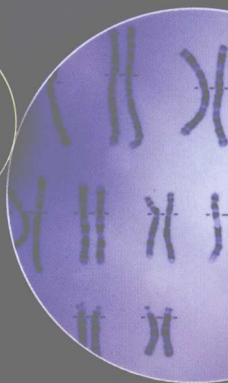
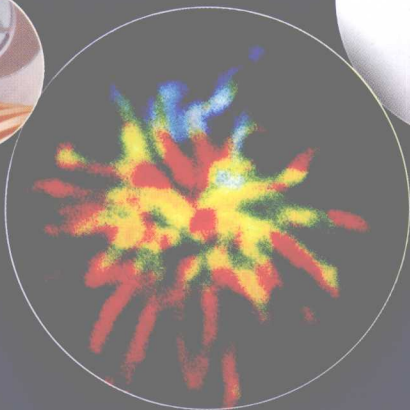
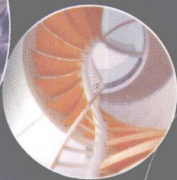
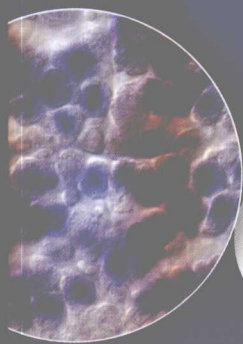


# 遗传学分析 实验教程

► 主编 乔守怡



高等教育出版社  
Higher Education Press

# 遗传学分析 实验教程

主 编 乔守怡

副主编 吴 敏 孙 晖

编 者 (按姓氏笔画排序)

王建波 (武汉大学)

王海燕 (四川大学)

乔守怡 (复旦大学)

孙 晖 (东北师范大学)

吴 敏 (浙江大学)

肖春杰 (云南大学)

宋思扬 (厦门大学)

林 娟 (复旦大学)

顾 蔚 (陕西师范大学)

曾庆韬 (湖北大学)

詹亚光 (东北林业大学)



高等教育出版社  
Higher Education Press

### 图书在版编目 (CIP) 数据

遗传学分析实验教程/乔守怡主编. —北京:高等教育出版社,2008.1

ISBN 978-7-04-020767-5

I. 遗… II. 乔… 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(2007)第 182469 号

策划编辑 吴雪梅 责任编辑 张晓晶 封面设计 张楠 责任绘图 朱静  
版式设计 范晓红 责任校对 王雨 责任印制 宋克学

---

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 100011  
总 机 010-58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司  
印 刷 北京人卫印刷厂

开 本 850×1168 1/16  
印 张 11.75  
字 数 280 000

购书热线 010-58581118

免费咨询 800-810-0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>

<http://www.hep.com.cn>

网上订购 <http://www.landaco.com>

<http://www.landaco.com.cn>

畅想教育 <http://www.widedu.com>

版 次 2008 年 1 月第 1 版

印 次 2008 年 1 月第 1 次印刷

定 价 15.50 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 20767-00

# 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

|                                       |     |
|---------------------------------------|-----|
| <b>1 模式生物性状的遗传分析</b> .....            | 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 .....                 | 11  |
| 实验三 拟南芥性状的遗传分析 .....                  | 21  |
| 实验四 秀丽线虫的遗传分析 .....                   | 33  |
| <b>2 人类性状的遗传分析</b> .....              | 39  |
| 实验五 血型的遗传分析 .....                     | 39  |
| 实验六 人类若干体表性状的遗传分析 .....               | 42  |
| 实验七 人体皮纹的遗传分析 .....                   | 48  |
| 实验八 PTC 味盲基因的群体遗传分析 .....             | 58  |
| <b>3 生物染色体的遗传分析</b> .....             | 63  |
| 实验九 细胞分裂期的染色体行为分析 .....               | 63  |
| 实验十 人类外周血淋巴细胞培养及染色体分析 .....           | 74  |
| 实验十一 染色体端粒的遗传分析 .....                 | 81  |
| <b>4 基因连锁的遗传分析</b> .....              | 84  |
| 实验十二 果蝇连锁基因的遗传分析(三点测交) .....          | 84  |
| 实验十三 链孢霉的遗传分析 .....                   | 86  |
| 实验十四 大肠杆菌基因的顺序分析 .....                | 90  |
| 实验十五 分子标记的遗传分析 .....                  | 94  |
| <b>5 基因突变的遗传分析</b> .....              | 99  |
| 实验十六 转座子插入突变的遗传分析 .....               | 99  |
| 实验十七 植物多倍体诱发的遗传分析 .....               | 102 |
| 实验十八 诱变物质的微核检测的遗传分析 .....             | 104 |
| 实验十九 大肠杆菌基因的诱变与遗传分析 .....             | 107 |
| <b>6 生物进化的遗传分析</b> .....              | 113 |
| 实验二十 黑腹果蝇 <i>Dfak</i> 基因内含子进化分析 ..... | 113 |
| 实验二十一 细菌的 16S rRNA 基因进化分析 .....       | 118 |
| 实验二十二 植物 DNA 序列进化分析 .....             | 123 |
| 实验二十三 mtDNA 进化分析 .....                | 129 |
| <b>7 生物亲缘关系的遗传分析</b> .....            | 136 |
| 实验二十四 DNA 指纹的遗传分析 .....               | 136 |
| 实验二十五 <i>HLA</i> 基因分型的遗传分析 .....      | 141 |

