有 GNA 基因，说明其已具有桃蚜抗性

14. 基因定点突变的目的是通过定向地改变基因内一个或少数几个碱基来改变多肽链上一个或几个氨基酸。该技术是蛋白质工程的重要技术，图示为利用 PCR 技术进行定点突变的流程，相关叙述错误的是



注：引物1和引物3的突起处代表与模板不能互补的突变位点，而这两条引物有部分碱基（包括突变位点）是可以互补的。

- A. 酶①应为耐高温 DNA 聚合酶，引物 X 和 Y 为引物 2 和 4
- B. 将四种引物置于同一个反应系统中同时进行第一个阶段的反应
- C. 第一阶段 PCR 过程中需要进行两次循环才能得到两种所需的 DNA 片段
- D. 通过该技术获得的突变基因可以表达出原来自然界不存在的蛋白质

15. 我国中科院的研究团队利用细胞工程和基因编辑技术，成功培育出世界上首例只有双母亲来源的孤雌小鼠和双父亲来源的孤雄小鼠，实现了哺乳动物的同性繁殖。实验流程如图所示，下列叙述错误的是



- A. 用促性腺激素对雌性大鼠进行同期发情增加卵母细胞数量

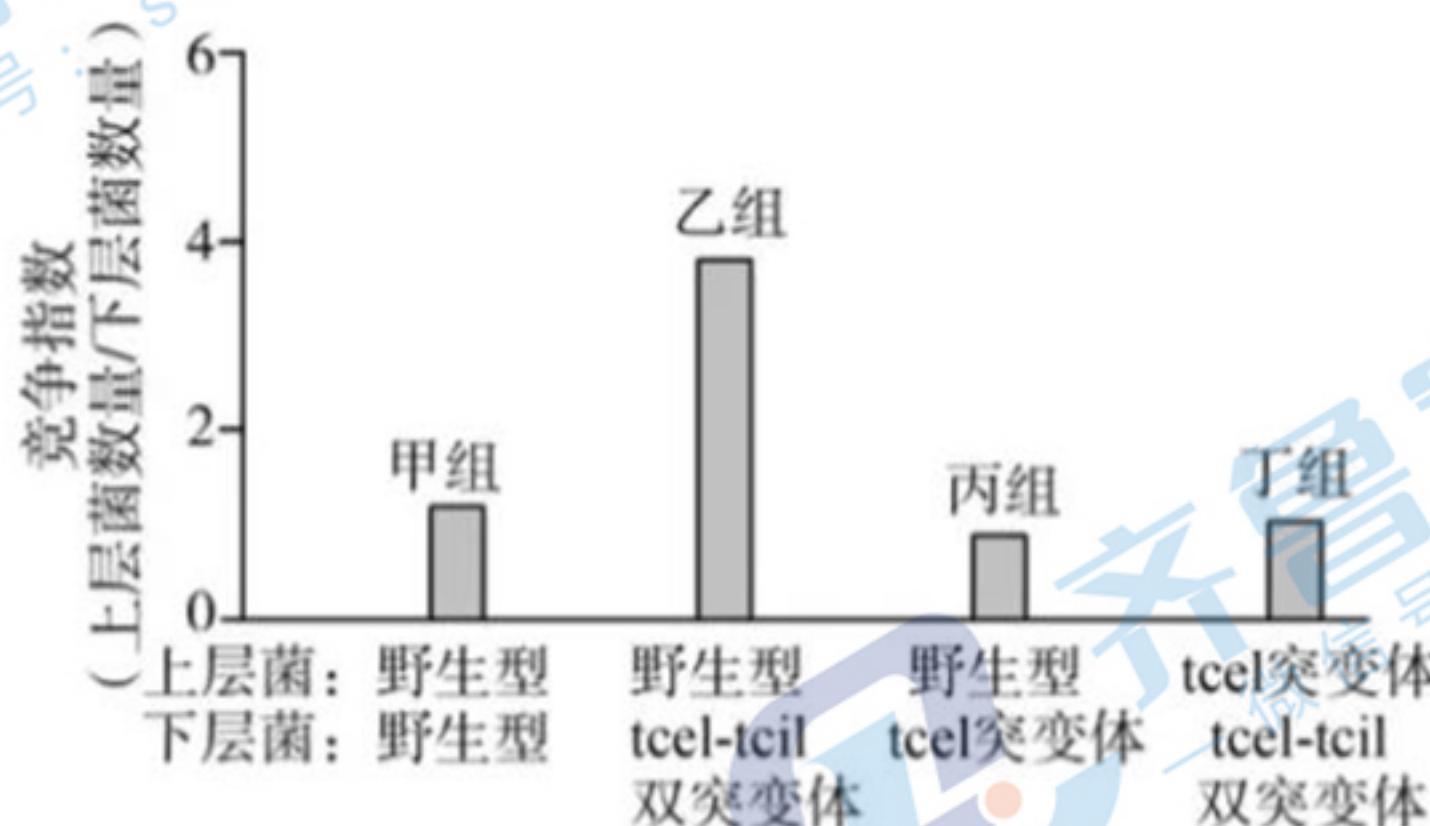
B. 卵细胞转化成 phESC 类似于植物组织培养中的脱分化过程

C. 重构胚通常需要发育到桑葚胚或囊胚阶段才进行胚胎移植

D. 不考虑致死情况,理论上孤雄小鼠性染色体组成为 XX、XY 或 YY

二、选择题:本题共 5 小题,每小题 3 分,共 15 分。每小题给出的四个选项中,有的只有一个选项正确,有的有多个选项正确,全部选对的得 3 分,选对但不全的得 1 分,有选错的得 0 分。

16. 野生型细菌 X 合成的 tcel 蛋白和 tcil 蛋白使其在与其他细菌的竞争中占优势,其中 tcel 蛋白是一种有毒性的分泌蛋白。研究人员利用野生型细菌 X 及其不同突变体进行了实验:在固体培养基表面放置一张能隔离细菌的滤膜,将一种菌(下层菌)滴加在滤膜上后再放置第二张滤膜,滴加等量的另一种菌(上层菌),共同培养后,对上、下层菌计数得到如图结果。下列分析正确的是



