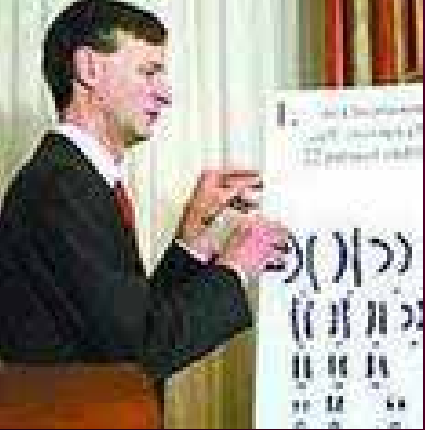




遗传学实验

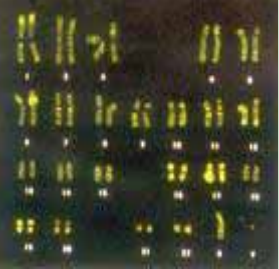
实验一:人类染色体的组型分析

刘福霞



实 验 内 容

- 目的要求
- 材料用具
- 方法步骤



目的要求

人类染色体组型分析是将人的一个体细胞有丝分裂中期的染色体，在计数的基础上，按照染色体的大小和形态特征(主要根据着丝粒位置)，对染色体进行分组、排队和配对。这对于探讨人类遗传病的发病机理，探讨动物和植物的起源，以及物种间的亲缘关系等都具有重要意义。

通过对人类染色体组型进行分析，可以初步学会对染色体进行分析的方法。

材料用具

人类体细胞有丝分裂中期染色体
放大照片，剪刀，镊子，胶水。

方法步骤

人类的体细胞的正常染色体组型(男性)如下图所示：46条染色体，相互构成23对，其中1号~22号是常染色体，还有1对是性染色体XY。依据染色体的大小和着丝粒的位置等特征，可以将这些染色体分为七组(见下页表)。

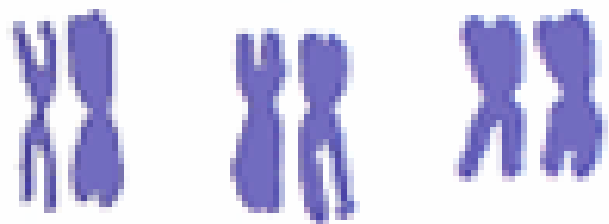
人类染色体的分组特点

分组	染色体 号码	染色体 大小	着丝粒位置	有无 随体	说 明
A	1 2 3	最 大	中着丝粒 亚中着丝粒 中着丝粒	无	本组内 3 号染色体比 1 号染色体略小。
B	4~5	次 大	亚中着丝粒	无	与 C 组染色体比较，B 组的 4 号、5 号染色体的短臂都比较短。
C	6~12	中 等	亚中着丝粒	无	本组内 6 号、7 号、8 号 11 号染色体的短臂较长，9 号、10 号、12 号染色体的短臂较短。
D	13~15	中 等	近端着丝粒	有	本组内各号染色体之间难以区分。
E	16 17 18	较 小	中着丝粒 亚中着丝粒 亚中着丝粒	无	本组内 18 号染色体较 17 号染色体短臂更短些。
F	19~20	次 小	中着丝粒	无	本组内各染色体难以区分。
G	21~22	最 小	近端着丝粒	有	21 号、22 号染色体的长臂的两条染色单体常呈现分叉状，它们之间难以区分。
性染色体	X	中 等	亚中着丝粒	无	X 染色体属于 C 组染色体，大小介于 6 号和 7 号之间。 Y 染色体属于 G 组染色体，两条染色单体的长臂常并拢。
	Y	最 小	近端着丝粒	无	

- 1. 计数：统计照片上人类(男性或女性)染色体的数目，然后，将每条染色体分别剪下。
- 2. 配对、分组：按照染色体的大小及着丝粒的位置(见表)，将所有染色体配对并分为7组。
- 3. 调整：仔细观察各个染色体的特征，如果发现排列顺序不适当的，应该及时进行调整。
- 4. 粘贴：将以上各组染色体，按顺序粘贴在《实验报告册》组型分析表中标好组别的横线上，并将分析结果填写在组别的下方。

正常人的染色体组型（男性）





1 ----- 3

A



4 ----- 5

B



6 ----- 12

C



13 ----- 15

D



16 ----- 18

E



19 ----- 20

F



21 ----- 22

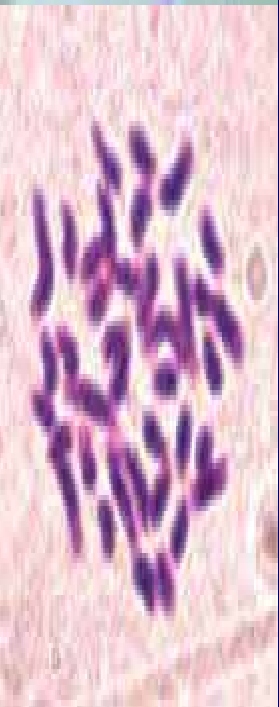
G



XY



实验二：细胞分裂及染色 本行为观察



刘福霞

一、实验目的

二、实验原理

三、实验材料

四、实验仪器及用具

五、药品和试剂

六、实验步骤

一、实验目的

- 1.掌握植物制片技术，奠定细胞遗传学的研究技术；
- 2.通过对植物根尖细胞的观察，掌握有丝分裂过程中染色体的形态特征和动态变化。

二、实验原理

有丝分裂是植物细胞分裂的主要方式，细胞分裂过程中，核内染色体准确地复制，并有规律地、均匀地分配到两个子细胞中去，使子细胞和母细胞的遗传组成一样，保证了植物细胞的遗传性状的一致。各种生长旺盛的植物组织中，如根尖组织、茎尖组织、居间分生组织、愈伤组织等，常进行着剧烈的细胞有丝分裂。

在细胞分裂的适当（分裂旺盛期）时候取材，进行预处理，固定、解离、染色和涂抹压片等方法，使细胞、染色体分散，便于在显微镜下观察染色体的形态特征和变化特点及进行染色体计数。

三、实验材料

大蒜鳞茎

四、实验仪器及用具

多媒体显微演示系统、显微镜、培养箱、分析天平、剪刀（或刀片）、镊子、解剖针、载玻片、盖玻片、滤纸、铅笔、标签纸、胶水、棕色瓶等。

五、药品和试剂

浓盐酸、95%无水乙醇、0.075mol/L

KCl、45%醋酸、蒸馏水，龙胆紫

六、实验步骤

(一) 材料准备：

大蒜根尖：

将大蒜置于盛有清水的小烧杯上，根部与水接触，20-25℃光照条件下培养2-3天，待根长1-2cm时，于上午9:00-11:00剪下根尖备用。

(二) 预处理

为了获得较多中期分裂相的细胞，同时使染色体缩短和分散，可对根尖进行预处理，处理方法如下：

根尖浸在蒸馏水中于在1-4°C低温下处理24小时。

(三) 固定或前低渗

用蒸馏水洗净材料，将根尖放入
0.075mol/L KCl溶液中低渗处理20分钟，
然后用蒸馏水冲洗2-3次。

(四) 解离

将根尖用蒸馏水冲洗2次，放入95%乙醇和浓盐酸（1:1）混合液中处理2-10分钟，取出，用水漂洗2遍。

(五) 染色和制片

将解离好的材料用蒸馏水冲洗以后，转入45%醋酸中软化10分钟左右。取1-2根软化好的根尖放在载玻片上，用刀片切去伸长区，只留下1-2mm的分生组织。滴一滴龙胆紫染色液染色3-5分钟。

