

遗传学分析实验教程

(第2版)

主编 乔守怡

非外借

高等教育出版社

遗传学分析实验教程

(第2版)

主 编 乔守怡

副主编 林 娟 吴 敏

编 者 (按姓氏笔画排序)

王亚梅 (厦门大学)

王建波 (武汉大学)

王海燕 (四川大学)

乔守怡 (复旦大学)

吴 敏 (浙江大学)

林 娟 (复旦大学)

顾 蔚 (陕西师范大学)

曾庆韬 (湖北大学)

内容提要

本书在第1版的基础上,仍以遗传分析为主干,以多种实验分析手段为主要内容,力求既具有系统的理论指导,又具有实验可选择性和可操作性。教材涵盖10大遗传分析模块,选编了29个实验,实验材料涵盖动物、植物、微生物等多种类型,实验层次涵盖个体、细胞、分子水平。在每一实验中增加了研究背景、推荐阅读,使其更具有培养学生遗传分析思维和动手操作能力的特点。教材编写中保留了第1版注重实验材料成本的控制和实验设备的基本条件,同时在同一类别的实验项目中,列出了多种不同的材料供选择这一特色,以适用于不同区域、不同类型的学校。

本书适合高等学校生命科学类各专业的遗传学实验课程教学,也可供实验教师、科研人员参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

遗传学分析实验教程 / 乔守怡主编. --2版. --北京: 高等教育出版社, 2018.8

ISBN 978-7-04-048915-6

I. ①遗… II. ①乔… III. ①遗传学-实验-高等学校-教材 IV. ①Q3-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第030816号

YICHUANXUE FENXI SHIYAN JIAOCHENG

策划编辑 王莉 高新景 责任编辑 高新景
责任印制 耿轩

封面设计 张志 责任校对 刘娟娟

出版发行 高等教育出版社
社址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印刷 北京市白帆印务有限公司
开本 850mm×1168mm 1/16
印张 13.25
字数 300千字
购书热线 010-58581118
咨询电话 400-810-0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.hepmall.com.cn>
<http://www.hepmall.com>
<http://www.hepmall.cn>
版 次 2008年1月第1版
2018年8月第2版
印 次 2018年8月第1次印刷
定 价 25.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物料号 48915-00

写在实验之前的话

当我们在用果蝇、斑马鱼、小鼠等动物做实验的时候，都应该怀有一种感激之情从事我们的实验。我们和所有生命共享一个世界，地球上所有生命都是与人类共存的伙伴。尊重生命、敬畏生命、热爱生命就是尊重自然和人类本身。今天，当我们为了人类的发展需要另一种生命为我们服务的时候，我们以一种崇敬、感恩之情抚慰所有为人类奉献生命的灵魂，感谢它们为人类做出巨大的牺牲，感谢它们伟大的生命。它们的生灵将与人类永存。

乔守怡

数字课程(基础版)

遗传学分析 实验教程

(第2版)

主编 乔守怡

登录方法:

1. 电脑访问 <http://abook.hep.com.cn/48915>, 或手机扫描下方二维码、下载并安装 Abook 应用。
2. 注册并登录, 进入“我的课程”。
3. 输入封底数字课程账号(20位密码, 刮开涂层可见), 或通过 Abook 应用扫描封底数字课程账号二维码, 完成课程绑定。
4. 点击“进入学习”, 开始本数字课程的学习。

课程绑定后一年为数字课程使用有效期。如有使用问题, 请发邮件至:
lifescience@pub.hep.cn



遗传学分析实验教程(第2版)

遗传学分析实验教程(第2版)数字课程与纸质教材一体化设计, 紧密配合。数字课程包括教学课件、彩图等内容, 充分运用多种形式的媒体资源, 丰富知识的呈现形式。在提升课程教学效果的同时, 为学生学习提供更多思考和探索的空间。

用户名:

密码:

验证码:

5360

忘记密码?