A. 培养皿、固体培养基和滤膜均需进行消毒处理

B. 对上、下层活菌计数时应采用显微镜直接计数

C. 由甲、乙、丙三组结果可推测 tcil 蛋白能够中和 tcel 蛋白的毒性

D. 野生型细菌 X 在与 tcil-tcil 双突变体和 tcel 突变体的竞争中均占优势

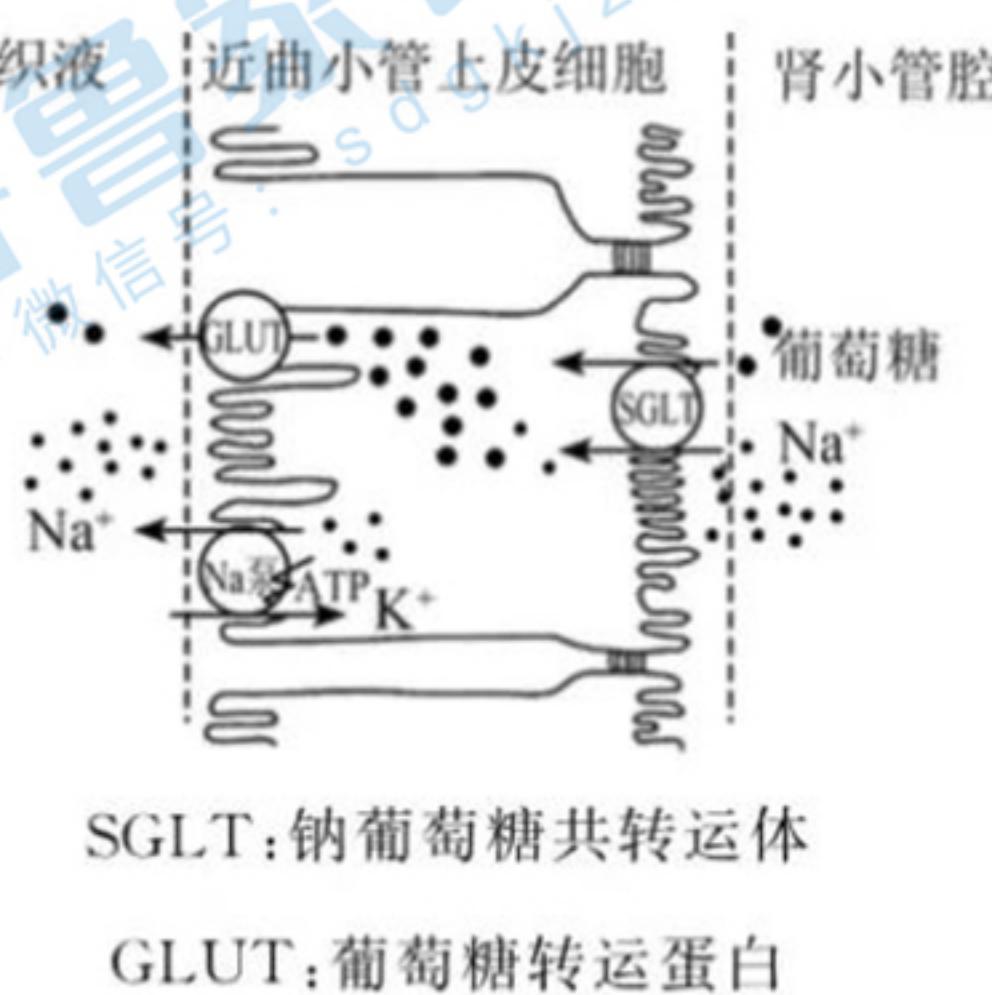
17. 肾脏是机体最重要的排泄器官,通过尿的生成和排出,维持机体内环境的稳态。近曲小管上皮细胞膜上具有多种转运蛋白,其重吸收葡萄糖的机制如图所示。下列叙述错误的是

