



# 遗传学实验指导

YICHUANXUE SHIYAN ZHIDAO

闫绍鹏 王秋玉 编

东北林业大学出版社

# 遗传学实验指导

闫绍鹏 王秋玉 编

东北林业大学出版社

---

图书在版编目 (CIP) 数据

遗传学实验指导/闫绍鹏, 王秋玉编. —哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2007.5

ISBN 978-7-81076-970-9

I. 遗… II. ①闫… ②王… III. 遗传学—实验—高等学校—教学参考资料  
IV. Q3-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 072100 号

---

责任编辑: 付 佳

封面设计: 彭 宇



NEFUP

遗传学实验指导

Yichuanxue Shiyān Zhidāo

闫绍鹏 王秋玉 编

东北林业大学出版社出版发行

(哈尔滨市和兴路 26 号)

东北林业大学印刷厂印装

开本 787 × 1092 1/16 印张 9 字数 205 千字

2007 年 5 月第 1 版 2007 年 5 月第 1 次印刷

印数 1—1 000 册

ISBN 978-7-81076-970-9

Q·136 定价: 15.50 元



# 前 言

遗传学是生命科学中一门重要的基础科学，与生物科学其他分支学科一样，也是一门建立在实验基础上的科学。经过一个多世纪的发展，取得了辉煌的成果，成为生命科学中最重要的前言学科之一。随着新技术、新方法的层出不穷，遗传学的研究范围大大扩展，研究内容不断深入。为适应遗传学的发展，新一代人才的培养，以及顺应新世纪课程体系和教学内容改革的需要，我们编写了《遗传学实验指导》一书。

遗传学实验是配合遗传学理论教学而设置的一门基础课程。通过实验教学，使同学们能够对遗传学的基本理论和概念有更加深刻的认识，激发学生对探索遗传学规律的浓厚兴趣。同时，使同学们了解和掌握所使用仪器设备、探索实验科学理论的基本方法，锻炼实际操作能力。更为重要的是，在实验过程中培养同学们观察问题、分析问题和解决问题的能力。本书在编写过程中参考了近年来国内外出版的多个遗传学和遗传学实验技术等相关教材，既考虑遗传学实验的原理性，同时也强调通过实验教学培养学生动手和创新能力。最终达到理论与实践相结合，素质培养和提高能力相结合的目的。

本书结构设计新颖，考虑到遗传学实验的设计性和综合性，将全部实验项目分解成五个模块，即细胞染色体遗传综合实验模块、果蝇经典遗传综合实验模块、分子遗传综合实验模块、微生物遗传综合实验模块、数量群体遗传综合实验模块。模块内每个实验内容相对独立又相互联系，便于学生根据教学时数和实际需要挑选、设计和组合实验内容，在较短的时间内使学习效果达到最大化。

限于编者水平，书中一定存在一些不足和错误，真诚希望使用本书的同行给予批评指正，以便今后修改和完善。此外，在本书的编写中得到了东北林业大学遗传学科的老师 and 研究生们的大力帮助，在此一并表示衷心的感谢！

编者

2007年3月

# 实验室工作规程

1. 实验者实验前必须预习实验指导，明确本次实验的目的、原理、内容和方法。并做好实验前的准备工作。

2. 严格遵守纪律，不迟到、早退，无故缺席。严禁携带与实验无关的物品进入实验室。

3. 实验室必须保持安静，按实验指导书和实验教师的要求进行操作，把实验中出现的情况和最后结果详细记录，进行资料整理分析，得出实验结论，完成实验报告。所有实验结果必须实事求是地进行分析，不得弄虚作假。

4. 实验台、各种仪器、实验用具必须保持清洁整齐；各种化学药品、试剂等必须贴上标签，分门别类，放置一定位置，便于取用。

5. 为各人（组）配备的实验用品，由个人（组）专用，不得随意调换，公用物品不得取回自己专用。

6. 按照操作规程正确使用各种仪器，如遇到仪器发生故障，应在指导教师指导下排除，不得随意拆卸或拨弄，以免损坏。

7. 严格实验操作要求，注意不要把酸、碱等试剂洒落在仪器及实验台上，以防腐蚀。使用腐蚀性和有毒药品时，谨防溅入眼、鼻和触及皮肤。

8. 取用液体药品时，所用各类量具必须分开，不可混用，用后必须马上冲洗干净。固体药品称量时，先在秤盘上铺垫洁净称量纸，回零后再称。要注意保护秤具，勿受药品的腐蚀，并注意防止药品混合。

