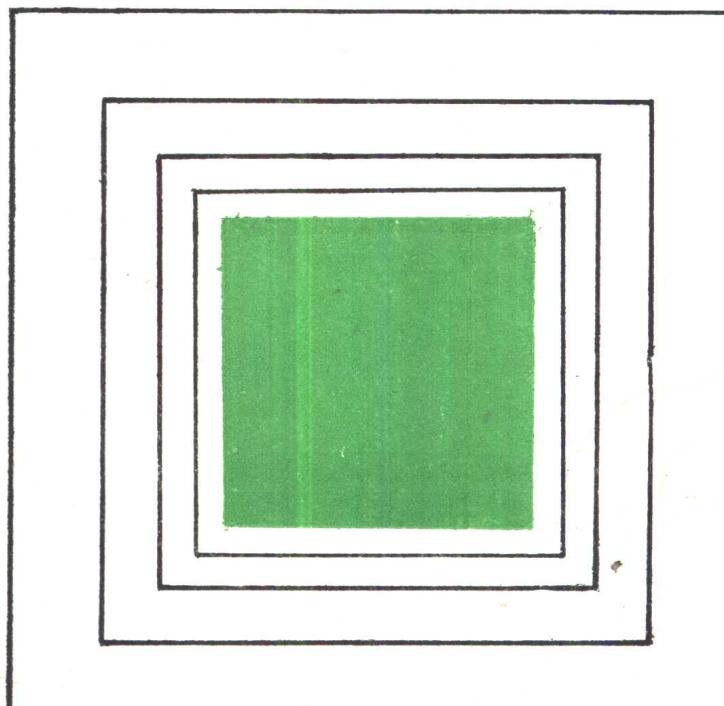


高等学校教学用书

# 遗传学实验

梁彦生 等 编



北京师范大学出版社

高等学校教学用书

# 遗传学实验

梁彦生等 编

北京师范大学出版社

责任编辑 杨江城  
高等学校教学用书  
遗传学实验  
梁彦生等 编

\*

北京师范大学出版社出版发行  
全国新华书店经销  
北京通县联华印刷厂印刷

---

开本：787×1092 1/16 印张：7.375 字数：178千  
1989年6月第1版 1989年6月第1次印刷  
印数：1—2 000

---

ISBN 7-303-00420-3/Q·14  
定价：1.70 元

## 前　　言

遗传学同生物学其他各学科一样，是实验性科学。不仅其成熟的理论基于严密的科学实验；它的发展，同样依赖于日臻完备和更加进步的实验手段。因此，在基础遗传学的教学中大力加强实验教学，不仅是为着现阶段加深学生对遗传学规律的理解和掌握。从更积极的意义上讲，它对培养学生严肃的治学态度，严谨的工作作风，必要的实验能力和科学的思想方法，都是十分重要的。因而，遗传学的实验教学受到有关院校的普遍重视，成为遗传学教学中的一个重要部分和全面培养学生的必要环节。

近几年来，在学习兄弟院校经验的同时，在我们的工作中，对实验教学也作了一定的探索和改进。这本《遗传学实验》，是在北京师范大学遗传教研室多年来开设的基础遗传学实验、遗传学大实验的基础上编写的。本书主要由梁彦生编写，黄远樟编写了实验十九和实验二十。刘国瑞编写了实验十三和实验二十二的部分内容。

本书编写的指导思想和内容范围，系参照1980年高等学校理科教材会议所拟《高等师范院校遗传学教学大纲》规定的内容，结合我们的教学实际和室内的科研方向来确定的。根据需要和可能，实验涉及了经典遗传学、细胞遗传学、微生物遗传学、数量遗传学和群体遗传学的一些内容和实验方法。除此之外，为了推动计算机在遗传学中的应用，我们还增编了计算机模拟等方面的实验。

提供实验教材的目的，是为了便于学生进行实验的预习和准备，调动学生在实验中的主动性，培养学生独立进行实验的能力。另外，也是为了加深学生对课堂上讲授的有关知识的理解和开阔学生的眼界。为此，本书注意了实验原理的介绍，并在部分实验中提出了一些思考题。本书的最后部分介绍了常用的药剂、培养基的配方、配制方法等有关内容。

本书蒙郭学聪、彭奕欣先生审阅并提出了许多宝贵的意见；并得到系内尤其是教研室内的老师的不少帮助，在此一并致谢。

由于专业水平和教学经验不足，难免出现错误和不当，恳请有关专家、老师和广大同学指正。

编者 1987.1.