|                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| 实验二十六 Y 染色体基因标记的遗传分析 .....      | 148        |
| <b>8 生物性别决定的遗传分析 .....</b>      | <b>152</b> |
| 实验二十七 哺乳类及鸟类的性别决定基因分析 .....     | 152        |
| <b>9 基因定位的遗传分析 .....</b>        | <b>157</b> |
| 实验二十八 染色体荧光标记法的基因定位遗传分析 .....   | 157        |
| 实验二十九 数量性状基因座(QTL)定位的遗传分析 ..... | 161        |
| <b>10 基因功能的遗传分析 .....</b>       | <b>166</b> |
| 实验三十 表观遗传抑制剂对细胞周期调控的分析 .....    | 166        |
| 实验三十一 细菌的局限性转导的遗传分析 .....       | 168        |
| 实验三十二 RNA 干扰基因沉默的遗传分析 .....     | 172        |

# 模式生物性状的遗传分析

## 实验一 果蝇性状的遗传分析

自 1910 年 Thomas Hunt Morgan(摩尔根)发现第一个白眼突变体以来,果蝇作为模式生物的历史已近 100 年。果蝇属昆虫纲(Class Insecta)、双翅目(Order Diptera)、果蝇科(Family Drosophilidae)、果蝇属(Genus *Drosophila*)。现已发现的果蝇有 3 000 多种,其中包括遗传学研究中不可或缺的昆虫实验材料——黑腹果蝇(*D. melanogaster*)。果蝇作为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 繁殖能力较强,在适宜的温度和营养条件下每只受精的雌蝇可产卵约几百乃至上千粒,在短时期内可产生较多的子代供统计及其遗传分析。③ 突变类型多,且多数为外部形态特征的变异,易于观察。④ 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,摩尔根还因此获得了 1933 年诺贝尔生理和医学奖。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模式生物。

### • 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)。

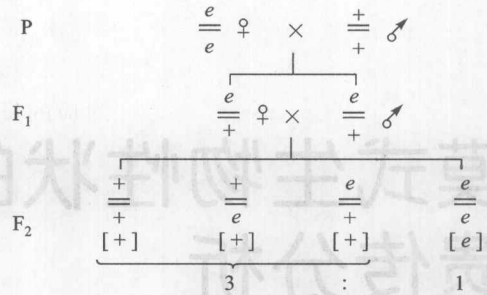


图 1-1 单因子杂交模式

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。同于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. 利用  $\chi^2$  测验(自由度 1)分析实验结果。

7. 可以另外进行反交,进一步验证上述实验结果。



### 【结果与分析】

所有的实验数据都有误差相伴。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表现为偏离。此时,我们需要通过统计学办法( $\chi^2$ 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 $\chi^2$ 检验中,当与特定的 $\chi^2$ 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,甚至可能原来的理论本身就是错误的。另一方面,当与特定的 $\chi^2$ 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 $F_1$ 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 $F_1$ 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3d把全部亲本转移到一个新的培养瓶中,做亲本二次杂交。第5d再次转移亲本果蝇做亲本三次杂交。最后,在杂交开始后第7d除掉亲本果蝇。