染色完毕，取一盖玻片，盖玻片一边靠在离材料不远的载玻片上，左手握镊子顶着盖玻片，右手握解剖针托住盖玻片徐徐放下，若染色液不能布满盖玻片时，可在盖玻片边缘稍加染色液，然后用一张大小合适的滤纸覆盖在盖玻片上，一手固定盖玻片，另一手持铅笔橡皮头，对准材料**轻敲**，使根尖细胞分散均匀。

(六) 显微观察

制备好的细胞学片子，置于显微镜的载物台上，先用低倍镜（ 10×10 ）调焦观察，寻找具有分裂相的细胞后，再转换到高倍镜（ 10×40 ）下观察。

(七) 实验作业

1. 制作细胞有丝分裂各时期图象片子1-2张
2. 描绘显微镜下所观察到的细胞有丝分裂过程中各时期的图象，并简要说明染色体的行为特征。

实验步骤

(一) 材料准备

(二) 预处理:根尖浸在蒸馏水中于在1-4℃低温下处理24小时。

(三) 前低渗:用蒸馏水洗净材料,将根尖放入KCl溶液中,低渗处理20分钟,后用蒸馏水洗2-3次。

(四) 解离:将根尖用蒸馏水冲洗2次,放入95%乙醇和浓盐酸(1:1)混合液中处理2-10分钟,取出,用水漂洗2次。

(五) 染色和制片:将解离好的材料用蒸馏水冲洗以后,转入45%醋酸中软化10分钟左右。取1-2根软化好的根尖放在载玻片上,用刀片切去伸长区,只留下1-2mm的分生组织。滴一滴龙胆紫染色液染色3-5分钟。

(六) 显微观察

实验二：减数分裂及 配子形成

刘福霞

一、实验目的

二、实验原理

三、实验材料

四、实验仪器及用具

五、药品和试剂

六、实验步骤

一、实验目的

学习花粉母细胞涂抹制片技术，观察植物减数分裂各个时期染色体的变化特征。

二、实验原理

减数分裂是生物在性母细胞成熟时配子形成过程中发生的一种特殊的有丝分裂。它包括连续两次的细胞分裂阶段：第一次分裂为染色体数目的减数分裂，第二次分裂为染色体数目的等数分裂。两次分裂可根据染色体变化特点各分为前期、中期、后期和末期，由于第一次分裂的前期较长，染色体变化比较复杂，故其前期又可分为五个时期。

在减数分裂的整个过程中，同源染色体之间发生联会、交换和分离，非同源染色体之间进行自由组合。最终分裂为染色体数目减半的四个子细胞，从而发育为雌性或雄性配子（ n ）。雌雄配子通过受精又结合成为合子，发育为新的个体，这样又恢复了原有的染色体数目（ $2n$ ）。由于不同雌雄配子染色体的重新组合，产生了大量的遗传变异，有利于生物的适应和进化。

三、实验材料

植物花药

四、实验仪器及用具

显微镜、酒精灯、培养皿、载玻片，
盖玻片、镊子、刀片、吸水纸、标签纸

五、药品和试剂

酒精、丙醋酸、70%乙醇、
醋酸洋红、蒸馏水

六、实验步骤

(一) 材料准备

(二) 制片

取**1-3**枚花药放在洁净的载玻片上，用清洁刀片压在花药上向一端抹去，涂成薄层，然后滴**1滴1%**醋酸洋红染色液。也可在花药上滴上染色液，然后用镊子把花药镊碎，去掉肉眼见得到的残渣，数分钟后盖上盖玻片，包被吸水纸，用大姆指匀力压片，或用铅笔的橡皮头垂直轻敲。

(三) 镜检

先在低倍镜下寻找花粉母细胞，一般花粉母细胞较大、圆形或扁圆形，细胞核大、着色较浅。而一些形状较小，整齐一致着色较深的细胞是药壁体细胞，一些形状处于中间略呈扇形的细胞是从四分体脱开后的小孢子或幼小花粉粒。

如形状较大，内部较透明并具有明显外
壳的细胞则是成熟的花粉粒。观察到有一定
分裂相的花粉母细胞后，用高倍镜观察减数
分裂各时期染色体的行为和特征。

七 实验作业

1. 制作减数分裂前期I图象清晰的片子1-2张。
2. 对所观察到的减数分裂各时期的图象进行绘图，并简要描述染色体的行为和特征。



实验三 果蝇的性状观察 与饲养管理

生物系:刘福霞



一、实验目的

二、实验原理

三、实验材料

四、实验器具及药品和试剂

五、实验步骤

一、实验目的

了解果蝇的生活习性，掌握果蝇饲养管理的方法，鉴定果蝇的雌雄性别和突变性状。

二、实验原理

普通果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 为双翅目昆虫，具完全变态。用果蝇做实验材料有许多优点：

1. 生长迅速，每12天左右即可完成一个世代；
2. 繁殖能力强，每只受精的雌蝇可以产卵500个左右，因此在短时间内即可获得大量的子代，便于遗传分析；
3. 饲养容易，以玉米粉等做饲料就可以生长繁殖；
4. 加之突变性状多达400以上，且易观多数是形态变异，容察。

三、实验材料

野生型果蝇(红眼、长翅、直刚毛)及几种常见的突变型：如突变型(白眼、小翅、卷刚毛)和突变型(黑檀体)果蝇。

四、实验器具和药品试剂

生化培养箱、双筒解剖镜（或放大镜）、镊子、锅、电磁炉、高压灭菌器、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。

五、实验内容和步骤

(一) 生活史的观察

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）。

卵：

卵白色，长椭圆形，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。

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。

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，渐次形成一个棱形的蛹。起初颜色淡黄、柔软，以后逐渐硬化，变为深褐色，这就显示即将羽化了。

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，如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。