### 内 容 提 要

本书共收入29个实验，包括经典遗传学、细胞遗传学、微生物遗传学、数量和群体遗传学，以及计算机模拟等方面的内容，由于学时所限，实验一至实验十二、实验十四、实验十七至实验二十，可在普通遗传学中开设。目的在于验证遗传学的基本定律和基本理论，并使同学掌握遗传学中一些常用的较为简单的实验技术。其余实验内容较为复杂，化费时间较多，可做为遗传学大实验来开设。

本书在北京师范大学生物系遗传教研室多年来遗传学实验的基础上编写而成，是我系的实验教材，可供师范院校生物系学生使用，也可供农林院校参考。

## 目 录

实验一 果蝇的观察 .....	1
实验二 果蝇的杂交 .....	4
实验三 三点测验的基因定位方法 .....	8
实验四 果蝇唾腺染色体和神经节染色体的标本制作 .....	10
附 果蝇神经节染色体制片方法 .....	13
实验五 小麦、玉米的有性杂交 .....	15
实验六 粗糙链孢霉的杂交 .....	18
实验七 玉米花粉母细胞的制片技术及减数分裂过程的观察 .....	21
实验八 植物细胞有丝分裂的制片方法 .....	24
实验九 植物染色体滴片法和染色体组型分析 .....	28
实验十 孚尔根(Feulgen)核染色法 .....	30
实验十一 物理、化学因素对染色体的影响 .....	33
实验十二 人类X染色质的标本制作与观察 .....	36
实验十三 人体外周血淋巴细胞的培养和染色体标本制作 .....	39
实验十四 人体外周血淋巴细胞的姐妹染色单体区分染色法 .....	42
实验十五 小鼠骨髓细胞染色体C带技术 .....	45
实验十六 小鼠活体骨髓细胞姐妹染色单体色差法 .....	46
实验十七 植物姐妹染色单体区分染色法 .....	48
实验十八 遗传力的估算 .....	49
实验十九 Hardy-Weinberg遗传平衡定律的检验 .....	51
实验二十 遗传实验的计算机模拟 .....	53
一、单、双因子杂种交配的计算机模拟试验 .....	54
二、伴性遗传的计算机模拟试验 .....	56
三、遗传漂变的计算机模拟 .....	57
实验二十一 互补测验 .....	58
实验二十二 大肠杆菌的转移梯度基因定位(非中断杂交) .....	61
实验二十三 细菌的局限性转导 .....	69
实验二十四 枯草杆菌噬菌体的普遍性转导 .....	70
实验二十五 大肠杆菌质粒DNA的提取 .....	72
一、快速检测——碱变性法 .....	73
二、快速检测——煮沸裂解法一 .....	74
三、快速检测——煮沸裂解法二 .....	75
四、大量抽提——碱变性法 .....	76
附 琼脂糖凝胶电泳法检查DNA .....	77
实验二十六 大肠杆菌的转化 .....	78
实验二十七 植物DNA的提取与鉴定 .....	81
实验二十八 烟草的单倍体培养 .....	83
实验二十九 烟草营养体的组织培养 .....	85

附录	88
一、常用固定液	88
二、常用染液	88
三、试剂和溶液	89
四、培养基	91
1.果蝇培养基	91
2.链孢霉杂交实验培养基	91
3.人外周血培养液	92
4.细菌实验的培养基	93
5.植物花药及营养体组织培养的培养基	95
五、质粒提取实验常用溶液	97
六、常用实验器具的洗涤和灭菌	99
七、实验常用数据	101
八、数学用表	103
九、参考资料	105
1.果蝇的生活史	105
2.常见动、植物体细胞的染色体数目	105
3.基因载体 pBR322 的特性	106
4.细菌突变型的命名规则	106
5.质粒命名要点	107
6.黑白胶片的冲洗	108
十、参考文献	111

# 实验一 果蝇的观察

## 原理和目的

常用于遗传实验的黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 是双翅目 (Diptera) 果蝇属的一个种。果蝇容易饲养、繁殖快、染色体数目少。它的唾腺染色体又具有某些特点，而且群体中突变性状较多，所以是一种极为理想的遗传实验材料。

果蝇为完全变态的昆虫，在整个生活史中包括卵、幼虫、蛹和成虫四个发育阶段。卵白色、长椭圆形、长约 0.5 毫米，在其背面前端有两条触丝。幼虫从卵孵出后要经过两次蜕皮，第二次蜕皮后的三龄幼虫长约 4.5 毫米。三龄幼虫化蛹，蛹孵化为成虫。

