

811	遗传学实验外训量级	三十二个实验
811	实验因基外训量级	四十二个实验
121	实验因基外训量级	五十二个实验

目 录

130	实验因基外训量级	I 实验
130	实验因基外训量级	II 实验
141	实验因基外训量级	III 实验
141	实验因基外训量级	IV 实验
141	实验因基外训量级	V 实验
141	实验因基外训量级	VI 实验
141	实验因基外训量级	VII 实验

第二版前言

第一版前言

遗传学实验的操作规程	1
实验一 植物有丝分裂	14
实验二 植物减数分裂	19
实验三 植物染色体标本制作	24
实验四 染色体组型分析	27
实验五 质量性状遗传分析	34
实验六 基因的连锁交换和基因定位	40
实验七 果蝇性状观察与基因定位	44
实验八 果蝇的伴性遗传	49
实验九 果蝇唾腺多线染色体观察	52
实验十 染色体结构变异的观察	55
实验十一 植物单倍体诱导与鉴定	58
实验十二 植物多倍体的诱导与鉴定	61
实验十三 植物非整倍体的观察与鉴定	65
实验十四 植物染色体的显带技术与带型分析	68
实验十五 植物染色体荧光原位杂交	73
实验十六 大肠杆菌转化	80
实验十七 细菌的转导	83
实验十八 大肠杆菌中断杂交实验与基因定位	92
实验十九 高等植物核 DNA 的提取和纯化	96
实验二十 细菌质粒 DNA 的提取与纯化	99
实验二十一 农杆菌转化技术	105
实验二十二 大肠杆菌营养缺陷型诱导和鉴定	108

实验二十三	数量性状遗传分析	113
实验二十四	数量性状基因定位	118
实验二十五	群体等位基因频率、基因型频率估计	127

附录 I	遗传学常用实验材料的准备和保存	130
附录 II	常用试剂配制方法	136
附录 III	不同自由度下的 χ^2 值和 P 值表	145
附录 IV	植物单倍体培养的常用培养基	147
附录 V	遗传学实验室所需药品	148
附录 VI	遗传学实验室所需仪器设备和用具	162

主要参考文献	164
--------------	-----

11		一
12		二
13		三
14		四
15		五
16		六
17		七
18		八
19		九
20		十
21		十一
22		十二
23		十三
24		十四
25		十五
26		十六
27		十七
28		十八
29		十九
30		二十
31		二十一
32		二十二
33		二十三
34		二十四
35		二十五
36		二十六
37		二十七
38		二十八
39		二十九
40		三十
41		三十一
42		三十二
43		三十三
44		三十四
45		三十五
46		三十六
47		三十七
48		三十八
49		三十九
50		四十
51		四十一
52		四十二
53		四十三
54		四十四
55		四十五
56		四十六
57		四十七
58		四十八
59		四十九
60		五十
61		五十一
62		五十二
63		五十三
64		五十四
65		五十五
66		五十六
67		五十七
68		五十八
69		五十九
70		六十
71		六十一
72		六十二
73		六十三
74		六十四
75		六十五
76		六十六
77		六十七
78		六十八
79		六十九
80		七十
81		七十一
82		七十二
83		七十三
84		七十四
85		七十五
86		七十六
87		七十七
88		七十八
89		七十九
90		八十
91		八十一
92		八十二
93		八十三
94		八十四
95		八十五
96		八十六
97		八十七
98		八十八
99		八十九
100		九十
101		九十一
102		九十二
103		九十三
104		九十四
105		九十五
106		九十六
107		九十七
108		九十八
109		九十九
110		一百

遗传学实验的操作规程

1 遗传学实验室工作规程

遗传学实验是遗传学教学过程中的重要环节之一，现代遗传学实验包括普通遗传学、细胞遗传学、数量遗传学和分子遗传学等内容。为了使实验能够正常进行和获得正确的结果，避免在实验中出现差错和意外事故，实验者必须严格遵守实验室工作规程，规范实验操作，认真完成实验。

1.1 基本规则

(1) 实验者实验前必须预习实验指导书，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，不无故缺席。严禁携带与实验无关的物品进实验室。

(3) 实验室须保持安静，按实验指导书和指导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，由各人（组）专用，不得随意调换，公用物品不得取回自己专用。

(6) 正确使用各种仪器，切勿将试剂沾污仪器设备，如有沾污须随时擦净。如遇到仪器发生故障，应在教师指导下排除，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、二甲苯等应分别倒入指定的玻璃瓶中,以便回收再用。

(10) 实验完毕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,应填写报损单,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。离开实验室前须切断电源,关好水龙头和门窗。