来自相同亲本的 $F_1$ 作为同一组数据统计。

## • 果蝇双因子遗传分析

### 【原理】

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子代的。

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)。

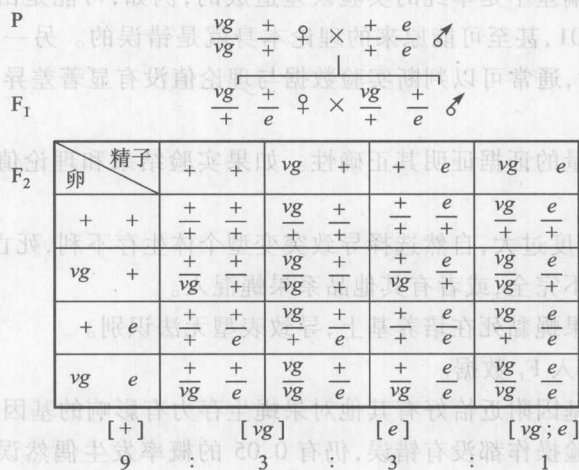


图 1-2 双因子杂交模式

P 表示亲本,  $F_1$  和  $F_2$  分别表示子一代和子二代;

[+], [e] 及 [vg] 分别表示相应的表型

**【材料】**

黑腹果蝇 (*D. melanogaster*) 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。

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,约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 $\chi^2$ 测验(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 $\chi^2$ 测验的结果有否差异?

### 【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】

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。X染色体上基因的遗传模式称为伴性遗传(sex-linked inheritance)。1910年,Morgan将偶然发现的一只白眼雄蝇(黑腹果蝇,*D. melanogaster*)与野生型(红眼)雌蝇交配,结果发现白眼性状在子一代( $F_1$ )雌蝇和雄蝇中的表现完全不同(图1-3,图1-4)。Morgan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。

已知的黑腹果蝇伴性遗传性状有许多种,其中常用且肉眼极易识别的隐性性状包括黄体( $y$ )、白眼( $w$ )、小翅( $m$ )、焦刚毛( $sn$ )和显性性状棒眼( $B$ )。

### 【材料】

黑腹果蝇(*D. melanogaster*)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。

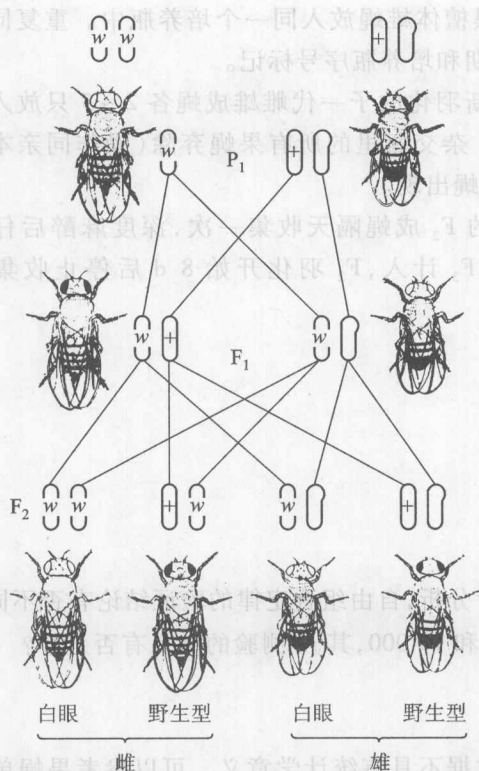


图 1-3 伴性遗传——白眼雌蝇和红眼雄蝇杂交 (Morgan 等, 1922)

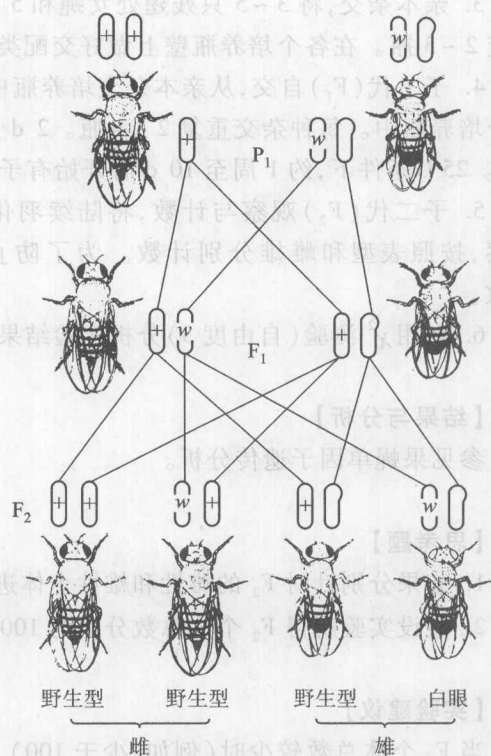


图 1-4 伴性遗传——红眼雌蝇和白眼雄蝇杂交 (Morgan 等, 1922)

