

基因工程科目考试大纲

一. 参考书目

《基因克隆和 DNA 分析》魏群主编，高等教育出版社，2003 年 8 月

二. 考试内容与基本要求

第一章 为什么说基因克隆与 DNA 分析非常重要

[考试要求]

本章要求学生了解遗传学的早期发展，掌握基因工程、基因克隆的基本概念和基因克隆的基本步骤。

[考试内容]

1. 遗传学的早期发展
2. 基因克隆和聚合酶链反应（PCR）的出现
3. 什么是基因克隆

第二章 基因克隆的载体—质粒和噬菌体

[考试要求]

本章要求学生掌握质粒的基本特性和 λ 噬菌体的侵染循环过程及 COS 位点的作用原理。

[考试内容]

1. 质粒
 - 一 质粒的基本特性
 - 二 大小和拷贝数
 - 三 结合性和相容性
 - 四 质粒的种类
2. 噬菌体
 - 一 噬菌体的基本特性
 - 二 溶源性噬菌体
 - 三 病毒在其他生物体中作为克隆载体的应用

第三章 从活细胞中纯化 DNA

[考试要求]

本章要求学生掌握全细胞 DNA 制备的基本步骤；了解 CTAB 法和异硫氰酸胍法从植物细

胞提取 DNA 的基本原理;重点掌握基于构造的分离方法中碱裂解法提取质粒 DNA 的基本原理及质粒扩增的基本原理;了解噬菌体 DNA 的制备的基本内容。

[考试内容]

1. 全细胞 DNA 的制备

- 一 细菌培养物的生长和收集
- 二 细胞提取物的制备
- 三 从细胞提取物中纯化 DNA
- 四 DNA 取样的浓缩
- 五 DNA 浓度的测量
- 六 从细菌以外的生物体制备全细胞 DNA

2. 质粒 DNA 的制备

- 一 基于分子大小的分离
- 二 基于构造的分离
- 三 质粒扩增

3. 噬菌体 DNA 的制备

- 一 培育培养物以获得高 λ 密度
- 二 非溶源性 λ 噬菌体的制备
- 三 从被侵染培养物中收集噬菌体
- 四 从 λ 噬菌体颗粒中纯化 DNA
- 五 M13 噬菌体 DNA 的纯化带来的几个问题 λ 噬菌体

第四章 DNA 纯化后的利用

[考试要求]

本章要求学生掌握 DNA 操作酶及其作用特点;掌握限制性内切酶的性质和作用原理;掌握限制性内切酶在实验室条件下进行酶切及对酶切结果进行分析;DNA 连接酶的作用模式和如何将粘末端加在平末端分子上。

[考试内容]

1. DNA 操作酶的范围

- 一、核酸酶
- 二、连接酶
- 三、聚合酶

四、DNA 修饰酶

五、拓扑异构酶

2. 切割 DNA 的酶限制性内切酶

一、限制性内切酶的发现和其功能

二、限制性内切酶 II 在特定的核苷酸序列处切割 DNA

三、平末端和黏末端

四、DNA 分子中识别序列的出现频率

五、在实验室条件下进行限制性酶切

六、对限制性酶切的酶切结果进行分析

七、DNA 分子大小的估计

八、通过作图标出一个 DNA 分子上的不同限制性酶位点

3. 连接——将 DNA 分子连接到一起

一、DNA 连接酶的作用模式

二、黏末端可增加连接的效率

三、将黏末端加在平末端分子上

第五章 将 DNA 引入活细胞

[考试要求]

本章要求学生掌握大肠杆菌感受态细胞的制备和转化细胞的选择方法；掌握重组体的鉴定方法之一——抗生素抗性基因插入失活的方法和基本原理；掌握重组体的鉴定方法之二——lacZ ‘基因的插入失活的方法和基本原理；掌握将噬菌体 DNA 引入细菌细胞的方法。

[考试内容]

1. 转化——使细菌细胞获取 DNA 基因

一、并非所有种类的细菌都以相同的效率获取 DNA

二、大肠杆菌感受态细胞的制备

三、对转化细胞的选择

2. 重组体的鉴定

一、pBR322 重组体的筛选——抗生素性基因的插入失活

二、插入失活不仅仅针对于抗生素抗性

3. 将噬菌体 DNA 引入细菌细胞

一、转染

二、体外包装

三、琼脂培养基上的噬菌斑是噬菌体侵染的可视化形式

第六章 大肠杆菌的克隆载体

[考试要求]

本章要求学生掌握大肠杆菌的克隆载体、M13 噬菌体的克隆载体及 λ 噬菌体的克隆载体的性质和用途；掌握 λ 噬菌体的克隆载体的性质和用途；了解构建基因组文库的基本步骤和大容量克隆载体及其他细菌的克隆载体。

[考试内容]

1. 基于大肠杆菌质粒的克隆载体

一、质粒克隆载体的命名法

二、pBR322 的一些有用特性

三、pBR322 的家谱

四、基于大肠杆菌质粒的克隆载体

五、其他典型的大肠杆菌质粒克隆载体

2. 基于 M13 噬菌体的克隆载体

一、M13mp2 克隆载体的开发

二、M13mp7—对称的克隆位点

三、更复杂的 M13 载体

3. 基于 λ 噬菌体的克隆载体

一 可以从 λ 噬菌体基因组移除部分片段而不损伤其生存能力

二 可以用自然选择来筛选那些缺少酶切位点的 λ 噬菌体

三 插入载体和置换载体

四 用 λ 插入载体或置换载体进行克隆实验

五 可以用黏端质粒对非常大的 DNA 片段进行克隆

4. λ 载体和其他高容量的载体使基因组文库得以建立

5. 其他细菌的克隆载体

第七章 真核生物的克隆载体

[考试要求]

