

生物科学
生物技术
系 列

Genetics Experiments

普通高等教育“十二五”规划教材

精品课程教材

遗传学实验

赵凤娟 姚志刚 主编



遗传学实验

基因型 表现型 表现



1. 拟南芥 2. 菠菜 3. 玉米 4. 小麦 5. 大豆 6. 棉花 7. 豌豆 8. 花旗松 9. 果蝇 10. 斑马鱼 11. 小鼠 12. 酵母

普通高等教育“十二五”规划教材
精品课程教材

遗传学实验

赵凤娟 姚志刚 主编



化学工业出版社
·北京·

图书在版编目 (CIP) 数据

遗传学实验/赵凤娟, 姚志刚主编. —北京: 化学工业出版社, 2012.5

ISBN 978-7-122-13950-4

I. 遗… II. ①赵… ②姚… III. 遗传学-实验
IV. Q3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 066371 号

责任编辑：刘 畅 赵玉清

装帧设计：尹琳琳

责任校对：边 涛

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 装：大厂聚鑫印刷有限责任公司

710mm×1000mm 1/16 印张 9 字数 165 千字 2012 年 7 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：20.00 元

版权所有 违者必究

《遗传学实验》编写人员名单

主 编 赵凤娟 姚志刚

副主编 郭 彦 张韩杰 曾万勇 刘雪红

编 者 (按姓氏拼音排序)

陈兆贵 郭 彦 刘雪红 王 陶

姚志刚 曾万勇 张韩杰 张伟伟

赵凤娟 郑美娟

前　　言

遗传学是研究生物遗传和变异规律的科学，是生命科学各个分支学科中较为重要的基础学科，同时它也是一门实践性很强的学科，很多的遗传和变异现象及规律是从生产实践中发现和总结出来的。实验课是理论联系实际，培养和训练学生掌握科学思维方法、实事求是的科学态度与独立的科研动手能力的重要环节和手段。

目前国内已有多种版本的遗传学实验教材出版，如适合综合类、农业以及师范院校等需要的遗传学实验教材，但专门面向应用型本科院校生命科学相关专业学生的遗传学实验教材还比较缺乏，而应用型本科院校已成为中国高等教育的重要组成部分，其在推进高等教育大众化、多样化、地方化、应用性进程方面的作用正日益显现。因而由化学工业出版社发起，主要由在全国各类应用型本科院校从事遗传学教学工作的教师分工、协作编写了本书。

整个教材分为三部分：第一部分基础性实验，涵盖了经典遗传、细胞遗传、微生物遗传、数量和群体遗传、分子遗传等方面的内容，共 20 个实验；第二部分综合性实验，共 5 个实验；第三部分研究性实验，共 5 个实验。此外，本教材还附有实验室常用染色液和溶液的配制、常用培养基成分和卡方值分布表等，为教师和学生实验工作的开展提供必要的参考资料。

教材编写具体分工如下：实验一、二、七由徐州工程学院王陶老师编写；实验三、四、二十三由滨州学院刘雪红老师编写；实验五、八、十二、二十六由三峡大学郑美娟老师编写；实验六、十五、二十一由聊城大学郭彦老师编写；实验九、二十、二十九由惠州学院陈兆贵老师编写；实验十、十八、十九由滨州学院张伟伟老师编写；实验十一、二十二、二十五由武汉工业学院曾万勇老师编写；实验十三、十四、二十八由滨州学院张韩杰老师编写；实验十六、十七、二十四由滨州学院赵凤娟老师编写；实验二十七、三十由滨州学院姚志刚老师编写。

本教材既注重基础，更强调应用，将科学性、实用性、可行性统一起来，既能使教材生动活泼，又能突出学以致用的特点，适合生物科学、生物技术、生物工程、生态学、草业科学、生物化工、生物制药等本科专业学生使用。也可供其他生命科学相关专业学生参考。本教材在编写过程中还得到了滨州学院教材编写和出版基金项目的资助，在此表示感谢！