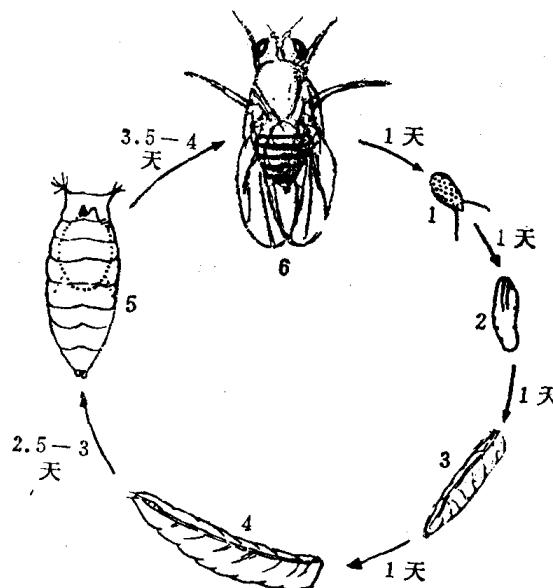


图 1-1 果蝇的生活史  
1. 卵 2. 一龄幼虫 3. 二龄幼虫 4. 三龄幼虫 5. 蛹 6. 成虫

果蝇的生活周期长短，随温度和营养条件而不同。25℃是最适温度。在这样的温度条件下，若营养也适合，从卵到成虫需10天左右。30℃以上的温度能引起果蝇的不育或死亡；低温则延长其生活周期，还会使生活力下降。

果蝇成虫分头、胸、腹三部。头部有1对大的复眼、3个单眼和1对触角；胸部有3对足、1对翅和1对平衡棒；腹部背面有黑条纹，腹面有腹片，外生殖器在腹部末端；全身还有许多体毛和刚毛。

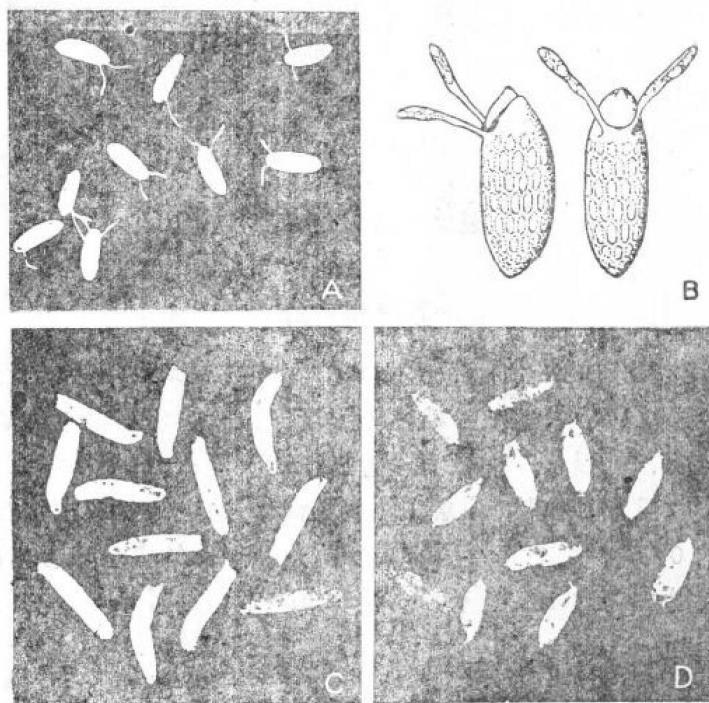


图1-2 果蝇的卵、幼虫和蛹

A. 卵的显微摄影 B. 卵的侧面观(左)和背面观(右)。卵的背面较平而腹面较圆，并显示卵壳 C. 三龄幼虫 D. 蛹

利用果蝇做杂交实验，必须准确地识别性别。雌雄果蝇的主要特征见下表。

雌果蝇	雄果蝇
1. 个体较大	1. 个体较小
2. 腹部末端较尖	2. 腹部末端较钝
3. 腹部背面有五条黑条纹	3. 腹部背面有三条黑条纹，最后一条极宽，并延续至腹面
4. 外生殖器比较简单，有阴道板和肛上板等结构	4. 外生殖器较复杂，有生殖弧、肛上板、阴茎等结构
5. 腹部腹面有6个腹片	5. 腹部腹面有4个腹片
6. 无性梳	6. 前腿跗节上有性梳

