

遗传学实验教程

王建波 方呈祥 鄢慧民 章志宏 编



遗传学实验教程

王建波 方呈祥 鄢慧民 章志宏 编



全国优秀出版社
武汉大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

遗传学实验教程/王建波等编. —武汉:武汉大学出版社, 2004. 2
ISBN 7-307-04116-2

I. 遗… II. 王…[等] III. 遗传学—实验—高等学校—教材 IV. Q3-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 125125 号

责任编辑:黄汉平 责任校对:刘欣 版式设计:支笛

出版发行:武汉大学出版社 (430072 武昌 珞珈山)

(电子邮件:wdp4@whu.edu.cn 网址:www.wdp.whu.edu.cn)

印刷:武汉理工大印刷厂

开本:787×1092 1/16 印张:10.625 字数:254千字

版次:2004年2月第1版 2004年2月第1次印刷

ISBN 7-307-04116-2/Q·76 定价:16.00元

版权所有,不得翻印;凡购我社的图书,如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请与当地图书销售部门联系调换。

前 言

自 1900 年孟德尔定律被重新发现以来,遗传学取得了很大的发展,阐明了许多遗传学现象和规律,特别是进入 21 世纪之后,线虫、果蝇、拟南芥、水稻等动植物与人类基因组计划的初步完成,更加突出遗传学在生命科学中的核心与前沿学科地位。遗传学的迅速发展也对遗传学理论和实验教学工作提出了更高的要求,为了适应学科发展趋势,国内部分专家已编写出版了若干部遗传学教材,并在教学工作中广泛应用,但根据遗传学进展编写的实验方面的教材仍较缺乏。

众所周知,遗传学与生命科学其他分支学科一样,是一门实验性的学科。遗传学本身的发展离不开大量设计周密的实验研究,同样,遗传学教学中也必须重视实验教学环节。通过实验教学,不仅可以使学生加深对遗传学现象和规律的认识,还可以培养学生进行遗传学及相关学科研究工作的能力,这也正是我们编写这本实验教材的目的。

根据遗传学教学内容和要求,并考虑国内高等学校的实验教学条件,我们选择编写了 49 项实验内容,涵盖经典遗传学、细胞遗传学、微生物遗传学及分子遗传学等领域,既有验证性实验,使学生从个体形态、细胞、染色体到分子水平,逐渐加深对遗传学知识的理解,也有综合性、探索性实验,使学生了解遗传学不同层次水平研究工作的方法和技术,培养他们的思维和动手能力,各学校可根据教学内容和实验条件选择完成书中的实验项目。

本书的编写与出版得到武汉大学教务部和出版社的大力支持,被列为武汉大学“十五”规划教材。编写过程中参阅了国内外部分遗传学教材和有关实验技术指导,在此向这些著作的作(译)者表示衷心的感谢,同时感谢宋文贞、周云珍、沈小玲同志在实验设计与实施过程中的大力协助。

遗传学实验技术发展很快,新的研究方法与技术不断涌现,加之编者知识水平有限,书中遗漏和错误之处在所难免,热情欢迎读者不吝批评指正,以便在今后进行修订。

编 者

2004 年 1 月

内 容 提 要

遗传学是一门实验性学科，实验操作在教学中起着重要作用。根据遗传学教学内容和要求，本书选择编写了 49 个实验项目，涵盖经典遗传学，如关于模式动物果蝇的多项实验等；细胞遗传学，如减数分裂中染色体行为的观察、动植物有丝分裂染色体标本制备等；微生物遗传学，如细菌的诱发突变、转化、转导等；分子遗传学，如细胞核及细胞器 DNA 的提取、利用分子标记分析植物的遗传多样性等领域。

