



新世纪高等学校规划教材 · 生物科学系列

遗传学实验

(第2版)

张根发 梁前进 ◎ 主 编
周宜君 李宗芸 张桂芳 ◎ 副主编

YICHUANXUE
SHIYAN



北京师范大学出版集团
BEIJING NORMAL UNIVERSITY PUBLISHING GROUP
北京师范大学出版社



新世纪高等学校规划教材 · 生物科学系列

遗传学实验

(第2版)

张根发 梁前进○主编
周宜君 李宗芸 张桂芳○副主编

YICHUANXUE
SHIYAN



北京师范大学出版集团
BEIJING NORMAL UNIVERSITY PUBLISHING GROUP
北京师范大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

遗传学实验/张根发, 梁前进主编. —2 版. —北京: 北京师范大学出版社, 2017.9

新世纪高等学校规划教材·生物科学系列

ISBN 978-7-303-21892-9

I. ①遗… II. ①张… ②梁… III. ①遗传学—实验—高等学校—教材 IV. ①Q3—33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 014018 号

营 销 中 心 电 话 010-62978190 62979006
北师大出版社科技与经管分社 www.jswsbook.com
电 子 信 箱 jswsbook@163.com

出版发行: 北京师范大学出版社 www.bnup.com

北京新街口外大街 19 号

邮 政 编 码: 100875

印 刷: 北京京师印务有限公司

经 销: 全国新华书店

开 本: 184 mm×260 mm 1/16

印 张: 14.25

字 数: 296 千字

版 次: 2017 年 9 月第 2 版

印 次: 2017 年 9 月第 1 次印刷

定 价: 29.80 元

策 划 编辑: 刘风娟 姚斯研

责 编: 刘风娟 姚斯研

美 术 编辑: 刘 超

装 帧 设计: 刘 超

责 任 校 对: 赵非非

责 任 印 制: 赵非非

版权所有 侵权必究

反盗版、反侵权举报电话: 010-62978190

北京读者服务部电话: 010-62979006-8021

外埠邮购电话: 010-62978190

本书如有印装质量问题, 请与印制管理部联系调换。

印制管理部电话: 010-62979006-8006

《遗传学实验》(第2版)编写委员会

主编 张根发 梁前进

副主编 周宜君 李宗芸 张桂芳

编委 高飞 王红芳 郜杰 高建国
李洁 于海婵 王纯 胡方方

内容简介

本书再版适应创新型人才培养、分子遗传学发展的进步和综合性高素质人才的社会需要。在全面展示遗传学实验特点的基础上，适当增加基础性实验、调整综合性实验，并增加设计性探究型实验，使之更适合新时期的教育教学。

本书的实验内容均可独立开展教学，因此，可根据教学的实际，进行选择和调整，具有综合性和实用性强的特点。基础性实验包括 19 个涵盖植物、动物、微生物、细胞遗传和数量遗传的经典实验；综合性实验包括植物基因转化、表观遗传的甲基化分析、分子标记、DNA 指纹分析、染色体畸变系列、大肠杆菌非中断杂交和线虫遗传发育 7 个整合性实验；设计性探究型实验以经典遗传学与分子遗传学结合的应用为理念，涉及植物基因工程、斑马鱼分子遗传发育、突变体的诱导、筛选与鉴定、外周血培养的染色体分析及生物信息学分析等遗传学创新应用实验组合。

本书旨在体现人才培养的整合创新和设计创新的教育教学理念，提高学生对遗传学知识的自主学习，特别是学以致用的能力。每个实验都附有针对性的实验作业供选择使用。并且，结合实际操作和实践问题，附有实验中容易出现的问题提示和可能解决方法供参考，以利于学生自学能力和研究性学习能力的培养。

本书适于高等院校生物、农学、医学及相关专业的师生使用。

第2版前言

值此之际，遗传学实验一书已经出版七年，教材的使用得到广大教师和学者的支持和厚爱，你们的反馈和建议也为本次修订、再版打下了坚实的基础，本人代表编委会表示真诚的谢意。这里特别应该感谢刘风娟编辑，是她主动联系到我，谈起遗传学实验的再版，勾起我对本书撰写和使用中的一些反响，做出再版遗传学实验一书的决定。适逢科技发展的鼎盛时期，伴随着DNA测序技术的发展，遗传学在分子水平上，特别是表观遗传学、基因功能、基因表达调控、遗传的生物信息分析等各个领域取得辉煌成就。岁月催人，时不我待，人才培养更需与时俱进。本书修订再版就是为了适应遗传学发展的步伐和综合性、高素质创新型人才培养的社会需求。