登录

注册

<http://abook.hep.com.cn/48915>

扫描二维码, 下载Abook应用



第2版前言

遗传学实验是生物、农学、医学、药学等专业的重要基础实验课程，是生物学实验课程体系中的重要分支，主要从群体、个体、细胞和分子4个不同水平揭示遗传学的基本现象和规律。从遗传学实验教学的历史发展来看，以往的实验课多数是配合遗传学理论课，实验内容也大多为验证性实验，几乎没有创造性实验，这不利于培养创新人才；而且将实验课仅当作验证理论的实践环节是片面的，必须有一定比例的综合性实验或课程设计，才能把理论与实践有机地结合起来，提高学生分析问题和解决问题的能力。因此，我们在第1版大尺度地改革了以往的遗传学实验教学体系，以“遗传分析”为模块，分10大模块构建了“基础型—综合型—研究（设计）型”逐层递进的实验教学体系，凸显了遗传分析思想在遗传学实验教学体系中的应用。由于在第1版中融入了遗传分析的教学思想，也与新时期遗传学实验课程体系的教学要求相吻合，因此教材被许多高校遗传学实验课程选用或参考。但同时，在第1版编写的过程中，原有实验技术的背景在教材中体现得并不完美，而一些在教学实践中颇有创意的实验也未能编写进去。

基于此，我们在第2版的编写中，一方面延续10大模块的编写特色，精简模式生物性状的遗传分析、整合生物染色体的遗传分析、增加基因突变的遗传分析和血型的基因型检测等内容；另一方面在每个分析实验中增加研究背景和推荐阅读，使整体的实验编排具有“技术的综合性、内容的创新性、形式的开放性和学科的交叉性”等特点，把训练学生研究性思维的教学理念融入实验教材中。此外，在修订中还保留了第1版注重实验材料成本的控制和实验设备的基本条件，同时在同一类别的实验项目中，列出了多种不同的材料供选择。实验材料涵盖动物、植物、微生物等多种类型，实验层次涵盖个体、细胞、分子水平。配套数字课程（<http://abook.hep.com.cn/48915>）提供了教学课件、彩图（书中用表示）等素材。

教材修订期间经过多次讨论，融入了参与编写的多位老师的智慧，是集体智慧的结晶。非常感谢各参编单位的支持和各位参编老师的辛勤劳动。当然，本版教材尚需在实践中应用、在应用中发现并解决问题，教材内容的不足之处，敬请同行批评指正。

主 编
2017年10月

第1版前言

遗传学实验是生物学实验体系中一个重要环节,经过多年的教学改革,遗传学实验内容在全国各个高校百花齐放,丰富多彩,教学效果显著。目前的遗传学实验内容大体可分为:生物染色体制作与观察;生物杂交(植物杂交,果蝇杂交,细菌杂交等);DNA的技术操作(DNA的抽提和鉴定,荧光原位杂交,PCR技术,转基因技术,基因克隆技术等)等部分。而以往的实验目的往往是对遗传学理论的论证以及技术的掌握。我多年来一直有个愿望,期望能够大尺度地改革目前遗传学实验体系,重新审视和变革遗传学实验的结构和体系。新的实验体系不再以“某某技术”为核心内容编排线索,代之为若干个“遗传分析”的模块(模式生物性状的遗传分析,人类性状的遗传分析,生物染色体的遗传分析,基因连锁的遗传分析,基因突变的遗传分析,生物进化的遗传分析,生物亲缘关系的遗传分析,生物性别决定的遗传分析,基因定位的遗传分析,基因功能的遗传分析等)。这个体系意图是凸显遗传学的特色,避免与分子生物学、生物化学、细胞学等实验内容的重复,更重要的意图是通过这样的内容体系,引导学生学会进行遗传学分析和通过实验解决实际问题,达到提高学生创新思维训练和动手能力训练的目的。本书实验内容体系不是原有流行实验内容的重新编排和组合,而是将遗传学的各类实验技术融入以分析和解决遗传学问题为主线替代以技术操作为主线的研究性教学理念。本实验内容体系在教学中可以根据实际情况,在模块中选择可行性的实验安排。

本书是在2007年厦门大学举办的“全国生物学实验骨干教师培训班”上,由全国多所大学的遗传学教学第一线的教师共同讨论基础上编写的,本书鉴于编写的时间要求关系,未能将丰富和有创意的实验内容全部编排进去,我们将在以后的版本中加以完善。在此谨向所有参与讨论和编写本书工作的教师表示感谢。由于这本实验教材采用一种新的思维方式编写的系统,在教学中还需要实践的探索,有关实验内容的不足之处,欢迎同行指正和参与探讨。