由于编者的经验和水平有限，书中的错漏和缺点在所难免，衷心期待读者的批评、指正。

编　者
2012 年 3 月

目 录

第一篇 基础性实验	1
一、经典遗传学实验	1
实验一 植物细胞有丝分裂及染色体行为的观察	1
实验二 植物细胞减数分裂及染色体行为的观察	5
实验三 果蝇的性状、生活史观察及饲养	8
实验四 果蝇的单因子和双因子杂交	12
实验五 果蝇的伴性遗传	15
实验六 玉米籽粒性状的遗传分析	18
二、细胞遗传学实验	22
实验七 植物单倍体的诱发	22
实验八 植物多倍体的诱发和鉴定	27
实验九 果蝇唾腺染色体的压片与观察	30
实验十 人类外周血淋巴细胞培养及染色体制片	32
实验十一 人体性染色质体的观察	36
三、微生物遗传学实验	38
实验十二 粗糙脉孢霉的杂交	38
实验十三 <i>E. coli</i> 的杂交	43
实验十四 <i>E. coli</i> 营养缺陷型菌株的诱发和筛选	45
四、数量和群体遗传学实验	50
实验十五 血型的遗传分析	50
实验十六 PTC 味盲基因的群体遗传分析	53
五、分子遗传学实验	56
实验十七 高等植物基因组 DNA 的提取和纯化	56
实验十八 质粒 DNA 的提取与酶切	59
实验十九 聚合酶链式反应——PCR	62
实验二十 DNA 的 Southern 印迹杂交	64
第二篇 综合性实验	71
实验二十一 高等植物有性杂交技术	71
实验二十二 植物原生质体的分离再生	76

实验二十三 植物的组织培养	78
实验二十四 重组质粒的构建、转化和蓝白筛选	84
实验二十五 哺乳类及鸟类的性别决定基因分析	89
第三篇 研究性实验	93
实验二十六 某种生物的染色体组型分析	93
实验二十七 利用微核技术检测环境污染	102
实验二十八 微生物的诱变育种	105
实验二十九 应用分子标记技术鉴定植物杂交种子的纯度	107
实验三十 人类若干体表性状的调查与遗传分析	112
附录	117
附录 A 实验室常用染色液的配制	117
附录 B 实验室常用溶液的配制	119
附录 C 实验室常用培养基的配制	122
附录 D 核酸电泳相关试剂及缓冲液的配制	128
附录 E 卡方值分布表	131
附录 F 典型实验记录设计	132

第一篇 基础性实验

一、经典遗传学实验

实验一 植物细胞有丝分裂及染色体行为的观察

【实验目的】

1. 学习和掌握植物根尖染色体玻片标本的制作方法；
2. 通过对植物细胞有丝分裂制片的观察，熟悉有丝分裂的全过程，着重了解分裂期中、后期染色体变化的特征。

【实验原理】

有丝分裂（mitosis）是真核生物细胞分裂的基本形式，也称间接分裂或核分裂。在这种分裂过程中出现由许多纺锤丝构成的纺锤体，染色质集缩成棒状的染色体。1882年，W. Fleming 最先将此种分裂方式命名为有丝分裂。通过有丝分裂，作为遗传物质的脱氧核糖核酸（DNA）得以准确地在细胞世代间相传。通过有丝分裂和细胞分化才能实现组织发生和个体发育。有丝分裂是生物体细胞增殖的主要方式。它是一个连续过程，为研究方便起见，人们依据不同时期细胞核及其内部染色体的变化特征，划分为前期（prophase）、中期（metaphase）、后期（anaphase）、末期（telophase）。在细胞两次分裂之前还有一个间期（interphase）。有丝分裂全过程图解见图 1-1。

植物根尖有丝分裂旺盛，操作和鉴定方便，故一般采用根尖作为实验材料。现简要说明各个时期细胞核及染色体的变化特征。

1. 间期

为两次分裂之间的时期，这个时期的主要特征是细胞质均匀一致，细胞核在染料的作用下核质呈均匀致密状态，有明显的核仁，染色体细长呈丝状散布于核内，一般制片在低倍镜下不可见，良好制片在高倍油镜下可以观察到一些染色较深的细小颗粒。一般认为是染色线上染色质螺旋卷曲而成的染色粒。核与质之间有核膜分开。但核膜和核质在普通生物显微镜下不能明显区分。