9. 用过的酸类、碱类、染料和固体废物等应倒入指定废液缸内，不可直接倒入水槽中。分子遗传实验的废液必须用专门容器回收处理。废酒精、二甲苯应分别倒入指定的玻璃瓶中，以便回收再用；对于电泳后的含有 EB 的凝胶、电泳过程中使用的一次性手套等不可随意乱扔，应放到教师指定的地点。

10. 实验完毕必须做好清洁整理工作，所用的仪器、物品应放回原处。在实验过程中如有损坏或丢失仪器用具，应填写报告单，按情况予以登记或赔偿处理。

11. 全班实验结束后，值日生应对实验室全面清理打扫。离开实验室前必须切断各仪器电源，关好水龙头和门窗，保证安全。

## 目 录

**第一部分 细胞染色体遗传综合实验模块**

实验一	植物细胞有丝分裂的观察 .....	( 3 )
实验二	植物染色体组型分析 .....	( 9 )
实验三	植物细胞减数分裂的观察 .....	(13)
实验四	观察不同诱变因素对染色体结构的影响 .....	(18)
实验五	植物多倍体诱导及细胞学观察 .....	(21)
实验六	植物单倍体诱导与鉴定 .....	(24)
实验七	植物染色体标本制作 .....	(28)
实验八	果蝇唾腺染色体的制备与观察 .....	(30)
实验九	植物染色体的显带技术与带型分析 .....	(34)

**第二部分 果蝇经典遗传综合实验模块**

实验一	果蝇的性别鉴定、性状观察与饲养方法 .....	(41)
实验二	果蝇的单因子杂交 .....	(45)
实验三	果蝇的两对因子杂交 .....	(48)
实验四	果蝇的伴性遗传 .....	(50)
实验五	果蝇连锁基因的三点测验 .....	(53)
实验六	环境因素对果蝇基因表达的效应 .....	(56)

**第三部分 分子遗传综合实验模块**

实验一	植物总 DNA 的提取 .....	(61)
实验二	植物 DNA 的定量和纯度测定 .....	(65)
实验三	聚合酶链式反应 (PCR) .....	(69)
实验四	植物细胞总 RNA 的提取与检测 .....	(72)
实验五	SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质 .....	(76)

**第四部分 微生物遗传综合实验模块**

实验一	大肠杆菌紫外诱变 .....	(83)
实验二	大肠杆菌质粒 DNA 的提取 .....	(87)

实验三	大肠杆菌感受态细胞制备及转化 .....	(90)
实验四	酵母菌子孢子的培养与观察 .....	(93)
实验五	酵母菌的杂交 .....	(95)
实验六	粗糙脉胞菌顺序四分子分析 .....	(99)

### 第五部分 数量群体遗传综合实验模块

实验一	遗传平衡定律 .....	(107)
实验二	植物分子标记检测技术 .....	(109)
实验三	群体遗传多样性分析 .....	(116)
实验四	植物的有性杂交 (杨树切枝杂交) .....	(122)
实验五	广义遗传力估算 .....	(127)
附录 I	遗传学常用实验材料的准备和保存 .....	(130)
附录 II	不同自由度下的 $\chi^2$ 值和 $P$ 值表 .....	(136)
参考文献	.....	(138)



# 第一部分

## 细胞染色体遗传综合实验模块

染色体是基因的载体，基因控制着生物的遗传和变异以及生物的发育途径。而染色体自身的结构和行为也受基因的控制。因此，研究染色体的数目、结构和行为的变异，探讨其发生和发展的机制和规律，进而达到人工控制和改造生物遗传变异的目的，是生命科学研究的核心内容。