1.2 实验室安全守则

1.2.1 实验室安全措施

(1) 通风橱。部分遗传学实验需用一些有毒的化学物质或可能会释放一些有毒的气体。因此,现代遗传学实验室一般均设计有通风橱。实验室通风橱一侧与排气系统相连,将新鲜空气从开放的一侧抽入通风橱,同时排出污浊的废气。正确使用通风橱,可保障有毒物质不会危害操作人员,实验室其他同学也不会吸入有毒化学物质。通风橱风的空气平均流速至少应为 30m/min ,橱内任何一点的最低风速不应小于 20m/min 。使用化学诱变剂的通风橱最低平均流速不低于 45m/min ,橱内任何一点的最低风速不应小于 37m/min 。通风橱进风面的大小可用滑动窗进行调节,可用一些指示方法(如测压计、绸缎等)表明空气的流速。为了确保通风橱正常工作,橱前面不应有交叉气流存在,否则会引起橱内空气倒流,使有毒气体从通风橱内逸出。

(2) 生物安全橱。现代遗传学实验将越来越多地涉及一些生物毒性物质。生物毒性物质的操作必须在生物安全橱内进行。注意尽管某些超净工作台可作为生物安全橱使用,但绝不等于生物安全橱。生物安全橱有三种类型:

第一种类似于通风橱,在工作面上存在一个向内的气流,因此烟雾不会扩散到房中。“脏”的空气经滤膜过滤后从通风橱中排除,从而防止生物毒性物质污染环境。通风橱内有排气扇通至外面,故化学物质也可在其内操作。

第二种橱又可分为两类:第一类,橱中 70% 过滤后的空气再进入循环,因此这种类型的生物安全橱不能用于腐蚀、易燃或有毒化学品;第二类,橱中 30% 过滤后的空气再进入循环,这种生物安全橱可用于操作适量的化学品和溶剂。

第三种为空气密封橱,并维持在负压条件下工作。这种生物安全橱最严

格,它们内部有通风循环,进出的空气均经过严格的过滤。所有种类的生物安全橱均需定期检查(至少每年一次)。如果必须进行去污处理,可将橱封闭后用甲醛熏蒸处理。定期检查滤膜有无漏洞,气流是否适当等。

(3) 手套。在处理化学品、刺激物质、放射性物质、有毒溶剂及生物毒性物质时,操作人员必须戴上防护手套。遗传学实验室使用的手套有许多种类,适用于某些物质的手套对另一些物质可能无效。因此,必须根据实验内容可能接触到的物质选用合适的手套。另外,在进行液氮操作时应选用厚实的棉手套,以免冻伤。

(4) 护目镜及防护衣。现代遗传学实验涉及一些放射性物质。涉及辐射强度较大的射线如 γ 射线、X射线时,实验必须在专门的防护体内进行,而涉及辐射强度稍弱的紫外线时,实验一般在实验室内进行。视网膜对紫外光不敏感,但人体皮肤对紫外线较敏感。直接或间接的紫外线照射0.5~24h会使眼睛产生炎症。因此,有条件的遗传学实验室应配备专用的保护镜和防护衣,学生在进行实验时应戴上防护眼镜,穿上防护衣,以减少暴露。

1.2.2 实验室安全操作注意事项

(1) 对于贵重或精密仪器,必须先详细阅读仪器说明书后方可使用。实验中所用的试剂,应先了解其性质以后再使用。如试剂瓶上的标签字迹不清或标签脱落时,则必须经过检验,否则不得使用。

(2) 在使用有毒物品或易挥发的有毒液体,如氰化钾、氰氟酸、二硫化碳等,以及易挥发的强酸、氨或易发生恶臭的物质,如硫化铵、硫化氢铵等时,必须在排气良好的地方或通风橱中进行;在使用易爆品、浓酸和浓碱,以及其他一些有强烈反应性能的物质时,应戴护目镜和手套。

(3) 严禁随意拨动电源、拉接电线。

(4) 有毒液体及浓酸、浓碱等试剂不得以口吸方式用移液管吸取,必须使用洗耳球或其他类似器具。强酸溶液均应贮存于磨口瓶中。

(5) 易爆物品不得轻易加热,必须经测试其中无氧化物后方可操作;盛有易燃、易爆物品的瓶子,不得放在使用煤气或有电热品的实验室内加热,应放在无火源有通风处使用。

(6) 对于具有爆炸性的试剂,应特别小心火源、火花,避免猛力冲击和震荡。

(7) 各种化学试剂,特别是危险试剂必须由专人保管和贮存。有毒或易爆物品应封闭于铁箱中,由专人保管入册。

(8) 易吸水的试剂(氯化钙、氢氧化钙等)必须严封于有盖的玻璃瓶中,

用后宜用石蜡封好;见光即发生变化的试剂(硝酸银、磺胺剂、四氯化碳等)应保存在棕色玻璃瓶中,放于阴凉的柜、橱中,避免日光直射;在空气中易自燃的金属钾、黄磷等,应保存在相应的盛有适当液体的密闭容器中。