2. 前期

这个时期又可分为三个时期：

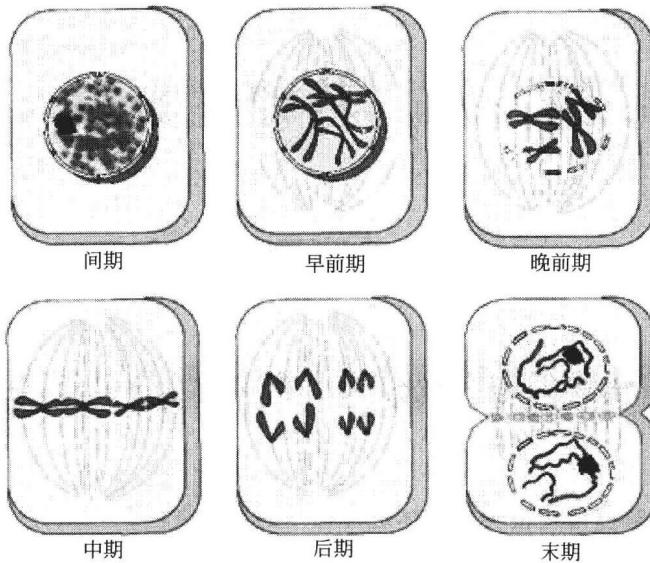


图 1-1 植物细胞的有丝分裂

- (1) 早前期 染色质开始螺旋卷曲形成非常细的丝状，分布于核内，核仁清楚。
 - (2) 中前期 染色体继续收缩，由于染色体周围基质不断增加，染色加深加粗，染色体呈连续的线状。此时染色体仍扭曲很长，并互相缠绕，故整个核内的染色体犹似一团搅乱的粗麻线，这时尚有核膜和核仁，但在普通生物显微镜下核膜一般不易见到，核仁隐约可见。
 - (3) 晚前期 染色体进一步螺旋变粗变短，呈明显的双股性，即两条染色单体由一个着丝粒相连，可见端点，染色体渐趋中央赤道面处集结，但彼此仍然缠绕，核膜、核仁逐渐消失。
3. 中期

染色体的着丝粒均处于赤道面上，染色体的两臂向两侧自由伸展，纺锤丝与着丝粒相连形成纺锤体，着丝粒未分裂，纺锤丝在一般制片中看不到，良好的制片根据细胞质着色微粒的排列可隐约见到曳引丝状分布。着丝粒位置非常清楚，其形状是一条双股性连续的染色体突然在某个地方出现不着色的透明点，好像整个染色体分成两段。中期极面观染色体排列图像形似车轮辐条状，故此期通过特殊制片方法可观察染色体的个体性。

4. 后期

染色体的着丝粒分裂，两个染色单体互相排斥分开，并由纺锤丝的曳引逐渐移向两极。

5. 末期

以分开的两组染色体到达细胞的两极为末期的开始，然后染色体重新聚集起

来平行排列，进行一系列与前期逆向的变化，染色体解螺旋化，染色体基质和鞘套（膜）消失；核仁、核膜再现，形成两个新的子核。细胞质随着核的形成不均等分裂最终形成两个新的细胞。

【实验材料】

洋葱 (*Allium cepa*, $2n=16$) 根尖。

【实验器具及试剂】

1. 实验器具

冰箱、显微镜、水浴锅、剪刀、镊子、解剖针、载玻片、盖玻片、吸水纸、烧杯、试剂瓶、培养皿、滴管、标签等。

2. 实验试剂

无水乙醇、冰醋酸、卡诺氏固定液（无水乙醇：冰醋酸=3:1）、0.002mol/L 8-羟基喹林水溶液（或饱和对二氯苯水溶液，或饱和 α -溴萘水溶液）、0.075mol/L KCl 溶液、0.1mol/L 的醋酸钠、1mol/L 盐酸、2.5% 纤维素酶和 2.0% 果胶酶水溶液、改良苯酚品红（配方参见附录 A）等。

【实验方法及步骤】

1. 根尖培养：先剪去洋葱的老根，然后将其鳞茎置于盛有水的烧杯上培养，当不定根长出 1.5~3.0cm 时，剪下备用。

2. 预处理：用 0.002mol/L 8-羟基喹林水溶液 18℃ 处理 1~1.5h。

3. 前低渗：吸去预处理液，加入 0.075mol/L KCl 溶液或水，低渗处理 10~30min。

4. 固定：将预处理后的根尖放入卡诺氏固定液，固定 2~24h 后，转入 70% 乙醇溶液，于冰箱中冷藏，但保存时间最好不超过 2 个月。

5. 解离：主要有酸解和酶解两种方法。

(1) 酸解：将根尖从固定液中取出，用蒸馏水漂洗，然后放入已经在 60℃ 水浴中预热的 1mol/L 盐酸中，在 60℃ 恒温下解离 10~15min，当根尖透明呈米黄色时取出，用蒸馏水冲洗 2~3 次。

