

生物科学
生物技术
系 列

Diagrammatizing for Modern Genetics Experiment

普通高等教育“十一五”规划教材

图解现代遗传学实验

王春台 主编



化学工业出版社

普通高等教育“十一五”规划教材

图解现代遗传学实验

Diagrammatizing for Modern Genetics Experiment

王春台 主编



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目(CIP)数据

图解现代遗传学实验/王春台主编. —北京: 化学工业出版社, 2009.1
普通高等教育“十一五”规划教材
ISBN 978-7-122-04259-0

I. 图… II. 王… III. 遗传学-实验-高等学校-教材
IV. Q3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 190434 号

责任编辑: 赵玉清
责任校对: 王素芹

文字编辑: 周 侗
装帧设计: 风行书装

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 刷: 北京云浩印刷有限责任公司
装 订: 三河市前程装订厂
850mm×1168mm 1/32 印张 4 $\frac{1}{4}$ 彩插 4 字数 111 千字
2009 年 3 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 12.00 元

版权所有 违者必究

本书编写人员

主编 王春台

副主编 刘新琼 刘学群

参加编写人员 王春台 刘新琼 刘学群 龚汉雨

谭艳平 陈 雁 余光辉

前 言

遗传学是一门实验性的学科，它的每一步发展都是以实验为基础的，因而实验教学是遗传学教学中非常重要的组成部分。在多年的实验教学基础上，作者经综合汇总编写了《图解现代遗传学实验》。该书坚持理论联系实际的原则，将遗传学众多经典实验在实际中的应用进行了认真的探索和改进，内容翔实丰富，覆盖面广，是一本非常重视实践的教材，同时也是与教育部生物技术特色专业建设及 2007 年高等学校省级教学研究项目“现代遗传学实验‘模块化超市’教学模式的研究与实践”配套的教材。其内容主要包括细胞遗传学综合实验模块、经典有性杂交综合实验模块、微生物遗传学综合实验模块、群体遗传学综合实验模块、分子遗传学综合实验模块共五大模块，26 个实验。

该书的编写凝聚了编者及其团队共同的心血，编写中参考了近十年来国内外多个版本相关实验教材及近年来大量的科研成果，力求集实验性、科学性、研究性于一体，具有如下一些特点：

1. 以实验流程图的形式阐述操作步骤，使教学更为直观，便于学生正确地按照流程操作实验；
2. 增加相关实验图片，使教学更加形象生动，有利于学生的理解和掌握；
3. 实验中强调探索性，调动学生的思维能力，加大开放性实验比例；
4. 注重实验中经验的介绍，使学生少走弯路；
5. 增加相关背景知识的介绍，扩大学生的知识面；
6. 强调实验课后的总结，使实验教学体系更完整。

该书既强调遗传学基础实验方法的训练和基本规律的论证，同时也涉及近年来迅速发展的实验技术。既注重对学生进行基本技能

的训练，更注重学生实验设计能力和科研素质的培养。强调理论与实践相结合，培养和锻炼学生运用所学知识解决实际问题的能力。

该书结构设计新颖，强调对每个实验中主要内容的预习，以避免学生在实验中简单地照方抓药，使学生真正理解实验的原理、方法和步骤。同时该书还特别针对每个实验中的注意事项等经验性的知识进行介绍，以确保学生实验取得成功，迅速提高实验技能。该书作者是多年从事遗传学实验教学的高校教师，对所论述的方法具有丰富的教学经验。相信该书能够成为遗传学及相关学科工作者在教学、生产实践和研究中不可缺少的伙伴。

编者

2008年10月于中南民族大学

目 录

I. 细胞遗传学综合实验模块	1
实验一 植物有丝分裂标本制备与染色体核型分析	1
实验二 减数分裂花粉母细胞制片及观察	10
实验三 蝗虫精母细胞减数分裂制片及观察	17
实验四 姊妹染色单体分染技术	19
实验五 植物染色体分带技术	25
实验六 蚕豆根尖微核检测技术	29
实验七 小鼠骨髓细胞染色体标本制作	34
实验八 植物多倍体人工诱导	38
实验九 果蝇唾腺染色体的制备与观察	42
实验十 巴氏小体的观察与染色体疾病	47
II. 经典有性杂交综合实验模块	50
实验十一 红色面包霉的杂交	50
实验十二 果蝇的性状、生活史观察及饲养	55
实验十三 果蝇的单双因子、伴性遗传及三点实验	68
实验十四 高等植物有性杂交	74
III. 微生物遗传学综合实验模块	80
实验十五 细菌转导(局限性转导)	80
实验十六 大肠杆菌的重组子遗传分析	86
实验十七 大肠杆菌诱变处理与营养缺陷型筛选	90
IV. 群体遗传学综合实验模块	96
实验十八 人群中 PTC 味盲基因频率的分析	96
实验十九 人类群体一些遗传性状的调查和分析	98

