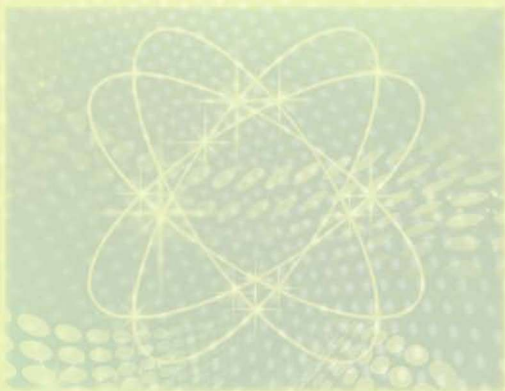


# 遗传学实验指导



## 内容简介

遗传学是生命科学中发展最为迅速的学科之一。为适应遗传学教学需求,作者吸收了众多遗传学实验教材的优点,编写了这本理论和实验操作技能融为一体的遗传学实验教材。该教材内容全面、系统,并以一种便于学习、利于复习的形式,使学生不仅能快速、准确地掌握理论知识,而且能更好地指导学生掌握实验操作技能。本教材可作为综合性大学、理工大学、师范类生物学本科生的遗传学实验教材。

## 前 言

遗传学是当前发展最为迅速的生命科学学科之一,遗传学课程是生命科学所有专业的一门核心课程,也是实验性非常强的一门课程。《遗传学实验》是为了配合遗传学课程教学而开设的一门课程,目的在于从个体、细胞、分子三个水平揭示遗传学的基本现象与规律。当前,随着高等教育教学改革的不深入,压缩课程课内讲授课时,提高实验课程的比重,提升实验教学环节的地位,已经成为一种趋势。面对这种情况,怎样在有限的学时里,利用有限的实验资源,让学生掌握更多的实验技能,理解更多的遗传学知识,就显得更为重要。

为了顺应教学改革发展的需要,两位长期从事遗传学课程教学和实验课程指导的年轻教师,吸收目前众多《遗传学实验》教材的先进之处,结合遗传学科的新发展、新变化和遗传学实验的新特点、新要求,编写了这本《遗传学实验指导》。该教材有三个特点。一是紧密配合遗传学课程教学。对于课堂教学和实验教学共有的内容,适应课时压缩的需要,以学生在实验教学中的学习、理解、体会为主,实现课堂教学、实验理论和实验技能的相互融合。二是充分吸收遗传学实验的经典内容。本实验书所选实验,基本上都是最经典的遗传学实验,具有很强的代表性,学生完成这些实验,可以帮助其进一步巩固和加深对遗传学知识的理解,掌握遗传学研究所必需的基本实验技术和实验技能。三是增加了综合性、设计性的实验内容。通过综合性大实验和设计性、创新性实验,可以提高学生的实验思想和实验方法,培养学生的综合应用知识能力与

创新能力,激发学生的学习兴趣和科研意识,为进一步开展生命科学的研究打下坚实的基础。

在本教材编写过程中,西北大学生命科学学院院长赵桂仿教授、副院长陈富林教授,遗传学课程教学组组长张富昌教授均给予了精心指导,并提出了具体的修改意见,西北大学出版社桂方海老师给予了大力支持,在此,向他们表示深深的谢意!作为年轻教师编写的教材,其中肯定有许多不妥之处,敬请大家批评指正。我们将在再版时进行修订,将更加优秀的教材呈现给大家。

编 者

2010年1月

## 目 录

实验室工作规程	/1
实验一 果蝇的性状观察、性别鉴定和饲养管理	/6
实验二 果蝇杂交	/13
实验三 植物细胞的有丝分裂	/20
实验四 果蝇唾腺染色体	/29
实验五 果蝇酯酶同工酶的遗传学分析	/35
实验六 果蝇神经节染色体的制备	/46
实验七 骨髓细胞染色体的制备及组型分析	/50
实验八 植物多倍体的诱发	/56
实验九 遗传毒理实验——微核测定法检测染色体畸变	/60
实验十 酵母菌杂交	/66
实验十一 大肠杆菌的杂交	/74
实验十二 细菌的基因定位——中断杂交	/79
实验十三 细菌转导	/85
实验十四 粗糙链孢霉的分离与交换	/92
实验十五 人类染色体分析: 外周血培养制备染色体标本	/98
实验十六 姊妹染色单体色差方法	/107
实验十七 活体骨髓细胞姊妹染色单体色差方法	/112
实验十八 活体精原细胞姊妹染色单体色差方法	/118
实验十九 人群中 PTC 味盲基因频率的分析	/122