### 【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。  
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, 约 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,约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 $\chi^2$ 测验(自由度3)分别分析正、反交实验结果。

### 【结果与分析】

关于 $\chi^2$ 测验结果,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菌为食物,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菌。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。Morgan 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。

这种培养基可以不加小滤纸片。

和玉米、白糖培养基相比,酵母、白糖培养基的营养条件更好些,特别有利于幼虫生长及成虫羽化。另外,还可以通过改变酵母加入量达到调节培养基的营养条件的目的,例如,将鲜酵母使用量减至标准量的一半,所得培养基和玉米、白糖培养基基本相当,非常适合于单纯维持果蝇品系。

在用塑料袋密封的条件下,分装好的培养基可于室温保存 1 个月。

以上两种培养基所需白糖均可用蔗糖代替。

## 二、果蝇培养容器

200 mL 左右的玻璃酸奶瓶、50 mL 或 100 mL 广口瓶、(1.5~2.5) cm × (7~10) cm 玻璃直管均可作为果蝇培养瓶。瓶塞可以选用海绵或棉塞。在每次使用前,务必对培养瓶和瓶塞进行灭菌处理,例如,120~150℃ 干热灭菌 1 h 或 120℃ 高压锅灭菌 20 min。小滤纸片可以放入适当的金属盒内,再和培养瓶、瓶塞一道灭菌。

## 三、果蝇培养与品系维持

用于杂交实验的果蝇通常放在 25℃ 隔水式恒温培养箱中培养。如果仅用于实验室常规品系维持,则最好将培养温度控制在 18℃,并且,尽可能每 2 周左右更换一次新培养瓶,否则极易滋生螨虫。

饲养果蝇过程中,应注意控制虫口密度。密度过大时极易导致幼虫死亡率上升、成虫羽化延迟或成虫发育不良。根据一般经验,最好将幼虫密度控制在每平方厘米培养基 20~40 只。在杂交实验中,雌性亲本数量是影响幼虫密度的关键因素,一般每个培养瓶中放入羽化后 2~3 d 的果蝇 10~20 只比较理想,雌雄各半。为了防止幼虫过密,最好在培养开始 2~3 d,培养基中可见幼虫活动后将亲本成虫除掉。实验室长期维持特定果蝇品系时,特别是更换新培养瓶时,也应参照前述原则控制虫口密度。

本亲温度对果蝇生长速度和死亡率影响非常大。虽然果蝇可以在 15~30℃ 内维持生长,但实验室饲养温度仍以 25℃ 为最佳,生长周期为 10 d 至 2 周。如果不介意生活周期变长,果蝇在 20℃ 的生长状态也很好。15℃ 以下饲养的果蝇,其产卵量、幼虫生长速度、成虫生长状态等均不佳。不过,和 30℃ 以上高温饲养相比,15℃ 饲养时的死亡率不高,对单纯维持实验室果蝇品系而言,并无更大风险。

#### 四、果蝇麻醉与雌雄鉴别

性状观察、鉴别雌雄和进行杂交之前,需要对果蝇进行适当麻醉。乙醚是最常用的麻醉剂。

##### 1. 简易麻醉瓶制作

在塑料洗瓶(100~200 mL 大小的最佳)中放入一团脱脂棉,使用前滴加适量乙醚溶液润湿。

##### 2. 麻醉方法

轻轻拍打果蝇培养瓶把需要麻醉的果蝇迅速转移到一个干净的空培养瓶中,盖好瓶塞。将简易麻醉瓶的塑料管头从空培养瓶的瓶塞边缘处插入瓶内,挤压麻醉瓶壁,使乙醚气体进入瓶中。待果蝇有数秒钟不再动弹时,迅速将其倒在一张白色滤纸或白瓷板上,进行计数、性状观察或雌雄鉴别。如果中途有果蝇开始苏醒,应该将它们放回麻醉瓶中再次实施麻醉。观察果蝇时,建议使用毛笔轻轻拨动。