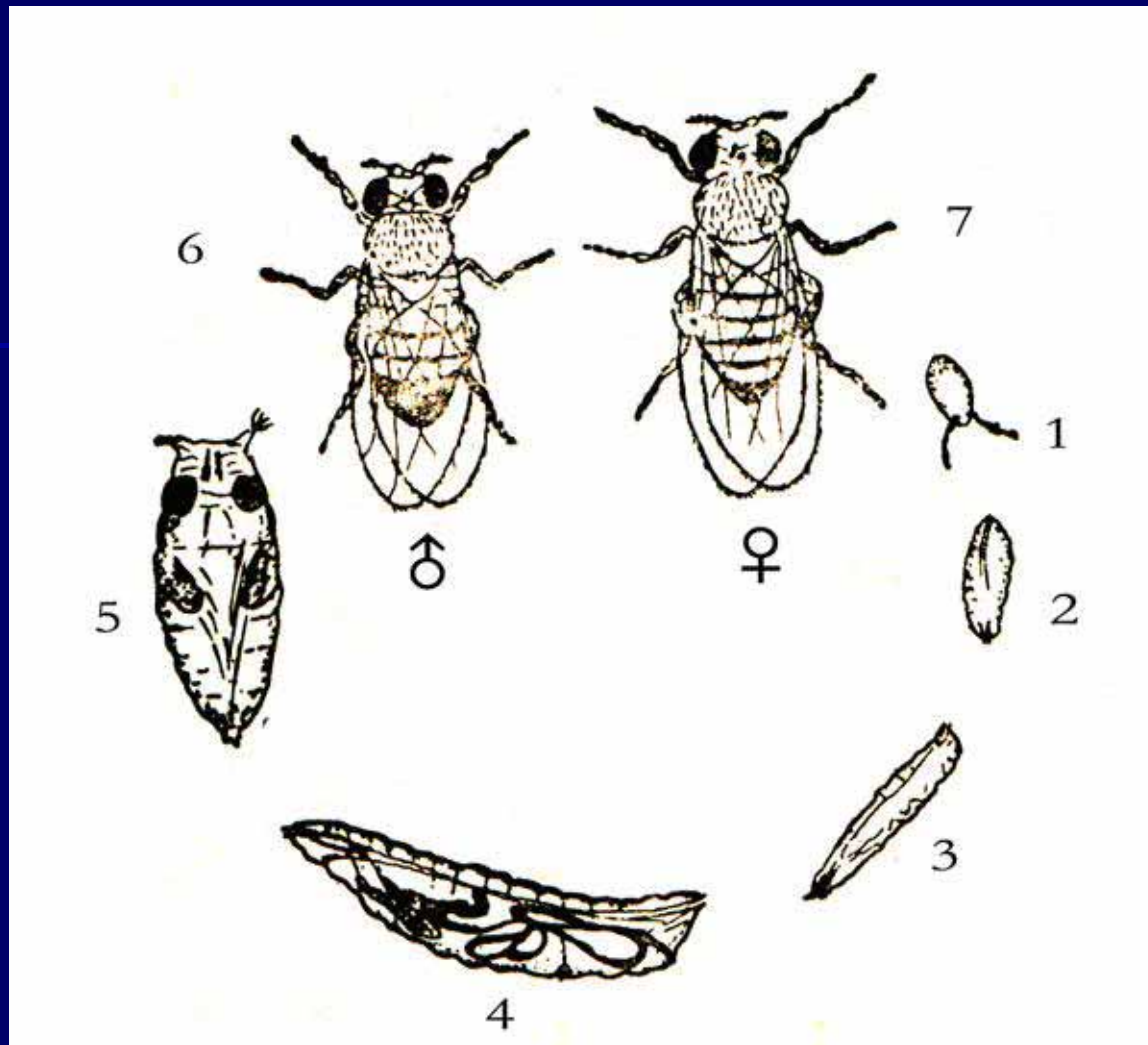


图1 果蝇生活史

1. 卵 2. 一龄幼虫 3. 二龄幼虫 4. 三龄幼虫 5. 蛹
6. 成虫(雄) 7. 成虫(雌)

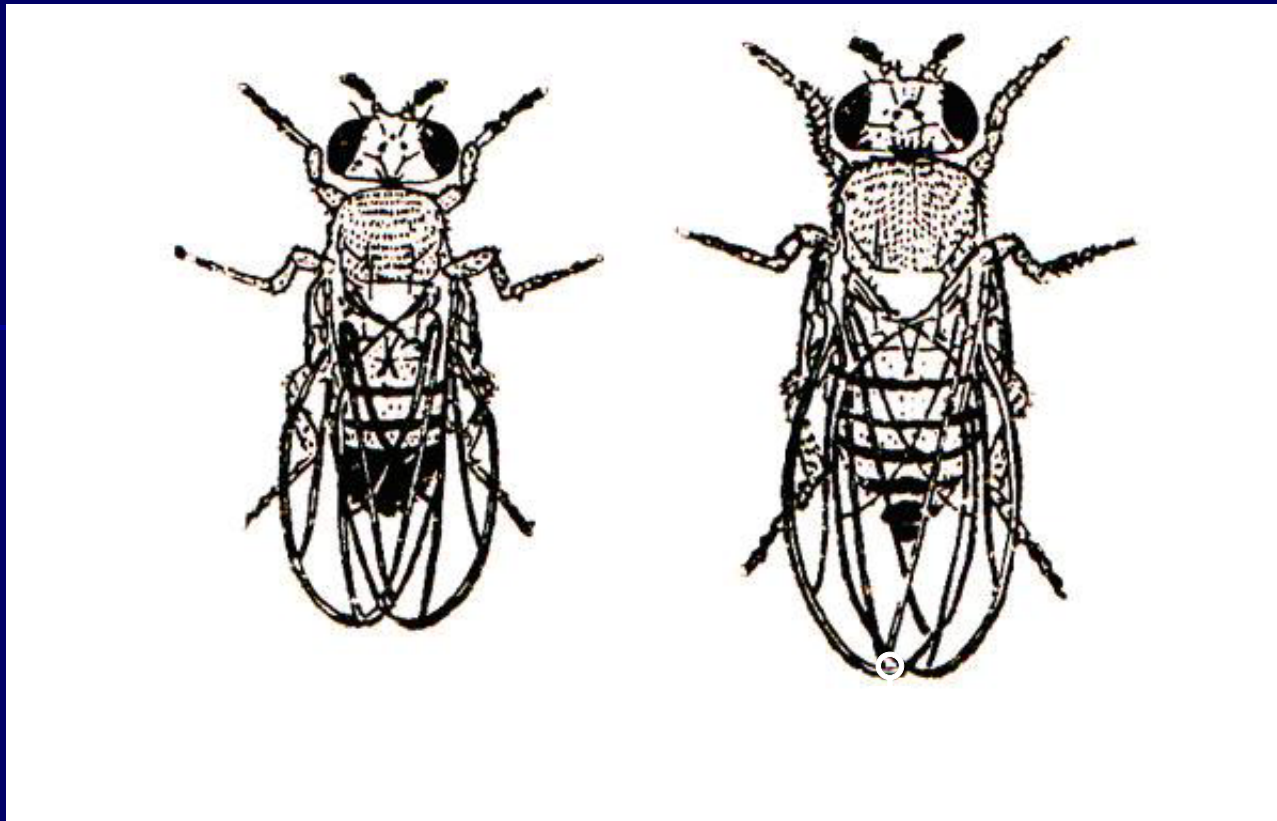
果蝇生活周期的长短与温度关系密切，30℃以上时果蝇则将不育且濒临死亡，低温则使它的生活周期延长，同时生活力也降低。培养果蝇的最适温度是20~25℃。