(9) 必须保证实验室的安全,消防器械和防护器材经常处于完善待用状态。

2 常用仪器的使用和维护

2.1 显微镜

显微镜是遗传学实验的重要工具,属于精密的光学仪器。显微镜的种类繁多,用途各异,有单目和双目显微镜、光学显微镜、相差显微镜、荧光显微镜和倒置显微镜等。其主要结构为光学系统,包括目镜、物镜、集光器、光圈,以及反射镜等。使用时,将所要观察的标本置于集光器与物镜之间,平行的光线自反射镜折射入集光器,光线经集光器穿过透明的标本进入物镜后,即在目镜的焦点平面形成一个倒像,从实生的倒像射过来的光线,经过目镜上的接目透镜而到达眼球。这时光线又成平行或接近平行,这些平行的光线透过眼球的水晶体,就在视网膜上形成一个直立的实像。

显微镜使用注意事项:

(1) 提取镜箱时,必须右手提镜箱环,左手托箱底,镜箱门朝着胸前一面。取显微镜时必须右手紧握镜臂,左手托镜底,防止显微镜滑落损坏。

(2) 显微镜取出后,先用软毛刷、纱布拂擦镜身的灰尘污物,缝隙及镜头上的灰尘、纤维等用洗耳球吹去,然后用擦镜纸拭擦物镜和目镜。擦时只能顺着一个方向多次拭擦,不能旋转擦,最后用细白丝绸把镜头再擦一次。

(3) 镜检时,物镜只能由低倍到高倍,在高倍镜下只能用细调螺旋调焦,细心操作,以防压碎玻片、损坏镜头。

(4) 如果发现镜头被药物或脏物污染,应立即用擦镜纸蘸少许二甲苯(以刚湿润纸为度)擦净,并随时用擦镜纸擦干。

(5) 使用完毕后进行清洁工作。转动物镜使其不要对着聚光镜,并降至最低点,将显微镜放回镜箱,锁上后放回原处。

(6) 镜箱内的干燥剂须定期更换。

(7) 显微镜必须与化学药物分开放置,严禁混藏。

2.2 解剖镜

解剖镜是遗传学实验的重要仪器之一,基本结构包括镜体,其中装有几组

不同放大倍数的物镜；镜体上端安装双目镜筒，其下端的密封金属壳中安装着五角棱镜组；镜体下面安装着一个大物镜，使目镜、棱镜、物镜组成一个完整的光学系统。物体经过物镜第一次放大，后由五角棱镜使物像正转，再经目镜第二次放大，使在目镜中观察到正立的物像。镜体架上还有粗调和微调手轮，用于调节焦距。有的解剖镜同时还附有照明用的光源。

解剖镜使用注意事项：

(1) 提取镜箱时，必须右手提镜箱环，左手托箱底，镜箱门朝着胸前一面。取解剖镜时必须右手紧握镜臂，左手托镜底，防止解剖镜滑落损坏。

(2) 解剖镜取出后，先用软毛刷、纱布拂擦镜身的灰尘污物，缝隙及镜头上的灰尘、纤维等用洗耳球吹去，然后用擦镜纸拭擦物镜和目镜。擦时只能顺着一个方向多次拭擦，不能旋转擦，最后用细白丝绸把镜头再擦一次。

(3) 使用时根据观察标本的颜色选用黑板，以使标本颜色与台板产生较大的反差；选择适当倍数的目镜和物镜，调节焦距进行观察操作。

(4) 如果发现镜头被药物或脏物污染，应立即用擦镜纸蘸少许二甲苯（以刚湿润纸为度）擦净，并随时用擦镜纸擦干。

(5) 使用完毕后进行清洁工作。转动物镜使其不要对着聚光镜，并降至最低点，将解剖镜放回镜箱，锁上后放回原处。

(6) 镜箱内的干燥剂须定期更换。

(7) 解剖镜必须与化学药物分开放置，严禁混藏。

2.3 恒温培养箱

电热恒温箱用于遗传学实验中动植物和微生物的培养、种子的发芽等。主要由箱体、电热器，以及温度控制装置组成。其中常用的控温系统是由两片热膨胀系数不同的双金属片组成，当温度升高时，双金属片触点断开，切断电源；温度降低时，触点接触而接通电路，达到自动控温的目的。

电热恒温箱使用注意事项：

(1) 安装电压为 220V，电流 10A 以上。

(2) 使用时先将控温旋钮调到“0”位，打开开关；再转动控温旋钮，使其加热指示灯亮，开始加热；观察温度计，当升到所需温度时，再将控温旋钮回调到指示灯灭，停止加热。当加热和停止指示灯交替亮灭时，说明箱内温度已保持恒定。观察 1~2d，如温度无变化，即可投入使用。