本书此次修订的基本点是：结合遗传学的发展领域修改引言和实验目的，应用的延展等；坚持实用性和能力培养，进一步强调实用性和可操作性；适当增加和调整实验内容，与时俱进。据此，本书做出的重大修改有：(1)提高实用性，将大多实验已有的“备注”修订为正式标题内容，称为实验中经常遇到的问题和解决办法；(2)强化基础，将第二部分的综合性中容易操作的基础部分调整到第一部分，如果蝇杂交、同工酶分子标记、玉米分离规律的验证等，使基础实验增加到19个；(3)调整和加强综合性实验，新添植物基因转化、分子标记实验用SSR替代RAPD并独立出来，果蝇系列实验回归到基础实验；(4)适应科技发展，增加生物信息学分析实验，成为创新型实验；(5)为适合教育国际化的需求，新增加中英文名词索引，供学习查找。

本书秉承一贯的“简明、实用、有效”的原则，将实验技术技能用浅显易懂的语言传递给学生，使之转化为简便易行的操作能力。本书修订过程中注重实践经验的积累，参考国内外教学实际，解决了一些操作性问题；也总结了对整合和创新性实验所进行的有意义的探索。然而，科技发展之迅猛，遗传学涉及的实验内容范围和层次之多，加之设计性、创新型实验还没有经典的参考书籍等，特别是本人知识范围和水平有限，使本书距离“简明、实用、有效”的目标仍有差距。恳

请专家学者、同行教师、读者不吝赐教，以受益编者和读者。

借此机会，一并感谢为此书出版付出辛勤劳动的编委会同事和出版社的编辑。期待着使用此书的学生能从中受益，这是编者的不懈追求！

张根发

2017年4月23日 于北京
北京师范大学 生命科学学院

第1版前言

遗传学是研究生物的遗传与变异规律的学科，也是一门以实验和数据分析为基础的实验性科学，因此实验课程作为遗传学教学的重要组成部分，使用一本好的遗传学实验教材是十分重要的。作为主编，在本书的实验内容、逻辑框架、编写风格、实验技术技能和整合层次的递进，以及贯彻科研培训和技能培养的教育教学理念等方面担负着重要的责任。鉴于此，在尽可能地收集、浏览和精读国内外主要的《遗传学实验》教材的基础上，结合本人的实验基础、知识结构、逻辑判断和对实验教学的思考，提出了编写遗传学实验教材的最初框架，并邀请了教学一线的专业教师进行研讨，确定了本书的撰写体系和风格。

本实验教材秉承厚基础、重素质、强能力的综合性高素质人才培养的教育教学理念和理论联系实际的学习指导思想。设计上结合了近几年来指导科研培训和本科生创新实验立项研究的经验，强调创新和整合创新、研究和探究相结合，以培养具有创新意识和实验探究能力的综合性高素质人才为目标。

本书在基础性实验、综合性实验和设计性实验3个层次上展开实验内容，且每一部分自成一体。不同学校可以根据不同教学学生源的特点和需求进行选择和调整，特别是后两部分的实验，独立性很强，使本书独具教学适应范围广、实用性强的特点。基础性实验部分共设置了17个实验，兼顾植物、动物、微生物和数量遗传的经典实验和重要模式生物。综合性实验部分安排了模式生物果蝇的系列实验、染色体及畸变系列实验、分子标记实验、表观遗传的甲基化分析实验、线虫的遗传发育实验和大肠杆菌非中断杂交实验6方面内容，各个实验均可独立开设或有所选择。而设计性实验部分，教材以经典遗传学和分子遗传学结合的应用为主线，充分展现学生实验的自主性、可设计性和可操作性，内容涉及植物基因克隆、载体构建、转化、转基因植物的筛选及鉴定；分子发育遗传模式生物斑马鱼的基因表达分析；大肠杆菌诱变与突变体的遗传分析；人类外周血淋巴细胞分离培养和SCE分析。