实验二十	人体 X 染色质的观察	/125
实验二十一	人类的指纹分析	/130
实验二十二	植物染色体 Giemsa 分带	/136
实验二十三	动物染色体 Ag 染色法	/145
实验二十四	单细胞凝胶电泳技术检测细胞 DNA 损伤	/149

## 实验室工作规程

为保证遗传学实验能正常进行并获得理想的实验结果,避免在实验中发生差错和意外事故,实验操作者必须严格遵守实验室规则,认真做好实验前后和实验过程中的各项工作。

### ◎ 一、对学生的要求

1. 实验前必须预习,明确本次实验的目的、原理、内容和方法。实验时须保持安静,按实验教材和指导教师的要求进行操作,并翔实记录实验中出现的情况和获得的实验结果,对资料进行整理分析,得出结论,写出实验报告。

2. 在实验室内须听从实验室工作人员或指导老师的安排,按号入座,不得随意换座位;若设备不能正常运行,可以报告实验室工作人员或指导老师安排座位。

3. 保持实验室内安静,不得在实验室内谈笑、喧哗、追逐,大声讨论问题;认真填写实验记录本,不填写者,取消该次实验成绩。

4. 保持实验室内整洁,严禁在实验室内吃东西、抽烟、乱扔纸屑;保持实验室内干燥,严禁将雨伞、雨披带入实验室内。

5. 实验时,不得将无关人员带入实验室。不能将属于实验室内的任何物品带出实验室。

6. 实验室、工作台、各种仪器、用具、玻璃器皿等必须保持清洁整齐,工作台要严防酸、碱腐蚀。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。

7. 正确使用显微镜及各种仪器,切勿使染料或试剂沾污镜头、

镜台和所用仪器。如有沾污,须立即用镜头纸擦拭干净。

8. 取用药品时,所用各类量具必须分开,严禁混用,用后须立即冲洗干净。称量纸要做到即称即换,以防药品混杂,导致所配试剂不纯。

9. 遵守化学实验的操作要求,注意药品配制和使用时的安全。

10. 实验完毕,须做好清洁整理工作,所用仪器、物品应放回原处。实验过程中如有损坏或丢失仪器用具,应如实填写报告单,视情况进行相应处理。

11. 全班实验结束后,值日生安排整个实验室的全面清扫。离开实验室前,必须关闭所用仪器和灯具的电源,关紧水龙头和门窗。

## ● 二、显微镜的清洁和保养

显微镜是遗传学实验的重要仪器,使用时必须防尘、防高温、防湿、防药品侵蚀,在清洁保养中要做到以下几点:

1. 取镜时必须一手提镜臂,一手托镜底,防止显微镜滑落损坏。

2. 取出显微镜后,先用软毛刷、纱布拂擦镜身的灰尘污物,用洗耳球吹去缝隙及镜头上的灰尘和纤维等物,再用镜头纸擦拭物镜和目镜,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镜到高倍镜,在高倍镜下只能用微调螺旋调焦,细心操作,以防压碎玻片,损坏镜头。

4. 若发现镜头被药物或脏物污染,立即用擦镜纸蘸少许二甲苯(以刚湿润纸为度)擦掉污物,再用擦镜纸擦干。

5. 用完显微镜后进行清洁整理,将载物台放至最低处,转动物镜使之不要对着聚光镜,将显微镜放回原处。



### ◎ 三、玻璃器皿的干燥和灭菌

#### (一) 玻璃器皿的清洗

一般玻璃器皿的清洗包括浸泡、刷洗、浸酸和冲洗四个步骤。清洗后的玻璃器皿不仅要求干净透明无油迹,而且不能残留任何物质。

(1) 浸泡:初次使用和培养使用后的玻璃器皿均需先用清水浸泡,以使附着物软化或被溶解掉。新的初次使用的玻璃器皿,在生产及运输过程中,玻璃表面带有大量的灰尘,且玻璃表面常呈碱性及带有一些对细胞有害的物质等。新瓶使用前应先用自来水简单刷洗,然后用稀盐酸液浸泡过夜,以中和其中的碱性物质。再次使用的玻璃器皿则常附有大量刚使用过的蛋白质,干涸后不易洗掉,故用后要立即浸入水中,且要求完全浸入,不能留有气泡或浮在液面上。

(2) 刷洗:浸泡后的玻璃器皿一般要用毛刷沾洗涤剂刷洗,以除去器皿表面附着较牢的杂质。刷洗要适度,过度会损害器皿表面光泽度。

(3) 浸酸:清洁液是由重铬酸钾、浓硫酸和蒸馏水按一定比例配制而成,其处理过程称为浸酸。清洁液对玻璃器皿无腐蚀作用,而其强氧化作用可除掉刷洗不掉的微量杂质。清洁液去污能力很强,是清洗过程中关键的一环。浸泡时器皿要充满清洁液,勿留气泡或使器皿露出清洁液面。浸泡时间一般需过夜,不应少于6h。