	10°C	20°C
卵→幼虫	15°C	25°C
幼虫→成虫	57天	18天
	天	6.3天
		4.2天

从表中可以看出，25°C时，从卵到成虫约10天，20°C时约为15天。盛夏时，果蝇应该放在生化培养箱内饲养或放在有空调的房间内饲养。

(二) 果蝇雌雄性别的鉴别

果蝇有雌雄之分，幼虫期较难区别，成虫期则较易区别（图2）



雌雄果蝇的比较

1. 体型：**雌果蝇**体型较大，雄果蝇较小；
2. 腹部末端：雄性腹部**椭圆**，末端稍尖，雌性末端**钝圆**；
3. 腹部背面：雌性有明显5条黑色条纹，雄性有7条，延至腹面，肉眼看其腹部末端呈现一**明显黑点**。
4. 腹部腹面：雌性有较明显的7个腹片，雄性有5个腹片。

5. 性梳：雄性第一对足的跗节基部外侧有黑色鬃毛状性梳（图3），雌性则无。性梳的有无，是鉴别雌雄性果蝇的明显标志之一。

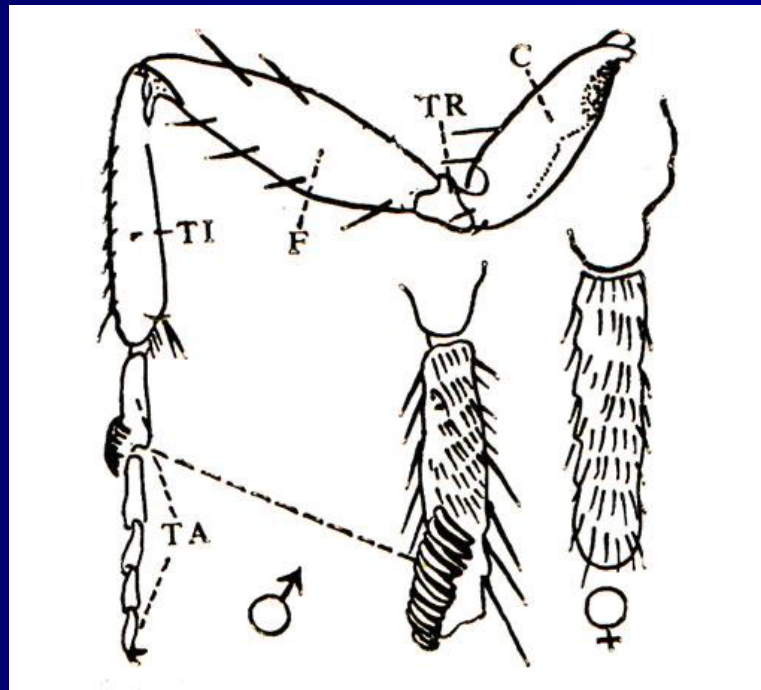


图3 左：雄性果蝇的左前足 中：跗节基部的性梳 右：雌果蝇无性梳
C、基节 TR、转节 F、腿节 TI、胫节 TA、跗节

(三) 几种常见的突变性状

实验中常用的果蝇突变性状多可用肉眼鉴别，有一些则可借助于解剖镜辨认，这些性状一般都是明显而稳定的。

突变名称	基因符号	性 状 特 征	在染色体上座位
白眼	w	复眼白色	X 1.5
残翅	vg	翅全退化，部分残留不能飞	II R 67.0
黄体	y	全身呈浅橙黄色	X 0.0
黑檀体	e	身体呈乌木色，黑亮	III R 70.7
焦毛	Sn	刚毛卷曲如烧焦状	X 21.0
小翅	m	翅短仅长至腹端	X 36.1

(四) 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，先在棉签上滴上数滴乙醚，将培养瓶口朝下，果蝇即向上爬行。轻抽出棉塞，插进棉签，将棉塞塞住，平放在桌面上（不能将培养瓶竖立，以免果蝇落入培养基中不便取出）约半分钟，果蝇即被麻醉。

注意不能麻醉过度，如果果蝇的翅膀与身体呈 45° 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。

(五) 果蝇培养基

果蝇在水果摊或果园里常可见到，但它并不是以水果为食，而是采食生长在水果上的酵母菌，因此实验室内凡能发酵的基质，均可作为果蝇的饲料。实验室常用的培养基配制方法是：

取一锅盛300ml水，在电磁炉上将水加热烧开，取一个500ml的烧杯，称玉米粉40g、琼脂粉2g，倒入烧杯中加水100ml搅拌均匀。另称白糖30g加入锅中加热溶解，待糖全部溶解后即可倒入玉米糊并将之煮熟。为防止培养基长霉，可加2ml丙酸作为防腐剂。

培养果蝇的饲料瓶，常用的有牛奶瓶、三角瓶、大中型指管，用纱布包裹的棉花球作瓶塞。瓶子和棉塞要高压灭菌消毒。每一瓶大约装2cm厚度的培养基。待冷却后，擦干瓶壁上的水珠即可使用。

作业

- 1.如何区分果蝇的雌雄个体？
- 2.果蝇麻醉是的注意事项有哪些？
- 3.观察几种突变型的外部特征，比较其与野生型的差别？

实验五 果蝇唾腺染色体标本的制备与观察

- 实验目的
- 实验原理
- 实验材料与药品
- 实验方法
- 实验作业

实验目的

- 练习剥离果蝇幼虫唾腺的技术和制作唾腺染色体标本的方法。
- 观察果蝇唾腺染色体的结构特点。

实验原理

■ 发现

- 1881年，意大利Balbiani在双翅目昆虫摇蚊幼虫的唾腺细胞间期核中发现了巨大的“永久性染色质纽”。
- 1930年前后，研究表明，“染色质纽”实质上是特殊的染色体。
- 后来，其他学者又在果蝇和其它双翅目昆虫的幼虫唾腺细胞间期核中发现了巨大染色体。

■ 形成原因

- 染色体螺旋化程度不高。
- 核内复制：果蝇幼虫的唾腺细胞在发育过程中，细胞核内的DNA多次复制，但细胞、细胞核不分裂，复制后的染色单体DNA也不分开（核内复制），形成了多线染色体。
- 体联会：同源染色体相互靠拢在一起呈现一种联会状态，使其比一般的体细胞染色体粗大。