V. 分子遗传学综合实验模块	101
实验二十 植物组织总 DNA 的提取及 DNA 的浓度测定	101
实验二十一 碱裂解法抽提质粒 DNA	103
实验二十二 植物基因组 DNA 的酶切及目的片段的回收	106
实验二十三 DNA 的体外连接	109
实验二十四 大肠杆菌感受态细胞的制备、重组 DNA 的转化	112
实验二十五 重组克隆的快速鉴定	116
实验二十六 小鼠 SRY 基因的 PCR 扩增	117
附录 主要试剂	122
参考文献	127

I. 细胞遗传学综合实验模块

实验一 植物有丝分裂标本制备与染色体核型分析

第一部分 植物染色体压片法

一、实验目的

1. 学习并掌握根尖处理、染色、压片及制片观察的方法。
2. 观察有丝分裂各时期染色体的形态变化，了解有丝分裂全过程。

二、实验原理

高等植物有丝分裂主要发生在根尖、茎尖生长点及幼叶等器官的分生组织（分生区），其中根尖是最常用的材料。

1. 根尖取材容易，操作和鉴定比其他器官与组织方便。
2. 实验室内采用种子萌发后所长出的新鲜幼嫩根尖，不受植物生长季节的影响和限制，并且可以大量获得。
3. 对于某些珍贵而又稀少的实验材料，取用自然条件下生长植株的根尖，比取用茎尖、花器等对材料的伤害要小得多。
4. 采用实验室内种子发根，切取根尖后的种苗通常还可以进行正常种植，有利于后续研究的进行。

有丝分裂期在整个细胞周期中所占的时间相对较短，有丝分裂制片的主要目的是进行染色体鉴定，希望观察到更多分裂相，尤其是中期分裂相，所以通常要对材料进行不同的预处理。预处理主要通过抑制和破坏纺锤丝的形成来获得更多的中

期分裂相，同时，预处理还可改变细胞质的黏度，促使染色体缩短和分散，便于压片和观察。常用的预处理有物理法、化学法、混合处理法等。

植物细胞的细胞壁对细胞形态和结构起支撑和保护作用，分生组织的细胞壁结构将分生细胞结合成一个整体，因此在压片之前需要采用适当方法软化或部分分解细胞壁使细胞间易于分离，这一操作称为解离。同时，解离也可适当清除部分细胞质，使细胞质背景趋于透明化，便于观察染色体。常用的解离方法主要有酸解法和酶解法。

酸解法：步骤简便、容易掌握。根尖分生组织经过酸解和压片后，都呈单细胞状态，但大部分分裂细胞的染色体还包在细胞中间。酸解法广泛用于染色体计数、核型分析和染色体畸变的观察及相关分析。

酶解法：常用于染色体显带技术或姊妹染色单体交换研究。在普通光学显微镜下观察染色体形态结构还需要对材料进行染色，通常采用染色体染色效果好而细胞质着色少的碱性染料、酸性染料或孚尔根试剂染色。