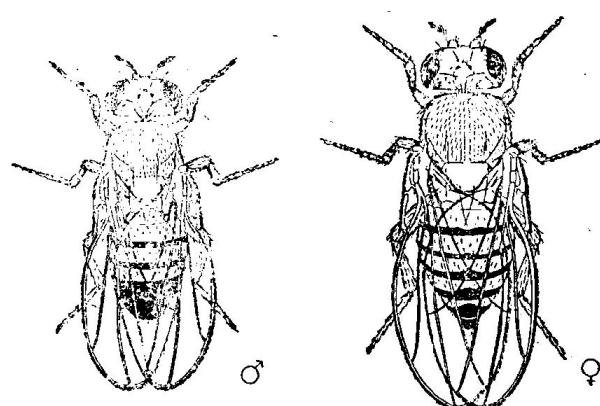


图1-3 雄、雌果蝇背面观

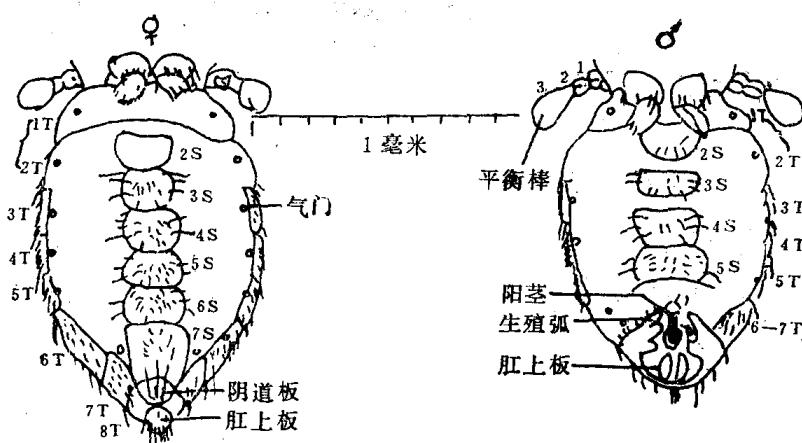


图1-4 雌、雄果蝇腹部腹面观

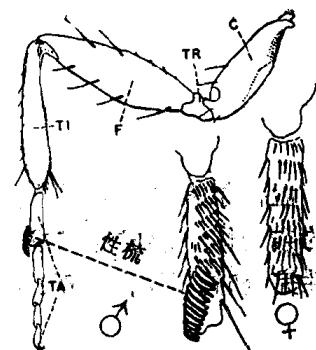


图1-5 雄果蝇右前足上的性梳

本实验要了解果蝇的生活史；并在熟习一般外形的基础上，准确地识别果蝇的雌雄。另外还要观察几种果蝇的突变体。

### 器具和药品

#### 器具

麻醉瓶、毛笔、白瓷板（白塑料垫板）、实体镜、手持放大镜等。

药品 乙醚。

### 步骤和方法

#### 1. 果蝇生活史四个时期的观察

#### 2. 果蝇成虫外形的观察和雌雄性鉴别

观察用的果蝇要进行麻醉。麻醉时要掌握合适的处理时间。时间过长，则果蝇翅膀张开成45°角，这种情况表明果蝇已中毒死亡。

#### 3. 几种突变型的观察

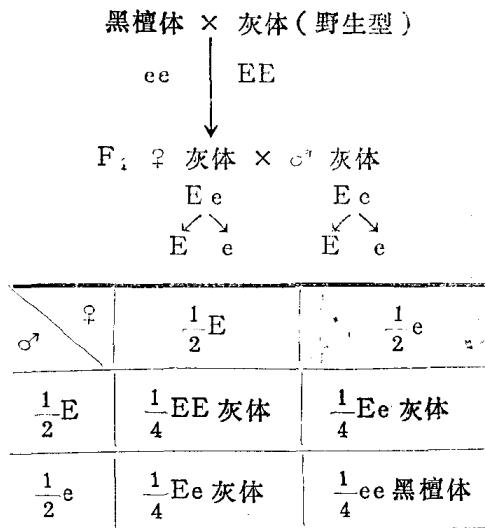
可选野生型（+）、黑檀体（e）、残翅（vg）、白眼（w）、小翅（m）、焦刚毛（sn<sup>3</sup>）等突变型进行观察。将观察结果填入下表。

特征 \ 类型	野生型 (+)	黑檀体 (e)	残 翅 (vg)	白 眼 (w)	小 翅 (m)	焦刚毛 (sn <sup>3</sup> )	
体 色							
眼 色							
翅 形							
刚毛形态							