A. 原尿中的葡萄糖以协助扩散方式进入近曲小管上皮细胞

B. Na⁺ 泵使近曲小管上皮细胞内处于低钠状态,有利于葡萄糖的重吸收

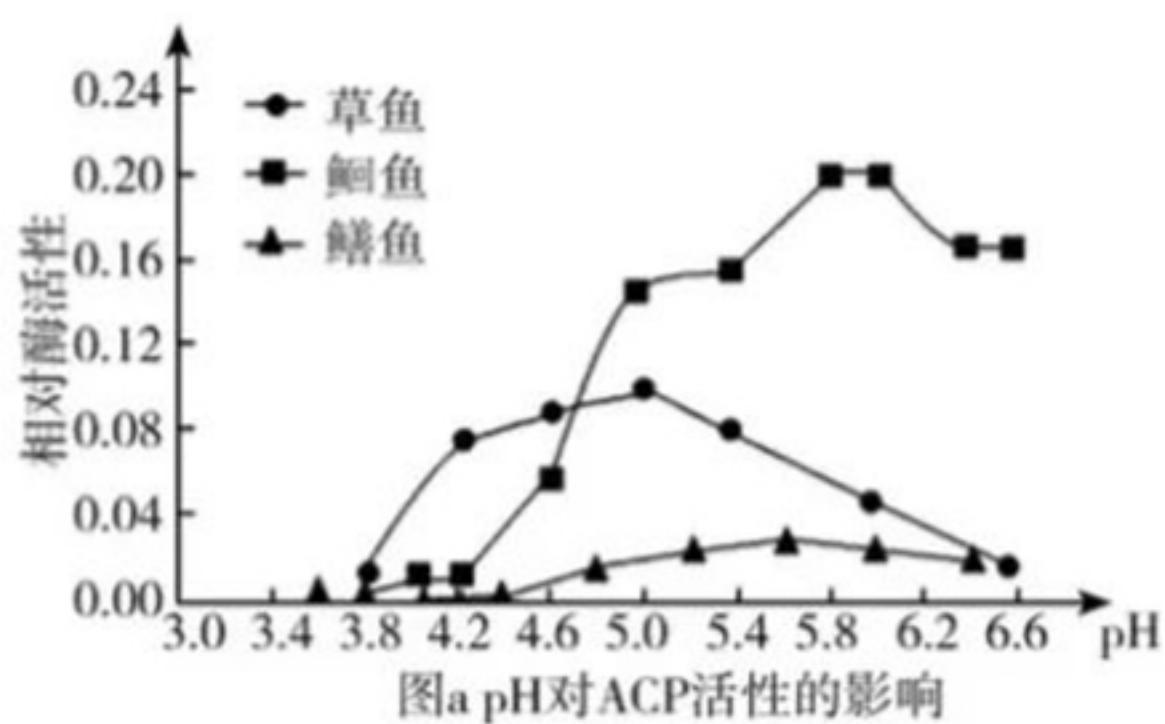
C. 细胞膜两侧的葡萄糖浓度差越大, GLUT 的转运效率越高

D. 若近曲小管上皮细胞膜上 SGLT 缺陷,则会导致机体尿液中的葡萄糖含量升高

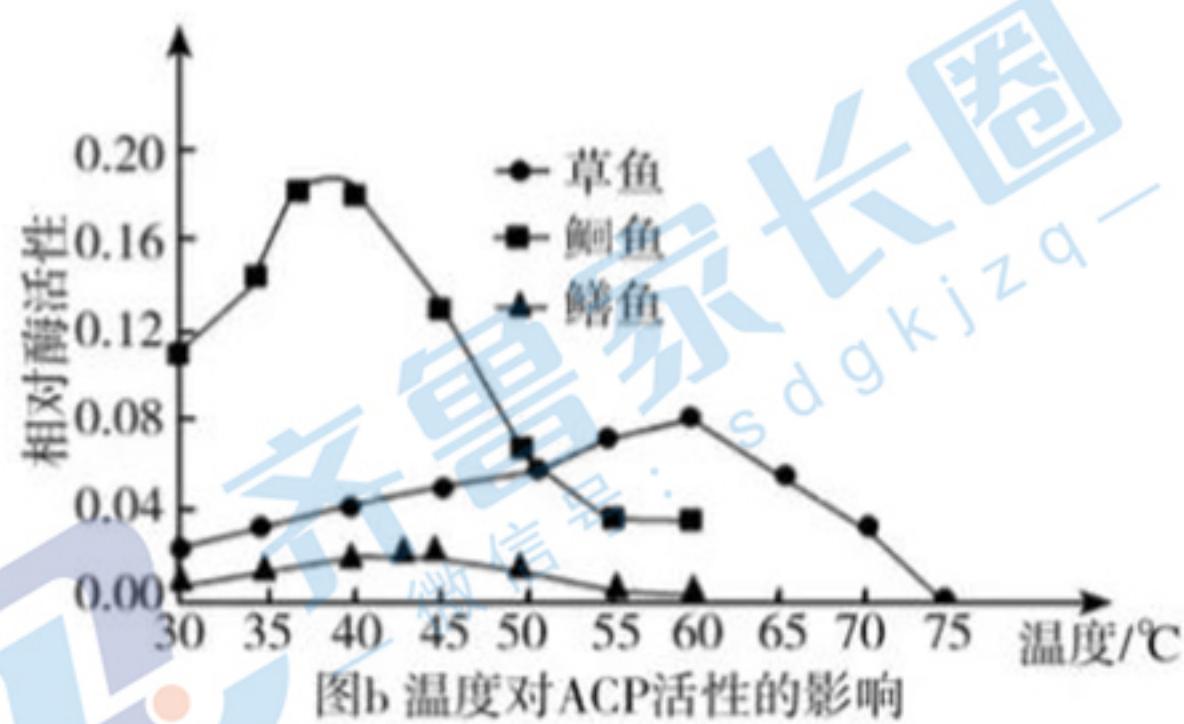


18. 鱼被宰杀后,鱼肉中的腺苷三磷酸降解为肌苷酸(IMP),极大提高鱼肉鲜味,但是该物质在酸性磷酸酶(ACP)作用下会进一步降解,导致鲜味下降。研究者通过实验来探究鱼类鲜味

下降的外因,实验结果如图所示。下列叙述正确的是



图a pH对ACP活性的影响



图b 温度对ACP活性的影响

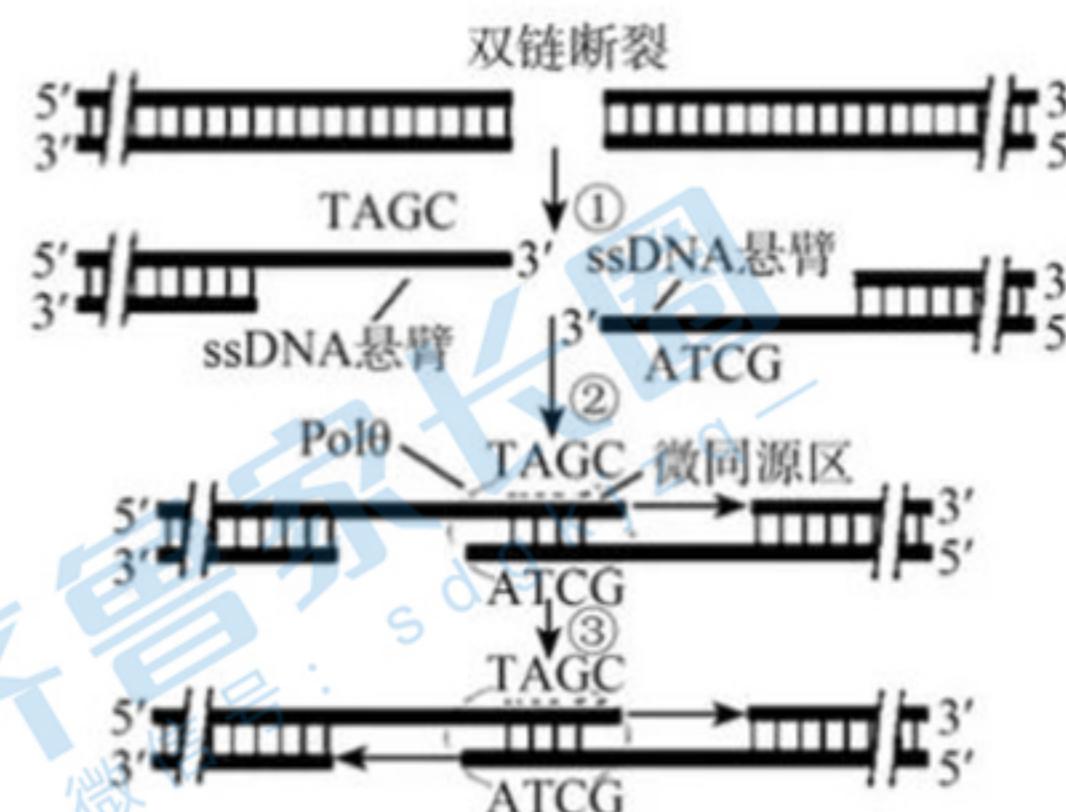
- A. 本实验的自变量是 pH 和温度, 因变量是 ACP 的相对活性
B. pH 低于 3.8、温度超过 60℃, 对鳙鱼 ACP 活性影响都是不可逆的
C. 放置相同时间, 在 pH 约 5.0、温度 60℃ 条件下, 草鱼肉鲜味下降最快
D. 不同鱼 ACP 的最适温度和 pH 不同, 直接原因在于不同鱼体内的 ACP 基因不同

19. 下列关于“DNA 的粗提取与鉴定”和“DNA 片断的扩增及电泳鉴定”的叙述错误的是

- A. 鉴定 DNA 时应将丝状物直接加到二苯胺试剂中进行水浴加热
B. DNA 分子具有可解离的基团, 在电场中会带上正电荷或负电荷
C. PCR 反应中设置不同的温度是为了使 DNA 聚合酶催化不同的反应
D. 在凝胶中 DNA 分子的迁移速率与凝胶的浓度、DNA 分子的大小、构象等有关