本模块将植物细胞分裂，动物、植物染色体标本制备及核型分析、植物多倍体和单倍体诱导等整合为细胞染色体遗传综合实验。要求学生熟练掌握动、植物染色体，唾腺染色体标本制备和核型分析技术，以及相应的软件应用。从正确取材、预处理、酶处理、图像分析软件应用、染色体基数确定、染色体形态、结构及类型分析等实验全过程均由学生自己动手。该模块内容较多，可根据学时计划和重要程度将全部内容分为必修和选修两个单元，鼓励学生在完成必修项目的同时，利用课余时间选择选修项目。提倡学生根据自己的兴趣将实验项目重新设计和整合，进行探索性学习；也鼓励学生自带感兴趣的动、植物材料，参考实验指导的操作程序或其他实验操作参考书，自定染色体制片工艺，独立完成实验材料的染色体基数、形态、结构、类型及生物倍性研究，为使学生更充分理解经典遗传学的三大规律以及未来的细胞遗传学奠定基础。





## 实验一 植物细胞有丝分裂的观察

### 一、实验目的

1. 学习植物组织及细胞的固定、离析和压片方法。
2. 观察在植物细胞有丝分裂过程中染色体的动态变化过程及各时期的形态特征。

### 二、实验原理

具有自我复制能力是生命的一个基本过程。单细胞生物可以通过细胞分裂直接复制自身，而多细胞生物从受精卵开始，经过有丝分裂使细胞不断增殖并经过一系列复杂的分化过程形成新一代个体。对于多细胞生物来说，无论是体细胞还是生殖细胞一般都是通过有丝分裂（见图 1-1）过程实现细胞增殖的，而生殖细胞在形成配子时才经历了减数分裂的细胞分裂形式。正是由于人们在 19 世纪逐渐了解了有关细胞分裂的知识，才能够对孟德尔定律有了比较深刻的认识。从细胞分裂中染色体的行为推断出基因位于染色体上，使人们对于遗传因子（Genetic factor）的认识提高到一个新的水平。

一般来说，只要是能够进行细胞分裂的植物细胞组织或是单个细胞都可以作为观察染色体的材料，如植物的顶端分生组织（根尖和茎尖）、居间分生组织（禾本科植物的幼茎及叶壳）、愈伤组织和胚乳、萌发的花粉管等。其中，根尖和茎尖是有丝分裂的高发部位，根尖由于取材方便，是观察植物染色体最常用的材料。在这些组织内不断进行着细胞分裂。只要我们适时取材，并加以固定、离析、染色等处理后制成染色体玻片标本，即可利用显微镜对有丝分裂的染色体进行观察。这是细胞遗传学中最基本和常用的方法，在物种亲缘关系鉴定、染色体变异、杂种分析等工作中有着广泛的用途。

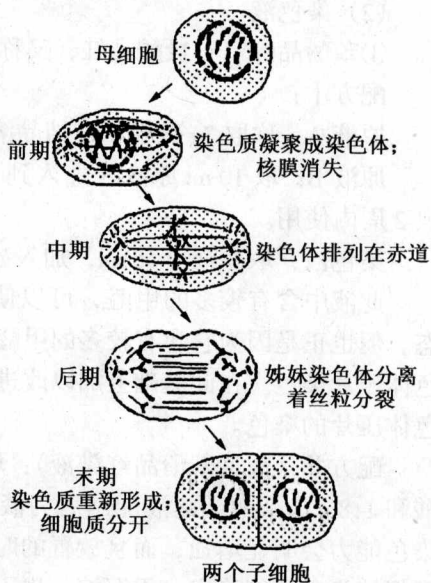


图 1-1 植物有丝分裂过程示意图

### 三、实验材料

大蒜或洋葱根尖。

### 四、实验器具和药品

#### 1. 器具

显微镜、刀片、载玻片、盖玻片、皮头吸管、小滴瓶（30 ml、棕色）、烧杯（50 ~

100 ml)、纱布、滤纸、绘图纸、铅笔(带橡皮头)、镊子、恒温水浴锅。

## 2. 药品

### (1) 固定液

比较常用的、有效的固定液是卡诺(Carnoy)固定液,它是由Carnoy于1886年发明使用的。该固定液配制简单,操作简便,不涉及腐蚀性和有毒药品。

配方A:无水乙醇15 ml+冰醋酸5 ml(3:1)