(3) 使用时底部进风孔不能封闭，顶部通气孔打开，箱内物品不能放得过多，以保证空气流通。

(4) 箱底不要直接放实验材料，因为底部有电热丝，温度比箱内其他地方

高。如实验材料对温度要求较高,则应对每层的温度状况进行测定。
(5) 箱内严禁放易挥发和腐污性物质。

(6) 不用时将电源切断。

2.4 恒温水浴锅

电热恒温水浴锅是遗传学实验室常用的设备,主要用于水浴温热、浓缩、蒸馏和组织水解等实验。电热恒温水浴锅是由水槽、电热管及调节器等部分组成。在水槽内浸入一铜管,内有一感温玻璃棒。由于玻璃棒的热胀冷缩推动调节器通电或断电,使电热器加热或停止加热。

恒温水浴锅使用注意事项:

(1) 使用前必须向水槽内注入适量的水,水面一定要超过电热管。可加入热水,以缩短加热时间。

(2) 使用时先打开开关,然后再转动控温旋钮,使加热指示灯亮,即开始加热,到达所需温度时,令其稳定一段时间,然后再进行有关实验。如果超过所需温度,倒转控温旋钮,指示灯灭,停止加热。当加热和停止指示灯交替亮灭时,说明锅内温度已保持恒定。

(3) 如果所用试样需放入一定溶液中,应先将溶液预热,待达到要求温度后,再将试样放入其中进行实验。

(4) 槽内铜管中的玻璃棒为调节恒温用,切勿碰撞和剧烈震动,以免调节失灵。用毕排净水槽内的水存放。

2.5 电热恒温干燥箱

电热恒温干燥箱与电热恒温培养箱大致相同。所不同的是干燥箱温度起点高,可调范围大,主要用于干燥、熔蜡、灭菌等,但其温度误差相对较大。

电热恒温干燥箱使用注意事项:

(1) 安装电压为 220V,电流 10A 以上。

(2) 使用时先将控温旋钮调到“0”位,打开开关;再转动控温旋钮,使其加热指示灯亮,开始加热;观察温度计,当升到所需温度时,再将控温旋钮回调到指示灯灭,停止加热。当加热和停止指示灯交替亮灭时,说明箱内温度已保持恒定,可投入使用。

(3) 烘箱内切忌放入易燃挥发物品,玻璃器皿、金属用具也不能装得太满,棉塞等物不要接触烘箱壁,避免烘箱升温后发生燃烧事故。

(4) 当烘箱温度上升至 100℃ 后,千万不能打开烘箱玻璃门,以免新鲜空气进入引起燃烧,以及由于剧烈的冷热变化使玻璃器皿爆裂。

(5) 使用时底部进风孔不能封闭, 顶部通气孔打开, 以保证空气流通, 鼓风机干燥箱使用时, 打开鼓风装置, 以使其箱内温度均匀, 缩短干燥时间。

(6) 箱底不要直接放实验材料, 因为底部有电热丝。

(7) 使用时经常观察其温度变化, 严禁晚上无人使用, 以免电压波动而造成事故。不用时将电源切断。

2.6 切片机

切片机是制作各种组织切片的一种专用精密仪器, 一般可分为滑行式切片机和旋转式切片机两种类型。滑行式切片机的夹刀部分是滑动的, 夹物部分是固定的; 旋转式切片机的夹物部分可上下移动和前后推动, 夹刀部分不动。夹物部分连接着控制切片厚度的微动装置。

切片机使用注意事项:

(1) 将修好的石蜡块定在已浸蜡的木台上, 装紧在夹物部分。

(2) 将切刀装入夹刀部分并夹紧, 刀口向上, 保持水平, 平面刀面向切片机。

(3) 移动刀片固定器, 将夹刀部分与夹物部分之间的距离调整好, 以石蜡块的表面刚贴近刀口为宜。并调整石蜡块与刀口之间的角度和位置。

(4) 调节切片厚度后进行切片。切片时右手旋转手轮, 左手持毛笔或解剖针, 将切成的蜡带提取放在黑蜡光纸上。

(5) 镜检切片, 以调整蜡片的厚度。

(6) 切片机的切刀薄而锋利, 使用时须特别小心。刀面上不能有盐分和水渍, 以防生锈, 每次使用完后要用无水酒精擦洗, 并涂上凡士林保存。

(7) 磨刀注意事项: 先将刀片旋上刀把, 在刀面上擦上润滑剂, 再在细而致密的黄石或青石上小心来回磨动, 并在解剖镜下检查切口的锋利程度。磨好后可在磨刀布上磨刀。