20. 真核细胞内的聚合酶 θ(Polθ)主要承担检测和修复 DNA 双链断裂的工作。许多癌细胞高表达 Polθ 参与修复断裂的双链 DNA。当 DNA 双链断裂时, 断裂处的一条链被酶切除形成局部单链 DNA(ssDNA 悬臂), 其上的微同源区互补配对后, Polθ 可延伸微同源区的 3' 端, 促进双链 DNA 断裂处的连接, 该过程易出现突变。下列叙述正确的是

- A. 过程①单链 DNA 的水解方向是 3' → 5'
B. 癌细胞高表达 Polθ 有利于癌细胞生长
C. 过程②微同源区通过磷酸二酯键配对连接
D. ssDNA 悬臂的形成和微同源区单链延伸均与磷酸二酯键密切相关



三、非选择题: 本题包括 5 小题, 共 55 分。

21. (10 分) 当线粒体受损时, 细胞可通过清理受损的线粒体来维持细胞内的稳态。科研人员推测受损线粒体可通过进入迁移体(细胞在迁移中形成的一种囊泡结构)而被释放到细胞外, 即“线粒体胞吐”。为此, 科研人员利用绿色荧光标记迁移体, 红色荧光标记线粒体, 用药物 C 处理细胞使线粒体受损, 根据迁移体中红绿荧光重叠情况来验证上述推测。回答下列问题。