配方B:无水乙醇30 ml+氯仿15 ml+冰醋酸5 ml(6:3:1)

其中,配方A应用最为广泛,配方B常应用于某些含油脂类物质较多的材料以及某些需要更加硬化的组织的固定。

### (2) 染色液

①苯酚品红(石炭酸品红,又称卡宝品红,Carbofuchsin)染色液。

配方I:

原液A:称取3g碱性品红结晶溶于100 ml 70%乙醇中,此液可长期保存。

原液B:取10 ml原液A加入到90 ml 5%苯酚水溶液中,充分混匀,此液不稳定,限2周内使用。

染色液:取原液B 55 ml,加入冰醋酸和甲醛(37%)各6 ml,充分混匀。

此液中含有较多的甲醛,可以使原生质体硬化从而保持其固有的圆球状的完整形态。但也正是因为它含有较多的甲醛,不能使组织软化,所以不太适合于植物组织的染色体压片染色。在此基础上加以改进的配方II,则可以普遍地应用于一般植物组织的染色体压片的染色。

配方II(改良苯酚品红染液):取配方I中的染色液2~10 ml加入90~98 ml 45%醋酸和1.8 g山梨醇。此液配制后为淡红色,如果立即使用,染色较淡。放置2周之后,染色能力会明显增强;而且放置的时间越久染色效果会越好。此液可在常温下存放2年而保持染色性能稳定,无沉淀,也不褪色。

卡宝品红对染色体的染色效果,与盐酸的解离条件密切相关。当解离时间太短时,细胞质也不同程度地着色,易导致分色不清晰。当解离过度时,背景虽无色,但染色体着色浅淡甚至不着色。只有在合适的解离条件下,才可获得最佳的染色效果,即染色体呈紫红色,细胞质无色或只有极浅的红色。不同的植物需要不同的解离条件,应通过实验加以确定。此外,盐酸解离之后,务必用蒸馏水将材料中的残余盐酸彻底洗净,否则,卡宝品红染液将不易染色。

②醋酸洋红染色液。

取90 ml冰醋酸加入110 ml蒸馏水中,配成200 ml 45%冰醋酸溶液,加热至沸,溶入洋红(Carmine)粉末1 g,轻微搅动,加回流继续煮沸0.5~1 h,放冷过滤后保存在有玻璃塞的棕色试剂瓶中,存放在避光冷凉处,用前分装到小滴瓶中。

③苏木精染色液。

取0.5 g苏木精放在棕色瓶中,加入95%乙醇1~5 ml以加速溶解,然后加入蒸馏水到100 ml。取2~4层纱布包扎瓶口,通气防尘,放在窗前,经4~5周后当溶液变成深棕红色时,则表明完全成熟,过滤后即可使用。用软木塞或玻璃塞封好瓶口,在冰箱内可保存半年。

苏木精溶液也可以用无水乙醇配成 10% 的基液，经 1 个月的“成熟”即可使用。基液装在棕色磨口瓶中，在低温下可较长时间保存，用时取 5 ml 基液放入 95 ml 蒸馏水中稀释成 0.5% 即可。

此染料必须成熟方可使用，成熟即氧化成氧化苏木色素的过程。为了加速成熟，可用以下方法处理：

a：在新配制的苏木色素溶液中，加入数毫升  $H_2O_2$ ，不可过多，一起沉淀时即失去效用。

b：在配成的 0.5% 染液中每 100 ml 加入 0.1 g 碘酸钠，溶后即可使用。

c：将蒸馏水煮沸，加入适量苏木精，待稍冷却后（需约 0.5 h），即可使用。

#### ④ Sc hiff 试剂。

这是孚尔根反应的染色剂。它的基本原理是细胞经过温和的酸水解作用，使 DNA 上的嘌呤—脱氧核糖的糖苷键上的嘌呤除去，从而使脱氧核糖的醛基游离，这些游离的醛基再与 Sc hiff 试剂反应，形成紫红色的复合物。