■ 特点

- 巨大；
- 体联会现象决定了染色体看起来只有半数；
- 各个染色体中异染色质多的着丝粒部分相互靠拢形成染色中心；
- 横纹有深浅、数目、疏密的不同，各自对应排列，具有种的特异性。
- 若有缺失、易位、倒位、重复等现象，很容易在唾腺染色体上识别出来。

实验材料与药品

- 果蝇三龄幼虫
- 0.8%生理盐水
- 0.2mol/LHCl
- 蒸馏水
- 苯酚品红

实验方法

- 三龄幼虫的饲养；
- 剥取唾液腺 在载玻片上滴一滴生理盐水，取三龄幼虫放在其中。左手用解剖针或小镊子压住幼虫后端1/3处，右手的解剖针按住头部黑色口器向外拉，将头部从身体拉开，唾腺随之而出，丢弃杂质。
- **解离和染色**：取解剖好的唾腺于载片上，加1-2滴蒸馏水，使之成为低渗溶液，处理8-10分钟，再经0.2mol/L HCl解离1-2min后，只需要用解剖针轻轻拨动，脂肪等杂质便会和唾液腺自动分离。轻轻吸去酸液，用苯酚品红染色10分钟左右。
- 揉片及观察



幼虫培养的注意事项

- 培养基要较稀且富含营养
- 追加酵母
- 幼虫密度要小
- 低温培养



唾液腺

- 位置：在幼虫体前约1/3处。
- 形状：形如一对香蕉，上小下大。一边常附着带状的不透明的脂肪。
- 颜色：半透明如玻璃，略带白色，比周围的组织都透明。

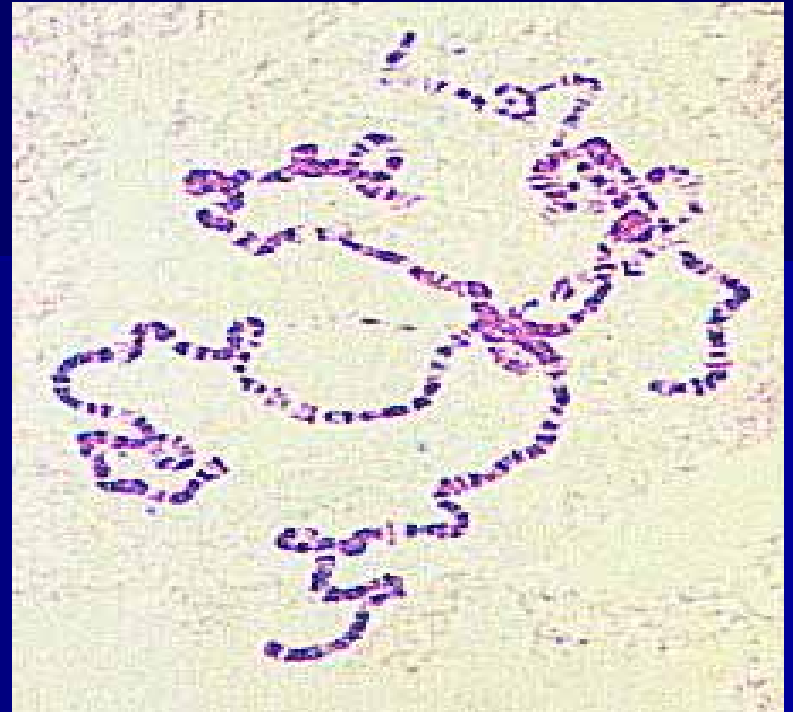




实验作业

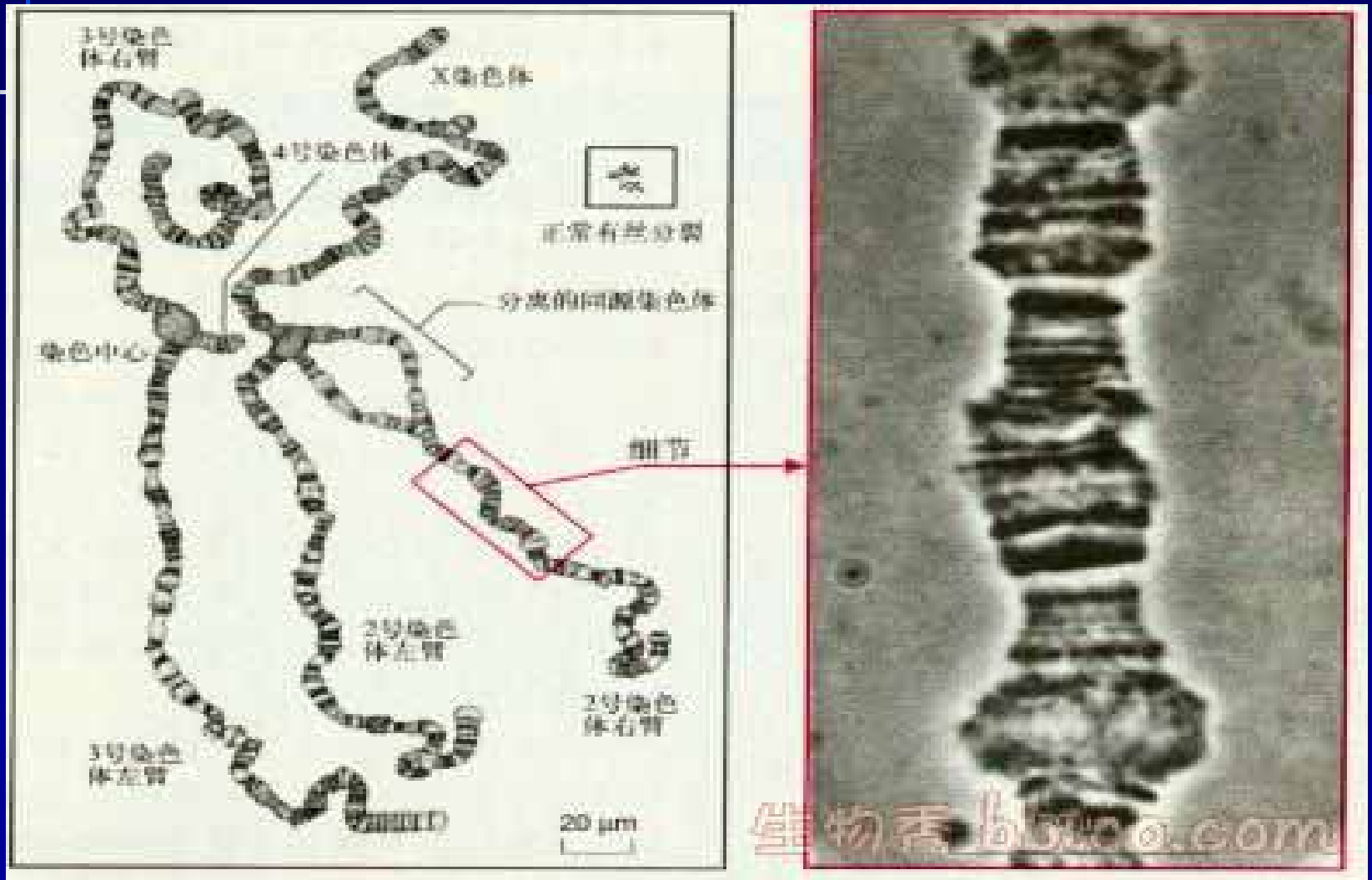
- 1、绘制你所观察到的果蝇唾液腺染色体。
- 2、剥离果蝇唾液腺时应该注意的问题？