- (1) 真核细胞内的_____锚定并支撑着细胞器, 与细胞器在细胞内的运输有关, “线粒体胞吐”过程中体现了细胞膜_____的特点。

(2)为进一步研究 D 蛋白和 K 蛋白在线粒体胞吐中的作用,对红色荧光标记了线粒体的细胞进行相应操作,检测迁移体中的红色荧光,操作及结果如图 1 和 2。

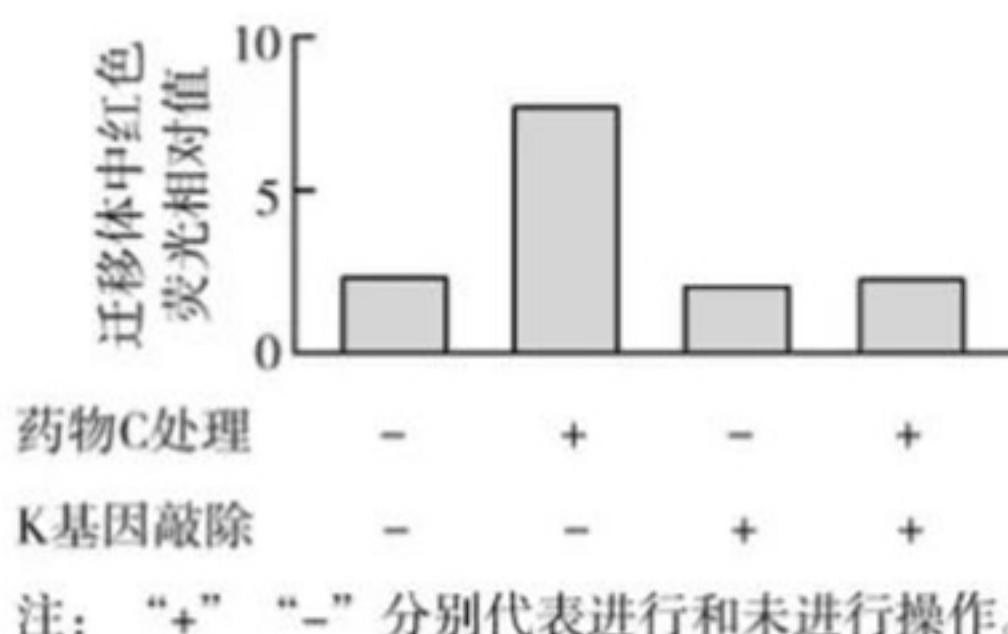


图1

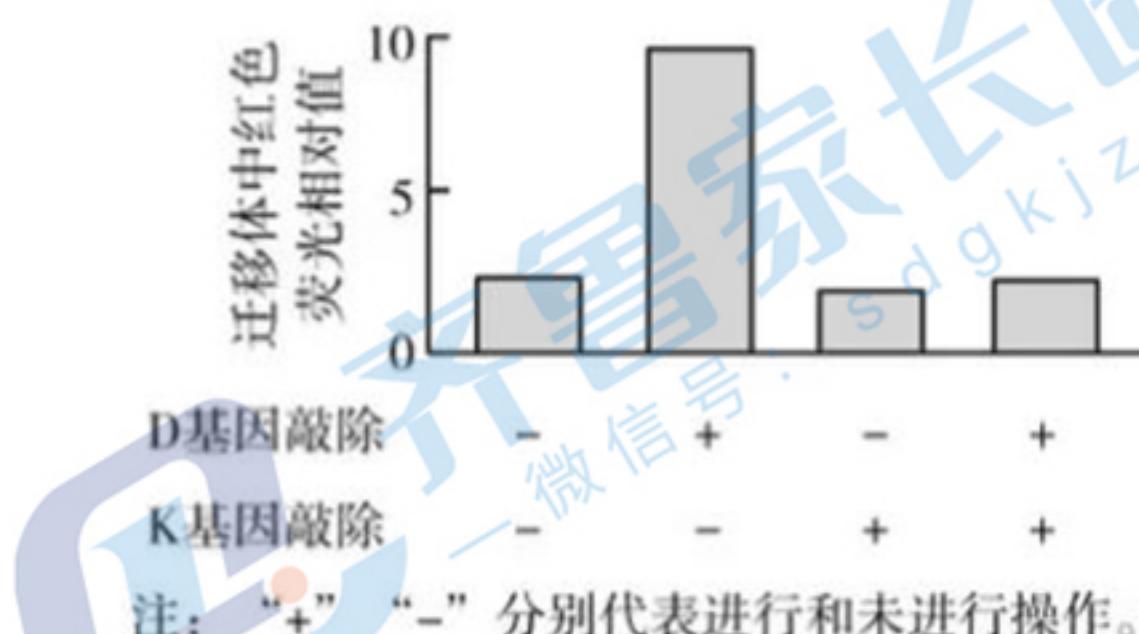


图2

图1结果表明,K蛋白的功能是_____。图2结果表明,D蛋白和K蛋白的关系及作用机理是_____。

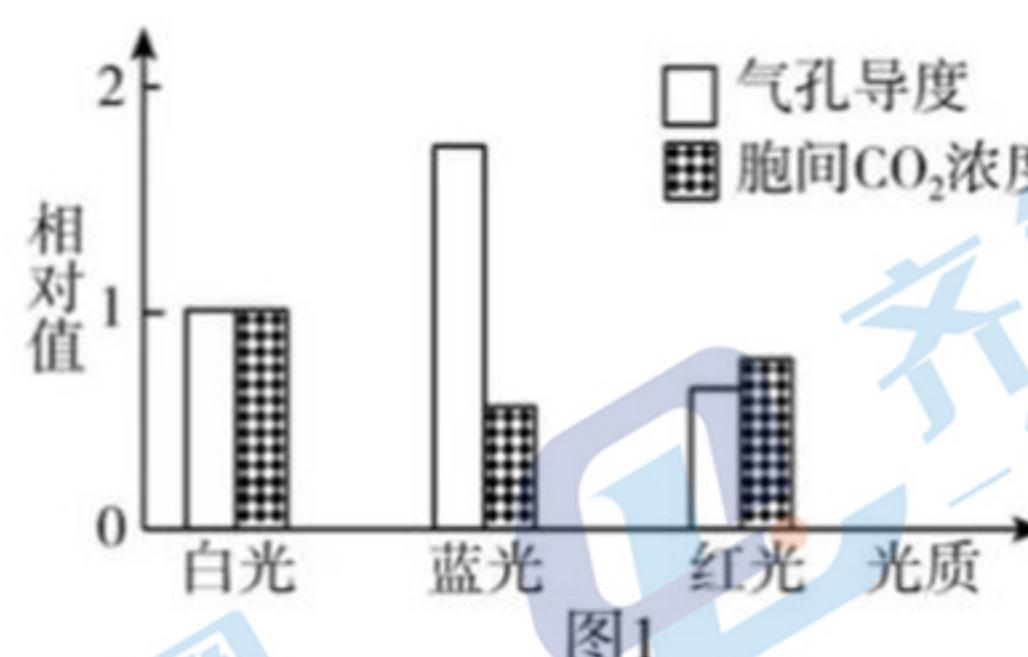
(3)研究表明,正常线粒体内膜两侧离子分布不均,形成线粒体膜电位,而受损线粒体的膜电位丧失或降低。科研人员构建了D蛋白基因敲除的细胞系,测定并计算经药物C处理的正常细胞和D蛋白基因敲除细胞系的线粒体膜电位平均值,结果如下表。

细胞类型	正常细胞	D蛋白基因敲除细胞系
细胞中线粒体膜电位的平均值(荧光强度相对值)	4.1	5.8

D蛋白基因敲除细胞系线粒体膜电位的平均值升高的原因是_____。

22.(12分)气孔是由两个保卫细胞围成的空腔,主要分布在植物叶片表皮。保卫细胞含有叶绿体,在光下可进行光合作用。研究者对气孔开闭的条件和机理进行了相关的研究。回答下列问题。

(1)研究人员以拟南芥为实验材料,在相同强度光照下进行实验,结果如图 1 所示,气孔导度大表示气孔开放程度大。



据图 1 分析,相同强度红光或蓝光照射下,单位时间内积累的有机物更多的是_____,判断依据是_____。

(2)研究表明可见光刺激植物细胞能导致淀粉水解为麦芽糖,并进一步转化为苹果酸进入液泡,促进气孔打开。研究人员欲研究蛋白质 TOR 激酶在气孔开闭中的作用及作用机理,以光照 12h/黑暗 12h 为光照周期进行实验,结果如图 2、3 所示。

