

《遗传学实验》教学安排及考评

| | |
|-----|----------------|
| 实验一 | 果蝇遗传综合实验 |
| 实验二 | 细胞分裂综合实验 |
| 实验三 | DNA指纹的遗传分析 |
| 实验四 | 小鼠骨髓细胞染色体制片与观察 |

- 规范操作，时刻注意安全。
- 成绩考核：实验态度和表现占**50%**，实验报告占**50%**。

实验一、果蝇综合实验

为什么要研究果蝇？



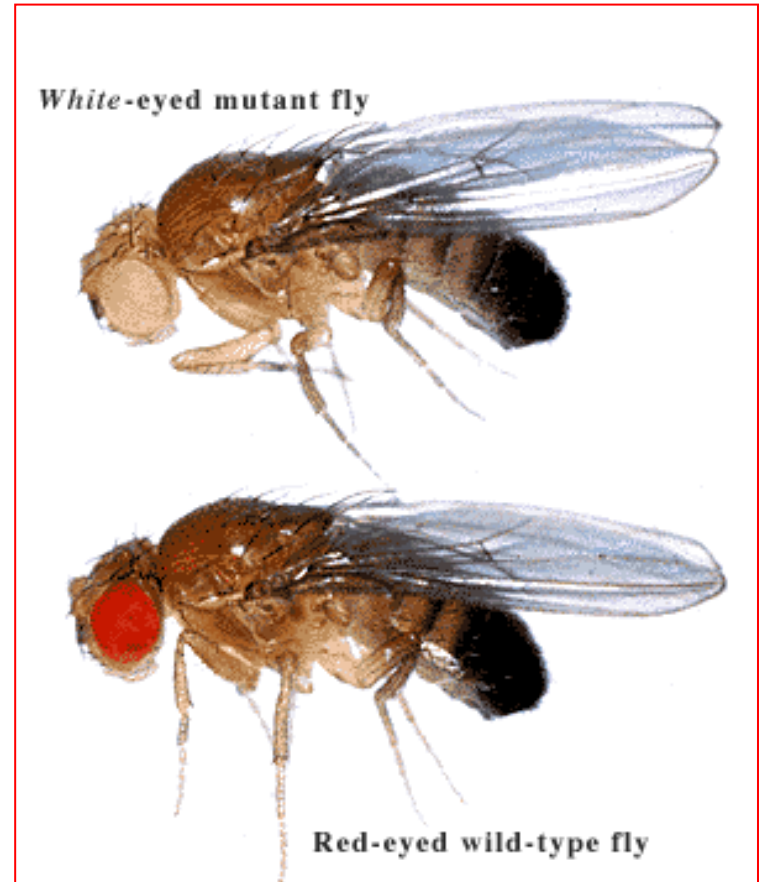
饶毅：果蝇研究为何长盛不衰

<http://scitech.people.com.cn/n/2013/0513/c1007-21453747.html>

- 科学家们因研究果蝇而获1933、1946、1995、2011和2017年五次诺贝尔奖了。
- 果蝇是十分重要的模式生物。遗传学研究、发育学研究、各类神经疾病的研究、帕金森氏病、老年痴呆症、药物成瘾和酒精中毒、衰老与长寿、学习记忆与某些认知行为的研究等都有果蝇的“身影”。

