



普通高等教育“十二五”规划建设教材

遗传学实验指导

Yichuanxue Shiyan Zhidao

郭宁 主编



中國農業大學出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

普通高等教育“十二五”规划建设教材

遗传学实验指导

郭 宁 主编

中国农业大学出版社

· 北京 ·

内 容 简 介

本书共有 30 个实验,内容涉及动物、植物细胞分裂中染色体的行为与特征,人类染色体的特征与分析方法,物理因素、化学因素诱变的方法及结果鉴定,果蝇的采集、饲养及唾腺染色体的提取与特征观察,数量遗传性状的统计分析等。每个实验分别阐述基本原理、操作步骤、注意事项并列作业与思考题。

图书在版编目(CIP)数据

遗传学实验指导/郭宁主编. —北京:中国农业大学出版社,2014.12

ISBN 978-7-5655-1102-8

I. ①遗… II. ①郭… III. ①遗传学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. ①Q3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 249940 号

书 名 遗传学实验指导

作 者 郭 宁 主 编

策划编辑 魏秀云

责任编辑 冯雪梅

封面设计 郑 川

责任校对 王晓凤

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100193

电 话 发行部 010-62818525,8625

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出版部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

e-mail cbsszs@cau.edu.cn

经 销 新华书店

印 刷 北京时代华都印刷有限公司

版 次 2015 年 1 月第 1 版 2015 年 1 月第 1 次印刷

规 格 787×980 16 开本 9.5 印张 230 千字

定 价 21.00 元

图书如有质量问题本社发行部负责调换



前 言

遗传学(genetics)是生命科学中发展较迅速的前沿学科之一。遗传学的研究成果同人类健康、农业生产、环境保护乃至国防建设都密切相关。自1900年孟德尔定律被重新发现以来,遗传学取得了很大的发展,阐明了许多遗传学现象和规律。遗传学揭示的生物的遗传本性、遗传学研究的思路以及研究成果都对社会产生了巨大的影响。进入21世纪之后,科学家对线虫、果蝇、拟南芥等动植物的研究以及人类基因组计划的初步完成,更加突现出遗传学在生命科学中的核心与前沿学科的地位。同时,遗传学研究与其他学科研究的交叉渗透、相互促进,必将更加有力地推动科学和社会的发展,造福人类。

遗传学与生命科学其他分支学科一样,是一门实验性很强的学科。遗传学本身的迅速发展与设计周密的实验方法、不断更新的实验设备有着不可分割的联系,同时,遗传学实验技术又与其他相关学科密切联系。因此遗传学实验课程是遗传学教学的重要环节,是开展遗传学研究的重要基础。遗传学实验内容既包括经典遗传学实验技术的验证实验,又包括现代遗传学实验的新技术、新理论的综合性实验,课程体系由验证性、设计性和综合性等多层次实验构成,因而实验课既有理论的深度,又有实践和应用的广度。

通过实验教学,验证遗传学的基本规律,学习和掌握遗传学研究的基本操作技能,加深学生对遗传学的基本理论和概念的认识,提高学生的遗传实验水平和实验动手能力,激发学生对探索遗传学规律的浓厚兴趣,在实验过程中培养学生观察问题、分析问题和解决问题的能力及团队合作的意识,为将来从事遗传学研究或继续深造打好基础。

本书在保持第1版体系的基础上,修改或重写了部分内容,在传统的验证性实

验的基础上,适当增加了一定比例的综合性、设计性实验。共有 30 个实验,内容涉及动物、植物细胞分裂中染色体的行为与特征,人类染色体的特征与分析方法,物理因素、化学因素诱变的方法及结果鉴定,果蝇的采集、饲养及唾腺染色体的提取与特征观察,数量遗传性状的统计分析等。每个实验分别阐述基本原理、操作步骤、注意事项并列作业与思考题。从材料准备、实验观察到统计分析均由学生分组完成,培养学生认真实验、观察记录、分析数据及设计实验的能力,同时培养学生面对问题勤于思考的良好习惯。适用于高等院校及专科院校生物、农、林等相关专业本科教学实验,也可供高等师范院校、综合性大学相关领域的科技工作者参考使用。