本章要求学生重点掌握基于 2μ m 质粒构建的母克隆载体的结构和用途、高等植物的克

隆载体中根癌农杆菌转化法的基本知识；掌握高等植物的克隆载体中根癌农杆菌转化法的；了解外源 DNA 的直接转化法和动物克隆载体的使用。

[考试内容]

1. 酵母和其他真菌的载体
 - 一、2 μ m 质粒的筛选标记
 - 二、基于 2 μ m 质粒的载体—酵母游离型质粒
 - 三、YE_p 可以插入酵母的染色体 DNA
 - 四、其他类型的酵母克隆载体
 - 五、可以用酵母人工染色体来克隆大片段 DNA
 - 六、其他酵母和真菌载体
2. 高等植物的克隆载体
 - 一、根癌农杆菌—自然界最小的遗传工程师
 - 二、用直接转化法在植物中克隆基因
 - 三、用植物病毒作克隆载体的尝试
3. 动物的克隆载体
 - 一、昆虫的克隆载体
 - 二、在哺乳动物中克隆基因

第八章 怎样获得特定基因的克隆

[考试要求]

本章要求学生重点掌握直接筛选目的基因的方法和策略、标志获救的定义以及标志获救的范围与局限。

[考试内容]

1. 筛选的难题
2. 直接筛选目的基因
 - 一、标志获救扩大了直接筛选的范围
 - 二、标志获救的范围与局限
3. 从基因文库中鉴定克隆
 - 一、基因文库
 - 二、并非所有的基因都同时表达
 - 三、mRNA 可以通过 cDNA 进行克隆

4. 鉴定克隆的方法

一、 互补核酸链的相互杂交

二、 用于菌落和噬菌斑的杂交探针技术

三、 杂交探针实际应用的例子

四、 基于检测克隆基因产物的鉴定技术

第九章 聚合酶链反应(PCR)

[考试要求]

本章要求学生重点掌握 PCR 以及 PCR 的基本步骤；掌握引物设计的原则和方法、以及如何设计引物；掌握影响 PCR 反应的因素及应用。

[考试内容]

1. PCR 简介

2. PCR 的更多细节（影响 PCR 反应的因素）

一、设计 PCR 的寡核苷酸引物

二、设定正确的温度

三、PCR 之后的工作—研究 PCR 产物

3. Taq 聚合酶的错误率问题

第十章 基因克隆和 DNA 分析在研究中的应用

[考试要求]

本章要求学生了解和掌握如何定位一个基因；克隆基因转录的研究、基因表达调控的研究；掌握基因组学的基本概念、了解组学的应用。

[考试内容]

1. 基因的位置和结构的研究

一、如何定位一个基因

二、DNA 测序

2. 基因表达和功能的研究

一、克隆基因转录的研究

二、仅表达调控的研究

3. 基因组研究

一、基因组学

二、后基因组学

三、转录组学和蛋白质组学的研究

第十一章 克隆基因的表达

[考试要求]

本章要求学生了解和掌握大肠杆菌中基因表达的三个重要信号以及表达重组蛋白存在的问题；了解真核细胞中重组蛋白的表达（在酵母中表达重组蛋白、在动物细胞中表达重组蛋白以及在植物细胞中表达重组蛋白等内容）。

[考试内容]

1. 大肠杆菌中外源基因的表达载体
 - 一、大肠杆菌中基因表达的三个重要信号
 - 二、启动子是表达载体的关键部分
 - 三、序列盒和基因融合
2. 在大肠杆菌中表达重组蛋白存在的问题
 - 一、由外源基因序列产生的问题
 - 二、大肠杆菌带来的问题
3. 真核细胞中重组蛋白的表达
 - 一、用酵母和丝状真菌表达重组蛋白
 - 二、在动物细胞中表达重组蛋白
 - 三、从植物中获得重组蛋白

第十二章 基因克隆和 DNA 分析在医学中的应用

[考试要求]

本章要求学生掌握怎样通过基因克隆生产重组药物；了解如何通过 DNA 重组技术来鉴定遗传性疾病相关基因，以及怎样设计新的药物来治疗这些疾病。

[考试内容]

1. 重组药物的生产
 - 一、重组胰岛素
 - 二、在大肠杆菌中合成人生长激素
 - 三、重组凝血因子Ⅷ
 - 四、其他人类蛋白质的合成
 - 五、重组疫苗
2. 人类疾病相关基因的识别和鉴定

一、如何识别遗传病基因

3. 基因治疗

一、遗传病的基因治疗

二、基因治疗与癌症

三、基因治疗带来的伦理问题

第十三章 基因克隆和 DNA 分析在农业中的应用

[考试要求]

本章要求学生掌握基因添加、基因消滅和基因编辑的概念，了解通过此类方法如何改良农作物的性状；了解基因工程技术在农业生产中应用及需要解决的问题。

[考试内容]

1. 植物基因工程中的基因添加

一、抗虫植物自己合成杀虫剂

二、其他利用基因添加的例子

2. 基因消滅

一、反义技术的原理

二、反义 RNA 与耐贮藏转基因番茄

三、在植物基因工程中利用反义 RNA 的其他例子

四、转基因植物的问题

3. 转基因植物的问题

一、选择性标记的安全性

二、转基因植物可能对环境产生的危害