三、实验材料

蚕豆 (*Vicia faba*, $2n=2x=12$) 根尖。

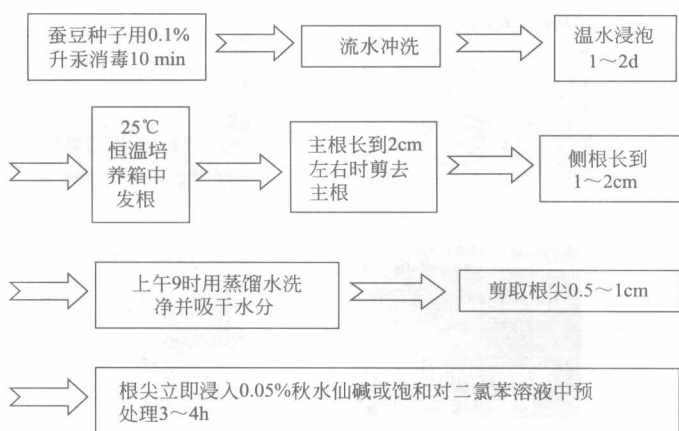
四、实验器具、试剂

显微镜、恒温培养箱、水浴锅、计时器、培养皿、酒精灯、小烧杯、试管、青霉素瓶、载玻片、盖玻片、镊子、剪刀、刀片、解剖针、吸水纸、纱布、标签、铅笔、橡皮等常用工具。

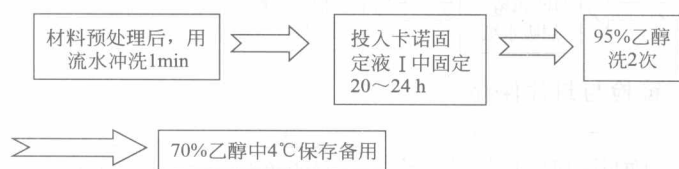
0.05%秋水仙碱（或饱和对二氯苯溶液）、卡诺固定液 I、改良石炭酸品红染液、95%乙醇、70%乙醇、0.1%升汞、1mol/L 盐酸。

五、实验方法

1. 发根和预处理



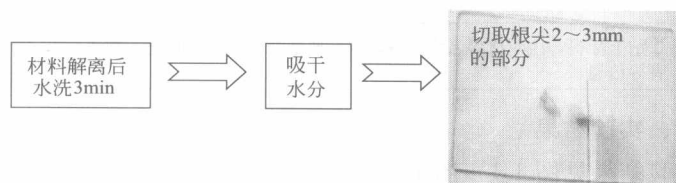
2. 固定

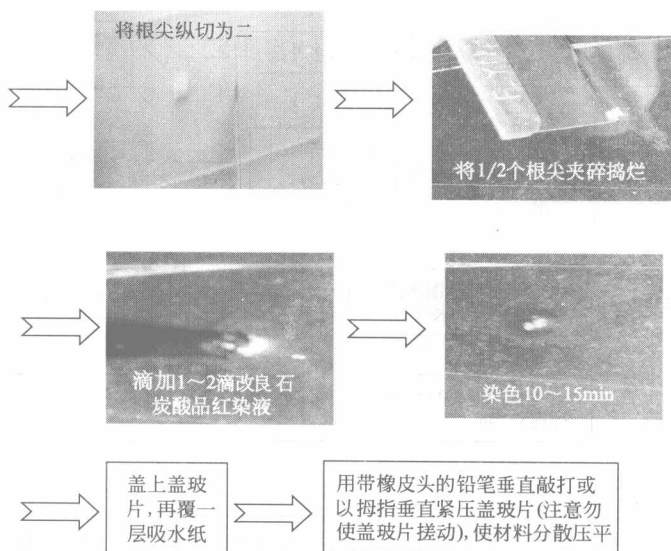


3. 解离

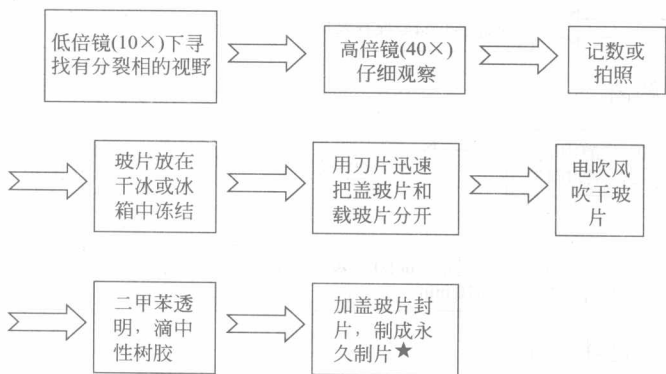


4. 染色并压片





5. 镜检与封片保存



★ 贴上标签,注明材料名称、有丝分裂典型时期、制片时间、制作者等信息。

六、实验结果

实验结果见图 1-1~图 1-5。

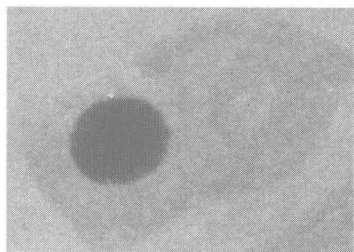


图 1-1 间期 (见彩插)