Sc hiff 试剂的配制方法：将 0.5 g 的碱性品红 (Basic fuchsin) 溶于 100 ml 煮沸的蒸馏水中，充分搅拌使之溶解。冷却到 58℃ 后，将其过滤到一个棕色瓶中，待滤液冷却到 26℃ 再加入 10 ml 摩尔浓度为 1 mol/L 的盐酸和 0.5 g 无水亚硫酸氢钠，振荡使其溶解，然后将瓶口密封，置于黑暗和低温处 12~24 h 后进行检查，呈淡黄色或近于无色便可以使用。若有不同程度的红色，可加入 0.5 g 的优质活性炭，不断摇动染色瓶，在 4℃ 下静置过夜，过滤后可使用。保存时需盖紧瓶塞，外包黑纸，储存于 4℃ 冰箱中（可保存数月或更长时间）。如液体变红则不宜再使用。

#### (3) 水解分离液

1 mol/L HCl：取 8.25 ml 的浓盐酸加水 100 ml。

#### (4) 酶液

以 0.1 mol/L 的醋酸钠为溶剂，配成纤维素酶 (2%) 和果胶酶 (0.5%) 的混合液。

## 五、实验方法及步骤

### 1. 材料培养

选取发育良好的蒜头（或洋葱）放入盛有湿沙的托盘中（亦可水培），保持沙子的湿润，温度在 20~25℃。待根尖长到 1.5~2 cm 时，在上午的 9:00~11:00 时有丝分裂的高峰期将根尖剪下进行预处理。为了使根尖的中期分裂相增多，可以在根尖刚长出时加入一些 8-羟基脲溶液，以便达到较好的效果。

### 2. 预处理

为了便于对丝分裂中染色体的观察和计数，在固定之前实验材料应该用理化因素（温度或药物）进行预处理，这样可以改变细胞质的黏度，抑制和破坏纺锤丝的形成，促使染色体缩短和分散，使更多的细胞处于分裂中期。常用的药物处理方法如下：秋水仙碱水溶液，常用浓度为 0.05%~0.2%，室温下处理 2~4 h。这样对抑制纺锤体活动的效果明显，易于获得较多的分裂相，并且染色体收缩较直，有利于对染色体结构的研究；也可经过低温处理以达到同样的效果，处理方法是将活体或切取根尖浸入自来水或蒸馏水中，放置在冰箱中合适的温度层处理 20~40 h。



植物细胞有丝分裂的周期常因植物种类和培养条件而不同。因此，在预处理和随后固定的时间上最好掌握在高峰前，且大多数细胞在分裂中期为宜。

### 3. 固定

固定的目的是借助于物理方法或化学药剂的作用，迅速透入组织和细胞将之杀死，并且使其结构和内含物，如蛋白质、脂肪、糖类以及核物质与细胞器等，在形态结构上尽可能保持生活时的完整和真实状态，同时更易于染色，可以较清楚的显现细胞在生活时不易看清的结构。

固定时在三角瓶内放入卡诺固定液约 5 ml，将经过预处理的大蒜根尖直接放入三角瓶，用塑料膜封口，在室温下固定 24 h，固定液用量应为材料体积的 15 倍以上。经过固定的材料如果近期内不进行观察，应转入 70% 的酒精中，置于 0~4℃ 冰箱内长时间保存，进行观察前可以换用固定液再处理一次效果较好。

### 4. 水解分离

将从保存液中取出的根尖用水冲洗掉乙醇，然后进行解离。水解分离的作用是使胞间层的果胶类物质分解，使细胞分散而便于观察，也可使细胞壁适度软化而易于压片。水解分离所需时间的长短，依材料和解离液的成分而不同，时间短则细胞不易压散，时间过长细胞则容易被压碎并影响染色。解离的方法有酸解法和酶解法。

酸解法是用盐酸水解根尖，步骤简便、容易掌握，广泛应用于染色体计数、核型分析和染色体畸变的观察。根尖分生组织经过酸解和压片后，都呈单细胞，但是大部分分裂细胞的染色体还包在细胞壁中。盐酸水解分离的方法是：取固定好的根尖，放在小管内加预热的水解分离液（1 mol/L HCl），在 60℃ 水浴中解离 8~12 min，或在室温下解离 10 min。当根尖的伸长区变透明而分生区呈米黄色或乳白色时即可取出。解离后用蒸馏水反复冲洗 4~5 次，目的是洗去材料中的酸以利于染色。适度的水解分离使材料呈白色微透明，状似豆腐，以解剖针能轻轻压碎为好。