2.7 高压蒸汽消毒锅

高压蒸汽消毒锅是遗传学及其他生物学实验室必备的实验设备, 主要用于生物灭菌。产品有进口的全自动高温高压灭菌锅, 它是微电脑控温, 容量大, 使用方便, 但价格昂贵。因此国内一般实验室使用的是手提式高压蒸汽消毒锅。

手提式高压蒸汽消毒锅使用注意事项:

(1) 先取下锅盖向锅内加 3L 左右的清水, 以接近锅底座垫为准, 注意加水适量, 过多容易溅至消毒物上, 过少容易烧干。急用时可加入热水。

(2) 将消毒物品用双层纸包装, 内层可用软纸, 外层用牛皮纸。不能放得太挤, 以免影响空气流通, 影响灭菌效果。

(3) 将锅盖好, 注意将与盖连接的软管插入铝篮的半圆形槽内, 以使篮内感觉到的压力与压力表相通。注意锅盖与锅沿之间的橡皮垫扣准, 以免漏气。然后旋紧消毒器之螺丝。

(4) 接通电源, 使其加热。待压力表升至 0.5kg 时, 开放气阀门, 放掉原来的空气, 直到见到热气, 如不见热气, 需放第二次气。放气时用木棒, 以免烫伤。

(5) 继续加热, 使锅内压力达到 1.2kg , 保持 $20\sim 30\text{min}$ 。一般情况下超过 1.5kg 时会自动放气, 如达到 1.5kg 仍不自动放气, 则应关闭电源, 使其停止加热。特别要注意的是, 手提式灭菌锅在工作时必须要有专人看管, 以免放气阀失灵而发生意外。

(6) 灭菌时间到后关掉电源, 使其自然冷却, 或间歇放气数次, 至完全减压后才可打开锅盖。

(7) 继续灭菌时, 先检查并补充水量, 再按上述步骤进行灭菌。用完后, 将锅内的水倒掉, 烘干或晾干保管。

全自动高温高压灭菌锅的灭菌温度和时间是由电脑控制的, 因此, 只要根据仪器说明书设定各项参数, 启动灭菌按键即可, 但要注意:

(1) 菌锅中水位和补水瓶中的水位是否在规定值内。因有的地区的自来水为硬质水, 容易使灭菌锅产生水垢, 影响使用寿命, 且全自动灭菌锅的耗水量较小, 因此, 最好加蒸馏水。

(2) 灭菌结束后, 当锅内温度下降至 100°C 以下才能启开锅盖。取灭菌物时需带防护手套, 以免烫伤。

(3) 一般的全自动高压灭菌锅有一放气阀, 需要时可启开该阀放气, 但应及时关闭, 并在每次启动灭菌前检查该阀是否处于关闭状态, 以免发生意外。

(4) 全自动灭菌锅工作时一般不需要专人看管, 但工作过程中如发生停电应重新启动。对于培养基灭菌, 则要根据实际情况进行操作, 如停电时间很短, 可减去已灭菌时间后设定时间值, 重新启动, 如不能确定已灭菌的时间或停电时间较长, 则该批培养基报废。

2.8 超净工作台

超净工作台是遗传学实验的主要设备之一, 是进行无菌操作所必需的。超净工作台的工作原理是将室内空气经粗过滤器初滤, 由离心风机压入静压箱, 再经高效空气过滤器精滤, 由此送出的洁净气流以一均匀的断面风速通过无菌

区, 从而形成无尘无菌的高洁净度工作环境。

超净工作台使用注意事项:

- (1) 超净工作台必须安装于具有良好杀菌条件的接种室内。接种室必须安装紫外线灯、换气扇、空气调节器等, 以减少环境中的微生物量。
- (2) 接种室要经常打扫干净, 使用前必须用紫外灯灭菌 30min。开紫外灯时须关掉日光灯, 使室内保持黑暗。
- (3) 进入接种室内要穿白色工作服。不要将与实验无关的用品带入接种室, 实验材料必须清洗干净后才能进入接种室。
- (4) 进入接种室后进行工作台表面和操作人员本身的消毒。一般用 70% 的乙醇反复擦洗双手、工作台面、用具等一切可能接触的物品。也可以用 70% 乙醇喷雾工作区。