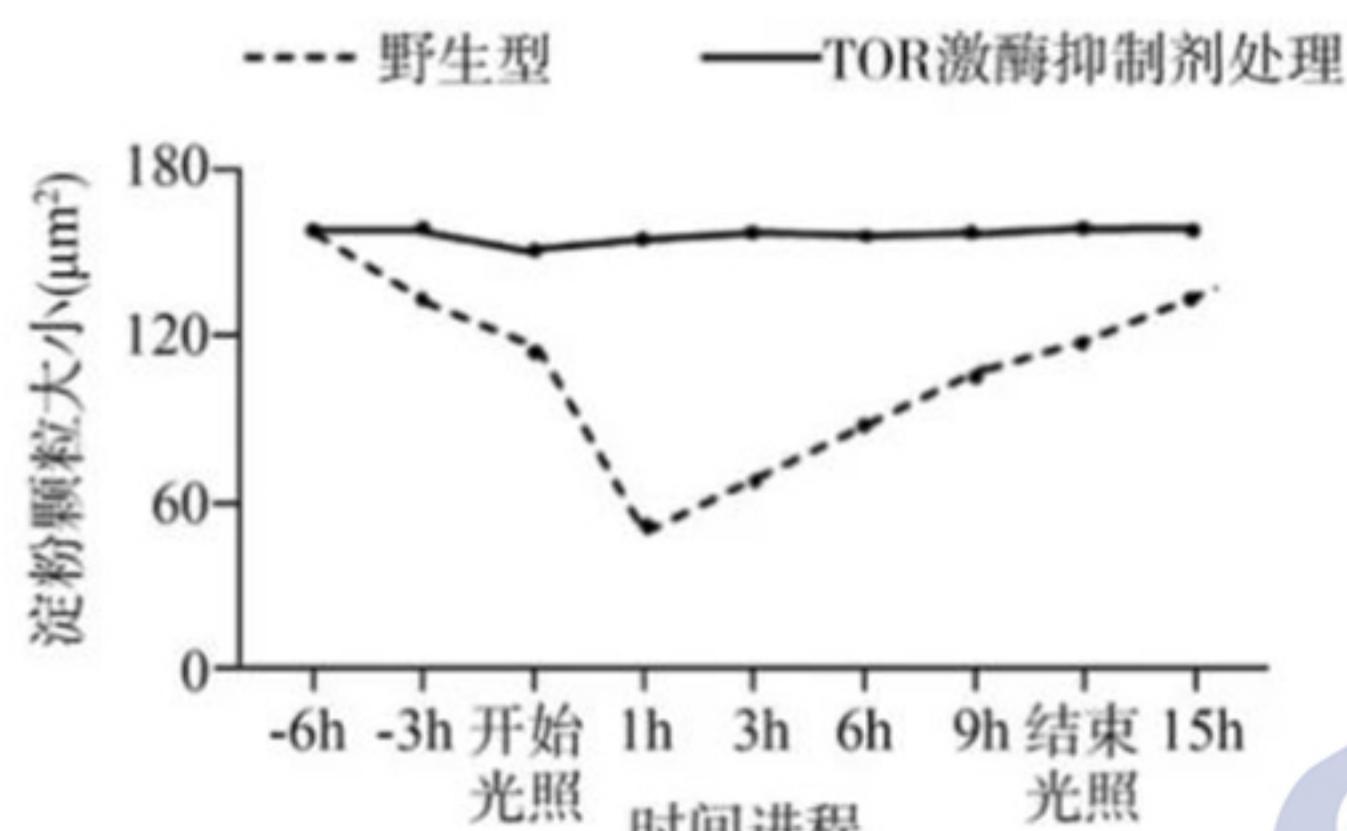


图2

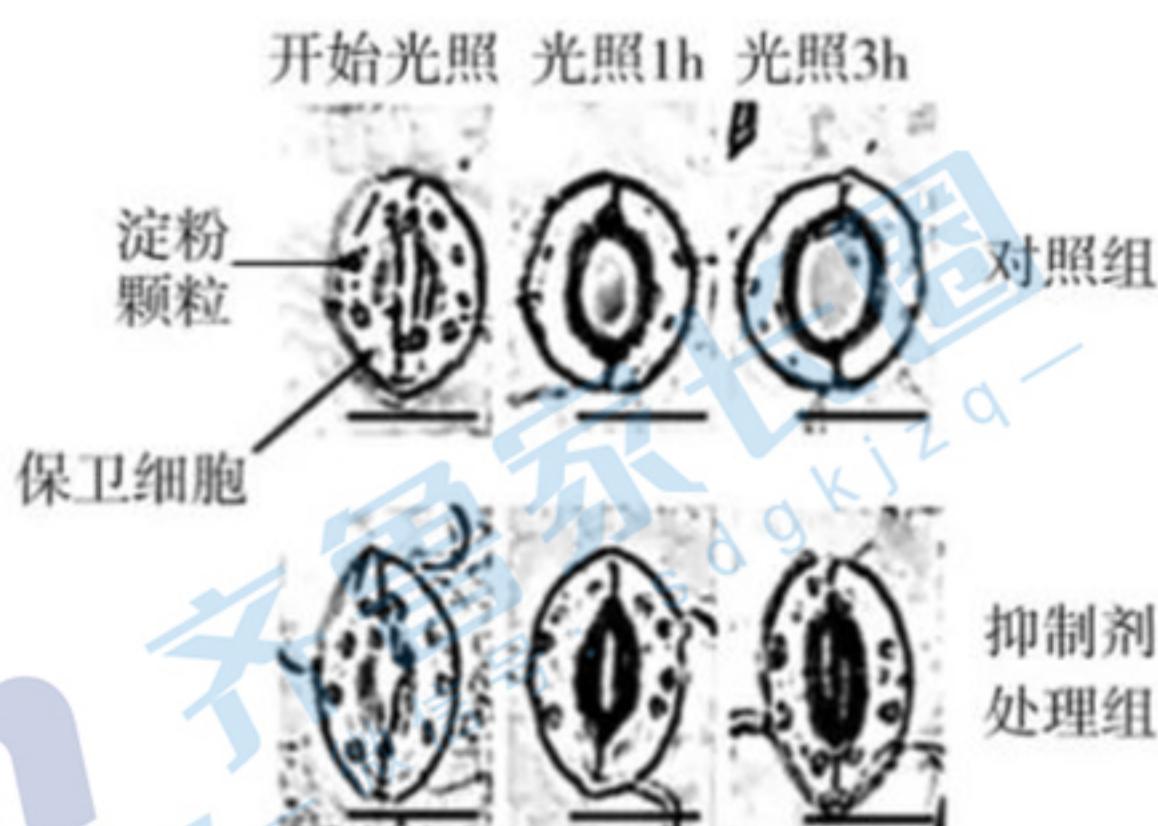


图3

该实验控制自变量的原理是_____（填“加法”或“减法”）原理，该实验的研究结论是_____。

(3)研究者用野生型和蓝光受体突变型拟南芥为实验材料，照射蓝光后，检测保卫细胞淀粉粒面积，结果如图4所示。同时检测同植株的叶肉细胞中淀粉含量，发现突变型低于野生型，分析其原因是_____。

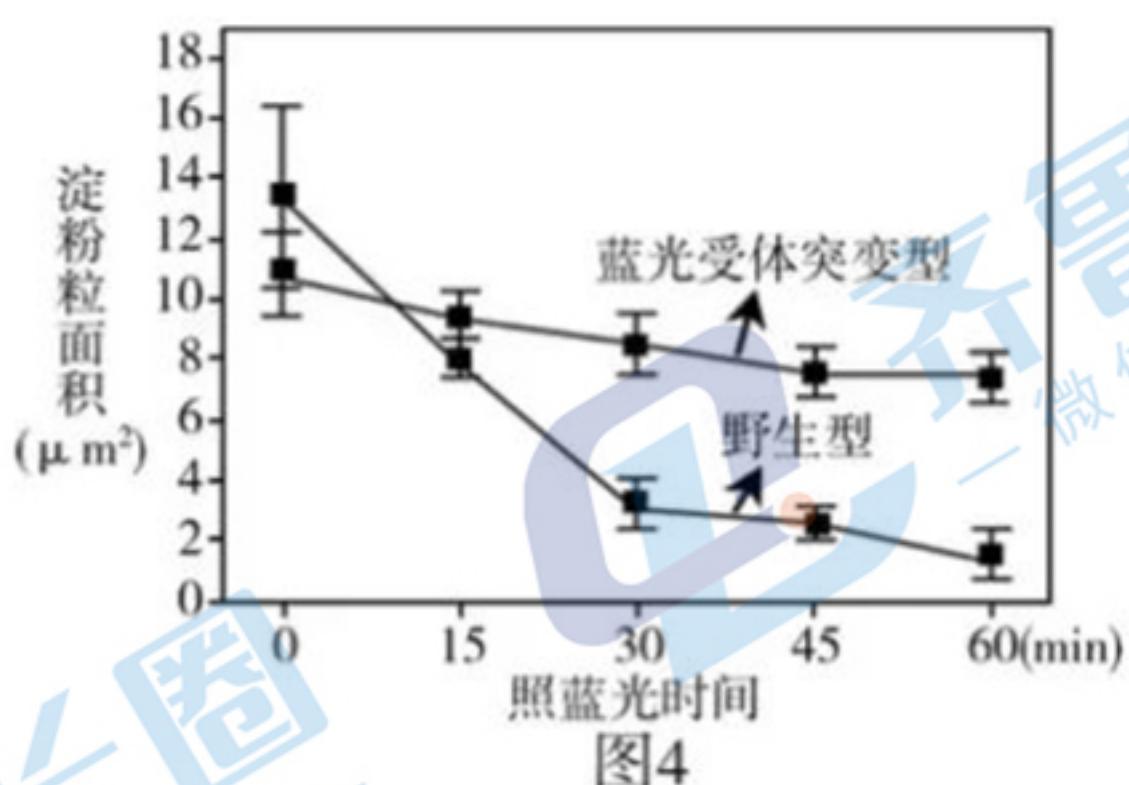
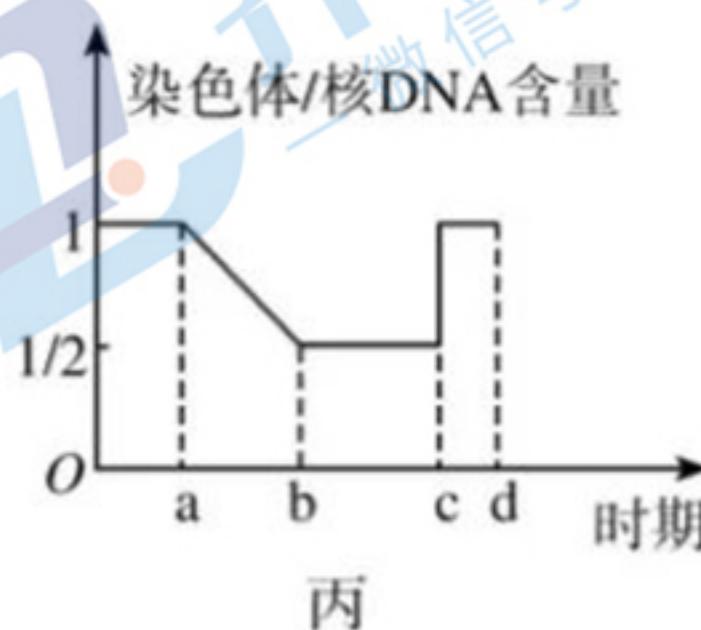
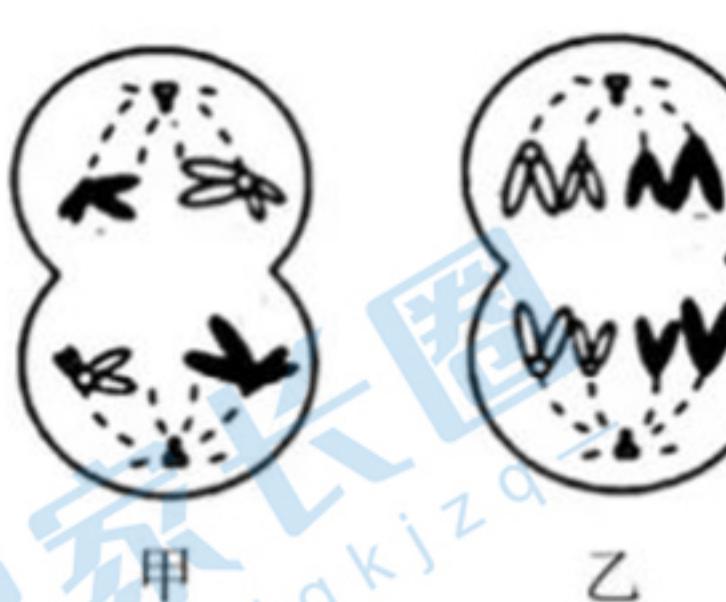