酶解法经常用于染色体显带技术或姐妹染色体单体交换等研究，通过解离和压片，使分生细胞的原生质体能够从细胞壁里压出，再经过精心的压片，使染色体周围不带有细胞质或仅有少量的细胞质，易于进行观察。

较难压片的植物材料可以先在 1 mol/L HCl 中水解几分钟，经水洗后再移到 1% 果胶酶和纤维素酶混合液中处理。

### 5. 染色、压片及镜检

#### (1) 染色

固定好的材料经解离用蒸馏水洗过后，将材料转置载玻片上，用刀片将根冠和伸长区切除，只留分生区部分，将生长点细胞切成细碎组织，根据分生组织的大小，一般每一根尖可制片 2~3 个，然后加 1 滴染液（切不可多加染色液，否则，细胞易在压片操作时随多余的染色液逸出盖玻片），染色 10~15 min。注意用卡宝品红染色时一定要把握好盐酸解离的时间，解离时间过长或过短都不利于染色。根尖着色后即可压片观察。

#### (2) 压片操作

将染色后的材料盖上盖玻片放在平整的桌子上，在盖玻片上盖两层吸水纸，用左手手指压紧，防止盖片滑动，然后用右手持铅笔的橡皮头或解剖针柄轻敲盖片，使材料均匀分散，细胞分散为一薄层。也可用右手的拇指轻压盖片，使材料分散。具体方法及使

用的力度则需要自己在实验中摸索。

### (3) 镜 检

压片之后，需要认真地进行镜检。镜检时先用低倍镜进行观察，找到一个好的视野后再转入高倍镜下观察。

通常，一张优良的细胞染色体制片应符合以下条件：

- ①较多的中期分裂相；
- ②染色体着色较深而细胞质不着色或着色很浅，背景清晰；
- ③制片基本上为一层平展的细胞，观察时看到视野内的细胞都处于一个平面；
- ④染色体分散而不重叠。

经镜检确认为较好的临时压片材料可以做成永久玻片标本，制作的方法很多，具体参见本书实验七植物染色体标本制作。

## 六、实验结果

### 1. 间 期 (Interphase)

细胞核着色均匀，看不到染色体。间期又可以分为  $G_1$  期 (Gap1)、S 期 (Synthesis) 和  $G_2$  期 (Gap2)。  $G_1$  期是从上次细胞分裂结束到下次染色体复制开始这段时间，此期内主要进行细胞生长和制造一些细胞功能物质。  $G_1$  期的时间长短变化很大。如胚胎期细胞  $G_1$  期只有几小时，而成熟的脑细胞在此期处于停滞状态 ( $G_0$ )，一般不再进行分裂。S 期细胞进行 DNA 复制，经过 S 期染色体 DNA 含量加倍。  $G_2$  期是从染色体 DNA 复制结束到细胞开始进行分裂。因此，间期是细胞为分裂而进行物质和能量的准备期，表面上看细胞似乎处于停止状态，实际上细胞进行着活跃的 DNA 复制和蛋白质合成活动 (见图 1-2)。

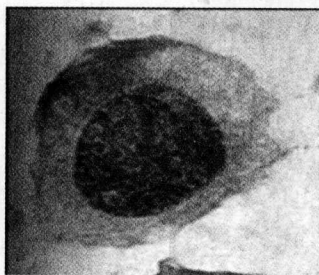


图 1-2 间期

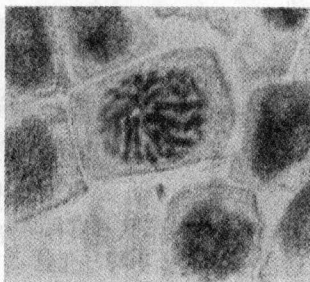


图 1-3 前期

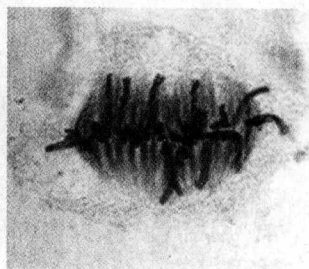


图 1-4 中期

### 2. 前 期 (Prophase)

染色质经螺旋化逐步折叠浓缩成染色体，因此，在光学显微镜下可以看到。由于经过了染色体复制，在前期的较晚阶段每条染色体包含了两条染色单体，共同连接在同一着丝粒处 (见图 1-3)。