主编 乔守怡

目 录

1 模式生物性状的遗传分析	1
实验一 果蝇性状的遗传分析	1
实验二 玉米籽粒性状的遗传分析	12
实验三 拟南芥性状的遗传分析	22
实验四 秀丽隐杆线虫的遗传分析	36
2 人类性状的遗传分析	42
实验五 血型的遗传分析	42
实验六 人类性状的遗传分析	51
实验七 人体皮纹的遗传分析	62
3 生物染色体的遗传分析	74
实验八 细胞分裂的染色体行为分析	74
实验九 染色体标本的制作与观察	85
4 基因连锁的遗传分析	94
实验十 果蝇连锁基因的遗传分析 (三点测交)	94
实验十一 链孢霉的遗传分析	97
实验十二 大肠杆菌基因的顺序分析	101
实验十三 微卫星分子标记的遗传分析与遗传作图	106
5 基因突变的遗传分析	113
实验十四 转座子插入突变的遗传分析	113
实验十五 植物多倍体的诱变与观察	117
实验十六 耐高盐菌的筛选	119
实验十七 大肠杆菌基因的诱变与遗传分析	124
实验十八 大肠杆菌氨基酸营养缺陷型的筛选与遗传分析	130
6 生物进化的遗传分析	137
实验十九 果蝇 <i>Dfak</i> 基因内含子进化分析	137
实验二十 细菌的 16S rDNA 基因进化分析	143
实验二十一 环境遗传多样性检测	148
实验二十二 植物核 rRNA 基因 ITS 区序列进化分析	154
实验二十三 人类线粒体 DNA 序列进化分析	161
7 生物亲缘关系的遗传分析	168
实验二十四 DNA 指纹的遗传分析	168

8 生物性别决定的遗传分析	175
实验二十五 哺乳类及鸟类的性别鉴定	175
9 基因定位的遗传分析	181
实验二十六 数量性状基因座的定位分析	181
10 基因功能的遗传分析	186
实验二十七 表观遗传抑制剂对细胞周期调控的分析	186
实验二十八 细菌局限性转导的遗传分析	189
实验二十九 RNA 干扰基因沉默的遗传分析	193

模式生物性状的遗传分析

实验一 果蝇性状的遗传分析

【研究背景】

果蝇属昆虫纲 (Insecta)、双翅目 (Diptera)、果蝇科 (Drosophilidae)、果蝇属 (*Drosophila*)。现已发现的果蝇有 3 000 多种,广泛地分布于全球温带及热带气候区,主食酵母。

1910 年,美国遗传学家 Thomas Hunt Morgan (摩尔根)发现第一个白眼突变体果蝇,并以果蝇为研究对象创立了遗传学的连锁互换定律,绘出了果蝇的连锁遗传图,从此果蝇成为一种广为人知的模式生物,至今已百余年。果蝇作为优秀的遗传学研究材料具有很多突出的优点:①个体小,易于饲养,培养成本低廉,生活周期短(25℃左右,约 10 d 繁殖一代)。②繁殖能力强,在适宜的温度和营养条件下每只受精的雌蝇可产卵几百乃至上千粒,在短时间内可产生较多的子代供统计和遗传分析。③突变类型多,且多数为外部形态特征的变异,易于观察。④遗传背景清楚,染色体数目少(黑腹果蝇, $2n=8$),具备唾腺染色体(salivary gland chromosome),可用于基因的染色体定位研究。

摩尔根等利用对黑腹果蝇的遗传分析,客观验证了伴性遗传以及遗传的染色体学说,并根据重组频率进而推算出相邻基因间的距离,绘制了首例果蝇染色体遗传图,为现代遗传学发展奠定了坚实的基础,摩尔根因此在 1933 年获得了诺贝尔生理学或医学奖。果蝇至今仍是遗传学、细胞生物学、分子生物学和发育生物学等研究中最成熟的模式生物之一。为了使学生深入理解三大遗传定律的实质、了解伴性遗传并认识果蝇伴性遗传的特点、熟练掌握果蝇作为模式生物的实验技

能, 设计了果蝇单因子遗传因析、果蝇双因子遗传分析和伴性遗传分析等 3 个实验。

【推荐阅读】

王永奇, 谢维. 生命科学与人类疾病研究的重要模型——果蝇. 生命科学, 2006, 18 (5): 425-429.