本书旨在将透彻理解的实验技术技能用浅显易懂的语言传递给学生。为充分体现“简明、实用、有效”的特点和风格，本书编写过程中及统稿期间与各章节作者进行了深入讨论、交流，特别是综合性实验和设计性实验两部分的每一个实验都经过反复讨论，许多实验的主要环节几易其稿。但由于本书涉及的实验内容范围和层次较多，设计性实验又缺乏经典的参考书籍等，加之本人知识范围和水平的限制，很难达到真正“简明、实用、有效”的目标，同时文中也难免有不完善、不恰当，乃至错误之处，还请同行教师、读者在使用中给予指出，我们将在再版时修订。

感谢为此书出版而付出辛勤劳动的编委会同事和出版社的编辑，预祝使用此书的学生能从中受益，这也是编者的最高追求！

张根发
北京师范大学
2010年4月9日

目 录

第一部分 基础性实验

模块1——遗传学入门实验

1. 1 实验 1 果蝇的观察、性别鉴定与培养方法	2
1. 2 实验 2 果蝇杂交系列分析实验	8
1. 3 实验 3 动物生殖细胞减数分裂标本的制备与观察	14
1. 4 实验 4 植物花粉母细胞染色体制片技术	18
1. 5 实验 5 植物花粉母细胞减数分裂过程中染色体特征和 行为的观察	21
1. 6 实验 6 玉米成熟花粉粒单基因控制的性状分离观察 ..	26

模块 2——遗传物质的组成和功能

1. 7 实验 7 应用孚尔根染色技术进行植物染色体数目 观察分析	28
1. 8 实验 8 小鼠染色体标本制备及染色体特征观察与 数目鉴定	31
1. 9 实验 9 果蝇唾腺染色体标本制备和染色体特征观察 ..	35
1. 10 实验 10 人类染色体的识别与核型分析	41
1. 11 实验 11 人类性染色质的标本制作与观察	47
1. 12 实验 12 人类染色体荧光原位杂交实验	50

模块 3——基础性遗传分析

1. 13 实验 13 粗糙链孢霉的杂交	57
1. 14 实验 14 数量性状的遗传分析——人类指纹的分析 ..	61
1. 15 实验 15 Hardy-Weinberg 遗传定律数据统计与分析 ..	68
1. 16 实验 16 植物单倍体的培养与遗传分析	74

1.17 实验 17 局限性转导	79
1.18 实验 18 互补测验	83
1.19 实验 19 同工酶标记实验	87

第二部分 综合性实验

2.1 实验 20 植物的基因转化——根癌农杆菌介导的植物基因转化	94
2.2 实验 21 植物基因组 DNA 甲基化分析	99
2.3 实验 22 基于植物叶绿体微卫星分子标记的父本分析(油松叶绿体 DNA SSR 分析)	106
2.4 实验 23 DNA 指纹技术 STR 分型对人身份的鉴定	113
2.5 实验 24 物理、化学因素对植物遗传诱变效应的染色体分析	122
2.6 实验 25 大肠杆菌梯度转移基因定位(非中断杂交)	128
2.7 实验 26 线虫的遗传分析实验	136

第三部分 设计性探究型实验

3.1 实验 27 植物基因克隆、载体构建、转化、转基因植物筛选及鉴定	146
3.2 实验 28 分子发育遗传模式生物斑马鱼的基因表达分析	154
3.3 实验 29 大肠杆菌诱变与突变体的遗传分析	161
3.4 实验 30 人类外周血淋巴细胞分离培养和 SCE 分析	168
3.5 实验 31 生物信息学实验	174