编写过程中参考引用了国内外相关遗传学实验教材和一些网络资源,在此向这些著作的作(译)者表示衷心的感谢。

遗传学实验技术发展很快,新的研究方法与技术不断涌现,加之编者知识水平有限,书中遗漏和错误之处在所难免,热情欢迎读者批评指正。

编者
2014 年 8 月

实验室规则

1. 学生每次实验前,必须认真预习,包括理论课教材中和实验指导书中的相关内容,明确实验目的、原理和要求,充分了解实验内容与步骤。

2. 提前 10 min 进入实验室,按照指定位置就座,不得随意更换。实验课不得无故缺席和迟到,若有特殊原因不能参加实验,必须提前履行请假手续,并在一周内协商补做。连续两次缺席实验,本课程不计成绩,必须在下学期重新选修。

3. 实验前,应先仔细检查实验器材是否齐全,若有缺损,要及时报告指导教师,请求处理。应自觉爱护实验室的仪器、设备、用具,严禁故意和私自拆卸。在实验过程中,若有器材损毁或丢失,应及时登记并酌情赔偿。

4. 实验过程中,学生应严格按照实验操作步骤和仪器操作规范进行,独立操作,仔细观察,认真记录。遇到问题,应积极思考或请教指导教师。学生应按规定完成课堂实验观察内容及实验报告与作业。综合性、设计性实验,必须在合理设计试验方案的前提下,适时实施,按质按量地完成实验任务。

5. 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,便于取用。

6. 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。

7. 取用药品时,所用各类量具必须分开,禁混用,用后须立即冲洗干净。称量固体药品时,必须在秤盘上铺垫清洁白纸或蜡光纸,调试平衡后再称,以防药品腐蚀秤具。称量纸要做到一称一换,以防药品混杂,导致所配试剂不纯。

8. 遵守化学实验的操作要求,注意药品配制和使用时的安全。

9. 严禁在实验室内大声喧哗、打闹,不得在实验室内随意走动,充分保持实验室安静,维护良好的课堂秩序。

10. 遵守公共道德,讲究环境卫生。严禁随地吐痰和乱扔纸屑、杂物。带到实



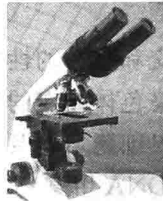
实验室的书包、衣帽、雨伞等非实验用品应按指定位置有序摆放,保持实验室整洁。

11. 提倡节约,反对浪费。在保证实验正常进行的前提下,尽可能节约水、电、药品试剂、实验材料等。

12. 实验结束后,应将显微镜、永久制片及各种实验器具擦洗干净,整齐摆放,恢复实验前的面貌。废弃物按要求分类收集、处理。

13. 学生分组轮流值日,负责整个实验室的卫生清洁工作,关好门、窗、水、电等。经指导老师许可,方可离开实验室。

14. 加强安全意识,实验时若发生意外情况,应及时报告指导老师。



目 录

第一部分 遗传学基础实验

实验 1	植物细胞有丝分裂的制片与观察	3
实验 2	植物花粉母细胞制片及减数分裂的观察	7
实验 3	植物染色体组型分析	12
实验 4	染色体显带技术和带型分析	17
实验 5	姊妹染色单体色差分析技术	22
实验 6	人类 X 染色质的观察	26
实验 7	脱氧核糖核酸(DNA)的鉴定——孚尔根(Feulgen)反应	30
实验 8	脱氧核糖核酸(DNA)的鉴定——DNA 与 RNA 区分染色法	33
实验 9	孟德尔遗传定律的验证	35
实验 10	链孢霉的分离和交换	39
实验 11	植物多倍体诱发和鉴定	43
实验 12	植物单倍体的人工诱发与鉴定	46
实验 13	植物雄性不育系的观察与利用	50
实验 14	果蝇的观察和饲养	53
实验 15	果蝇唾腺染色体的制片	59
实验 16	果蝇的伴性遗传	62
实验 17	果蝇数量性状统计和遗传率的估算	66
实验 18	群体平衡定律的应用	69

第二部分 遗传学综合性实验

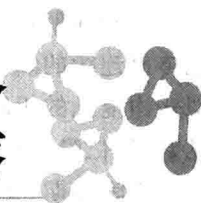
实验 19	玉米的有性杂交和杂种的性状分析	75
实验 20	理化因素诱发染色体畸变的研究	79
实验 21	人体外周血淋巴细胞培养及染色体制片	83
实验 22	玉米不同组织 DNA 甲基化修饰位点的 MSAP 分析	87
实验 23	人类 ABO 血型的基因型检测	92
实验 24	水稻总 RNA 的提取及 RT-PCR 扩增基因	96
实验 25	外源基因在原核细胞中表达和检测	100
实验 26	木霉纤维素基因的克隆和真核表达	104
实验 27	水稻愈伤组织诱导及转 GUS 基因鉴定	110
实验 28	农杆菌介导烟草 GFP 基因的遗传转化	114
实验 29	同工酶遗传标记分析	118
实验 30	植物细胞微核检测技术	123
附录 1	常用固定液	126
附录 2	常用染色液	129
附录 3	其他常用溶液	134
附录 4	常用培养基配制	137
参考文献	141