• 果蝇单因子遗传分析

【原理】

孟德尔通过豌豆的 7 对相对性状的杂交实验显示, 有纯合显性性状的个体和具有纯合隐性性状的个体杂交后, 其所有杂种子一代 (F_1) 均表现相同的显性性状, 而在 F_1 自交产生的杂种第二代 (F_2) 中, 表现显性性状的个体和隐性性状的个体比例约为 3 : 1。利用黑腹果蝇常染色体上的单对等位基因, 我们可以验证孟德尔这个分离定律的正确性。

用于杂交的单对等位基因可以有許多选择, 例如, 黑腹果蝇的长翅 (+) 和残翅 (vg) 基因等。

以黑腹果蝇的灰体 (+) 和黑檀体 (e) 基因为例, 果蝇单因子杂交模式如图 1-1 所示。黑檀体品系的处女蝇与野生型品系 (灰体) 的雄蝇杂交, 获得 F_1 。 F_1 的基因型为 $e/+$, 表型应为野生型 (灰体, 显性)。将由 F_1 个体自交得到的 F_2 个体按照表型分类, 预计野生型和黑檀体的比例约为 3 : 1。

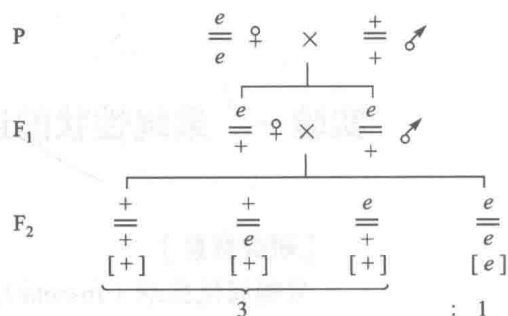


图 1-1 单因子杂交模式

P 表示亲本, F_1 和 F_2 分别表示子一代和子二代;

[+], [e] 分别表示相应的表型

【材料】

黑腹果蝇 (*D. melanogaster*) 的野生型品系、黑檀体突变型品系, 或其他常染色体基因突变型品系。

【仪器与试剂】

1. 仪器

隔水式恒温培养箱, 高压灭菌锅, 体式显微镜或普通光学显微镜, 放大镜, 麻醉瓶, 培养瓶, 白瓷板, 毛笔, 不干胶标签。

2. 试剂

琼脂, 白糖或蔗糖, 玉米粉, 酵母 (新鲜或干粉), 苯甲酸, 丙酸, 乙醚, 乙醇。

果蝇培养基配制方法参见本实验附录。

【操作程序】

1. 将野生型果蝇和黑檀体果蝇分别培养,使其产卵。9~10 d后,开始收集新羽化的黑檀体处女蝇,同时收集野生型雄蝇,分别放在另外的培养瓶中,25℃培养待用。
2. 2 d后,确认放处女蝇的培养瓶中没有幼虫出现(如有,说明收集处女蝇失败)。
3. 亲本杂交,将3~5只黑檀体处女蝇和5~8只野生型雄蝇放入同一个培养瓶中。重复同样杂交2~3瓶。在各个培养瓶壁上做好交配类型、日期和培养瓶序号标记。
4. 2 d后将杂交瓶里的所有亲本果蝇麻醉后弃除。25℃条件下,约1周至10 d后开始有子一代成蝇出现。
5. 子一代(F_1)观察与计数,各瓶分别统计。将陆续羽化出来的 F_1 成蝇隔天收集一次,深度麻醉后仔细观察,按照表型和雌雄分别计数。为了防止误将 F_2 计入, F_1 羽化开始8 d后停止收集和计数。
6. 子一代(F_1)自交,从亲本杂交培养瓶中选取新羽化的子一代雌雄成蝇各2~5只放入同一个培养瓶中。每种杂交重复2~3瓶。2 d后将 F_1 杂交瓶里的所有果蝇弃除(操作同亲本杂交)。25℃条件下,1周至10 d后开始有子二代成蝇出现。
7. 子二代(F_2)观察与计数,将陆续羽化出来的 F_2 成蝇隔天收集一次,深度麻醉后仔细观察,按照表型和雌雄分别计数。为了防止误将 F_3 计入, F_2 羽化开始8 d后停止收集和计数。
8. 利用 χ^2 检验(自由度1)分析实验结果。
9. 可以另外进行反交,进一步验证上述实验结果。