本书可作为综合性大学、师范院校、农林院校、医学院校等生命科学领域本科生遗传学实验教材。

目 录

实验 1	果蝇遗传性状的观察	1
实验 2	果蝇的单因子杂交	6
实验 3	果蝇的两对因子杂交	9
实验 4	果蝇的伴性遗传	11
实验 5	果蝇的三点测交与遗传作图	14
实验 6	果蝇 X 染色体隐性突变的检出	18
实验 7	环境对果蝇基因表达的效应	21
实验 8	果蝇数量性状的遗传分析	24
实验 9	果蝇唾液腺染色体制片	29
实验 10	小鼠骨髓细胞有丝分裂染色体制片	33
实验 11	人外周血淋巴细胞的培养及染色体制片	35
实验 12	人类细胞中巴氏小体的观察	38
实验 13	人类染色体组型分析	40
实验 14	植物有丝分裂染色体压片技术	43
实验 15	去壁低渗法制备植物染色体标本	45
实验 16	植物染色体组型分析	47
实验 17	植物多倍体的人工诱导	50
实验 18	植物原生质体的分离和培养	53
实验 19	植物细胞微核检测技术	56
实验 20	减数分裂的观察	59
实验 21	粗糙脉胞菌顺序四分子分析	64
实验 22	紫外线对枯草芽孢杆菌的诱变效应	68
实验 23	亚硝基胍的诱变作用与营养缺陷型菌株的筛选	71
实验 24	细菌的接合作用与基因转移	77
实验 25	大肠杆菌质粒 DNA 的转化	80
实验 26	P ₁ 噬菌体的普遍性转导	83
实验 27	λ 噬菌体的局限性转导	87
实验 28	酵母菌原生质体的融合	90
实验 29	细菌质粒 DNA 的大量制备	93
实验 30	快速少量提取质粒 DNA 的改良方法——TENS 法	96
实验 31	λ DNA 的制备与纯化	98
实验 32	并发转导与基因定位——三点杂交	101

实验 33	细菌接合与基因定位——中断杂交	104
实验 34	缺失定位——基因精细结构分析	107
实验 35	λ 噬菌体 DNA 限制性内切酶图谱分析	111
实验 36	基因互补测验	115
实验 37	动物基因组总 DNA 的分离	118
实验 38	植物基因组总 DNA 的分离——CTAB 法	121
实验 39	植物基因组总 DNA 的分离——CTAB 微量法	123
实验 40	植物基因组总 DNA 的分离——SDS 法	125
实验 41	DNA 纯度、浓度及分子量的检测	127
实验 42	植物细胞线粒体 DNA 的提取	130
实验 43	植物细胞叶绿体 DNA 的分离纯化	133
实验 44	真核生物基因组 DNA 的限制性内切酶反应	136
实验 45	DNA 的琼脂糖凝胶电泳及向尼龙膜的转移	138
实验 46	DNA 探针的非同位素标记	141
实验 47	探针与尼龙膜上 DNA 的 Southern 杂交	144
实验 48	随机扩增多态性 DNA 分析	147
实验 49	植物细胞总 RNA 的分离	151
附录 1	果蝇培养基的配制	154
附录 2	染液的配制	155
附录 3	菌种名录	156
附录 4	细菌培养基的配制	157
附录 5	粗糙脉胞菌培养基的配制	160
参考文献		162

实验 1 果蝇遗传性状的观察

果蝇是在世界各地常见的昆虫，属于昆虫纲，双翅目，果蝇科，果蝇属。果蝇属 (*Drosophila*) 有 3 000 多种，我国已发现 800 多种，遗传学研究中通常用的是黑腹果蝇 (*D. melanogaster*)。作为遗传学研究的材料，果蝇具有非常突出的优点。它形体小，生长迅速，繁殖率高，饲养方便；世代周期短（约 12d 即可繁殖一代）；突变性状多；染色体数目少，基因组小；实验处理十分方便，容易重复实验，便于观察和分析。果蝇的遗传学研究广泛而深入，尤其在基因分离、连锁、互换等方面十分突出，为遗传学的发展作出了突出的贡献。目前果蝇仍然是遗传学、细胞生物学、分子生物学、发育生物学等研究中常用的模式动物。