果蝇唾腺染色体

果蝇各染色体臂的形态



各臂的末端模式图

1 = ×



2 L



2 R



3 L



3 R



4



注意事项

- 一定要加生理盐水，否则唾腺易干；
- 水不可过多，否则幼虫易漂起来并且活跃，影响剥离；
- 剥离时要去干净脂肪；
- 染色时间不可过长，否则背景着色；
- 压片前先轻敲，使之分散，压片时朝一个方向揉片。

人体X-染色体的观察

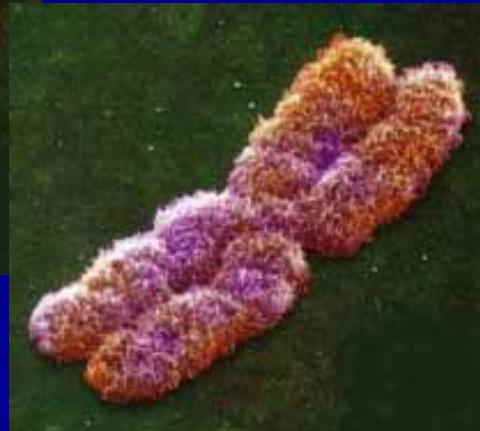
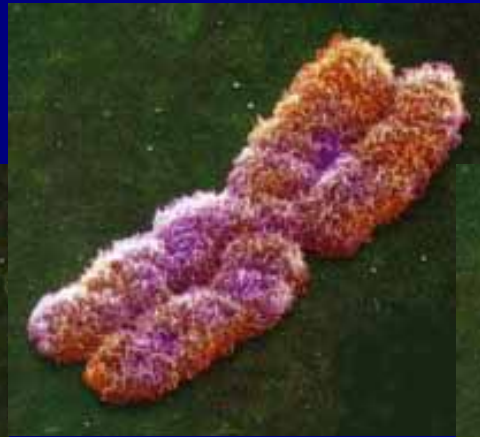
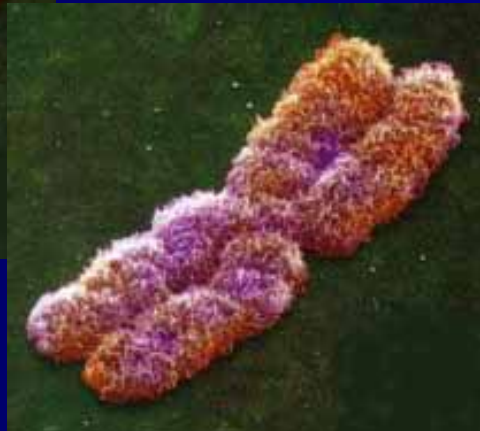
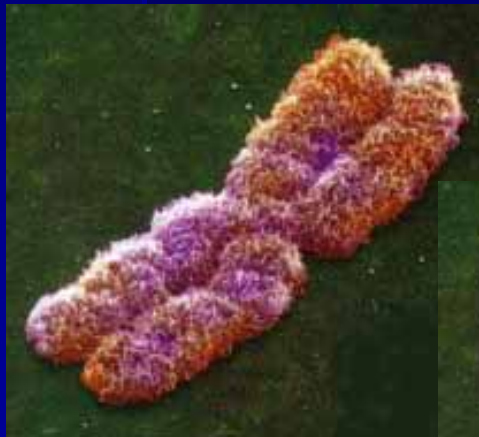
专 业：生物科学

学时数：4学时

实验九、人体X-染色体的观察

■ 实验目的：

- 1、通过实验掌握人体X-染色体制片的简易方法
- 2、学习鉴别人体X-染色体的方法
- 3、观察人体X-染色体的形态特征及存在部位



■ 实验原理：

1949年Barr等研究发现

雌猫神经细胞内——凝缩的深染小体

性染色质体(sex-chromatin body)

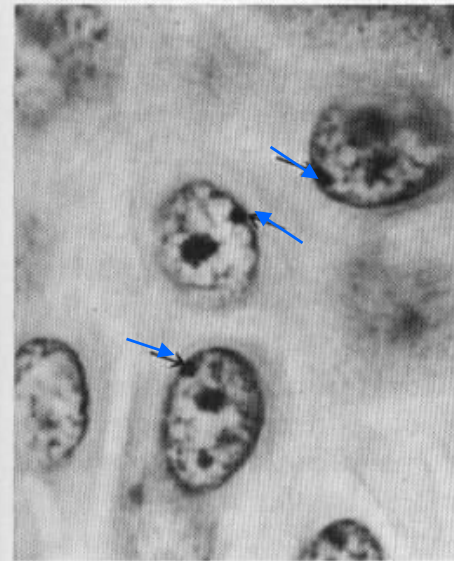
巴氏小体(Barr body)

X-染色质

进一步研究发

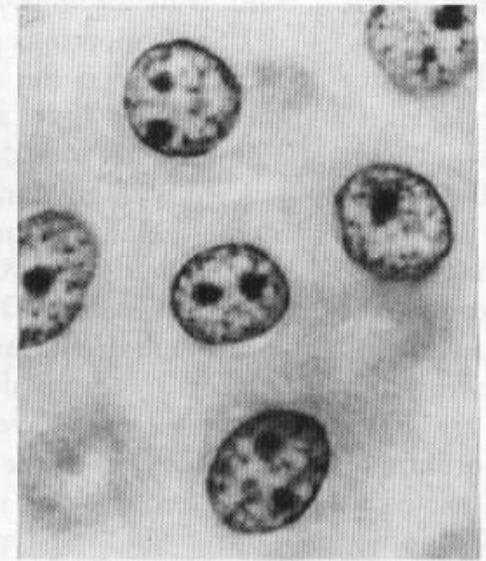
现：所有哺乳类雌
体细胞中都有一条
这种表现的X-染色
体

Barr bodies: (a) Nucleus of normal human female cells (XX), showing Barr bodies; (b) Nucleus of normal human male cells (XY), showing no Barr bodies.



a)

人类女性细胞



b)