##### 3. 雌雄鉴别

一般的,黑腹果蝇的雌蝇比雄蝇体型明显大得多,而且雌蝇腹部膨大,而雄蝇的细小。不过,因为营养条件不佳时会出现小型雌蝇,所以应当尽量避免用体型大小判断雌雄。利用实体显微镜或肉眼区分雌雄黑腹果蝇的关键标准有(图 1-5):① 雄蝇第 5、6 节腹板整体呈黑色。② 雄蝇前足上有性梳(图 1-6)。③ 雌蝇尾部呈尖角形,雄蝇的呈钝圆形。

另外,以上有关雌雄鉴定的标准仅适用于黑腹果蝇。

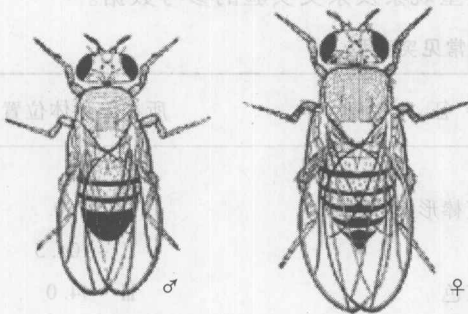


图 1-5 雌雄黑腹果蝇外部形态图

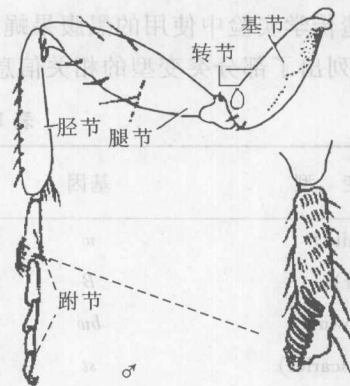


图 1-6 雄性黑腹果蝇性梳

#### 五、果蝇产卵与选择处女蝇

在不同种类的果蝇中,成虫羽化后至开始交尾的时间长短存在很大差异。25℃ 条件下,黑腹果蝇约为半天,而黑果蝇约为 1 d。一旦交尾,雌蝇会将精子储存在其体内的储精囊中,多次使

用。由于从外观上无法判断雌蝇是否已经交配过,所以必须保证即将用于杂交实验的雌性亲本是 8 h 以内新羽化的雌性成蝇——处女蝇,并在使用前一直将这些处女蝇与雄蝇分开饲养。另外,果蝇在交尾不久即开始产卵,其产卵的高峰期为 1 周左右,30 d 后几乎完全不产卵。因此,用于杂交实验的亲本果蝇最好是羽化 1 周至 10 d 以内的成蝇。

## 六、杂交技术基础

### 1. 选定亲本果蝇品系

从雌性亲本果蝇的培养瓶(指导教师提供)中收集处女蝇,并放入单独的培养瓶中待用。

### 2. 亲本杂交

将 3~5 只雌性亲本果蝇(处女蝇)和 5~8 只雄性亲本果蝇放入同一个培养瓶中。每种杂交重复 2~3 瓶。在各个培养瓶壁上做好有关交配类型、日期和培养瓶序号等标记。2 d 后将亲本杂交瓶中的所有果蝇转移至空培养瓶中,深度麻醉致死(翅膀 45° 展开)。慎重起见,可在废弃之前对亲本果蝇的性状进行再次确认,以保证没有其他品系果蝇混入或错配,最后倒入装有 70% 乙醇的废蝇瓶中。25℃ 条件下,弃除亲本约 1 周至 10 d 后开始有子一代成蝇出现。

### 3. 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。在各个培养瓶壁上做好有关交配类型、日期和培养瓶序号等标记。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,约 1 周至 10 d 后开始有子二代成蝇出现。

### 4. 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。

## 七、黑腹果蝇常见突变型

已知的果蝇突变性状有数百种,其中许多性状为外部形态变异,用肉眼或借助显微镜很容易观察。遗传学实验中使用的黑腹果蝇突变型主要涉及体色、眼色、翅形和刚毛形态等外部特征。表 1-1 列出了部分突变型的相关信息,可用作突变型观察及杂交实验的参考数据。