(2) 酶解：从固定液中取出根尖，放在 0.1mol/L 的醋酸钠中漂洗，用刀片切除根冠及延长区，把根尖分生组织放到中漂洗过的根尖加入 2.5% 纤维素酶和 2.0% 果胶酶水溶液，在 37℃ 下酶解处理 70~120min，此时组织已被酶液浸透而呈淡褐色，质地柔软而仍可也用镊子夹起，用滴管将酶液吸掉，再滴上 0.1mol/L 的醋酸钠，使组织中的酶液渐渐渗出，再放入 45% 乙酸。

6. 后低渗：将解离后的根尖用蒸馏水冲洗 2~3 次，在水中停留 30min 以上，即可直接用于制片。低渗后的根尖也可换入固定液保存。

7. 染色与压片：取处理好的根尖 2~3 个置于载玻片中央，用吸水纸吸去多余的保存液，用镊子将根尖敲碎至浆状，加一小滴改良品红染液，约 2~5min

后加盖玻片。将吸水纸放在盖玻片上，用拇指轻轻在吸水纸上对根尖部位用力，使材料分散均匀。

8. 镜检：低倍镜下观察，选择细胞分散、分裂相较多以及染色体形态舒展的制片进行观察，选出典型细胞，再于高倍镜下观察。仔细观察细胞有丝分裂各时期染色体的形态并描绘下来。

【作业及思考题】

1. 制备分散良好的染色体制片。
2. 观察并绘出你所看到的细胞有丝分裂各个时期的典型图像（图 1-2），并简要说明各时期染色体的行为和变化。

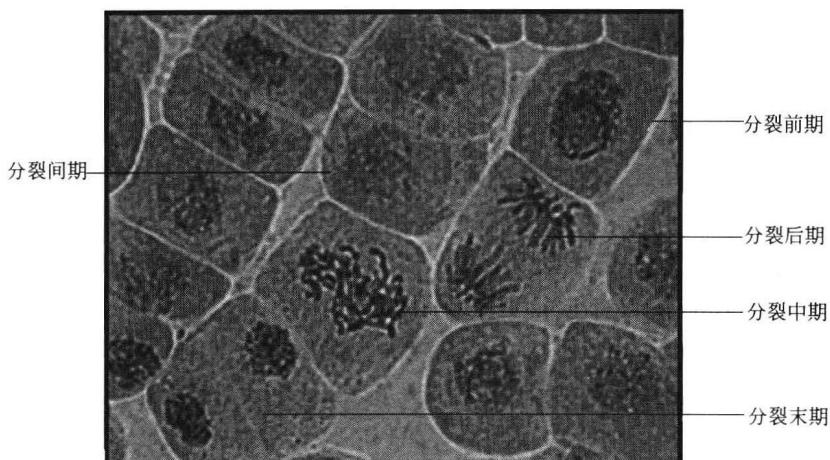


图 1-2 洋葱根尖有丝分裂不同时期的细胞学特征

3. 在高倍镜下观察统计 5 个视野内的分裂相细胞填入下表：

视野	间期	前期	中期	后期	末期	合计
1						
2						
3						
4						
5						
合计						
占观察总数的 %						

观察中所见何种分裂相细胞最少？为什么？

【参考文献】

- [1] 龚明慧. 利用蚕豆根观察植物有丝分裂 [J]. 生物学通报, 2009, 44 (9): 34.
- [2] 龚明慧. 一种洋葱快速生根的方法 [J]. 生物学通报, 2006, 41 (3): 6.
- [3] 阮竞强. 观察植物细胞有丝分裂实验的改进 [J]. 生物学通报, 2007, 42 (1): 54.
- [4] 穆平, 乔利仙. 遗传学实验教程 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2010.

- [5] 王小利, 张改生. 植物分子细胞遗传学实验 [M]. 长沙: 上海科学技术出版社, 2010.
[6] 杨大翔. 遗传学实验 [M]. 北京: 科学出版社, 2004.