## 实验二 果蝇的杂交

## 原理和目的

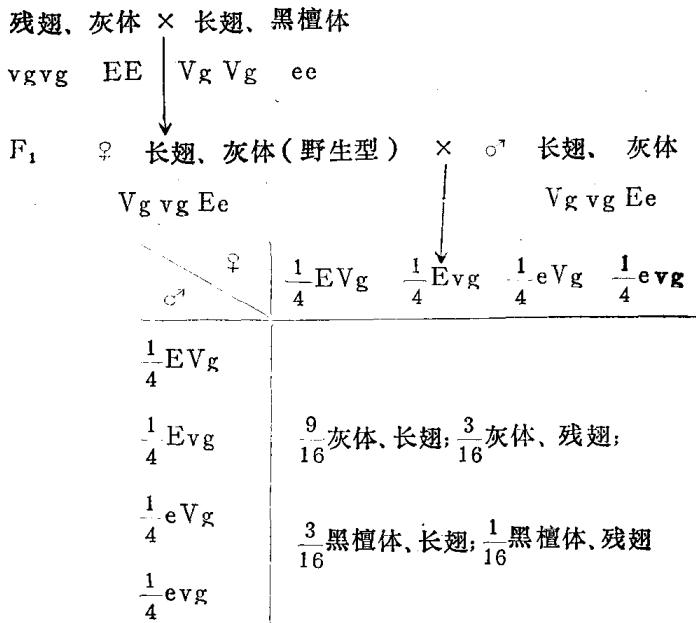
孟德尔提出的因子分离规律，指的是，等位基因在形成配子时必然要分离。所以1对基因的杂合体，形成的雌或雄的配子必定是性质不同，但数目相等的两种。在精卵随机结合且显性完全时， $F_2$ 代出现3:1的分离。



$F_2$ : 3/4 灰体 : 1/4 黑檀体 (E 对 e 为完全显性时)

若选用另一对相对性状的个体杂交，情况也一样。例如长翅 $VgVg$ 与残翅 $vvgv$ 的杂交， $F_2$ 也会出现3长翅：1残翅的分离结果。

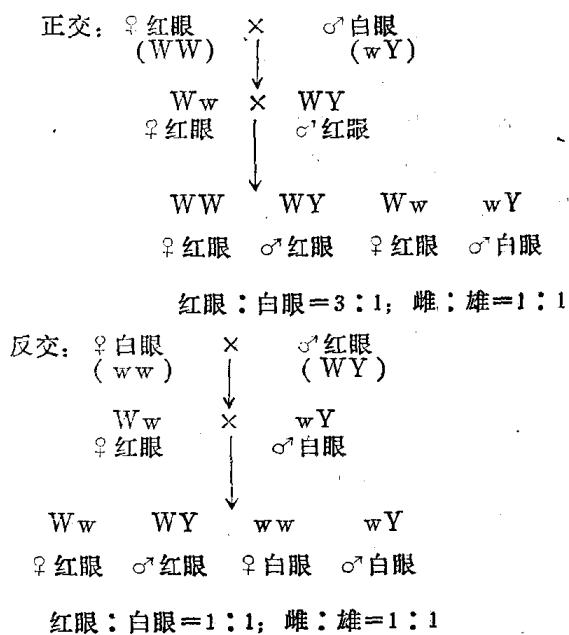
自由组合规律涉及的是，处于两对或两对以上不同对的同源染色体上的两对或两对以上



的等位基因。在减数分裂形成配子时，在等位基因分离的基础上，非等位基因是以自由组合的方式进入配子的。所以，在两对基因的杂合体中，形成的雌或雄的配子一定是性质不同但数目相等的四种。在精、卵随机结合且两对基因均显性完全时， $F_2$  出现 9 : 3 : 3 : 1 的分离比例。

例如，E—e为果蝇第三对染色体上的一对等位基因，E对e为完全显性。ee为黑檀体，EE为灰体；Vg—vg为第二对染色体上的等位基因，vgvg为残翅，VgVg为长翅（野生型），Vg对vg为完全显性。（图解见第4页）。

1910年，摩尔根（T.H.Morgan）利用红眼雌蝇和白眼雄蝇杂交，发现了雄性果蝇的白眼性状，通过母亲传给外孙的一半。后来在进行红、白眼色的反交实验中，又发现了女儿象父亲、儿子象母亲的遗传现象。