第一部分

遗传学基础实验

实验 1

植物细胞有丝分裂的制片与观察



1.1 实验目的与原理

1. 目的

学习和掌握植物细胞有丝分裂的制片技术,并通过对植物细胞有丝分裂制片的观察,熟悉有丝分裂的全过程以及染色体在各个分裂时期的形态特征。

2. 原理

有丝分裂是生物细胞最基本的一种分裂方式,也是生物体增殖的重要方式,包括细胞核分裂和细胞质分裂。植物细胞有丝分裂主要在根尖、节间、茎的生长点、芽以及其他分生组织里进行。将生长旺盛的植物分生组织经取材、固定、解离、染色、压片,可以观察到细胞有丝分裂的全过程。若进行染色体形态和数目的观察,则取材之后需要对材料进行前处理,阻止细胞分裂过程中纺锤丝的形成,使细胞分裂停止在中期。此时,染色体不是排在赤道板上,而是分散在整个细胞核中,便于对染色体的形态、数目进行观察。

有丝分裂是一个连续的过程,为研究方便起见,人们依据不同时期细胞核及其内部染色体的变化特征,划分为前期(prophase)、中期(metaphase)、后期(anaphase)、末期(telophase)。在细胞两次分裂之前还有一个间期(interphase)(图 1-1)。现简要说明镜检下各个时期细胞核及染色体的变化特征。

间期:为两次分裂之间的时期,这个时期的主要特征是细胞质均匀一致,细胞核在染料的作用下核质呈均匀致密状态,有明显的核仁,染色体细长呈丝状散布于核内,普通制片在低倍镜下不可见,良好制片在高倍油镜下可以观察到一些染色较深的细小颗粒,一般认为是染色线上染色质螺旋卷曲而成的染色粒。核与质之间有核膜分开,但核膜和核质在普通生物显微镜下不能明显区分。

前期:前期又可分为三个时期:

①早前期:染色质开始螺旋卷曲形成非常细的丝状,分布于核内,核仁清楚。

②中前期:染色体继续收缩加粗,由于染色体周围基质不断增加,染色加深,染色体呈连续的线状。此时染色体仍扭曲很长,并互相缠绕,故整个核内的染色体犹似一团搅乱的粗麻线,这时尚有核膜、核仁,但在普通生物显微镜下核膜一般不易见到,核仁隐约可见。

③晚前期:染色体进一步螺旋变粗变短,呈明显的双股性,即两条染色单体由一个着丝粒相连,可见端点,染色体渐趋中央赤道面处集结,但彼此仍然缠绕,核膜、核仁逐渐消失。

中期:染色体着丝粒均处于赤道面上,染色体的两臂自由伸展在细胞质内,纺锤丝与着丝粒相连形成纺锤体,着丝粒未分裂,纺锤丝在一般制片中看不到,良好的制片根据细胞质着色微粒的排列可隐约见到丝状分布。着丝粒位置非常清楚,一条双股性连续的染色体,突然在某个地方出现不着色的透明点,好像整个染色体分成两段。中期极面观染色体排列图像形似车轮辐条状,故此期通过特殊制片方法可观察染色体的个体性。

后期:染色体的着丝粒分裂,两个染色单体互相排斥分开,并由纺锤丝的曳引逐渐移向两极。

末期:以分开的两组染色体到达细胞的两极为末期的开始,然后染色体重新聚集起来平行排列,进行一系列与前期逆向的变化,染色体解螺旋化,核仁、核膜再现,形成两个新的子核。细胞质随着核的形成不均等分裂最终形成两个新的细胞。

1.2 实验用品

1. 材料

大蒜(*Allium sativum* L. $2n=16$)、蚕豆(*Vicia faba* L. $2n=12$)、玉米(*Zea mays* L. $2n=20$)、大麦(*Hordeum vulgare* L. $2n=14$)等植物种子。

2. 试剂

95%乙醇,冰醋酸,1%醋酸洋红,石炭酸品红, $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 等。