【结果与分析】

在单因子杂交实验中,即使理论上不同类型子代个数比例应为3:1,实验结果通常总是多多少少有些偏离。此时,我们需要通过统计学方法(χ^2 检验等),客观判断这种偏离是否是显著性的,即是随机误差,还是事出有因。

在 χ^2 检验中,当与特定的 χ^2 值对应的概率小于0.05时,可以认为实验数据与理论值的偏差是显著性的,亦即,这种偏差不是单纯的实验误差造成的,例如,可能是由实验步骤错误引起的。假如该概率远远小于0.01时,可能原来的理论推测数值是错误的。另一方面,当与特定的 χ^2 值对应的概率大于0.05时,通常可以判断实验数据与理论值没有显著差异,亦即,实验数据支持特定的理论。

孟德尔定律已有大量的证据证明其正确性。如果实验结果和理论值之间出现显著偏差,一般可以考虑以下原因:

- (1) 产卵多,幼虫密度过大,自然选择导致突变型个体生存不利,死亡率高于野生型。
- (2) 杂交亲本弃除不完全,或者有其他品系果蝇混入。
- (3) 部分新羽化的果蝇黏死在培养基上,导致表型无法识别。
- (4) 将 F_2 个体误记入 F_1 数据。
- (5) 杂交所利用的基因附近恰好有其他对果蝇生存力有影响的基因。
- (6) 即使理论和实验操作都没有错误,仍有0.05的概率发生偶然误差,结果导致实验数据显著偏离理论预期值。

【思考题】

1. 如果分别针对 F_2 的雌性和雄性个体进行统计分析，分离定律的验证结论有否不同？
2. 正反交的实验结果必然相同吗，为什么？

【实验建议】

当 F_2 个体总数较少时（例如，少于 50），实验数据不具有统计学意义。为了避免发生这种意外，可在杂交开始第 3 天把全部亲本转移到一个新的培养瓶中，做亲本二次杂交。第 5 天再次转移亲本果蝇做亲本三次杂交。最后，在杂交开始后第 7 天除掉亲本果蝇。

来自相同亲本的 F_2 作为同一组数据统计。

• 果蝇双因子遗传分析

【原理】

孟德尔自由组合定律的实质是位于同源染色体上的非等位基因的分离或组合是互不干扰的；在减数分裂形成配子时，同源染色体上的等位基因彼此分离，各自进入到一个配子中，而位于非同源染色体上的非等位基因在形成配子时互不干扰、自由组合到一个配子中。因此，含两对等位基因的杂合体（基因间是自由组合关系）可以形成 4 种比例均等的配子，此个体自交后代出现 4 种表型，比例为 9 : 3 : 3 : 1。

本实验目的在于验证孟德尔自由组合定律，即位于不同染色体上的 2 个等位基因是独立传给后代的。

用于双因子杂交的 2 对等位基因可以有許多选择，例如，黑腹果蝇的长翅 (+) / 残翅 (vg) 基因和灰体 (+) / 黑檀体 (e) 基因。具体可进一步查找关于黑腹果蝇第 2、3 号染色体上的隐性突变基因的相关资料。

vg 基因和 e 基因分别位于第 2 号和第 3 号染色体上。以灰体残翅纯合体和黑檀体长翅纯合体的杂交为例，双因子杂交模式如下：

残翅品系（灰体）的处女蝇与黑檀体品系（长翅）的雄蝇杂交，获得 F_1 。 F_1 的基因型为 $vg + / + e$ ，表型为野生型（灰体、长翅）。将由 F_1 个体自交得到的 F_2 个体按照表型分类，预计有野生型、残翅、黑檀体和残翅黑檀体 4 种表型，其比例约为 9 : 3 : 3 : 1（图 1-2）。

P		$\frac{vg}{vg} \frac{+}{+} \text{♀} \times \frac{+}{+} \frac{e}{e} \text{♂}$							
F ₁		$\frac{vg}{+} \frac{+}{e} \text{♀} \times \frac{vg}{+} \frac{+}{e} \text{♂}$							
F ₂	精子	+	+	vg	+	+	e	vg	e
	卵	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	vg	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	vg	+	+	+	+	+	+	+	+
		[+] [vg] [e] [vg; e]							
		9 : 3 : 3 : 1							