表 1-1 黑腹果蝇常见突变型

| 突 变 型          | 基 因       | 形 态 特 征        | 所 在 染 色 体 位 置 |
|----------------|-----------|----------------|---------------|
| 白眼 (white)     | <i>w</i>  | 复眼白色           | X-1.5         |
| 棒眼 (bar)       | <i>B</i>  | 复眼呈狭窄垂直棒形,小眼数少 | X-57.0        |
| 褐眼 (brown)     | <i>bw</i> | 复眼呈褐色          | II-104.5      |
| 猩红眼 (scarlet)  | <i>st</i> | 复眼呈明亮猩红色       | III-44.0      |
| 黑檀体 (ebony)    | <i>e</i>  | 身体呈乌木色,黑亮      | III-70.7      |
| 黑体 (black)     | <i>b</i>  | 体黑色,比黑檀体深      | II-48.5       |
| 黄体 (yellow)    | <i>y</i>  | 全身呈浅橙黄色        | X-0.0         |
| 小翅 (miniature) | <i>m</i>  | 翅膀小,长度不超过身体    | X-36.1        |



续表

| 突变型            | 基因        | 形态特征           | 所在染色体位置    |
|----------------|-----------|----------------|------------|
| 残翅 (vestigial) | <i>vg</i> | 翅明显退化,部分残留,不能飞 | II - 67.0  |
| 卷翅 (curly)     | <i>Cy</i> | 翅膀向上卷曲,纯合致死    | II - 6.1   |
| 展翅 (dichaete)  | <i>D</i>  | 双翅向两侧展开,纯合致死   | III - 40.7 |
| 焦刚毛 (singed)   | <i>sn</i> | 刚毛卷曲如烧焦状       | X - 21.0   |
| 分叉刚毛 (forked)  | <i>f</i>  | 毛和刚毛分叉且弯曲      | X - 56.7   |

## 【参考文献】

- 森脇大五郎. 1979. ショウジョウバエの遺伝実習[M]. 东京:培風館.
- 刘祖洞,江绍慧. 1987. 遗传学实验[M]. 2版. 北京:高等教育出版社.
- 王建波,方呈祥,鄢慧民,等. 2004. 遗传学实验教程[M]. 武汉:武汉大学出版社.

## 实验二 玉米籽粒性状的遗传分析

玉米籽粒性状是经典遗传研究中的重要内容。玉米籽粒由果皮、胚乳和胚3部分组成,胚乳又包括糊粉层和淀粉层。籽粒性状主要包括颜色、胚乳性质和形状等性状。在颜色性状上等位基因之间呈完全显性,非等位基因之间又常常有互作。控制籽粒性状基因很多,它们分布在多条染色体上,既有自由组合又有连锁遗传。

## 1. 果皮颜色性状

分为红色、棕色、花斑和无色。控制种皮颜色的基因有2对: $P(p)$ 和 $Bp(bp)$ ,位于第1号染色体上,在基本色素基因花青素基因 $A_1$ 存在时,这2对基因互作呈现不同的颜色性状,主要是隐性基因上位互作的结果。

## 2. 胚乳性状

通过花粉直感现象,双受精获得的 $F_2$ 胚乳直接在 $F_1$ 果穗上表现性状( $F_1$ 果穗结的是 $F_2$ 种子),使父本所携带的胚乳性状显性基因在母本的籽粒中显现出来。

(1) 糊粉层颜色性状:分为紫色、红色和无色3种,主要由位于不同染色体上的7对基因相互作用发育而成,是隐性基因上位作用的结果。这7对基因分别是花青素基因 $A_1(a_1)$ 、 $A_2(a_2)$ 和 $A_3(a_3)$ ,糊粉层基因 $C(c)$ 、 $R(r)$ 和 $Pr(pr)$ 以及抑制基因 $I(i)$ 。当显性基因 $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_3$ 、 $C$ 、 $R$ 、 $Pr$ 同时存在,且抑制基因为隐性纯合( $ii$ )时呈紫色表型;当 $pr$ 和 $i$ 为隐性纯合,其他基因均为显性时呈红色表型;当抑制基因为显性 $I$ ,下列显性基因 $A_1$ 、 $A_2$ 、 $A_3$ 、 $C$ 、 $R$ 任意缺一时,呈现无色表型。

(2) 淀粉层颜色性状:有黄色和白色两种,由第6号染色体上的 $Y(y)$ 基因控制。黄色( $Y$ )为显性。

## (3) 胚乳性质相关性状

甜粒与非甜粒:由第6号染色体上1对等位基因 $Su(su)$ 控制,非甜为显性,形态上呈现籽粒饱满的特点,甜粒为隐性性状,籽粒形态上呈现皱缩的特点。