一、实验目的

1. 掌握果蝇的基本特征及鉴别雌、雄果蝇的方法，熟悉常见突变型。
2. 了解果蝇生活周期特征及各阶段的形态变化。

二、实验材料

野生型和几种常见的突变型黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*)。

三、仪器设备

双筒立体解剖镜，培养瓶（粗平底试管或牛奶瓶）及麻醉瓶（与培养瓶一致的空瓶），白瓷板，毛笔。

四、药品试剂

乙醚，玉米粉，酵母粉，蔗糖，丙酸。

五、实验内容和步骤

（一）生活周期的观察

果蝇是完全变态昆虫，其完整的生活周期可分为 4 个明显的时期，即卵、幼虫、蛹和成虫（图 1-1）。用放大镜从培养瓶外即可观察到这四个时期，也可取出用立体解剖镜仔

细观察。

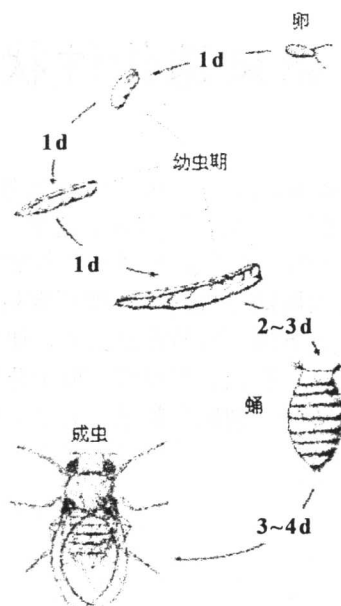


图 1-1 果蝇的生活周期

果蝇的生活周期长短与温度关系很密切，低温使生活周期延长，生活力减低，高于 30°C 使果蝇不育甚至死亡。果蝇培养的最适温度为 $20\sim 25^{\circ}\text{C}$ ， 25°C 培养条件下果蝇从受精卵到成虫约 10d，其中卵和幼虫期 5d，蛹 4d。成虫果蝇在 25°C 时约成活 15d。

卵：受精卵白色，椭圆形，腹面稍扁平，长约 0.5mm，在前端背面伸出一触丝，它能使卵附着在食物上。

幼虫：受精卵经 24h 就可孵化成幼虫，幼虫经两次蜕皮到第三龄期体长可达 4~5mm。肉眼观察可见幼虫一端稍尖为头部，上有一黑色钩状口器。

蛹：幼虫 4d 左右即开始化蛹。化蛹前三龄幼虫停止摄食，爬到相对干燥的表面（如培养瓶壁），渐次形成一个菱形的蛹，起初颜色淡黄、柔软，以后逐渐硬化变成深褐色，此时即将羽化。

成虫：刚从蛹壳中羽化出来的果蝇，虫体较肥大，翅还未展开，体表也未完全几丁质化，所以呈半透明的乳白色。透过腹部体壁还可以观察到消化道和性腺。约 1h 后蝇体即变为粗短椭圆形，双翅伸展，体色加深，如野生型果蝇初为浅灰，后变成灰褐色。

成虫果蝇自羽化后 8h 即可交配。雄果蝇的精子可贮存于雌果蝇的受精囊，以后逐渐释放到输卵管。雌蝇 2d 后即开始产卵。最初几天每天可产 50~70 个，随后逐渐减少。

（二）果蝇的形态特征和常见的突变类型

1. 果蝇雌雄性别的鉴别

雌雄成蝇在一些形态结构上的区别很明显，可以通过放大镜或直接观察进行鉴别。只有雄性果蝇在腹尖下侧具可识别的外生殖器，但是太微小，难以直接观察辨认。通常在分辨雌雄果蝇时，综合各种形态特征进行观察确定（参见表 1-1，图 1-2）。

表 1-1 雌雄果蝇的形态特征比较

	雌果蝇	雄果蝇
大小	大	小
形态	腹部宽厚呈卵圆状，腹端稍尖	腹部相对窄小呈柱状，腹部呈钝圆形
颜色	腹部背面外观呈宽度相近的 5 条黑色条纹	腹背只能看到 3 条条纹，上部两条窄一些，后一条宽且延伸至腹面，呈一明显黑斑
性梳	无性梳	在第一对足的跗节基部有一黑色鬃毛结构，形似一小梳，即性梳

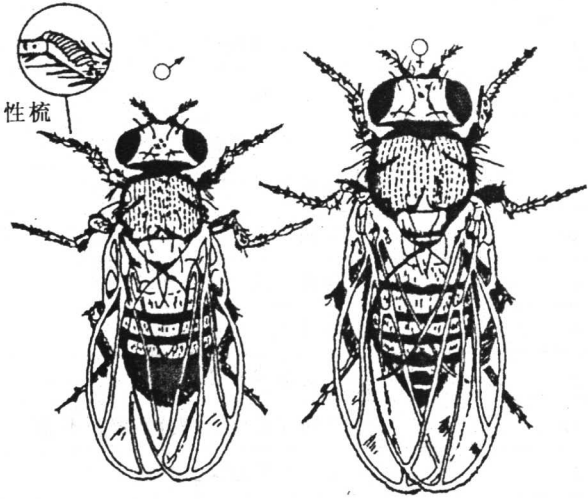


图 1-2 雄性和雌性成虫果蝇的形态学特征

2. 一些常见的突变性状

果蝇的突变性状很多，已知的达几百种，并且随着研究的深入会发现或诱变产生更多的突变性状。果蝇的许多突变都是明显而稳定的，而且大多是形态变异，容易观察。图 1-3 和表 1-2 列出若干常见的突变性状及其基因符号等，以供参考。