图4

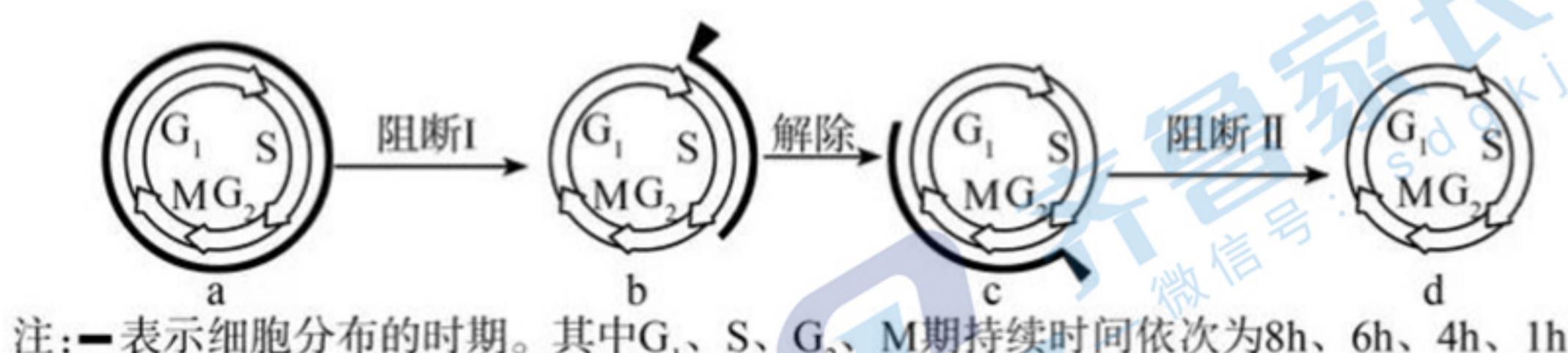
(4)已知 TOR 激酶可促进淀粉降解酶 BAM1 的表达，促进淀粉降解，从而打开气孔。研究人员为了验证蓝光通过 TOR 激酶调节淀粉代谢参与气孔运动，用一定强度蓝光处理 TOR 激酶抑制剂处理过的拟南芥植株，检测淀粉降解酶 BAM1 的相对表达量，发现淀粉降解酶 BAM1 的相对表达量降低。该实验的对照组设置应为_____。

23. (8分)甲、乙两图代表某二倍体生物某器官中细胞分裂示意图，丙图表示细胞分裂过程中染色体与核 DNA 的比值关系。回答下列问题。



- (1)该二倍体生物为_____（填“雌性”或“雄性”），判断依据是_____。丙图 ab 段细胞核内主要发生了_____。
- (2)甲图可对应丙图的_____段。与甲图相比，乙图所示细胞分裂方式对生物体的意义是_____。

(3) 同种细胞组成的细胞群体中,不同的细胞可能处于细胞周期的不同时期。胸腺嘧啶脱氧核苷(TdR)只抑制核DNA的复制,对其他时期不起作用,用TdR处理可将整个细胞群体同步到同一时期。某研究小组利用上述方法来同步化细胞周期,实验过程如图。