男性细胞

雌性细胞中两条X染色体的一条在遗传上是失活的
失活的X染色体——

细胞分裂间期

细胞核中出现异固缩现象：

浓缩、染色深、无活性

细胞分裂期

可形成正常的染色体形态

复制时间比有活性的X染色体稍迟一些

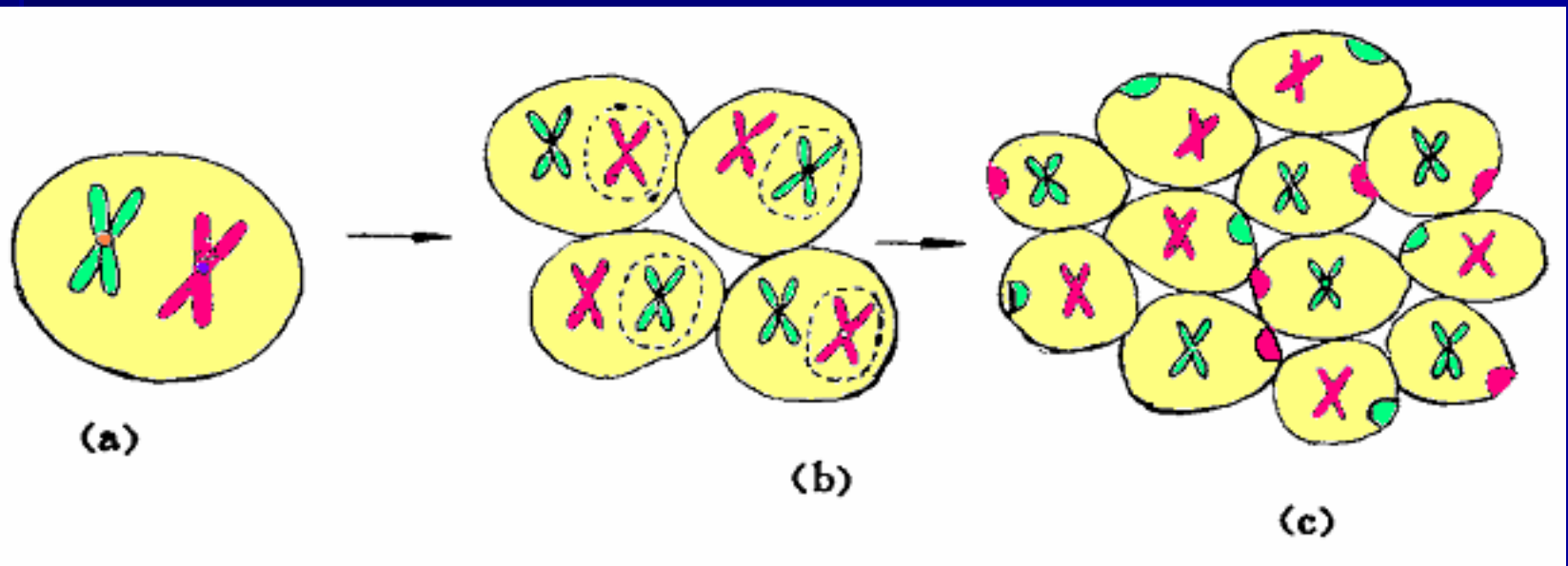
剂量补偿效应 (dosage compensation)

一个细胞中无论有几条X染色体，都只有一条
X染色体保持表达活性

1961年 M.F.Lyon提出

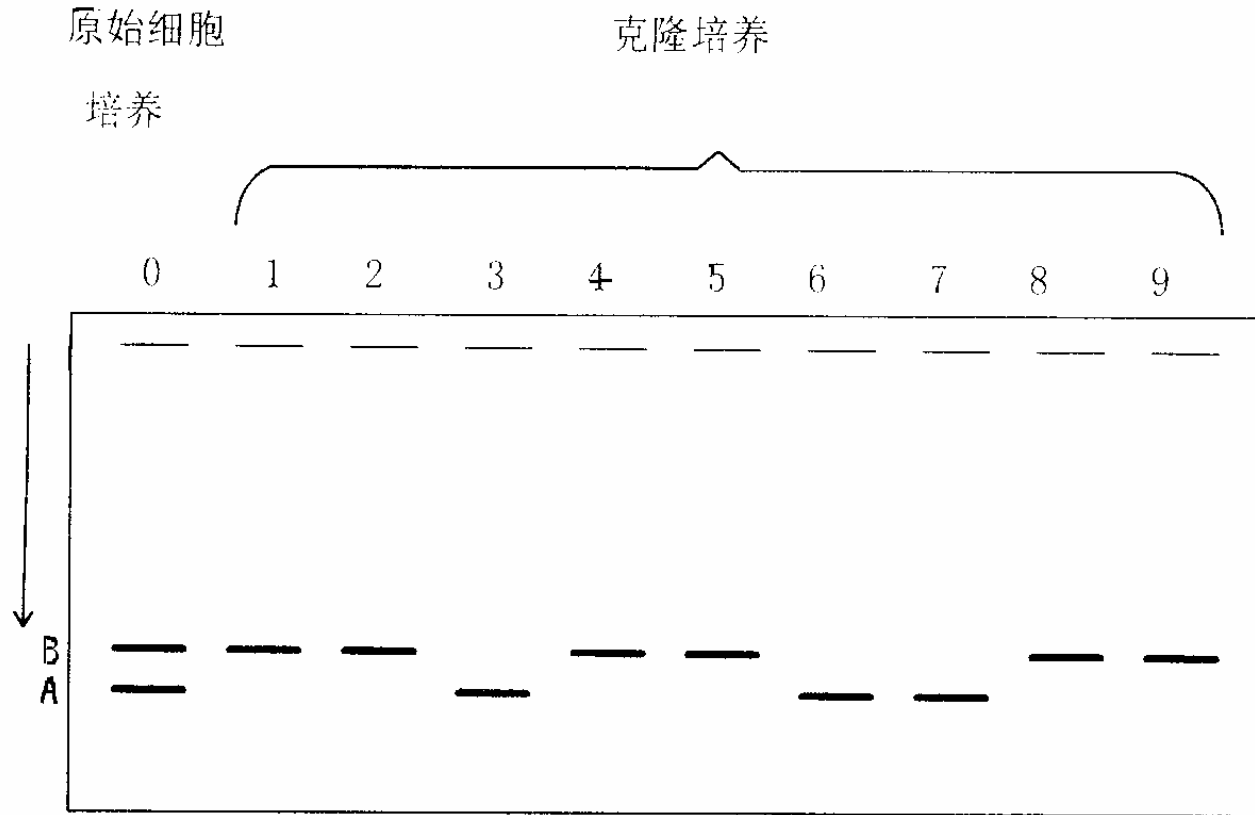
莱昂假说(Lyon hypothesis)：

- ①哺乳动物雌性细胞两条X-染色体的一个是失活的
- ②失活是随机的
- ③失活在胚胎早期发生，失活X-染色体以后分裂中不会复活的



证据：1) 玳瑁猫毛皮上的黑色和黄色斑块—— X^0X^0
2) 人类葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性测定