实验二 植物细胞减数分裂及染色体行为的观察

【实验目的】

1. 了解高等植物配子形成过程中减数分裂的细胞学特征, 重点掌握染色体在其中的动力变化过程;
2. 学习并掌握植物减数分裂染色体玻片标本的制作方法和技术。

【实验原理】

减数分裂 (meiosis) 是生物在性细胞成熟时配子形成过程中发生的一种特殊的有丝分裂。它包括连续的两次细胞分裂阶段: 第一次分裂为染色体数目的减数分裂; 第二次分裂为染色体数目的等数分裂。两次分裂可根据染色体变化的特点分为: 前、中、后、末期, 由于第一次分裂的前期较长, 染色体变化比较复杂, 故其前期又可分为五个时期。在减数分裂的整个过程中, 同源染色体之间发生联会、交换、分离, 非同源染色体之间进行自由组合。最终分裂为染色体数目减半的四个子细胞, 从而发育为雌性或雄性配子 (n)。雌雄配子通过受精又结合成为合子, 发育为新的个体, 这样又恢复了原有的染色体数目 ($2n$)。由于不同雌雄配子染色体的重新组合, 产生了大量的遗传变异, 有利于生物的适应和进化。减数分裂全过程模式图见图 2-1。

减数分裂各时期染色体变化的特征简述如下。

1. 第一次分裂

(1) 前期 I: 可分为以下五个时期。

- ① 细线期: 核内染色体呈细长线状, 互相缠绕, 难以辨别成双的染色体。
- ② 偶线期: 同源染色体相互纵向靠拢配对, 称为联会。这样联会了的一对同源染色体, 称为二价体。偶线期表现这一特征的时间很短, 一般难以观察到。
- ③ 粗线期: 配对后的染色体逐渐缩短变粗, 含有两条姐妹染色单体, 这样一个二价体包含了四条染色单体, 故又称为四合体。在此期间各同源染色体的非姐妹染色单体间可能发生片段交换。

④ 双线期: 各对同源染色体开始分开, 由于在粗线期非姐妹染色单体之间发生了交换, 因而同源染色体在一定区段间出现交叉, 此期可清楚地观察到交叉现象。

⑤ 终变期: 染色体更为浓缩粗短, 交叉向二价体的两端移动, 核仁和核膜开始消失。此时各二价体分散在核内, 适于染色体数目的计数。

(2) 中期 I: 核仁和核膜消失, 所有二价体排列在赤道板两侧, 细胞质中出

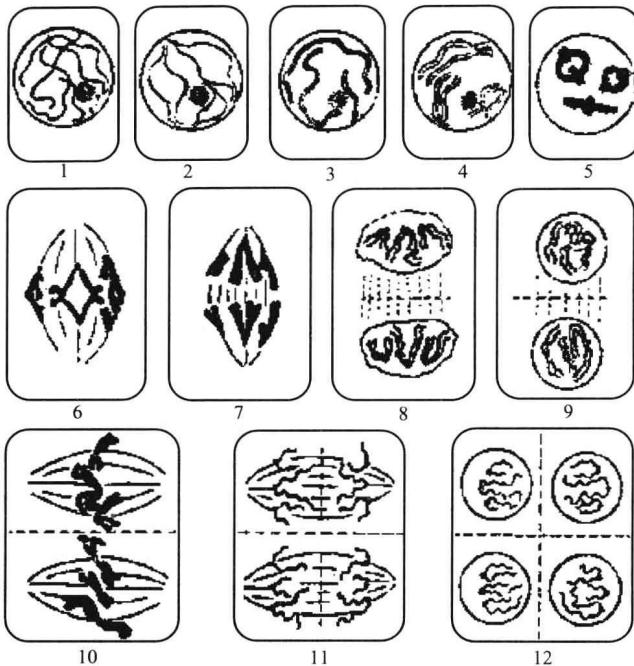


图 2-1 减数分裂全过程模式图

1. 细线期；2. 偶线期；3. 粗线期；4. 双线期；5. 终变期；6. 中期Ⅰ；
7. 后期Ⅰ；8. 末期Ⅰ；9. 前期Ⅱ；10. 中期Ⅱ；11. 后期Ⅱ；12. 末期Ⅱ