### 3. 中 期 (Metaphase)

细胞核膜和核仁的解体是进入中期的标志。中期的染色体浓缩得很短，形态特征典型。所有染色体及着丝粒排在赤道面上，染色体两臂排在赤道面两侧。如果制备细胞染色体标本时，是从细胞极面压片而成，则可以看到中期染色体排成一个环状结构。由于中

期的染色体高度浓缩，形态清晰，因此，是进行染色体分析的最佳时期（见图 1-4）。

#### 4. 后期 (Anaphase)

染色体在着丝粒处分裂，分开的染色体在纺锤丝的作用下有序地移向两极，分裂后的细胞每一极都得到与原来细胞同样数目和质量的染色体（见图 1-5）。

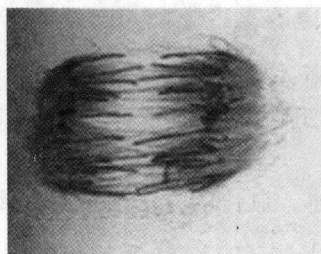


图 1-5 后期



图 1-6 末期

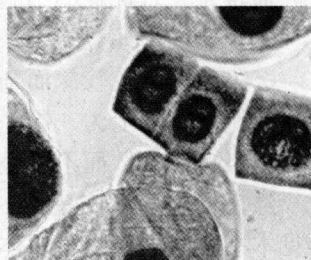


图 1-7 胞质分裂

#### 5. 末期 (Telophase)

染色体到达两极后，细胞重建核仁、核膜。浓缩的染色体逐渐失去高度螺旋化状态，分散在细胞核内（见图 1-6）。

#### 6. 胞质分裂 (Cytokinesis)

有丝分裂的最后阶段是进行胞质分裂。胞质分裂起始于有丝分裂后期，直到末期结束。胞质分裂使分到两极的细胞核形成两个独立的细胞，这一过程在动植物中是有差异的。植物胞质分裂时在赤道面形成细胞板，进而将细胞一分为二。而动物细胞的胞质分裂依赖于收缩环，它将细胞分成大致相等的两部分。在胞质分裂中，细胞质中的细胞器也被分到两个子细胞中。但是在细胞分裂过程中也有一些例外的情况发生，如细胞核分裂而胞质不分裂，染色体复制但细胞核不分裂等情况（见图 1-7）。

### 七、注意事项

1. 解离时间应适当，时间过短则细胞不易压散，时间过长染色体结构易受损。
2. 解离后要用蒸馏水充分冲洗，将材料中的酸完全洗去以利于染色。
3. 压片材料要少，避免细胞紧贴在一起，致使细胞和染色体没有伸展的余地。
4. 用铅笔头敲打盖玻片时，用力要均匀，不可用力过大而破坏良好的分裂相细胞。

### 八、思考题

1. 预处理的作用是什么？
2. 固定液的作用是什么？



## 实验二 植物染色体组型分析

### 一、实验目的

1. 掌握植物染色体组型分析的方法。
2. 学习染色体组型分析的原理及各项参数意义。

### 二、实验原理

各种生物染色体的形态、结构和数目都是恒定的。大多数高等动植物是二倍体 (Diploid)。一个二倍体生物中配子所含有的全套染色体, 称为一个染色体组 (Genome)。而染色体组在细胞分裂中期的表型称为染色体组型或核型 (Karyotype), 包括染色体数目 (基数)、形态、大小、着丝点位置及副缢痕 (次缢痕)、随体的有无等特征 (见图 1-8)。