在光学显微镜下, 只看到均匀一致的细胞核及许多的丝状染色质。实质上间期的核是处于高度活跃的生理生化的代谢阶段, 正为细胞分裂准备条件

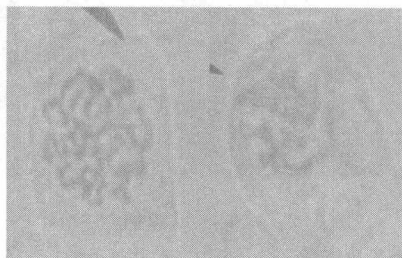


图 1-2 前期 (见彩插)

核内染色质逐渐浓缩为细长而卷曲的染色体, 每一染色体含有两个染色单体, 它们具有一个共同的着丝点; 核仁和核膜逐渐模糊不明显

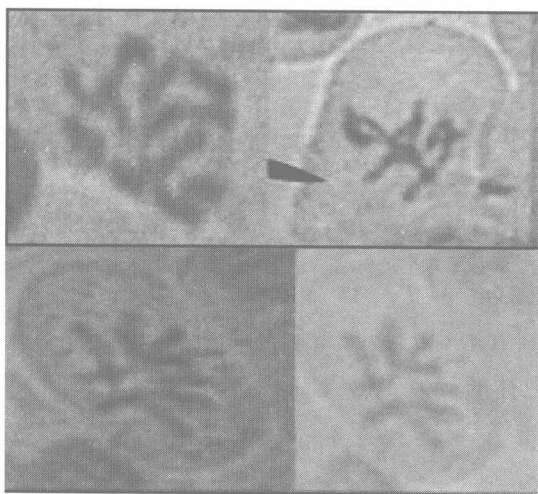


图 1-3 中期 (见彩插)

核仁、核膜逐渐消失, 各染色体排列在赤道板上, 纺锤丝与染色体的着丝点相连。染色体分散, 易于鉴定形态、数目

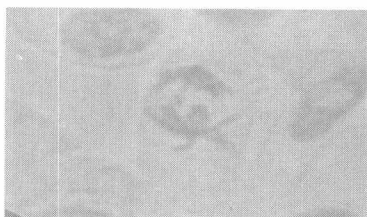


图 1-4 后期 (见彩插)

各染色体着丝点分裂为二, 其每条染色单体也相应地分开, 并各自随着纺锤丝的收缩而移向两极, 每极有一组染色体, 数目和原来的相同

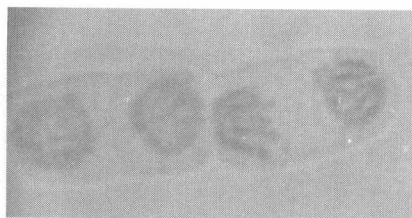


图 1-5 末期 (见彩插)