这种性状以一定方式与性别伴随出现的现象，称为伴性遗传（sex-linked inheritance）。

欲分析伴性遗传现象的原因，只有将控制红、白眼的基因坐落在X染色体上，才能得到完满的回答。而这却为染色体遗传理论的建立提供了有力的证据。

本实验利用果蝇为材料，通过杂交实验来验证孟德尔的因子分离定律、自由组合定律和摩尔根所发现的伴性遗传规律。

### · 器具和药品

#### 器具

实体解剖镜、手持放大镜、麻醉瓶、牛奶瓶（或250毫升广口瓶，或口径约30毫米的试管）、白瓷板（白塑料板）、毛笔、滤纸等。

#### 药品

(1) 乙醚。

(2) 培养基（配制方法见附录四）。

### 步骤和方法

#### 1. 选取处女蝇

雌性果蝇体内能较长时间保存有生活力的精子，所以杂交前须选取处女蝇，以确保实验的可靠性。

选取处女蝇时，首先要放掉培养瓶中的全部老蝇，然后在12小时内选择孵出的雌蝇单独收集备用。（雌蝇孵出后12小时内一般不进行交配。）

## 2. 杂交

按以下组合进行杂交：

- (1) ♀残翅、灰体 ( $vg\ vg\ EE$ ) × ♂长翅、黑檀体 ( $Vg\ Vgee$ ) 正交
- (2) ♀长翅、黑檀体 ( $Vg\ Vgee$ ) × ♂残翅、灰体 ( $vg\ vg\ EE$ ) 反交
- (3) ♀红眼 ( $WW$ ) × ♂白眼 ( $wY$ ) 正交
- (4) ♀白眼 ( $ww$ ) × ♂红眼 ( $WY$ ) 反交

每一组合各设二个重复。

根据杂交组合，在麻醉的情况下选10—20对雌（处女蝇）、雄果蝇，放在培养瓶中杂交。（注意麻醉时间不能过长，也不要把麻醉状态的果蝇直接放在培养基表面，以免被粘死。）杂交后，瓶上贴上标签，注明杂交组合、日期、实验者姓名。

## 3. 移出亲蝇

杂交7—9天后，在 $F_1$ 代果蝇即将孵出之前（部分蛹已变黑），此时把全部亲体放掉或移入另一培养瓶中备用（一旦实验失败，可立即开始新的杂交实验）。及时移出亲体果蝇可以防止原杂交培养瓶中亲、子代的混杂。

## 4. $F_1$ 代果蝇的观察和交配

在 $F_1$ 代果蝇孵出后7—9天内，观察其表现型。选取10—20对雌雄果蝇放在装有新鲜培养基的培养瓶中杂交。（一般做一瓶即可，若多做几瓶可以更保险一些）

## 5. 移出 $F_1$

交配后7—9天，在 $F_2$ 代果蝇孵出前，将作为亲体的 $F_1$ 全部放掉或移入另一培养瓶中备用。（为什么？）

## 6. 观察、统计 $F_2$ 代的结果

在 $F_2$ 孵化的7—9天内，对 $F_2$ 代果蝇进行定期的搜集、观察和统计。

观察、统计结果可参照以下格式记录。

杂交组合：正（反）交♀ \_\_\_\_\_ × ♂ \_\_\_\_\_ 日期：\_\_\_\_\_

统计 日期	杂交后代 的表现	$F_1$ 代果蝇的表现型			
		各类 $F_2$ 代果蝇的数目			
		正常翅、灰体	正常翅、黑檀体	残翅、灰体	残翅、黑檀体
总 数					
比 例					

杂交后代 的表现 统 计 日 期	子一代果蝇的表现:			
	子二代果蝇的表现类型			
	♀		♂	
	红眼	白眼	红眼	白眼
总 数				
比 例	♀ : ♂ =		红眼 : 白眼 =	

## 7. 数据处理

用  $\chi^2$  (卡平方) 法检验各种杂交实验的结果,  $\chi^2$  公式为:

$$\chi^2_{(n)} = \sum \frac{(o - e)^2}{e}$$

式中  $o$  为实得的个体数,  $e$  为理论预期的个体数,  $\Sigma$  为各项加和,  $n$  为自由度(分离类型-1)。求得  $\chi^2$  值后, 根据自由度查  $\chi^2$  表(见附录), 得出相应的概率( $P$ )。再依  $P$  值判断实验结果是否符合理论比例。 $(P > 0.05$  为符合;  $P \leq 0.05$  为不符合。)