3. 器材

恒温培养箱,普通生物显微镜,水浴锅,载玻片,盖玻片,单面刀片,镊子,培养皿,量筒,吸水纸,计数器,实验报告纸,铅笔,橡皮等。

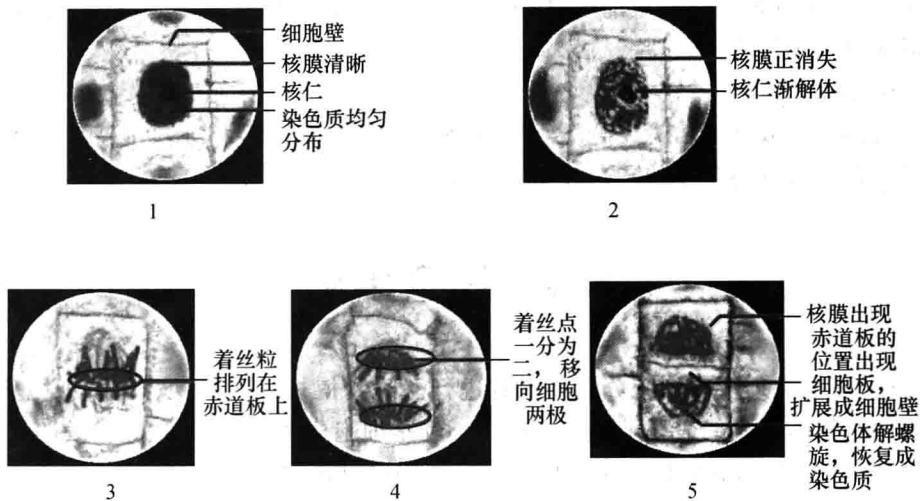


图 1-1 植物细胞有丝分裂

1. 间期 2. 前期 3. 中期 4. 后期 5. 末期

1.3 实验内容与操作

1. 生根

将玉米、大麦或蚕豆种子先用温水浸泡 1 d 后,转入铺有多层吸水纸或纱布的培养皿中,上面覆盖双层湿纱布,置于 24~26℃ 恒温箱中培养,每天换水两次。大蒜可采用暗处水培法。

2. 取材与固定

待根长至 1~1.5 cm 时,将根尖剪下,于 0~4℃ 清水中处理 24 h,或经饱和对氯二苯 25℃ 下处理 3~4 h,水洗后再用 Carnoy 固定液(95%乙醇:冰醋酸=3:1)固定 2~4 h。

3. 解离

将固定后的根尖置于 60℃ 1 mol · L⁻¹ HCl 中恒温水浴 8~10 min。

4. 水洗

解离后的材料要用清水或蒸馏水中水洗 3~5 次。

5. 染色与压片

取出水洗后的根尖置于载玻片上,用解剖针切取生长点部分,加一滴醋酸洋红



染色,用解剖针捣碎后尽量铺开,加上盖玻片,用解剖针轻敲盖玻片,使细胞分散,经酒精灯火焰烤片,再压片。

6. 镜检

将制片先放在低倍镜视野下,寻找典型的各时期的分裂相细胞,然后转换于高倍镜下仔细观察染色体的形态并描绘下来。

1.4 注意事项

(1)取材必须要在细胞分裂高峰时进行。不同植物、不同环境条件,细胞分裂高峰的时间不同。一般在上午 9:00~11:00 是细胞分裂高峰期。若是对陌生材料取材,应每隔 2~3 h 取材一次,以便找到细胞分裂高峰时间。

(2)解离的时间要根据材料来确定。大蒜、洋葱等百合科的植物,纤维素和果胶质的含量相对较低,解离 4~5 min 即可。禾本科植物根尖的解离时间要相对加长。但解离时间也不能过长,否则材料太软,增加实验操作难度,且染色效果不佳。

1.5 作业与思考题

(1)绘出你所看到的细胞有丝分裂各个时期的典型图像,并简要说明各时期染色体的行为和变化。

(2)在高倍镜下观察统计 5 个视野内的分裂相细胞填入表 1-1,其中何种分裂相细胞最少?为什么?