图 1-2 双因子杂交模式

P 表示亲本， F_1 和 F_2 分别表示子一代和子二代；
[+]、[e]、[vg] 及 [vg; e] 分别表示相应的表型

【材料】

黑腹果蝇的黑檀体突变型品系和残翅突变型品系，或野生型品系和黑檀体残翅双突变型品系，或其他可用于双因子遗传分析的常染色体基因突变型品系。

【仪器与试剂】

1. 仪器

隔水式恒温培养箱，高压灭菌锅，体式显微镜或普通光学显微镜，放大镜，麻醉瓶，培养瓶，白瓷板，毛笔，不干胶标签。

2. 试剂

琼脂，白糖或蔗糖，玉米粉，酵母（新鲜或干粉），苯甲酸，丙酸，乙醚，乙醇。

果蝇培养基配制方法参见本实验附录。

【操作程序】

1. 将残翅果蝇和黑檀体果蝇分别培养，使其产卵。9~10 d 后，开始收集新羽化的残翅处女蝇，同时收集黑檀体雄蝇，分别放在另外的培养瓶中，25℃ 培养待用。

2. 2 d 后，确认放处女蝇的培养瓶中没有幼虫出现（如有，说明收集处女蝇失败）。

3. 亲本杂交，将 3~5 只残翅处女蝇和 5~8 只黑檀体雄蝇放入同一个培养瓶中。重复同样杂交 2~3 瓶。在各个培养瓶壁上做好交配类型、日期和培养瓶序号标记。

4. 子一代（ F_1 ）自交，从亲本杂交培养瓶中选取新羽化的子一代雌雄成蝇各 2~5 只放入同一个培养瓶中。每种杂交重复 2~3 瓶。2 d 后将 F_1 杂交瓶里的所有果蝇弃除（操作同亲本杂交）。25℃ 条件下，1 周至 10 d 后开始有子二代成蝇出现。

5. 子二代（ F_2 ）观察与计数，将陆续羽化出来的 F_2 成蝇隔天收集一次，深度麻醉后仔细观察，按照表型和雌雄分别计数。为了防止误将 F_3 计入， F_2 羽化开始 8 d 后停止收集和计数。

6. 利用 χ^2 检验（自由度 3）分析实验结果。

【结果与分析】

参见“果蝇单因子遗传分析”。

【思考题】

1. 如果分别针对 F_2 的雌性和雄性个体进行统计分析，自由组合定律的验证结论有否不同？
2. 假设实验所得 F_2 个体总数分别为 100、1 000 和 10 000，其 χ^2 检验的结果有否差异？

【实验建议】

当 F_2 个体总数较少时（例如，少于 100），实验数据不具有统计学意义。可以参考果蝇单因子杂交实验，分别对 F_1 杂交做二次和三次杂交瓶。因为 F_2 有 4 种表型，建议至少收集 1 000 只 F_2 个体用于结果分析。

• 伴性遗传分析

【原理】

伴性遗传 (sex-linked inheritance) 是指在遗传过程中的子代部分性状由性染色体上的基因控制, 这种由性染色体上的基因所控制性状的遗传方式就称为伴性遗传, 又称性连锁 (遗传), 如人类红绿色盲或血友病的遗传。

果蝇有 X 和 Y 2 种性染色体, 雌性为同配性别 XX, 雄性为异配性别 XY。1910 年, 摩尔根发现了果蝇的伴性遗传现象。将白眼雄蝇 (黑腹果蝇) 与野生型雌蝇交配, F_1 的雌雄均为红眼果蝇, F_1 相互交配, F_2 中雌性均为红眼, 雄性果蝇红眼: 白眼 = 1: 1 (图 1-3)。相反, 将红眼雄蝇和白眼雌蝇交配, F_1 雄性皆为白眼, 雌性皆为红眼, F_1 相互交配, F_2 雌蝇中红眼: 白眼 = 1: 1, 雄蝇中红眼: 白眼 = 1: 1 (图 1-4)。摩尔根等通过对此现象的进一步研究, 为“遗传的染色体学说”提供了坚实的证据。