现纺锤体，每个二价体的两条染色单体的着丝粒分别趋向纺锤体的两极，此时最适染色体计数和形态特征的观察。

(3) 后期Ⅰ：二价体中的一对同源染色体开始分开。在纺锤体的作用下分别向两极移动，完成染色体数目的减半过程。此期，同源染色体的两个成员必然分离，非同源染色体间的各个成员以同等机会随机结合，分别移向两极。注意此时染色体的着丝粒尚未分裂，每条染色体含有两条染色单体。

(4) 末期Ⅰ：染色体移到两极，松开变细，核仁核膜重新出现，形成两个子核。细胞质分裂，在赤道板处形成细胞板，成为二价体。

2. 第二次分裂

(1) 前期Ⅱ：染色体又开始明显缩短，而其包含的两条染色单体分得很开，只是着丝粒仍然没有分裂。

(2) 中期Ⅱ：染色体整齐地排列在分裂细胞的赤道板上，出现纺锤体。

(3) 后期Ⅱ：染色体的着丝粒分裂为二，两条姐妹染色单体在纺锤体的牵引下分别移向两极。

(4) 末期Ⅱ：染色体分别到两极后，又重新出现核仁和核膜，同时细胞质分

裂为二，从而使一个母细胞分裂为四个子细胞，称为四分体（四分孢子），每个子细胞内只含有原来母细胞的半数的染色体（ n ）。

减数分裂中染色体的行为变化与生物的遗传变异密切相关。染色体是遗传物质的载体，因此染色体在减数分裂中的行为对遗传物质的分配和重组产生了重大影响。高等植物的性母细胞（ $2n$ ）在形成雌雄配子（ n ）过程中必须通过减数分裂。由于植物花药取材容易，操作和鉴定比较方便，故一般都采用花粉母细胞作为制片材料，在光学显微镜下观察其减数分裂过程中染色体的行为变化。植物材料的减数分裂制片通常采用涂片法，制片过程包括：取材、固定、染色及压片几个步骤。

【实验材料】

水稻幼穗（*Oryza sativa*, $2n=24$ ），玉米幼穗（*Zea mays*, $2n=20$ ）

【实验器具及试剂】

1. 实验器具

显微镜、酒精灯、载玻片、盖玻片、镊子、解剖针、刀片、吸水纸、烧杯、培养皿、标签等。

2. 实验试剂

无水乙醇、冰醋酸、卡诺氏固定液（乙醇：冰醋酸=3：1）、改良苯酚品红等。

【实验方法及步骤】

1. 取材：选取适宜的小花或小穗，是实验的关键。不同材料鉴别方法不同。一般在9~11时固定，不需预处理。

(1) 玉米雄穗的取材时间是抽穗前1~2周的大喇叭口期，即处于减数分裂期。这时用手从喇叭口处向下捏叶鞘，有松软感，即为雄花序。顶端花药长3~5mm，花药尚未变黄时取材。

(2) 水稻：幼穗当旗叶叶耳低于下一叶叶耳5~6cm开始减数分裂，两叶叶耳重叠（间距为0）时为减数分裂盛期。

2. 固定：将采集的雄穗浸入卡诺氏固定液中固定12~24h后，用95%酒精洗净醋酸气味后，保存于70%酒精中备用。

3. 制片：用解剖针从适当大小的小花内挑出花药三四个，取1枚花药放在洁净的载玻片上，用清洁刀片压在花药上向一端抹去，涂成薄层，然后加1滴改良品红染液。也可在花药上滴上染色液，然后用镊子把花药夹碎，去掉肉眼看得到的残渣，数分钟后盖上盖玻片，包被吸水纸，用大拇指均匀压片，或用铅笔的橡皮头垂直轻敲。

4. 镜检：先在低倍镜下寻找花粉母细胞，一般花粉母细胞比较大、圆形或扁圆形，细胞核大、着色较浅。而一些形状较小，整齐一致，着色较深的细胞是花药壁细胞。观察到有一定分裂相的花粉母细胞后，用高倍镜观察减数分裂各时

染色体的行为和特征。

【注意事项】

1. 取材时间的早晚是实验成功与否的关键步骤之一，必须适时取材。
2. 不同部位的花粉粒的成熟程度不同，取材时注意避免选取相同部位的材料，以便观察到更多的分裂相。

