

重组 DNA 技术的基本工具 学习任务单

任务一 初步设计“培养荧光斑马鱼”实践方案

研读以下资料，寻找“工具”，解决问题

【资料 1】20 世纪 50 年代，科学家发现细菌能识别入侵的 DNA 并将其水解，此现象被称为限制。1970 年，科学家在细菌中发现了第一个限制性内切核酸酶（简称限制酶），它能够精准地“切割”外源 DNA 分子。

【资料 2】1967 年，科学家发现，在细菌拟核 DNA 之外的质粒有自我复制能力，并可以在细菌细胞间转移。质粒是一种环状双链 DNA 分子，经科学家改造后，可以从细胞中取出和导入，也可整合到真核细胞的染色体 DNA 上，不会对细胞产生不利影响。

【资料 3】任何生物的细胞 DNA 都有可能损伤断裂，很多情况下细胞能自我修复，科学家推测细胞中存在连接 DNA 分子的酶。1967 年，世界上几个实验室几乎同时发现一种能够将两个 DNA 分子连接起来的酶，称之为 DNA 连接酶。

学生活动 1：初步设计“培养荧光斑马鱼”实践方案

要求：在小白板上完成流程图

任务二 模型构建重组 DNA 分子，体验分子工具的作用

学生活动 2：阅读限制酶“使用说明”，尝试将 GFP 基因从 DNA 分子上剪切下来

限制酶名称	识别序列及切割位点（箭头处）	补充说明
<i>EcoR</i> I (红色剪刀模拟)	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' -G A A T T C -3' \\ 3' -C T T A A G -5' \\ \uparrow \end{array}$	在 G 和 A 之间切割
<i>Bam</i> H I (黑色剪刀模拟)	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5' -G G A T C C -3' \\ 3' -C C T A G G -5' \\ \uparrow \end{array}$	在 G 和 G 之间切割

【资料卡】限制酶 *EcoR* I 是从大肠杆菌(*Escherichia coli*)的 R 型菌株分离出来的第一种限制酶。

交流：

- 1、你选择了什么颜色的剪刀进行剪切？为什么？
- 2、你剪断的是哪两个核苷酸之间的化学键？扎带表示什么化学键？
- 3、剪切后产生的末端是否平整？如果不平整，这一段单链 DNA 的碱基序列是怎样的（从 5' → 3'）？

活动体悟：限制酶的作用是什么？

学生活动 3：将 GFP 基因与质粒拼接，构建重组 DNA 分子

设计：你们选择用限制酶_____来切割质粒。

操作：两两合作，将你们的 GFP 基因模型与质粒模型拼接。

交流：你选择了哪种限制酶切割质粒，理由是什么？

活动体悟：为什么质粒上要有一个或多个限制酶切位点？

【资料卡】DNA 连接酶是催化两个 DNA 片段之间形成磷酸二酯键，主要有两类：一类是从大肠杆菌中分离得到的，称为 *E. coli* DNA 连接酶，该酶只能将具有互补黏性末端的 DNA 片段连接起来；另一类是从 T4 噬菌体中分离出来的，称为 T4 DNA 连接酶，既可以“缝合”双链 DNA 片段互补的黏性末端，又可以“缝合”双链 DNA 片段的平末端，但连接平末端的效率相对较低。