本实验旨在了解伴性遗传的特点和规律、理解伴性遗传与常染色体遗传的区别。

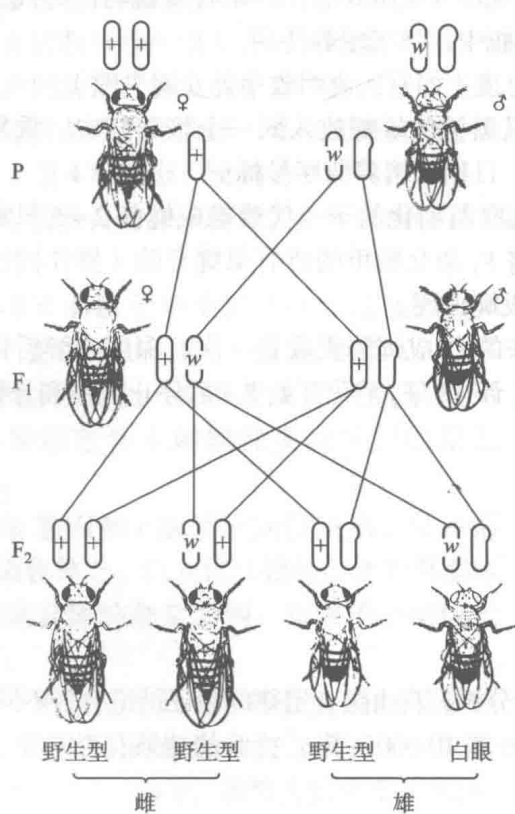


图 1-3 伴性遗传——红眼雌蝇和白眼雄蝇杂交 (Morgan 等, 1922)

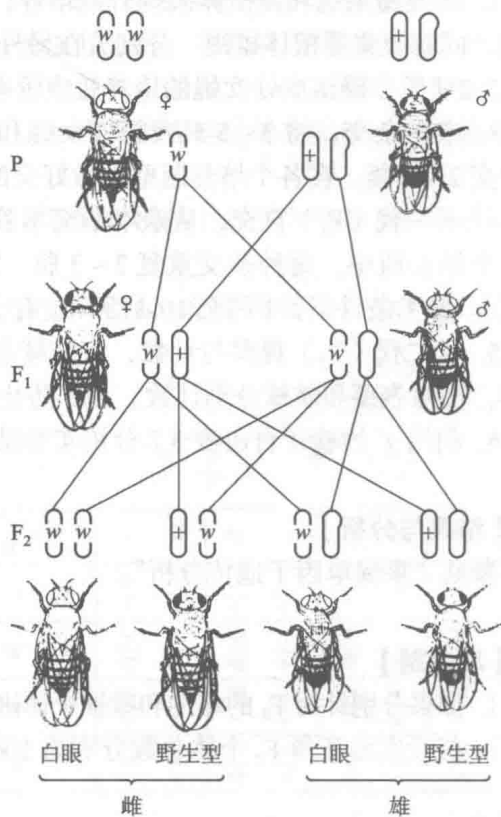


图 1-4 伴性遗传——白眼雌蝇和红眼雄蝇杂交 (Morgan 等, 1922)

【材料】

黑腹果蝇的野生型品系和白眼突变型品系，或其他 X 染色体基因突变型品系。

【仪器与试剂】

1. 仪器

隔水式恒温培养箱，高压灭菌锅，体式显微镜或普通光学显微镜，放大镜，麻醉瓶，培养瓶，白瓷板，毛笔，不干胶标签。

2. 试剂

琼脂，白糖或蔗糖，玉米粉，酵母（新鲜或干粉），苯甲酸，丙酸，乙醚，乙醇。

果蝇培养基配制方法参见本实验附录。

【操作程序】

1. 将白眼果蝇和野生型（红眼）果蝇分别培养，使其产卵。9~10 d 后，开始收集新羽化的白眼处女蝇，同时收集红眼雄蝇，分别放在另外的培养瓶中，25℃ 培养待用。