(5) 超净工作台必须预开机 30min 后才能进行实验操作。并将在实验过程中要用到的物品摆放于工作台上的合适位置。

(6) 整个操作过程最好不离开工作台, 不得在超净台前来回走动, 不准在超净台前说话或讨论问题。必须开口时, 须转过身来, 避免冲着超净台说话、打喷嚏和咳嗽等。

(7) 点燃酒精灯, 以便接种时对金属用具进行火焰消毒。接种应在靠近酒精灯火焰处进行。

(8) 实验结束后, 关掉超净工作台, 熄灭酒精灯, 把实验材料搬出接种室, 并将实验室的物件摆放整齐, 以便他人使用。

(9) 离开实验室前, 关掉电灯、空调、换气扇, 切断电源, 关上门窗。

2.9 电子天平

电子天平是常用的实验室仪器, 用于药品和组织的称量。遗传学实验室一般用 1/100g 和 1/10 000g 两种。电子天平是依据电磁力平衡原理设计的: 秤盘通过支架连杆与线圈相连, 线圈置于磁场中。秤盘及被称物体的重力通过支架连杆作用于线圈上, 方向向下。线圈内有电流通过, 产生一个向上作用的电磁力, 与秤盘重力方向相反, 大小相等。位移传感器处于预定的中心位置, 当秤盘上的物体质量发生变化时, 位移传感器检出位移信号, 经调节器和放大器改变线圈的电流直至线圈回到中心位置为止。通过数字显示器显示出物体的质量。

电子天平使用注意事项:

- (1) 同一实验使用同一台天平。
- (2) 电子天平应远离带有磁性或能产生磁场的物体和设备, 放置要平整。

通过水平调节螺丝调节水平调节器中的气泡到刻度圈中央。

(3) 称量前要检查天平是否完好,接通电源后要预热数分钟。

(4) 天平载重不得超过最大负荷,被称物应放在干燥清洁的器皿中称量,挥发性、腐蚀性物体必须放在密封加盖的容器中称量。

(5) 称量时按下显示屏的开关或回零键,待显示稳定后,将物品放到秤盘上,有防风门的天平使用时需关上防风门。显示稳定后即可读取称量值。

(6) 称量完成后要保持天平清洁,如在天平内洒落药品应立即清理干净,以免腐蚀天平。

(7) 在较长时间不使用的电子天平应每隔一段时间通电一次,以保持电子元件干燥,特别是湿度大时更应经常通电。

2.10 离心机

离心机是遗传学,特别是分子遗传学实验室必不可少的实验仪器之一。离心机种类很多,但其工作原理相同,都是利用离心力对混合液进行快速分离及沉淀。电动机带动转盘高速旋转,离心管内的微粒在离心力作用下沿离心管外移,这就是离心沉降。转速越快,离心力越大,微粒沉降越快,分离越彻底。

离心机使用注意事项:

(1) 台式小型离心机应安放在结实的实验台桌上;大型离心机应用专门的安放场所。离心机耗电量大,使用频率高,对电压要求严格,在安装时应加以注意。最好是单独设一路电线,并配制稳压器。

(2) 离心机工作时必须保持水平,因此,使用前必须检查确认离心机处于水平状态。台式离心机随机安有水平仪,大型离心机有专用的水平仪,可随时检查和调节。

(3) 离心管要对称放置,如离心管为单数不对称时,应再加一管装相同质量的水调整对称。高速离心机,特别是超速离心机应称量平衡后成对放置。

(4) 离心机的套管要保持清洁,管底应垫上橡皮或泡沫塑料等物,以避免试管破碎。

(5) 离心机在工作时一定要盖上盖,确保安全。大型离心机应选合适的转头,转头安放到位,并拧紧转头的盖子。

(6) 开动离心机时应逐渐加速,当发现声音不对时,要停机检查,排除故障(如离心管不对称,质量不等,离心机位置不水平或螺帽松动等)后再工作。

(7) 控温离心机,在工作前须设定工作温度,接上电源,使机心温度调节到合适温度时再进行工作。工作前应同时设定转速、时间、温度,并确认放开

刹车器后才能启动工作。

(8) 关闭离心机时也要逐渐减速,直到自动停止,不要用手强制停止。大型或自动离心机有刹车装置,但最好让其自然停车。

(9) 工作完成后一定要及时将离心机及其台面清理干净,切断电源,并做好记录。

2.11 PCR 仪

PCR 仪是聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 的必备仪器,也是现代遗传学实验常用的仪器。聚合酶链式反应是一种选择性体外扩增 DNA 或 RNA 的方法。PCR 包括 3 个基本步骤: a. 变性: 目的双链 DNA 在 94℃ 下解链。b. 退火: 两种寡核苷酸引物在适当温度 (50℃ 左右) 下与模板上的目的序列通过氢键配对。c. 延伸: 在 TaqDNA 聚合酶合成 DNA 的最适温度下,以目的 DNA 为模板进行合成。每一轮循环将使目的 DNA 扩增一倍,这些经合成产生的 DNA 又可作为下一轮循环的模板。因此,PCR 仪可根据预先设置的参数,控制每一循环 3 个基本步骤的时间、温度。

PCR 仪使用注意事项:

(1) 根据不同的实验目的选择模板、引物、合适的耐热 DNA 聚合酶,并根据前人的经验确定各种实验的浓度。

(2) 拟定 PCR 循环参数。根据需要决定每个循环的变性、退火和延伸三个步骤的温度和时间,以及所需的循环数。其中退火温度主要决定于引物的长度和 GC 含量,延伸时间决定于酶的速度和 PCR 产物的长度。

(3) 参数的设定。不同型号的机器设定方法有所不同,典型的 PCR 程序如下:

Step1	94℃ 5min
Step2	94℃ 30s
Step3	55℃ 30s
Step4	72℃ 1min
Step5	goto2for29times
Step6	72℃ 8min
Step7	4℃ forever
Step8	end

(4) PCR 仪一般都有热盖,为了防止加温引起的蒸汽在盖子上的凝结,热盖的温度一般设得比退火温度稍高。这就要求 PCR 仪的盖子的密封性要好。如发现经 PCR 循环后反应液明显减少,说明盖子密封性不好,对 PCR 结果有

不利的影响。没有热盖的 PCR 仪要在管中加石蜡油密封。

(5) 初次使用 PCR 仪应该在有加样本之前熟悉 PCR 仪的操作, 并耐心观察热循环的过程。

(6) PCR 结束后样本要保存在冰箱中, 并及时做电泳分析。在高温放置太久的样本, PCR 产物可能会发生降解。

3 玻璃器皿的清洁

实验室使用的玻璃器皿清洁与否直接影响实验结果, 往往由于玻璃器皿不清洁而会造成较大的实验误差, 甚至实验失败。因此实验前必须对玻璃器皿彻底清洗。

3.1 新置玻璃器皿的清洗

(1) 一般新购置的玻璃器皿表面常附着游离的碱性物质, 可先用肥皂水 (或去污粉) 洗刷, 再用清水冲洗干净, 然后浸泡在 1%~2% 盐酸中过夜 (不少于 4h), 再用清水冲洗, 最后用蒸馏水冲洗 2~3 次, 在 100~130℃ 烘箱内烘干备用。

(2) 新的载玻片和盖玻片可在 2% 的盐酸酒精 (100mL 95% 酒精 + 2mL 盐酸) 中浸泡数小时, 再用流水冲净后, 浸入装有 95% 酒精的玻璃容器中并加盖, 以备随时取用。

3.2 使用过的玻璃器皿的清洗

(1) 使用过的试管、烧杯、三角瓶等, 先用清水洗刷至无污物, 再选用大小合适的毛刷蘸取去污粉 (掺入洗衣粉) 或浸入肥皂水内将器皿内外细心刷洗。然后用清水冲洗干净, 再用蒸馏水冲洗 2~3 次, 烘干或倒置在清洁处, 备用。凡洗净的玻璃器皿, 不应在器壁上带有水珠, 否则应按上述方法重新洗涤。若发现内壁有难以去掉的污迹, 应分别试用各种洗涤剂 (附录 II-2.7) 予以清除, 再重新用清水、蒸馏水冲洗干净。

(2) 对于移液管、滴定管、量筒、量器等, 使用后应立即浸泡于净水中, 避免残留的溶液干涸, 难以清洗。工作完毕后用流水冲洗, 除去附着的试剂、蛋白质等物质, 晾干后浸泡在铬酸洗液中 4~5h 或过夜, 再用清水充分冲洗, 最后用蒸馏水冲洗 2~4 次, 风干后备用。

(3) 陈旧或用过的永久制片的玻片, 可先在肥皂水中煮沸 5~10h, 或将玻片微热后浸入二甲苯中脱胶, 洗去残留的树胶和糨糊, 并用清水冲洗干净。

然后放置在洗液中浸 30min, 再用清水冲尽洗液, 最后用蒸馏水洗净后放置在 95% 的酒精中。

3.3 玻璃器皿的干燥和灭菌

遗传学实验中以微生物为供试材料时, 实验使用的玻璃器皿必须干燥和高温灭菌, 防止其他杂菌污染。

(1) 干燥。干燥方法有自然晾干和烘干两种。自然晾干时间长, 但器皿上无水渍。烘干是将器皿及其他用具, 置于 60~80℃ 的烘箱中干燥, 其缺点是器皿上可能留有水渍。因此, 要求干燥前尽可能将器皿上的水分甩干。

(2) 灭菌。由于高温能使微生物蛋白质凝固, 因此利用高温可达到灭菌目的。高温灭菌的方法有:

①干热灭菌法: 通常将烘箱内温度保持 160℃ 下 2h, 即可利用热空气杀死所有微生物及芽孢。在干热灭菌过程中要注意: a. 烘箱内切忌放入易燃挥发物品, 玻璃器皿、金属用具也不能装得太满, 棉塞等物不要接触烘箱壁, 避免烘箱升温后发生燃烧事故。b. 当烘箱温度上升至 100℃ 后, 千万不能打开烘箱玻璃门, 以免新鲜空气进入引起燃烧, 以及由于剧烈的冷热变化使玻璃器皿爆裂。