分开在两极的染色体各自组成新的细胞核, 在细胞质中央赤道板处形成新的细胞壁, 使细胞分裂为二, 形成 2 个子细胞。这时细胞进入分裂间期

七、注意事项

1. 材料中的酒精和解离液都要清洗干净, 并认真吸干, 否则影响解离和染色效果。

2. 染色时间 10min 是参考时间, 应以实际染色效果判断。

3. 镊子敲打时, 应用力均匀, 开始不要太重, 避免细胞挤压在一起。

用力太轻不易使细胞处于同一平面, 故应适当控制敲打力度。

八、思考题

1. 制作细胞有丝分裂前、中、后、末各期的制片一张, 中期应能数清染色体数。贴上标签, 注明材料名称、染色方法、制片日期和制作者姓名。

2. 绘制所观察到有丝分裂典型时期的染色体图像, 并简要说明各时期染色体的行为变化和特征。

第二部分 染色体核型分析

一、实验目的

1. 学习和掌握核型分析的方法。

2. 进一步了解染色体形态特征、在细胞分裂中的联会现象

以及染色体组、核型及染色体数目、结构变异与生物进化的关系。

二、实验原理

各种生物染色体的形态、结构和数目都是相对稳定的。每一细胞内特定的染色体组成称为染色体组型。从染色体玻片标本或染色体照片上的染色体的对比分析，进行染色体分组，并对组内各染色体的长度、着丝点位置、臂比和随体有无等形态特征进行观测和描述，从而阐明生物的染色体组成，确定其染色体组型，这一过程称为染色体组型分析，也称核型分析。因为核型分析能明确识别各个染色体的特征，通过核型分析可以了解不同物种、同一物种不同亚种或不同品种甚至同一品种不同个体之间染色体结构的差异，有助于基因定位及其他遗传分析。

三、实验材料

黑麦 (*Secale cereals*, $2n = 2x = 14$) 根尖有丝分裂中期照片 (图 1-6)。

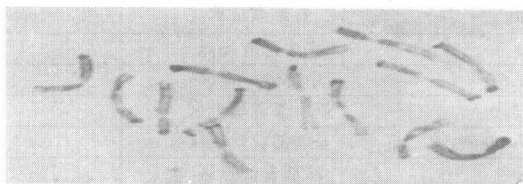


图 1-6 黑麦根尖有丝分裂中期照片

四、实验器具

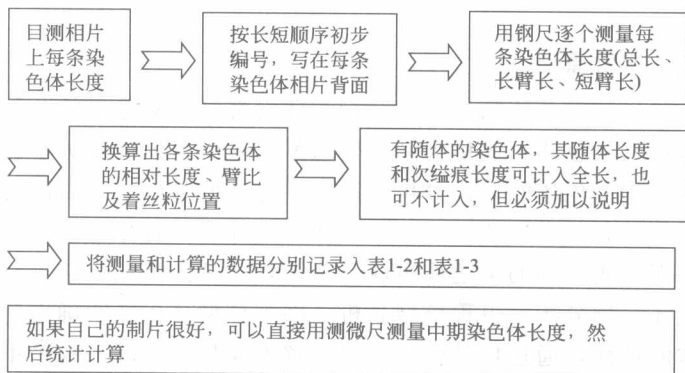
不锈钢尺、小剪刀、小镊子、绘图纸、粘剂、坐标纸等。

五、实验方法

1. 准备染色体标本的相片

细胞轮廓清楚，染色体分散，主、次缢痕和随体清晰，染色体长度适中而不弯曲的染色体标本，通过显微摄影、冲洗、放大染色体相片

2. 染色体测量



染色体总长度：整个染色体组全部染色体长度之和。

相对长度：每一条染色体的长度与染色体总长度的百分比。

臂比：长臂长度与短臂长度之比。

染色体分类标准见表 1-1。

表 1-1 染色体分类标准

臂比值	着丝点位置	表示符号
1.00	正中部着丝点	M
1.01~1.70	中部着丝点区	m
1.71~3.0	亚中部着丝点区	sm
3.01~7.00	亚端部着丝点区	st
7.01~∞	端部着丝点区	t
∞	端部着丝点	T

表 1-2 核型分析实测记录表

序号 (条)	实测长度/mm			序号 (条)	实测长度/mm		
	长臂	短臂	臂比		长臂	短臂	臂比
1				8			
2				9			
3				10			
4				11			
5				12			
6				13			
7				14			

表 1-3 核型分析计算表

序号 (条)	实测长度/mm			相对长度/%			臂比	染色体 类型
	长臂	短臂	全长	长臂	短臂	全长		
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
总和								

3. 排列核型图

按上述标准及计算结果，将照片上的染色体剪贴配对，重新编号。着丝粒排在同一水平线上，短臂在上，长臂在下。排列好后进行分析比较，确定其核型是否正常。若要准确细致分析，必须进一步运用染色体显带技术。

4. 绘制核型模式图

根据前面的计算结果和排列的核型图，用绘图纸和坐标纸（坐标纸放在绘图纸下面）绘制核型模式图。横坐标为染色体序号，纵坐标为染色体（臂）的相对长度，“0”为长臂、短臂的分界线，长臂在下，短臂在上，按短臂长度从长到短排列。

六、实验结果

实验结果见图 1-7。



图 1-7 黑麦第 1~7 号同源染色体的带型配对