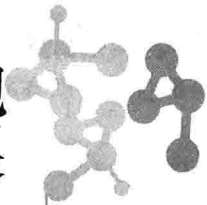
表 1-1 有丝分裂细胞统计表

个

视野	间期	前期	中期	后期	末期	合计
1						
2						
3						
4						
5						
合计						
占观察总数的百分数						

实验 2

植物花粉母细胞 制片及减数分裂 的观察



2.1 实验目的与原理

1. 目的

学习并掌握玉米花粉母细胞的制片技术,观察并熟悉细胞的减数分裂过程,了解植物性母细胞减数分裂各个时期的细胞学特征及染色体变化规律。

2. 原理

减数分裂是生物在形成性细胞过程中的一种特殊方式的细胞分裂,先由有性组织(花药或胚珠)中的某些细胞分化为二倍性的小孢子母细胞或大孢子母细胞,这些细胞连续进行两次细胞分裂,即减数第一分裂和减数第二分裂,结果一个小孢子母细胞形成 4 个小孢子,或一个大孢子母细胞形成一个大孢子,它们的染色体数目都只有体细胞的一半。

减数分裂在遗传上有重要意义。性母细胞($2n$)经过减数分裂形成染色体数目减半的配子(n)。经过受精作用,雌雄配子融合为合子,染色体数目恢复为 $2n$ 。这样在物种延续的过程中确保了染色体数目的恒定,从而使物种在遗传上具有相对的稳定性。另外,在减数分裂过程中包含同源染色体的配对、交换、分离和非同源染色体的自由组合,这些都是遗传学中分离、自由组合和连锁互换规律的细胞学基础。在这些基本规律的作用之下,导致了各种遗传重组的发生,而遗传重组又是生物变异的基础。

在适当时候采集植物的花蕾,制备染色体标本,即可在显微镜下观察到植物细胞的减数分裂。减数分裂过程如下(图 2-1):

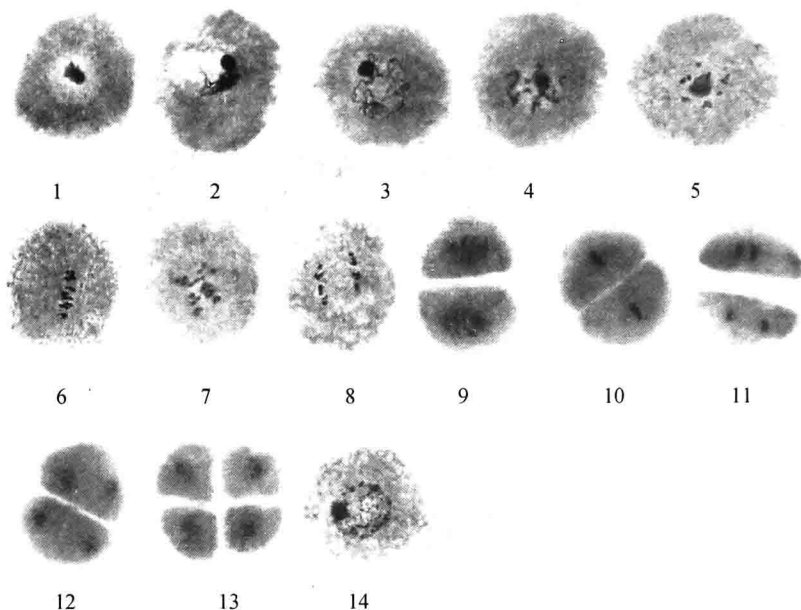


图 2-1 玉米花粉母细胞减数分裂图

1~5 前期 I : 1. 细线期 2. 偶线期 3. 粗线期 4. 双线期 5. 终变期 6. 中期 I 7. 后期 I
8. 末期 I 9. 前期 II 10. 中期 II 11. 后期 II 12. 末期 II 13. 四分孢子 14. 小孢子

(1) 间期: DNA 在间期进行复制。

(2) 第一次减数分裂:

前期 I : 这个时期经历最长, 变化也较复杂, 故根据染色体的变化又细分为五个时期。

细线期: 第一次分裂开始, 染色质浓缩为几条细而长的细线。每一染色体已复制为二个单体, 但在显微镜下看不出染色体的双重性。

偶线期: 同源染色体开始配对。

粗线期: 同源染色体配对完毕, 这种配对的染色体叫双价体, 每个双价体含有四个染色单体, 非姊妹染色单体的同源区段发生交换。

双线期: 同源染色体有交叉现象, 染色体螺旋化程度加深。

终变期: 交叉向染色体端部移动, 染色体变得更短粗。核膜消失。

中期 I : 同源染色体的着丝粒排列在赤道板两侧。

后期 I : 同源染色体随机分离, 分向两极。

末期 I : 染色体解旋成丝状, 核膜形成, 胞质分裂, 成为两个子细胞。