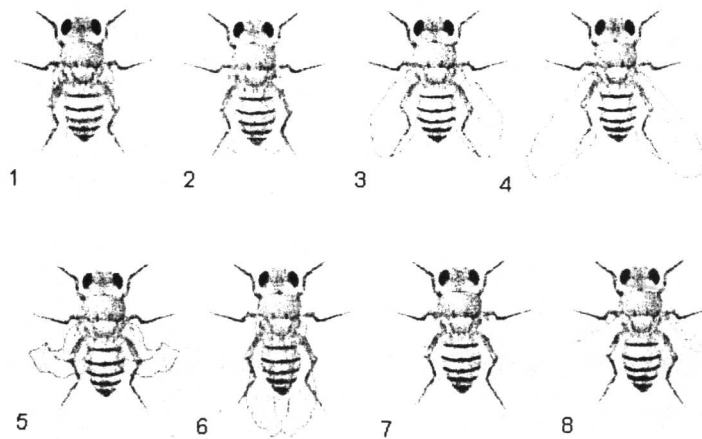


图 1-3 野生型果蝇及几种翅膀突变体

1. 野生型；2. 短圆翅 (dp)；3. 叶状翅 (D)；4. 弯曲翅 (c)；5. 卷曲翅 (cu)；6. 扇贝状翅 (sd)；7. 无翅 (ap)；8. 残翅 (vg)

表 1-2

果蝇部分突变性状

突变性状	基因符号	性状特征
棒眼 (Bar)	<i>B</i>	复眼呈狭窄垂直棒形，小眼数目少
褐眼 (brown)	<i>bw</i>	复眼呈褐色
卷曲翅 (curly)	<i>Cy</i>	翅膀向上卷曲，纯和致死
小翅 (miniature)	<i>m</i>	翅膀小，长度不超过身体
白眼 (white)	<i>w</i>	复眼白色
黑檀体 (ebony)	<i>e</i>	身体呈乌木色，黑亮
黑体 (black)	<i>b</i>	体黑色，比黑檀体深
黄体 (yellow)	<i>y</i>	全身呈浅橙黄色
残翅 (vestigial)	<i>vg</i>	翅明显退化，部分残留，不能飞
叉毛 (forked)	<i>f</i>	毛和刚毛分叉且弯曲
猩红眼 (scarlet)	<i>st</i>	复眼呈明亮猩红色
墨色眼 (sepia)	<i>se</i>	羽化时复眼呈褐色并深化成墨色
无毛 (Hairless)	<i>H</i>	身体上缺刚毛
弯翅 (curved)	<i>c</i>	翅膀弯曲
无翅 (apterous)	<i>ap</i>	缺翅膀

注：显性基因：符号大写；隐性基因：符号小写。

(三) 果蝇麻醉方法

对果蝇进行麻醉处理，是进行性状观察或杂交的必需步骤。麻醉程度是实验成功与否的关键步骤，麻醉不够，果蝇就会飞掉，麻醉过头又会杀死果蝇。用于麻醉的瓶子可用与培养瓶一样的瓶子，麻醉瓶要配上棉塞或软木塞。倒瓶麻醉的操作步骤如下：