②湿热高压灭菌法: 此法由于高压高温结合, 加上蒸汽传热均匀, 因此灭菌时间短, 效果好。常用各种规格的高压蒸汽消毒锅进行灭菌, 其操作方法和注意事项见本章 2.7。

实验一

●植物有丝分裂

1.1 乙酸洋红染色法

1.1.1 实验目的

学习乙酸洋红染色法的操作方法，观察植物根尖细胞有丝分裂各个时期的染色体变化和特征。

1.1.2 实验原理

有丝分裂 (mitosis) 是生物体细胞增殖的主要方式。在有丝分裂过程中，细胞核内染色体能准确地复制，并能有规律地、均匀地分配到两个子细胞中去，使子细胞遗传组成与母细胞完全一样，从而可以推断生物性状的遗传与染色体的准确复制和均等分配有关，支配生物性状的遗传物质主要存在于细胞核内的染色体上。

细胞有丝分裂是一个连续过程，可分为前期 (prophase)、中期 (metaphase)、后期 (anaphase) 和末期 (telophase)。两次有丝分裂之间的时期称细胞分裂间期。有丝分裂各时期染色体特征简述如下，并参见图 1-1。

前期：核内染色质逐渐浓缩为细长而卷曲的染色体，每一染色体含有两个染色单体，它们具有一个共同的着丝点；核仁和核膜逐渐模糊。

中期：核仁和核膜逐渐消失，各染色体排列在赤道板上，从两极出现纺锤丝，分别与各染色体的着丝点相连，形成纺锤体。中期的染色体呈分散状态，便于鉴别染色体的形态和数目。

后期：各染色体着丝点分裂为二，其每条染色单体也相应地分开，并各自随着纺锤丝的收缩而移向两极，每组有一组染色体，其数目和原来的染色体数目相同。

末期：分开在两极的染色体各自组成新的细胞核，在细胞质中央赤道板处形成新的细胞壁，使细胞分裂为二，形成两个子细胞。这时细胞进入分裂间期。

间期：细胞分裂末期到下一次细胞分裂前期之间的一段时期。在光学显微

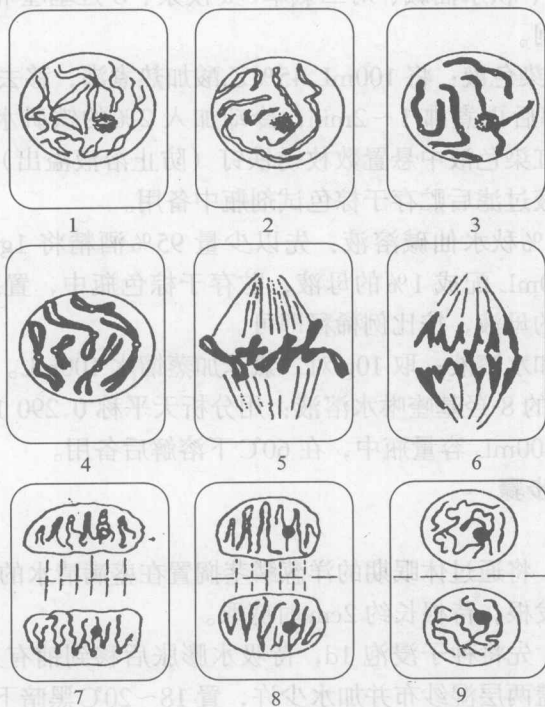


图 1-1 植物有丝分裂模式图

1. 极早前期 2. 早前期 3. 中前期 4. 晚前期 5. 中期

6. 后期 7. 早末期 8. 中末期 9. 晚末期

镜下看不到染色体, 只看到均匀一致的细胞核及其中许多的染色质。实质上早期的核是处于高度活跃的生理生化代谢阶段, 为细胞继续分裂准备条件。

高等植物有丝分裂主要发生在根尖、茎生长点及幼叶等部位的分生组织。由于根尖取材容易, 操作和鉴定方便, 故一般采用根尖作为观察有丝分裂的材料。

1.1.3 实验材料

洋葱 (*Allium cepa*, $2n=16$) 的鳞茎。

蚕豆 (*Vicia faba*, $2n=12$) 的种子。

1.1.4 实验用具药品

(1) 仪器用具。显微镜、酒精灯、培养皿、载玻片、盖玻片、镊子、刀片、解剖针、木夹、吸水纸、滤纸、标签、铅笔。

(2) 药品试剂。无水酒精、95%酒精、80%酒精、70%酒精、1mol/L 盐酸、1%乙酸洋红、卡诺氏 (Carnoy's) 固定液 (1 份冰乙酸 + 3 份无水酒精)、