清洁液配制时应注意安全,须穿戴耐酸手套和围裙,并要保护好面部及身体裸露部分。配制过程中可使重铬酸钾溶于水中,然后慢慢加浓硫酸,并不停地用玻璃棒搅拌,使产生的热量挥发,配制溶液应选择塑料制品。配成后清洁液一般为棕红色。

(4) 冲洗:玻璃器皿在使用后,刷洗及浸泡后都必须用水充分

冲洗,使之尽量不留污染或清洁液的残迹。冲洗最好用洗涤装置,既省力效果又好。如用手工操作,则需流水冲洗 10 次以上,最好用蒸馏水清洗 3~5 次,晾干备用。

## (二) 灭菌

因高温能使微生物蛋白质变性,所以高温处理能达到灭菌的目的。高温灭菌的方法有干热灭菌法和湿热高压灭菌法两种。

### 1. 干热灭菌法

将器皿及用具置 160℃ 干燥箱 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:

(1) 烘箱内忌放易燃、易挥发物品,物品不能装得太满,棉塞等物品不能接触烘箱壁,以免发生燃烧事故。

(2) 烘箱温度达 100℃ 以上后,切忌打开烘箱玻璃门,否则新鲜空气进入会引起燃烧,或因剧烈的冷热变化而使玻璃器皿炸裂。

### 2. 湿热高压灭菌法

此法高温与高压结合,蒸汽传热均匀,灭菌时间短,效果好。常用各种高压蒸汽灭菌锅进行灭菌。一般当温度达 121℃~125℃ 时,保持 20~40min 即可达到满意的效果。用此法灭菌应注意:

(1) 灭菌锅内水量要适当,过少会烧干而发生事故,过多会导致消毒物品被水浸湿。

(2) 灭菌开始时打开放气阀,加热使蒸汽将锅内的冷气排出,然后再关上放气阀继续加热,否则灭菌效果不好。

(3) 灭菌加热时要随时注意压力变化,如压力指针超过红色警戒线而安全阀仍未放气,则可能是安全阀失灵,应立即停止加热,以防爆炸。

(4) 溶液或培养基灭菌后不能立即放气,以免器皿炸裂或溶液喷出,需待其自然冷却,压力降至零时才可打开放气阀,揭开锅盖。

#### ◎ 四、关于实验动物处理

因本教材中实验内容的要求,需要使用实验动物,实验后对动物的处理必须在远离人群、不影响环境卫生、不构成环境污染的指定地点进行深埋处理。

## 实验一 果蝇的性状观察、性别鉴定和饲养管理

### 一、实验目的

了解果蝇的生活习性及一些突变型的表现性状,鉴定果蝇雌雄性别,掌握果蝇饲养管理的方法。

### 二、实验原理

果蝇(fruit fly)是双翅目昆虫,成虫身长只有0.6厘米,如同米粒般大小,比普通苍蝇小得多。它有一对翅膀,喜欢在腐烂的水果和发酵物的周围飞舞,所以人称果蝇。果蝇是被人类研究得最彻底的生物之一,为模式生物。通常遗传实验采用的是黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*),是一种原产于热带或亚热带的蝇种,它和人类一样分布于全世界,并且在人类的居室内过冬。黑腹果蝇在20世纪前半叶成为动物学家和遗传学家摩尔根(Thomas Hunt Morgan)及其学派的实验研究对象,取得了许多遗传学方面的知识,包括这种蝇类基因组里的基因在染色体上的分布。在2000年对其13600基因测序完成,部分基因与人类的基因有惊人的相似。研究发现,在果蝇的遗传物质里找到了人类的致癌基因或者潜在的、在变异情况下参与癌症发生的癌基因。在发育生物学研究方面人类也从果蝇身上获得了很多知识,20世纪70年代克里斯蒂安娜·尼斯莱因-福尔哈德(Christiane Nüsslein-Volhard)开始研究果蝇的发育基因。她从中得知,卵细胞中的四个基因决定了或是监

控了受精卵的发育。1980年她发表了论文“影响黑腹果蝇体节数目和极性的变异”，也因此获得了1995年的诺贝尔医学奖。在1900年，哈佛大学的教授卡斯特(William E. Castle)就首次将果蝇用作胚胎研究的对象。从此果蝇就在这一领域被广泛采用。