1. 轻摇或轻拍培养瓶使果蝇落于培养瓶底部。
2. 右手两指取下培养瓶塞，迅速将麻醉瓶口与培养瓶口对接严密。
3. 左手握紧两瓶接口处，倒转使培养瓶在上。
4. 紧握两瓶接口，使两瓶稍倾斜，右手轻拍培养瓶将果蝇震落到麻醉瓶中。注意不要将培养瓶中的培养基倒入麻醉瓶。如培养基已变得太稀而易掉落，可采用麻醉瓶在上，而用黑纸或双手遮住培养瓶，使果蝇趋光自动飞入培养瓶中。
5. 当果蝇进入麻醉瓶后，迅速分开，将两瓶各自盖好。再将麻醉瓶的果蝇拍到瓶底，迅速拔出塞子，在塞子上滴上几滴乙醚，重新塞上麻醉瓶。
6. 观察麻醉瓶中的果蝇。约半分钟后果蝇便不再爬动。转动瓶子，果蝇在瓶壁上站不稳，麻醉完成，即可倒在白瓷板上进行观察。因麻醉过度被杀死的果蝇翅膀外展，与身体呈 45° 角。
7. 果蝇麻醉状态通常可维持 5~10min。如果观察中苏醒过来，可进行补救麻醉，即用一平皿，内贴一带乙醚的滤纸条，罩住果蝇形成一临时麻醉小室。

六、实验结果

1. 熟悉野生型和常见突变型果蝇的形态学特征。
2. 根据实验中介绍的方法，描述自己所观察到的果蝇雌雄个体的形态学特征。

七、思考题

1. 果蝇作为遗传学模式材料的优点有哪些？
2. 仔细观察果蝇形态，列出雌雄果蝇的各种形态差别。

实验 2 果蝇的单因子杂交

根据孟德尔的颗粒遗传学理论，基因是一个独立的结构与功能单位，在杂合状态时不发生混淆，完整地一代传递到下一代，由该基因的显隐性决定其在下一代的性状表现。单因子杂交是指一对等位基因间的杂交。孟德尔第一定律指出，一对杂合状态的等位基因保持相对的独立性，其自交后代中表型分离比为 3:1。本实验将观察果蝇单因子杂交后代的表型及其分离情况。

一、实验目的

1. 通过实验深刻理解孟德尔分离定律。
2. 学习遗传学实验结果记录及统计处理方法。

二、实验材料

黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 的两个品系：

野生型：长翅果蝇 (+/+)

突变型：残翅果蝇 (vg/vg)

野生型果蝇的双翅为长翅 (+/+), 翅长超过尾部。残翅果蝇 (vg/vg) 的双翅几乎没有，只留少量残痕，无飞翔能力。

三、仪器设备

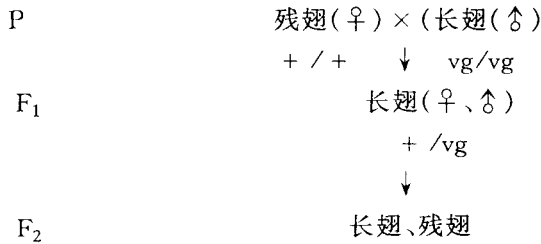
立体解剖镜，恒温培养箱，天平，培养瓶及麻醉瓶，毛笔及白瓷板。

四、药品试剂

乙醚，玉米粉，琼脂，红糖，酵母粉，丙酸。

五、实验步骤

1. 交配方式：用纯系残翅果蝇（雌）与长翅果蝇（雄）交配，此为正交实验；反交实验以长翅果蝇为母本，残翅果蝇为父本，由此得 F_1 代。 F_1 代雌雄个体相互交配， F_2 代出现性状分离，如下图所示。



上图为正交实验结果，同学们可自己列出反交实验过程。

2. 选野生型和残翅果蝇为亲本。雌蝇一定要选处女蝇，可在实验前 2~3d 陆续收集，雌雄个体分开培养，数目多少根据需要而定。

3. 首先把残翅处女蝇倒出麻醉，挑 5 只移到水平放置的杂交瓶中，再把长翅倒出麻醉，挑选 5 只雄蝇，移到上述杂交瓶中。等杂交亲本在杂交瓶中全部苏醒后，将杂交瓶直立，并移入 25℃ 温箱中培养。同时，按上述操作进行反交实验接种培养。注意按下述方式贴好标签：

正 交	
P:	+ / + × vg / vg
	(♀) (♂)
杂交日期:	
实验者姓名:	