有条件者可以用自己编写的BASIC 或 FORTRAN语言程序, 在 IBM-PC或Apple-II微型计算机上, 进行  $\chi^2$  检验, 验证观察结果与理论预期是否符合。

## 思考题及作业

- 为什么选用两对相对性状的个体杂交能同时验证遗传的第一和第二定律?
- 雄性白眼果蝇与红眼雌果蝇杂交时, 如何理解白眼性状通过女儿传给外孙的一半? 怎样鉴定女儿是杂合型的?
- 常染色体基因与性染色体基因的遗传有何区别?
- 两亲体互交时, 为什么要选用处女蝇?  $F_1$  与  $F_2$  杂交时, 为什么不用选处女蝇?
- 在杂交子代孵出前(蛹变黑时), 为什么要全部放掉亲代果蝇? 为什么在放掉全部亲本后的7—9天内搜集、观察子代的结果才是可靠的?
- 若你的杂交实验结果不符合典型的分离比, 试分析产生误差的原因。
- 根据所学的知识, 请预测本次实验中各种杂交组合的结果(杂交  $F_1$ 、 $F_2$  代的基因型、表现型及其比例的情况)。

## 作业

用自己编写的BASIC或FORTRAN语言程序, 在 IBM-PC或Apple-II微型计算机上, 进行  $\chi^2$  检验, 验证观察结果与理论预期是否符合。

### 实验三 三点测验的基因定位方法

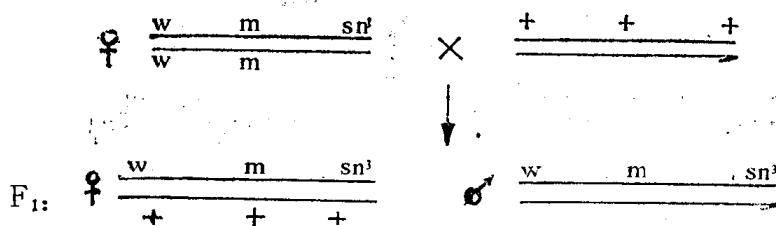
#### 原理和目的

进行连锁基因的定位时，选用两对基因杂合体进行三次测验杂交，以求得基因距离的方法，称为两点测验。当基因相距较远时，由于双交换的发生，往往使交换率偏低，从而产生定位上的误差。另外，两点测验的方法手续比较繁杂，比如要测定三个基因点的顺序和图距时，就要进行三次两点测交。由于手续繁杂，也容易造成一定的实验误差。

三点测验，是利用3对基因的杂合体，进行一次测交而确定三个基因点的位置的方法。三点测验时，由于在相距较远的基因间，又多选用一个基因，所以在杂交子代中可以出现双交换类型。这样，根据测交后代的类型可以直接排出基因的顺序（双交换类型与未发生交换的类型比较，哪个基因变了？哪个基因就在中间），而且还可以准确求出各基因的相对距离。

例如，已知果蝇X染色体上，有三个连锁基因w（白眼）、m（小翅）、 $sn^3$ （焦刚毛），它们的顺序和图距如何呢？

(1) 3对基因的杂合体的获得：将雌的白眼、小翅、焦刚毛的果蝇和雄的野生型果蝇杂交，就可以获得3对基因的杂合体。



(2) 测交 将3对基因杂合体的雌蝇与三隐性雄蝇杂交（实际上就是F<sub>1</sub>代的互交），后代可获得8种子代的果蝇（测交后代的个体数应在250只以上）见以下数据：

白眼、小翅、焦刚毛	470	红眼、小翅、焦刚毛	131
红眼、长翅、直刚毛	464	白眼、长翅、焦刚毛	71
白眼、长翅、直刚毛	149	红眼、小翅、直刚毛	112
白眼、小翅、直刚毛	10	红眼、长翅、焦刚毛	14

根据子代的性状和数据，找出亲本型和双交换类型，比较亲本型与双交换型，看看哪个性状发生了变化，那变化了的性状的基因一定居于二基因之中，最后定出三个基因的顺序：



将以上的杂交结果进行整理和计算，

w	sn <sup>3</sup>	m	470	65.7% 亲组合
I	II	+	464	
+	+	+	149	19.7% 单交换 I
+	sn <sup>3</sup>	m	131	
w	sn <sup>3</sup>	+	71	12.9% 单交换 II
+	+	m	112	
w	+	m	10	1.7% 双交换
+	sn <sup>3</sup>	+	14	