果蝇作为遗传实验材料有许多优点：(1) 饲养容易。在常温下，以玉米粉等饲料就可以生长、繁殖。(2) 生活史短。在12天左右就可以完成一个世代。(3) 繁殖率高。每个雌蝇可以一次产下400个0.5毫米大小的卵，所以可以获得大量子代。(4) 染色体少。只有4对。(5) 唾腺染色体是多线的具有斑带的巨大染色体，是研究畸变和突变的难得好材料。(6) 突变性状多，而且多为形态突变，便于观察识别，所以是遗传学实验的好材料。

### ● 三、实验材料、设备及试剂

野生型果蝇及几种常见的突变型果蝇。生化培养箱，双筒解剖镜，镊子，高压灭菌锅，电热恒温干燥箱，培养瓶，棉花塞，烧杯，玻棒，棉签，滤纸。乙醚，酒精，丙酸，酵母粉，琼脂，玉米粉，白糖。

### ● 四、实验内容和步骤

#### (一) 果蝇性状识别和性别鉴定

##### 1. 性状的识别

遗传实验所常用的性状主要有体色、眼色，刚毛形状和翅形。现把这些性状的一些突变品系列表(表1-1)如下：

表1-1 实验中使用的果蝇突变品系

影响部分	突变名称	基因符号	染色体上座位
翅型	残翅	vg	II R 67.0
翅型	小翅	m	X 36.1
眼色	白眼	w	X 1.5

(接上表)

影响部分	突变名称	基因符号	染色体上座位
体色	黑檀体	e	Ⅲ R 70.7
体色	黄体	y	X 0.0
刚毛	焦刚毛	sn	X 36.1

## 2. 雌雄果蝇的鉴定和比较

果蝇的雌雄在幼虫期较难区别。但到了成虫期却相当容易。成虫雌雄的主要区别在于:

(1) 大小: 雄性个体一般较雌性小。

(2) 腹部环纹: 雄性腹部黑色环纹五条, 腹尖颜色深, 带纹由前向后依次变宽; 而雌性腹部环纹七条, 环纹宽窄均匀, 腹尖色浅(图 1-1)。

(3) 性梳: 雄性第一对足的跗节基部外侧有黑色鬃毛状性梳 (sex combs) (图 1-2), 雌性则无。



图 1-1 雌雄黑腹果蝇外形图

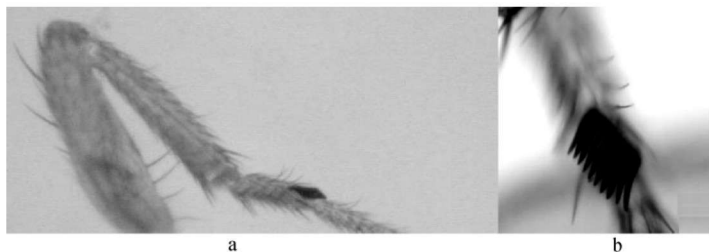
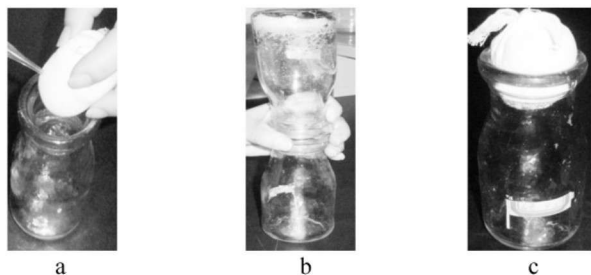


图 1-2 雄性果蝇的性梳

### 3. 果蝇麻醉

检查果蝇或进行果蝇杂交时,应先进行麻醉,使其保持安静状态。果蝇具有以下一些特性:一是具有趋光性,二是喜欢向上爬。掌握了这些特性,我们就能很方便地将果蝇转移到另外一个培养瓶中。麻醉时,先将果蝇放入一个空瓶,用滴有数滴乙醚的棉塞塞住瓶口,平放在桌面上约半分钟,果蝇即被麻醉(图1-3)。注意不能麻醉过度,如果果蝇的翅膀与身体呈45度角翘起,表明麻醉过度,不能复苏而死亡。麻醉后的果蝇放在滤纸上方便观察。检查后的果蝇可以放回原培养瓶中,也可以进行处死。