2. 2 d 后，确认放处女蝇的培养瓶中没有幼虫出现（如有，说明收集处女蝇失败）。

3. 亲本杂交，将 3~5 只白眼处女蝇和 5~8 只红眼雄蝇放入同一个培养瓶中。重复同样杂交 2~3 瓶。在各个培养瓶壁上做好交配类型、日期和培养瓶序号标记。

4. 2 d 后将杂交瓶里的所有亲本果蝇麻醉后弃除。25℃ 条件下，1 周至 10 d 后开始有子一代成蝇出现。

5. 子一代（ F_1 ）杂交，从亲本杂交培养瓶中选取新羽化的子一代雌雄成蝇各 2~5 只放入同一个培养瓶中。每种杂交重复 2~3 瓶。2 d 后将 F_1 杂交瓶里的所有果蝇弃除（操作同亲本杂交）。25℃ 条件下，1 周至 10 d 后开始有子二代成蝇出现。

6. 子二代（ F_2 ）观察与计数，将陆续羽化出来的 F_2 成蝇隔天收集一次，深度麻醉后仔细观察，按照表型和雌雄分别计数。为了防止误将 F_3 计入， F_2 羽化开始 8 d 后停止收集和计数。

7. 用野生型（红眼）处女蝇和白眼雄蝇做亲本进行反交实验，步骤同前。

8. 利用 χ^2 检验（自由度 3）分别分析正、反交实验结果。

【结果与分析】

关于 χ^2 检验结果，参见“果蝇单因子遗传分析”。

根据 C. B. Bridges 等（1913）的研究结果，伴性遗传偶有例外，亦即，在白眼雌蝇和红眼雄蝇杂交所得的 F_1 中偶尔会发现白眼雌蝇和红眼雄蝇，比例约为 1/1 000。这是由减数分裂过程中 X 染色体不分离造成的。

【思考题】

1. 如何说明伴性遗传例外表型产生的染色体机制？

2. 如何设计实验验证例外白眼雄蝇的基因型是 XXY？

【实验建议】

参见“果蝇双因子遗传分析”。

• 附 录

一、果蝇培养基种类及其制作方法

实验室常用的果蝇材料一般局限于 *Sophophora* 亚属（黑腹果蝇等）和 *Drosophila* 亚属 [黑果蝇 (*D. virilis*) 等]。这些果蝇主要以酵母为食物，在采自野外的果蝇的消化管中可以分离出多种不同的酵母。正因为如此，只要给果蝇提供成熟后开始发酵的水果，例如香蕉、桃子、柿子以及葡萄等，它们便可以在这些水果上传宗接代。摩尔根早期使用的果蝇培养基就是以香蕉为主要原料的。目前，已有多种成本低、制作和保存方便的培养基可供实验人员选择。

1. 玉米、白糖培养基

水	1 000 mL
琼脂条（或琼脂粉末）	10 g（使用琼脂粉末时应该略为减量）
玉米粉	100 g
白糖	50 g
丙酸	4 mL

制作方法：先用 2/3 体积的水将琼脂条煮沸至完全溶解，再用剩余的 1/3 水将玉米粉搅拌成糊状后放入琼脂水中。搅拌并继续加热至玉米糊开始变黏稠时加入白糖，改小火加热并搅拌均匀。在玉米糊再次沸腾之前停止加热。加入必需量的丙酸，搅拌均匀。按高度 2 cm 左右的标准趁热向培养瓶中分装培养基，完成后用经灭菌处理的纸或布覆盖在培养瓶上方，至少室温放置 30 min，使培养基充分冷却凝固。

在给培养瓶加塞之前，先取 1 g 鲜酵母（干酵母粉减半）溶于 200 mL 无菌水中，混匀。用滴管向每瓶培养基上滴加酵母液 1~2 滴。为了保持培养基表面干燥，可将经灭菌处理的小滤纸片插入培养基中。盖好培养瓶塞。做好的培养基应尽量在 1 周之内用完，不宜放冰箱冷藏。

2. 酵母、白糖培养基

水	1 000 mL
琼脂条（或琼脂粉末）	10 g（使用琼脂粉末时应该略为减量）
鲜酵母	200 g（干酵母粉 80 g）
白糖	50 g
丙酸	5 mL
苯甲酸溶液	5 mL（10 g 苯甲酸溶于 100 mL 的 70% 乙醇）

制作方法：在足量的水中加入琼脂粉末和酵母，边搅拌边加热。煮沸 10 min 后加入白糖，继续加热 2~3 min。停止加热，加入必需量的丙酸和苯甲酸溶液，搅拌均匀。待培养基温度降至 50℃ 以下再开始分装，方法同玉米、白糖培养基。