4. 7d 后，释放杂交亲本。

5. 再过 4~5d，F₁ 成蝇开始出现，观察 F₁ 翅膀，连续检查 2~3d，或在释放亲本 7d 后集中观察。

6. 选取正、反交各 5 对 F₁ 雌雄果蝇，分别移入一新培养瓶（这里不需处女蝇），置 25℃ 温箱中培养。

7. 7d 后，释放 F₁ 亲本。

8. 再过 4~5d，F₂ 成蝇出现，开始观察。可连续统计 7~8d。被统计过的果蝇倒入水槽冲掉。

六、实验结果

1. 观察并统计正、反交 F₁ 代的表型及个体数，比较正、反交实验结果，分析基因间的显隐性关系。

2. 观察并统计正、反交 F₂ 代的表型及各种表型的个体数，计算不同表型个体数的比例，比较正、反交实验结果。

3. 根据你的结果，对该实验 F₂ 代的统计结果作 X₂ 测验。数据填入下表：

	野生型（正、反交合并）	突变型（正、反交合并）	总计
实验观察数 (O)			
预期数 (E)			
偏差 (O - E)			
$\frac{(O - E)^2}{E}$			

自由度 = $n - 1$

$$X^2 = \sum (O - E)^2 / E =$$

查 X^2 表，进行差异显著水平检验，确定假说的有效性。

七、思考题

- 1. 杂交实验中为什么亲本雌蝇要选用处女蝇？
- 2. 在进行杂交和 F_1 自交后一定时间为什么要释放杂交亲本？
- 3. 分析你的实验结果是否符合孟德尔分离定律？

实验3 果蝇的两对因子杂交

位于非同源染色体上的两对等位基因，其杂合体在形成配子时，等位基因间必然按分离定律分离进入不同的配子，而非等位基因间则可自由组合进入同一配子，这样分配的结果就是：产生4种基因型的配子，且每种类型产生的概率相等。在杂合体自交产生的 F_2 代中就表现出9种基因型，若显性完全，就表现出4种表现型，且表型比为9:3:3:1，这就是基因自由组合定律。

果蝇的灰体(E)与黑檀体(e)为一对相对性状，决定这对性状的基因位于第Ⅲ染色体上；长翅(Vg)与残翅(vg)为另一对相对性状，决定这对性状的基因位于第Ⅱ染色体上。本实验将探讨这两对性状的遗传规律。

一、实验目的

1. 学习果蝇两对因子杂交实验的原理和方法。
2. 探索果蝇若干性状的遗传规律。

二、实验材料

黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)的两个品系：

灰体残翅($EEvgvg$)

黑檀体长翅($eeVgVg$)

三、仪器设备

立体解剖镜，恒温培养箱，天平，培养瓶及麻醉瓶，毛笔及白瓷板。

四、药品试剂

乙醚，玉米粉，琼脂，红糖，酵母粉，丙酸。

五、实验步骤

1. 选灰体残翅果蝇为母本，黑檀体长翅为父本（反交也可，但因残翅果蝇不能飞，只能爬行，用做母本比较好）。雌蝇一定要选处女蝇，可在实验前2~3d陆续收集，雌、

雄个体分开培养，数目多少根据需要而定。

2. 首先把灰体残翅处女蝇倒出麻醉，挑 5 只移到水平放置的杂交瓶中，再把黑檀体长翅倒出麻醉，挑选 5 只雄蝇，移到上述杂交瓶中。等杂交亲本在杂交瓶中全部苏醒后，将杂交瓶直立，并移入 25℃ 温箱中培养。注意贴好标签（写明亲本基因型、交配方式、杂交日期、实验者姓名）。

3. 7d 后，释放杂交亲本。

4. 再过 4~5d， F_1 成蝇开始出现，观察 F_1 性状，连续检查 2~3d，或在释放亲本 7d 后集中观察。

5. 选取 5~10 对 F_1 雌、雄果蝇，移入一新培养瓶（这里不需处女蝇），置 25℃ 温箱中培养。

6. 7d 后，释放 F_1 亲本。

7. 再过 4~5d， F_2 成蝇出现，开始观察。可连续统计 7~8d。被统计过的果蝇倒入水槽冲掉。

六、实验结果

1. 观察并统计 F_1 代的表型及个体数，分析相对性状间的显隐性关系。

2. 观察并统计 F_2 代的表型及各种表型的个体数，特别要注意新性状组合个体的出现。计算不同表型个体数的比例，确定这两对基因的遗传规律。

七、思考题

1. 基因间发生自由组合的前提是什么？

2. 如何判断两个基因是连锁遗传还是自由组合？