a. 将乙醚滴在棉塞上 b. 果蝇转至空瓶中 c. 盖上有乙醚的棉塞

图1-3 麻醉果蝇的操作方法

### 4. 利用解剖镜观察雌雄果蝇的性状。

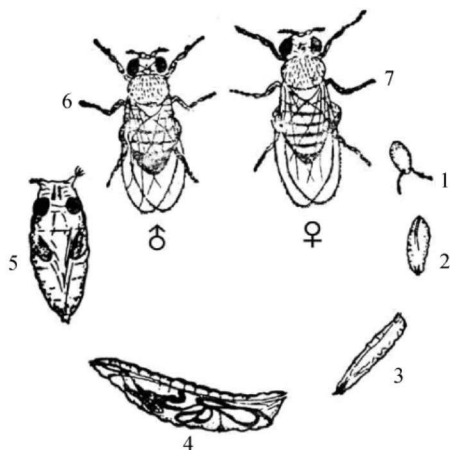
## (二) 果蝇的生活史

### 1. 果蝇的生活史

果蝇的生活史包括卵、幼虫、蛹、成虫四个连续的发育阶段(图1-4)。

卵:白色,椭圆形,长约0.5mm,在背面的前端伸出一对触丝,它能使卵附着在柔软的食物上,不至于深陷到食物中去(图1-5b)。

幼虫:幼虫从卵中孵化出来后,经过两次蜕皮到第三龄期,体长可达4~5mm。在解剖镜下观察可见一端稍尖为头部,并且有一黑点即口器;稍后有一对半透明的唾腺,每条唾腺前有一条唾腺管



1. 卵 2. 一龄幼虫 3. 二龄幼虫 4. 三龄幼虫 5. 蛹 6. 成虫

图 1-4 果蝇的生活周期

向前延伸,然后会合成一条导管通向消化道。神经节位于消化道前端的上方(图 1-5c)。

蛹: 幼虫生活七天左右即化蛹,化蛹前从培养基中爬出附在瓶壁上,渐次形成一个菱形的蛹。起初颜色淡黄、柔软,以后逐渐硬化,变为深褐色,这就显示其即将羽化了(图 1-5d)。

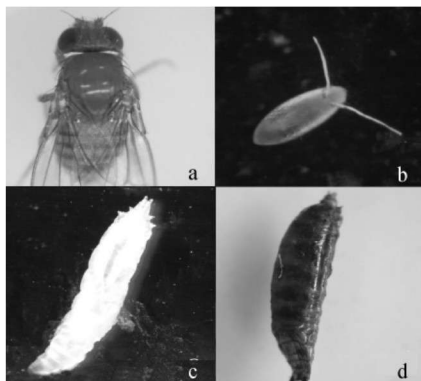


图 1-5 果蝇成虫(a)、卵(b)、幼虫(c)、蛹(d)



成虫:刚羽化出的果蝇,身体狭长,翅还没有展开,身体较白嫩,此时野生型体色与黑檀体体色都是一样的,没有多大区别。不久,蝇体变为粗短椭圆形,双翅展开,体色加深,野生型果蝇的体色成为灰褐色,突变型黑檀体果蝇的体色成为乌黑色(图 1-5a)。

果蝇的生活周期与温度关系极大,一般来说温度低,生活周期长;温度高,生活周期短(表 1-2)。但温度过高会引起突变、不育,再高则引起死亡。低温能使生活周期延长、生活力下降,过低则会引起死亡。一般实验果蝇培养的最适温度  $20^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$ ,原种保存的温度一般为  $17^{\circ}\text{C} \sim 20^{\circ}\text{C}$ 。

表 1-2 生活周期长短与饲养温度关系

	$10^{\circ}\text{C}$	$15^{\circ}\text{C}$	$20^{\circ}\text{C}$	$25^{\circ}\text{C}$
卵→幼虫			8 天	5 天
幼虫→成虫	57 天	18 天	6 天	4 天

## 2. 饲养管理

果蝇一般饲养在奶瓶,或大、中型指管中。培养瓶用前要消毒,然后再倒入 1~2 厘米厚的饲料(培养基),待饲料冷却后,用酒精棉花擦去瓶内壁的凝结水,或用棉花球塞塞口后放置数天让其自然干燥后再用。果蝇培养基有多种,实验室通常采用玉米粉培养基,配方如下。

玉米粉培养基:

- 1) 取 75ml 水,加入 1.5g 琼脂,13g 蔗糖,煮沸使充分溶解。
- 2) 另取 75ml 水,加入 17g 玉米粉搅匀,加热调成糊状。
- 3) 将上述两者混合、煮沸。
- 4) 待稍冷后加入 1.4g 酵母粉及 1ml 丙酸,充分调匀。
- 5) 趁热将培养基分装入奶瓶、或指管中。

一般每瓶放入 5~10 对果蝇,2~4 周换一次培养基。培养瓶