【作业及思考题】

1. 绘制所观察到的减数分裂在四个时期的图像，并简述其特征。
2. 说明在减数分裂过程中，哪些染色体行为在遗传上具有重要意义。
3. 通过实验观察，学会区分植物花粉母细胞与花药壁细胞，并说明各自的特点。

【参考文献】

- [1] 穆平, 乔利仙. 遗传学实验教程 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [2] 王小利, 张改生. 植物分子细胞遗传学实验 [M]. 长沙: 上海科学技术出版社, 2010.
- [3] 杨大翔. 遗传学实验 [M]. 北京: 科学出版社, 2004.

实验三 果蝇的性状、生活史观察及饲养

【实验目的】

1. 了解果蝇生活史及各个阶段的形态特征，掌握果蝇的雌、雄成虫和几种常见突变性状的主要区别方法；
2. 学习实验果蝇培养基的配制、饲养管理以及实验处理方法和技术，为果蝇的杂交实验做准备。

【实验原理】

果蝇 (fruit fly) 是双翅目 (Diptera)，果蝇科 (Drosophilidae) 昆虫，该科包括 60 多个属，其中果蝇属 (*Drosophila*) 是最常见的属，我国已发现 800 余种。果蝇广泛存在于温带及热带地区，主食为腐烂水果中的酵母菌。它是研究遗传学的好材料，尤其在基因分离、连锁、交换等方面的研究更是广泛而充分，通常作遗传学实验材料的是黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*)。果蝇用作实验材料有许多优点。

- (1) 饲养容易：在常温下，以玉米粉等为饲料就可以生长繁殖。
- (2) 生长迅速：在 23~25℃ 下，9~11d 就可以完成一个世代，每个受精的雌蝇可产卵 400~500 个，因此在短期内就可以获得大量子代，便于遗传学分析。
- (3) 染色体数目少：只有 4 对， $2n=8$ 。
- (4) 唾腺染色体制作容易，横纹清晰，是遗传学研究的好材料。
- (5) 突变性状少，而且多数是形态突变，便于观察。

黑腹果蝇为双翅目昆虫，具完全变态。生活史包括受精卵、幼虫 (1~3

龄)、蛹、成虫四个发育阶段(图 3-1)。

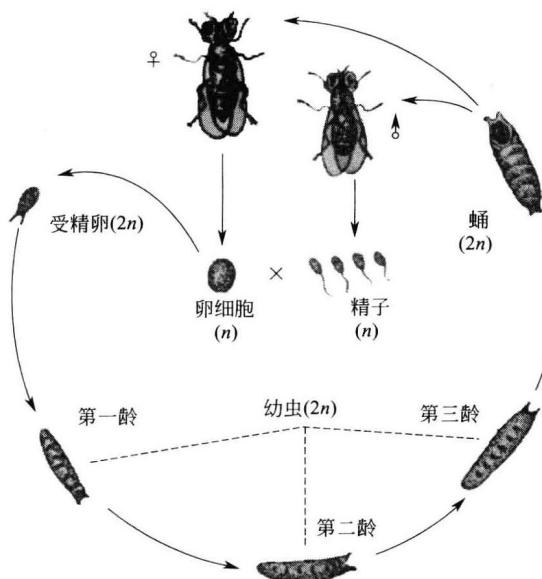


图 3-1 果蝇的生活周期

果蝇的生活周期长短与温度关系很密切，30℃以上能使果蝇不育和死亡，低温则使它生活周期延长，同时生活力也减低，果蝇培养的最适温度20~25℃，约15d，见表3-1。

表 3-1 不同温度下的果蝇生活周期

温度 状态	10℃	15℃	20℃	25℃
卵→幼虫			8d	5d
幼虫→成虫	57d	18d	6.3d	4.2d

【实验材料】

实验室饲养的果蝇品系若干。

【实验器具及试剂】

1. 实验器具

解剖镜、放大镜、麻醉瓶、培养瓶、死蝇瓶、镊子、棉塞、生化培养箱、海绵板、白瓷板、解剖针、毛笔、放大镜、恒温培养箱。

2. 实验试剂

乙醚、琼脂、蔗糖、玉米粉、酵母粉、丙酸(苯甲酸)。

【实验方法及步骤】

1. 果蝇生活史观察