参考文献	185
附录	189
索引	212

第一部分 基础性实验

这一部分是整个遗传学实验体系的基础。实际教学中可以划分为 3 个模块，为了体现实验技术和知识的继承和联系，整合为第一部分。简要介绍如下。

模块 1：遗传学入门实验(实验 1~6)。“果蝇的观察、性别鉴定与培养方法”实验设置从经典的遗传学模型开始，沿着学科发展的脉络体验科学的研究历程，把握科学实验技能和科学理论形成的线索。为在动态的、染色体变化层面上研究遗传物质及其传递规律，安排了减数分裂制片实验，通过植物、动物材料减数分裂制片的细胞遗传学基础实验，训练探寻遗传物质载体的结构基础及动态变化的技术和能力。“植物花粉母细胞染色体制片技术”和“玉米花粉粒遗传规律的验证”实验，在设置上考虑两个方面，一是接触一种高等植物模式物种，二是对遗传的物质基础的载体——染色体的初步认识，并加强基础遗传规律的认知与验证实验设计能力。

模块 2：遗传物质的组成和功能(实验 7~12)。本模块在染色体和细胞学基础层面上展开，先安排特异的 DNA 染色技术，并引入另一种高等模式生物小鼠，再通过其中期染色体的形态和数目的分析，为广泛深层次地研究染色体及其与遗传和物种稳定性关系奠定了基础。以果蝇为材料，从巨大唾腺染色体上体现的与基因的时空差异表达相关的结构，到组织化学显示反应用于遗传物质的区分，建立起了遗传物质和生物性状表达的联系。本模块在生物的类群上上升到人类——这触及了遗传学研究的根本任务，即为人类的健康、生产、生活服务。由于人类的染色体数目较为适中，结构具有比较全面的多样性，人类染色体的制备、核型分析及荧光原位杂交技术的系列实验设置，可以达到满意的技术训练目的。

模块 3：基础性遗传分析(实验 13~19)。从原核生物到真核生物，从微生物到植物、动物，从质量性状到数量性状遗传的实验设置，在研究领域上涉及经典遗传规律探寻、分子遗传规律分析和遗传工程操作，因此具有明显的“分析”特点。本模块是经典遗传学基础理论和技术的系统应用，但仍属于认识遗传规律，奠定遗传学研究基础的阶段，是学生进入自主性、研究型科学探究的门槛。

综上所述，这部分是对遗传学模式物种(细菌、真菌、玉米、果蝇、小鼠乃至人类自身)的基础遗传实验的初步接触和培训，是运用模式物种进行遗传规律探寻的感性认识和自我解读的过程。学生由此开始认识和体验遗传学的实验，并从静态辨别上升到动态分析，这部分内容的掌握，是初步踏入遗传学的实践和研究型探索性学习道路的必需。

模块 1——遗传学入门实验

1.1 实验 1 果蝇的观察、性别鉴定与培养方法

遗传学实验通常采用的果蝇属于果蝇科(Drosophilidae)果蝇属(*Drosophila*)的昆虫，该属约有1 000种，果蝇被广泛用做遗传和演化的室内外研究材料。是体长只有几毫米的小型蝇类(图 1-1)；由于其喜欢在腐烂水果上飞舞，所以被称作“果蝇”。实际上，果蝇喜欢的是腐烂水果发酵产生的乙醇，所以酒类发酵池前也会招引来很多果蝇，古希腊人因此称果蝇为“嗜酒者”。

野生果蝇中最常见的黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)是在1830年首次被描述的。而它第一次被用做实验研究对象则是在1901年，实验者是动物学家和遗传学家威廉·恩斯特·卡斯特(Wilhelm Ernst Custer)。他通过对果蝇的种系研究，设法了解了多代近亲繁殖的结果和取出其中某一代进行杂交所出现的现象。1910年，汤玛斯·亨特·摩尔根(Thomas Hunt Morgan, 1866—1945)开始在实验室内培育果蝇并对它进行系统的研究。此后，很多遗传学家都开始用果蝇做研究，并且取得了许多遗传学方面的重要成果，包括这种蝇类基因组的基因在染色体上的分布。

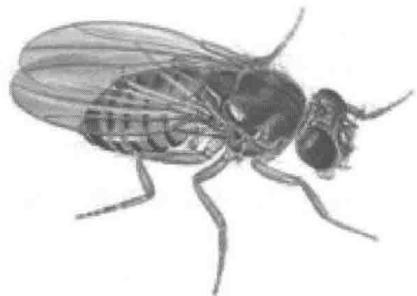


图 1-1 普通果蝇



图 1-2 遗传学家摩尔根

摩尔根(图 1-2)的遗传学实验主要是以果蝇为实验材料，到1925年已经在这个小生物身上发现4对染色体，并鉴定了约100个不同的基因，并且可以由通过交配实验而确定的连锁程度，来测量染色体上基因间的距离。1911年他提出了著名的“染色体遗传理论”。由于摩尔根的重要发现都是从果蝇身上取得的，所以有人戏说：上帝为了摩尔根才创造了果蝇。由于摩尔根的实验室中饲养了很多果蝇，研究人员整天在侍候果蝇、观察研究果蝇，因此他领导的实验室也被称