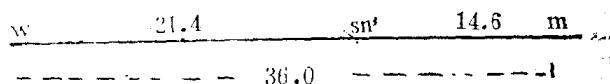
### (3) 重组值的计算和基因的作图

$$w-sn^3 \text{ 的重组值} = 19.7\% + 1.7\% = 21.4\%$$

$$sn^3-m \text{ 的重组值} = 12.9\% + 1.7\% = 14.6\%$$

$$w-m \text{ 的重组值} = 19.7\% + 12.9\% + 2(1.7\%) = 36\%$$

根据所得的重组值的数据，得三个基因的顺序和图距如下：



通过本实验，使同学掌握三点测验进行基因定位的方法，并加深对三点测验原理的理解。

### 器具和药品

#### 器具

果蝇杂交用具，见实验（二）果蝇杂交。

#### 药品

(1) 乙醚。

(2) 装有果蝇培养基的培养瓶（或试管）。

### 步骤和方法

#### 1. 3对基因杂合体果蝇的获得

将雌的三隐性果蝇（w、m、sn<sup>3</sup>）和雄的野生型进行杂交。（取处女蝇和杂交方法同实验二。）

#### 2. 测交

从以上杂交子代中取雌、雄果蝇20对，放在装有新鲜培养基的培养瓶中互交。

#### 3. 观察和统计

1周左右，当子代蛹变黑时放掉亲本，在蛹开始孵化后的7—9天内搜集测交后代，进行观察和统计。群体要足够大。这样一方面使双交换子代能够出现；另一方面使交换率的计算也较准确。

4. 根据实验得出的结果。求出基因的重组值，最后进行作图。有条件者，可用自己编制的BASIC或FORTRAN语言程序，在IBM-PC或Apple-II微型计算机上，计算基因的重组值，绘出遗传学图。并计算并发率（coincidence）、干涉（interference）。还可以根据三个基因的已知图距，用 $\chi^2$ 检验得出你的实验结果与理论结果是否符合的结论。

### 思 考 题

1. 如何培育三隐性果蝇？
2. 三点测验时，整理统计 $F_2$ 代各种类型果蝇的依据是什么？
3. 三点测验时， $F_2$ 代为什么有时出现六种表型有时又出现八种表型？
4. 为什么要以白眼、小翅、焦刚毛的个体为母本？若以它为父本，能否进行三点测验？如果可以，请设计杂交的程序。
5. 根据实验结果，你是否发现白眼、小翅和焦刚毛与性别的关系？
6. 假定三个基因在常染色体上，试设计三点测交试验的程序，与本实验比较有何不同？
7. 在基因定位前，首先要确定基因的连锁关系。在果蝇中，已知黄体（y）为X染色体上的隐性基因，残翅（vg）为第二染色体上的隐性基因，黑檀体（e）为第Ⅱ染色体上的隐性基因。现有一银朱眼（cu）基因，如何用实验方法确定它属于哪一个连锁群？
8. 试比较两点测验和三点测验的方法。

## 实验四 果蝇唾腺染色体和神经节染色体 的标本制作

### 原理和目的

意大利学者E.G.Balbiani于1881年在双翅目昆虫摇蚊（*Chironomus*）的幼虫唾腺中，观察到一种巨大染色体。美国学者T.S.Painter等1933年在果蝇（*Drosophila melanogaster*）和其他蝇类的唾腺中也发现了这种巨大染色体（后来发现，双翅目昆虫幼虫的前肠、中肠和马氏管的细胞中也具有这种巨大染色体）。

这种巨大染色体，据估计比一般细胞的染色体长100—200倍，体积大1000—2000倍。是一种多线染色体（polytenic chromosome）。可能是由于这些细胞发育到一定阶段后，就停止了分裂，但细胞中的染色体却在不断地复制，这样就形成了含有千条以上（1000—4000条左右）彼此不分开，但仍平行紧密排列在一起的多线染色体。

多线染色体的同源染色体以联会状态存在于唾腺细胞中，遗传学上称之为“体联会”（somatic synapsis），唾腺染色体是处在永久性前期的染色体。值得注意的是，这种染色体，经染色后可出现深浅宽窄不同的带（band）。带区可经孚尔根反应和其他碱性染料显色。据认为，染色丝（chromonema）在这个区域盘绕紧密；带间区几乎不能被染上颜色，染色丝在这个区域盘绕疏松。这些横纹的数目、宽窄、排列顺序均有种的特异性。学者们把果蝇的染色体分成102区；每个区又分成A—F 6个亚区；每个亚区按排列顺序将横纹加以编号（1、2……等）。