Gd^A/Gd^B



取自一个有 AB 表型的 G-6-PD 性质的电泳图谱

0: 克隆化之前的一份培养物, 显示 AB 带

B: 慢带仅在克隆 1、2、4、5、8、9 中显示

A: 快带在克隆 3、6、7 中显示

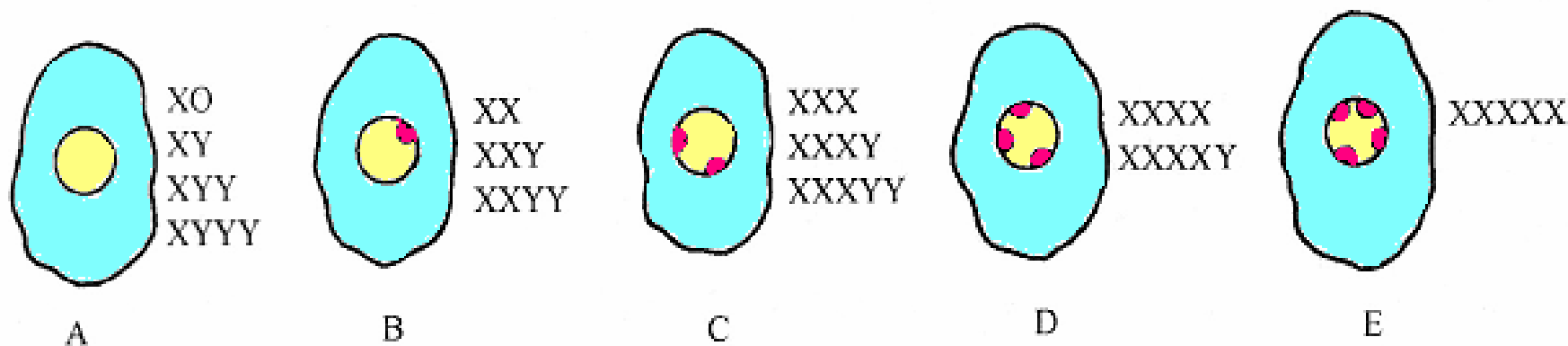
Barr小体的数目= $n-1$

如：正常女人的体细胞间期核中Barr小体为 $2-1=1$

正常男人的体细胞间期核中Barr小体为 $1-1=0$

XXX女人的体细胞间期核中Barr小体为 $3-1=2$

XXXX女人的体细胞间期核中Barr小体为 $4-1=3$



间期细胞核中巴氏小体出现情况与染色体组合的关系

A. 无巴氏小体；B. 1个巴氏小体；C. 2个巴氏小体；D. 3个巴氏小体；E. 4个巴氏小体

X-染色质的形态特征及所在部位：

X-染色质的形态表现为一结构致密的浓染小体
轮廓清楚

大小1~1.5 μm

常附着于核膜边缘或靠近内侧

形状：凸形、三角形、卵形、短棒及双球形等

正常女性口腔黏膜细胞中出现率：30 ~ 50 %

■ 实验材料、用具及试剂：

*口腔黏膜细胞

*显微镜、镊子、载玻片、盖玻片、刮片

或

牙签、吸水纸、酒精棉

*醋酸洋红、石炭酸品红、60 % 醋酸

■ 实验方法与步骤：

方法Ⅰ：

- 1、取材：刮取口腔上皮黏膜细胞→涂片
- 2、染色：醋酸洋红染色20~30min
- 3、制片、镜检：低倍→高倍

方法Ⅱ：

- 1、取材：刮取口腔上皮黏膜细胞→涂片
- 2、固定：60%醋酸固定5min
- 3、染色：石炭酸品红染色2min
- 4、制片、镜检：低倍→高倍

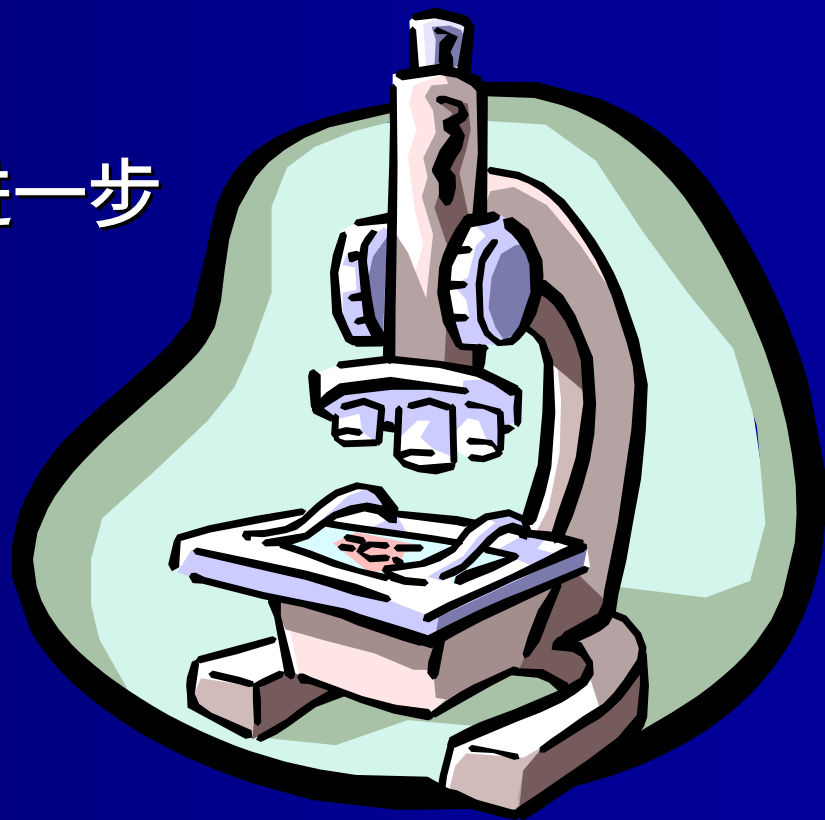
注意事项：

■ X-染色质的辨认：

低倍镜下检出典型的可数细胞的标准：

- ①核质是网状或细颗粒状分布
- ②核膜清晰、核无缺损
- ③染色适度
- ④周围无杂菌

在高倍镜或油镜下进一步
观察



■ 作业：

50

染

性)，

正

1、观察女性的**50**个可数细胞，同时观察

个男性细胞为对照，分别计算显示X-染色质细胞所占的百分比。

2、观察中选绘**4~5**个典型细胞（女性），
示明X-染色质。

3、正常男人的染色体组成是**44+XY**，而

常女人的染色体组成是**44+XX**。请按

Barr小体的数目	性别表现	性染色体的组成情况	体细胞中的染色体总数
0	正常男人		
0	有缺陷的女人		
1	有缺陷的男人		
1	正常女人		
2	有缺陷的男人		
2	有缺陷的女人		
3	有缺陷的男人		
3	有缺陷的女人		