作“蝇室(fly room)”。在摩尔根的领导之下，这个“蝇室”成了全世界的遗传学研究中心。他们的研究成果为全世界遗传学界所瞩目，他们写出的论文和著作是全世界遗传学家的必读书籍和重要参考文献。

从果蝇研究中发现的遗传规律，对其他动植物乃至对人类也同样适用。理论上有了重要发展，在实践上也必将有重要意义。

1.1.1 实验目的

- 认识果蝇，了解其生存条件和生活史，熟练掌握雌、雄果性别鉴定的方法。
- 掌握各突变类型的外观特点并能准确进行辨别。
- 掌握配制果蝇培养基和接种果蝇的方法及注意事项。

1.1.2 实验原理

果蝇属于节肢动物门、昆虫纲、双翅目、果蝇属，遗传实验中常用的黑腹果蝇是其中的一个种，它在自然界中广泛存在。果蝇作为遗传学研究的材料，具有非常突出的优点：①体型小，易饲养；②生活周期短，繁殖能力强（因此利用果蝇进行的各种遗传实验易于重复且便于统计和分析）；③染色体数目少，幼虫唾腺染色体巨大；④群体中突变性状多。

摩尔根利用果蝇进行杂交实验，继孟德尔发现分离和自由组合规律之后，揭示了连锁互换和伴性遗传的规律。1916年摩尔根的学生布里吉斯（Calvin B. Bridges, 1889—1939）进行了果蝇X染色体不分离实验，并取得成功。摩尔根等人的这些工作为染色体遗传理论以及整个细胞遗传学的最终建立作出了巨大贡献。在遗传学的其他领域，如分子遗传、毒理遗传、进化遗传等方面，果蝇作为实验材料也曾作出很大贡献。

果蝇为完全变态的昆虫，整个生活史包括卵、幼虫、蛹和成虫4个发育阶段（图1-3、图1-4）。果蝇生活周期的长短与温度关系密切，有随温度降低生活周期延长的变化趋势（表1-1），而高温（30℃以上）会引起果蝇的不育和死亡。果蝇的最适培养温度为20~25℃，在25℃条件下，从卵发育到成虫只需10 d左右的时间。羽化后的成虫寿命一般在4星期左右，羽化12 h后的雌蝇即可进行交配，2 d后即可开始产卵。

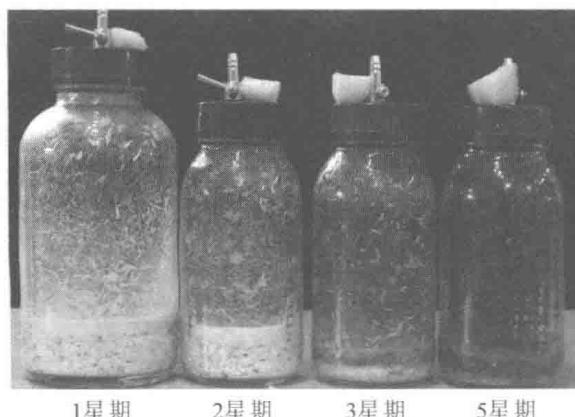


图1-3 不同培养时间果蝇的生长状态

表1-1 果蝇生活周期与温度的关系

项目	10℃	15℃	20℃	25℃
卵→三龄幼虫			8 d	5 d
三龄幼虫→成虫(蛹期)	57 d	18 d	6.3 d	4.2 d

果蝇的卵为白色，长椭圆形，长约0.5 mm，在其背面前端有两条触丝（图1-4A）。受精卵经孵化成为一龄幼虫（图1-4B），一龄幼虫要经过两次蜕皮，第二次蜕皮后为三龄