染色体组型分析就是通过对染色体标本及其照片进行测量、对比分析、配对、分组、排列, 对组内各染色体的形态进行测量、描述, 从而阐明生物染色体组成的过程。它在细胞遗传学、现代分类学、生物进化及遗传育种学等研究中, 是十分重要的研究手段。

进行染色体组型分析可以利用体细胞有丝分裂中期的染色体, 也可以利用性母细胞减数分裂期的染色体, 以利用前者的居多。

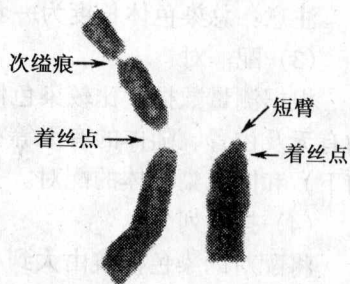


图 1-8 染色体的形态结构

### 三、实验材料

实验室提供的野生二棱白皮大麦 ( $2n = 14$ ) 分散良好的中期细胞显微照片两张 (图 1-9)、电脑及相关分析软件。

### 四、实验器具

剪子、计算器、铅笔、胶水、透明直尺 (最小刻度: 1 mm)、细线绳、绘图纸、坐标纸。

### 五、实验方法及步骤

如果你对染色体的形态结构还不是很清楚, 可以参考图 1-8, 弄清楚后再开始后面的工作, 图中注明的仅是同学们经常拿不准的两条染色体的结构。



图 1-9 野生二棱白皮大麦的核型图

#### 1. 传统方法

##### (1) 测量



测量每条染色体的总长度及长臂长度和短臂长度。对放大后的照片进行测量，先在每条染色体旁边用笔做临时标记。随时测量随时记录，包括每条染色体的绝对长度、长臂长度、短臂长度、随体有无等；有随体的染色体，随体的长度可以计入也可不计入染色体长度之内，但应注明。每条染色体的着丝粒应平分为二，计入两臂长度之内。如果染色体弯曲不能用直尺测量时，可以先用细线量取与染色体等长的长度，再用尺子量出线的相应长度。通常以 mm 为单位。

### (2) 计算

根据测量结果，计算出每条染色体的相对长度、臂比和着丝粒指数。

$$\text{相对长度} = \frac{\text{每一条染色体的长度}}{\text{总染色体长度}} \times 100$$

$$\text{臂比} = \frac{\text{长臂长度 (L)}}{\text{短臂长度 (S)}}$$

$$\text{着丝粒指数} = \frac{\text{短臂长度}}{\text{该染色体的长度}} \times 100\%$$

注意：总染色体长度为一套单倍体染色体长度的总和。

### (3) 配对

根据测量数据，比较染色体的性状、大小、相对长度、臂比、着丝粒指数、副缢痕的有无及位置、随体的有无等特征，对照片上的染色体进行粗剪（即将各个染色体分别剪下）和同源染色体的配对。

### (4) 排列

将配对的染色体按由大到小的顺序进行排列并编号。对于等长的染色体，以短臂长的在前；有特殊标记（如随体）的染色体及性染色体排在后面。排列时，把各对染色体的着丝粒排在一条直线上。短臂在上，长臂在下。

### (5) 分类

臂比值实际上反映的是着丝粒的位置，这个位置在一条染色体中是相对固定的，因而是描述染色体特征的最有用的指标。现在最常用的着丝粒命名法是 Levan 等（1964）提出的两点四区系统，其规定见表 1-1：

表 1-1 根据臂比对染色体的分类

臂比值/r	着丝粒位置	简 记
1.0	正中部着丝粒	M
1.0~1.7	中部着丝粒区	m
1.7~3.0	亚中部着丝粒区	sm
3.0~7.0	亚端部着丝粒区	st
7.0~∞	端部着丝粒区	t
∞	端部着丝粒	T

### (6) 剪·贴

将已经粗剪过的每条染色体进行细剪，使染色体周围所留相纸相等，若染色体图像清晰可以不留余边，然后按排列顺序整齐地粘在白纸上。一般是白纸上贴一张未剪的完整照片，中间贴上已经剪出且按顺序配对排列的染色体，见表 1-2。