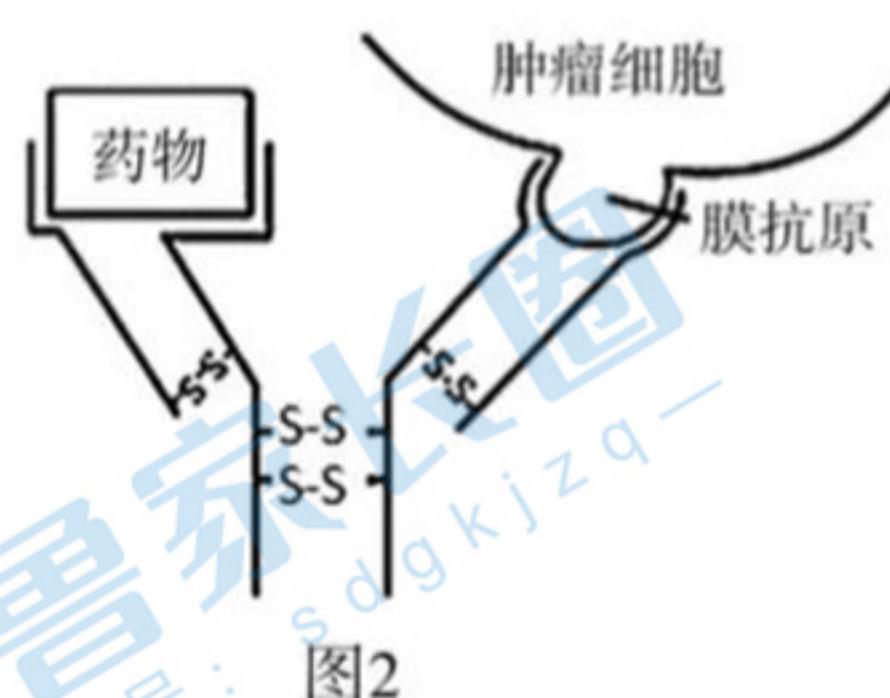
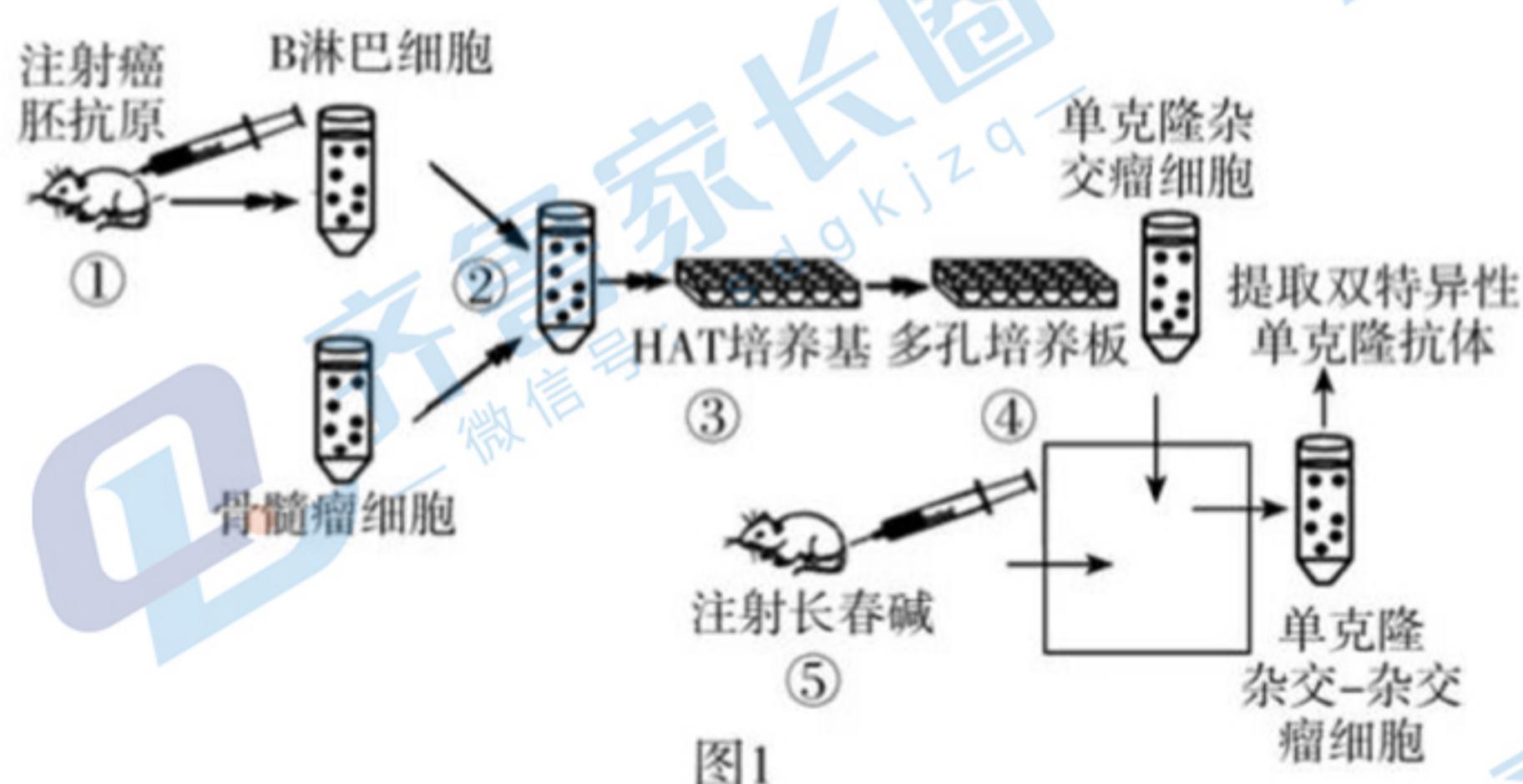
注:—表示细胞分布的时期。其中G₁、S、G₂、M期持续时间依次为8h、6h、4h、1h

①阻断Ⅰ:将连续分裂的动物细胞培养在含有过量 TdR 的培养液中,培养时间不短于 _____ h,才能使细胞都停留在上图中 b 所示的 S 期。

②解除:更换正常的新鲜培养液,培养时间应控制在 6h 至 13h 之间,才能继续进行第二次 TdR 的阻断,原因是 _____。

③阻断Ⅱ:处理与阻断Ⅰ相同。经过以上处理后,所有细胞都停留在 _____,从而实现细胞周期的同步化。

24. (11分) 双特异性抗体(BsAb)是指一个抗体分子可以与两个不同抗原或同一抗原的两个不同抗原表位相结合,双特异性抗体在自然状态下并不存在,可以通过重组 DNA 或细胞融合技术人工制备实现。长春花所含的长春碱具有良好的抗肿瘤作用。图 1 是科研人员通过免疫的 B 淋巴细胞和杂交瘤细胞杂交技术生产双特异性抗体的部分过程。图 2 是某双特异性抗体作用图示。回答下列问题。



(1) 图 1 中①步骤注射癌胚抗原的目的是 _____. 过程③所用的 HAT 培养基从用途上看属于选择培养基,在该培养基上,_____ 细胞不能生长,能生长的细胞具有的特点是 _____。

(2) 过程④中将杂交瘤细胞进行多倍稀释,接种在多孔的细胞培养板上,使每孔细胞不超过 1 个,通过培养让其增殖,然后利用 _____ 原理检测各孔上清液中细胞分泌的抗体,筛选出能分泌所需抗体的杂交瘤细胞。与传统血清抗体相比,单克隆抗体的优点有 _____。

(3) 图 1 方框内至少需要经过 _____ 次筛选,才能获取单克隆杂交—杂交瘤细胞。体外培养到一定时期的单克隆杂交—杂交瘤细胞因为 _____(答出 2 点)和培养液中营养物质缺乏等因素而分裂受阻,需进行传代培养。