幼虫(图 1-4D), 长可达 4.5 mm, 幼虫均为白色。三龄幼虫进一步化成蛹, 蛹紧贴于培养瓶壁或培养基表面等较干燥处, 早期蛹(图 1-4E)为淡黄色, 后逐渐硬化, 且颜色逐渐加深, 将要羽化的蛹(图 1-4F)呈深褐色。羽化后破壳而出的是果蝇的成虫(图 1-4G), 成虫可分头、胸、腹三部分, 头部有 1 对大的复眼, 3 只单眼和 1 对触角; 胸部有 3 对足, 1 对长于腹部末端的翅和 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(粗大的体毛)。

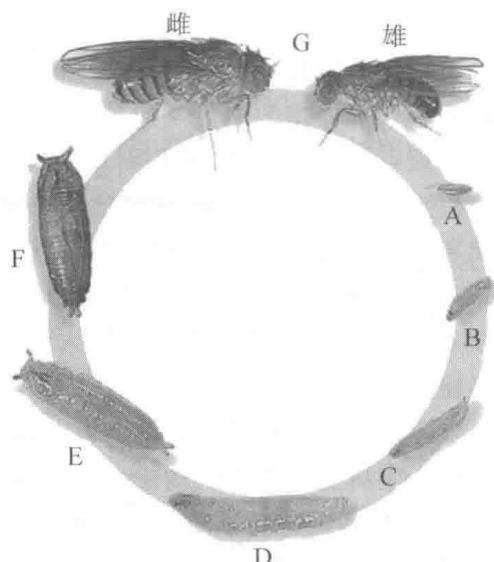


图 1-4 果蝇的生活史

A. 卵 B. 一龄幼虫 C. 二龄幼虫 D. 三龄幼虫 E. 早期蛹 F. 晚期蛹 G. 成虫

利用果蝇做杂交实验, 必须准确地识别其性别。

雌雄果蝇的主要特征见表 1-2、图 1-5、图 1-6 和图 1-7。

表 1-2 雌雄果蝇主要特征对比

雌性果蝇	雄性果蝇
个体较大	个体较小
腹部较大, 且腹部末端较尖	腹部较小, 且腹部末端较圆钝
腹部背面有 5 条黑条纹	腹部背面有 3 条黑条纹, 最后 1 条极宽并延续至腹部腹面
外生殖器比较简单, 有阴道板和肛上板等结构	外生殖器较复杂, 有生殖弧、肛上板、阴茎等结构
腹部腹面有 6 个腹片	腹部腹面有 4 个腹片
无性梳	前肢跗节上有性梳

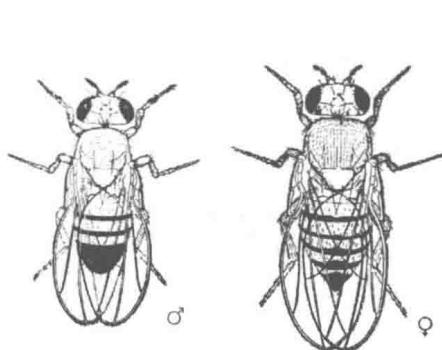


图 1-5 雌雄果蝇背面观

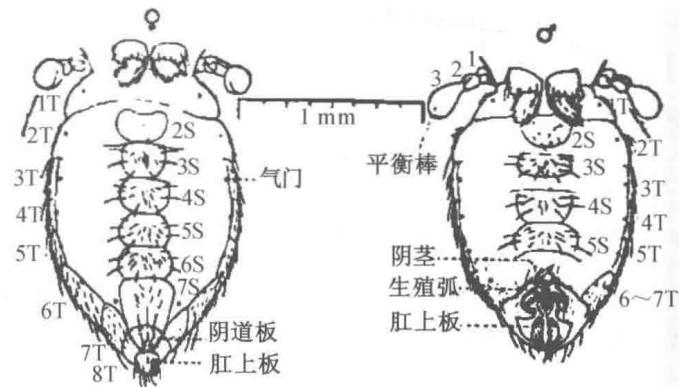


图 1-6 雌雄果蝇腹部腹面观

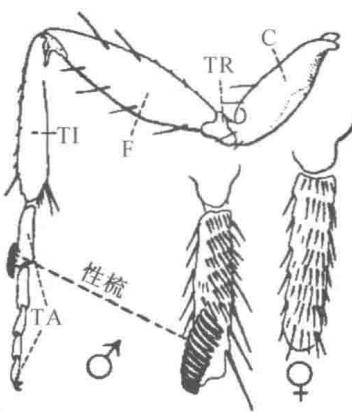


图 1-7 雄性果蝇前足(示性梳)

果蝇在自然或人工诱导条件下，可能发生各种突变，已知的突变品系约有几百种，常用于实验的突变品系见表 1-3。

表 1-3 常用于实验的突变品系

突变性状	基因符号	染色体定位	性状特征
白眼 (white)	w	1	复眼白色 (野生型复眼呈红色)
黑檀体 (ebony)	e	3	身体呈乌木色，黑亮
黑体 (black)	b	2	体黑色，比黑檀体深
黄体 (yellow)	y	1	全身呈浅橙黄色
残翅 (vestigial)	vg	2	翅明显退化，只残留一部分痕迹，不能飞
小翅 (miniature)	m	1	翅比野生型者短，与腹部末端几乎等长
卷刚毛 (singed)	sn ³	1	刚毛呈卷曲状
棒眼 (Bar)	B	1	复眼呈狭窄垂直棒形，小眼数少
褐眼 (brown)	bw	2	眼呈褐色
卷曲翅 (curly)	cy	2	翅膀向上卷曲，纯合致死
叉毛 (forked)	f	1	体毛和刚毛分叉且卷曲
猩红眼 (scarlet)	st	3	复眼呈明亮猩红色

1.1.3 实验准备

1. 实验材料

各品系生活状态的果蝇；雌、雄果蝇装片。

2. 实验试剂和主要仪器设备

实验试剂：乙醚，玉米粉，琼脂粉，蔗糖，15%苯甲酸乙醇溶液，正丙酸。

仪器设备：高压灭菌器，电磁炉，手持放大镜，毛笔，白塑料板(或白瓷板)、麻醉瓶(可用瓶盖内塞有棉团的250 mL广口瓶作为简易麻醉瓶)。

1.1.4 实验操作

1. 果蝇生活史的观察

用放大镜观察培养瓶内不同生活时期(卵、幼虫、蛹、成虫)果蝇的形态、特征。

2. 果蝇成虫外形的观察和性别鉴定

(1) 取蝇：将培养瓶(在下)与麻醉瓶(在上，且对准光源)对口相接，利用果蝇的趋光性，使果蝇进入麻醉瓶中。若进入困难(麻醉瓶内若已有乙醚气味，则果蝇不易进入麻醉瓶)，可用强制方法：培养瓶置于上方，麻醉瓶在下，对口相接，用手轻轻拍打培养瓶，使果蝇落入麻醉瓶中。麻醉瓶中进入足够量的果蝇后，将培养瓶和麻醉瓶瓶口分开，迅速盖好各自的瓶盖。

(2) 麻醉：轻震麻醉瓶，使果蝇离开瓶口，取下瓶盖，捂住瓶口，防止果蝇飞出。加2~3滴乙醚于瓶盖内的棉团上，盖上瓶盖，进行麻醉。若做杂交实验则一定要注意麻醉程度，果蝇静止不动后则立即取出，否则麻醉过度会导致果蝇死亡。果蝇死亡的标志是：翅膀向后外展开45°。

(3) 观察：将麻醉的果蝇倒在白塑料板上，用放大镜观察其外形及对雌雄性别进行鉴定。

3. 果蝇几种突变类型的观察

观察实验室培养的几种突变类型，将观察的结果填入表1-4。

表 1-4 实验结果

特征 \ 类型	野生型 (X)	黑檀体 (e)	残翅 (vg)	白眼 (w)	小翅 (m)	卷刚毛 (sn ³)	黄体 (y)	棒眼 (B)
体色								
眼色								
翅形								
眼形								
刚毛形态								

4. 培养基的配制

为后续的果蝇杂交实验配制培养基(配方见附录)。

1.1.5 实验中经常遇到的问题和解决方法

1. 麻醉果蝇的目的若是为了观察外形，可以延长麻醉时间，致其死亡，以便于详细