《摩尔根与遗传学：研究与教育》

1. 果蝇是重要的模式生物，在生物学研究中占有重要地位



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1933

Thomas H. Morgan。相互成就。



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1946

Hermann J. Muller

Share this:     6

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1946



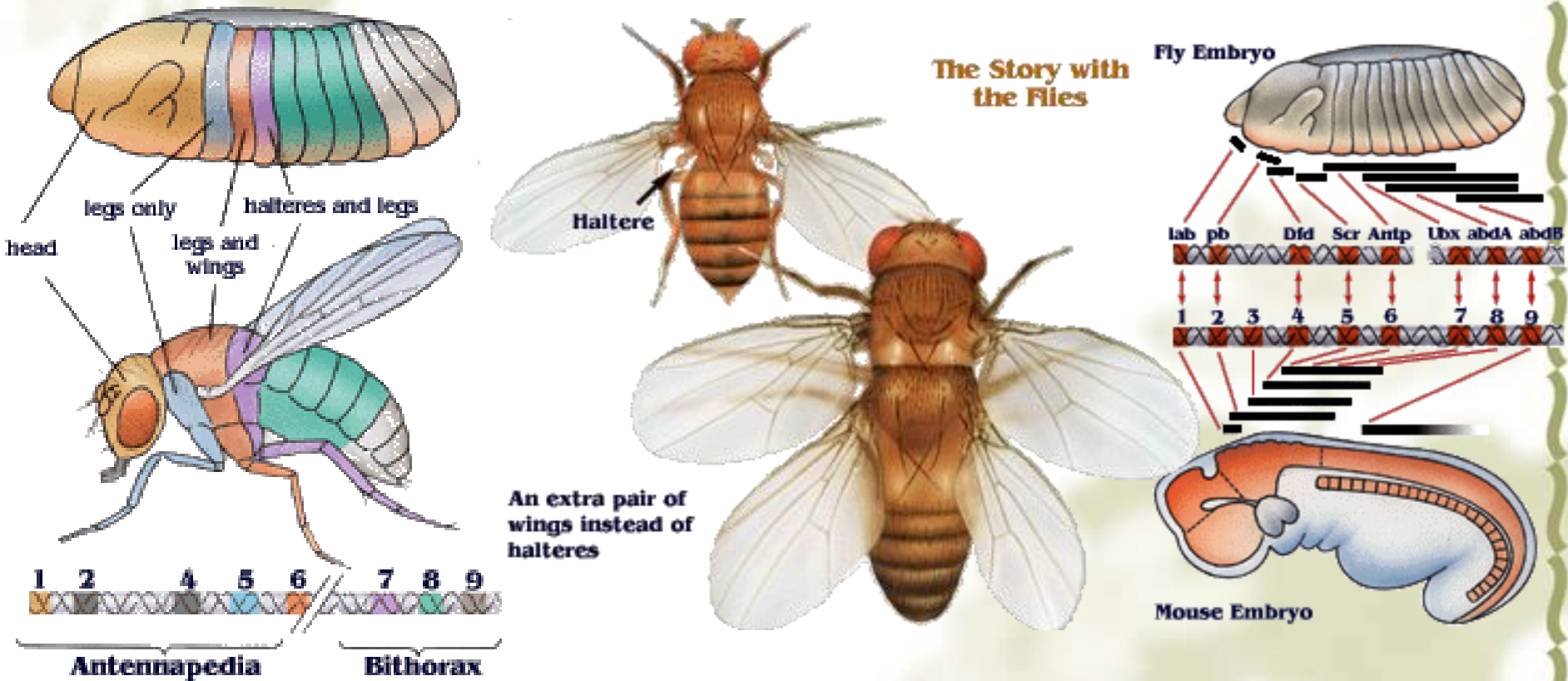
Hermann Joseph Muller

Prize share: 1/1

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1946 was awarded to Hermann J. Muller *"for the discovery of the production of mutations by means of X-ray irradiation"*.

“果蝇的突变大师”、摩尔根的学生缪勒 (H. J. Muller) 证明X射线能使果蝇的突变率提高150倍

The Nobel Prize in Physiology or Medicine **1995** was awarded jointly to Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard and Eric F. Wieschaus *"for their discoveries concerning the genetic control of early embryonic development"*.



同源盒基因 (homeobox gene)

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2011

Nobel Prize 2011: Flies and mice take a bow!

Drosophila melanogaster **lacks the adaptive immune system** that is found in vertebrates, and is therefore an ideal species in which to study the **innate immune system**.

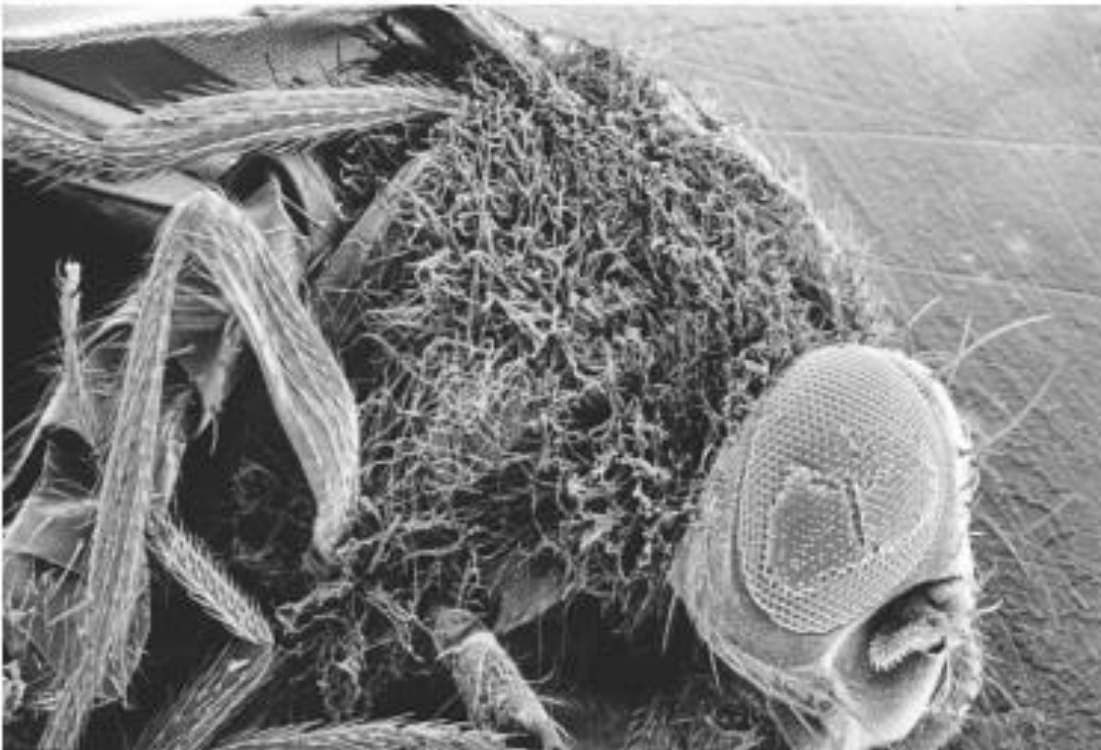


Figure 1. Germinating hyphae of *A. fumigatus* on a dead fruit fly illustrating the inability of *Toll*-deficient fruit flies to defend themselves against fungal infections (from ref. 2). Reproduced with permission from Cell Press.

2017诺贝尔“生理学或医学奖”-生物钟
for their discoveries of molecular
mechanisms controlling the circadian rhythm



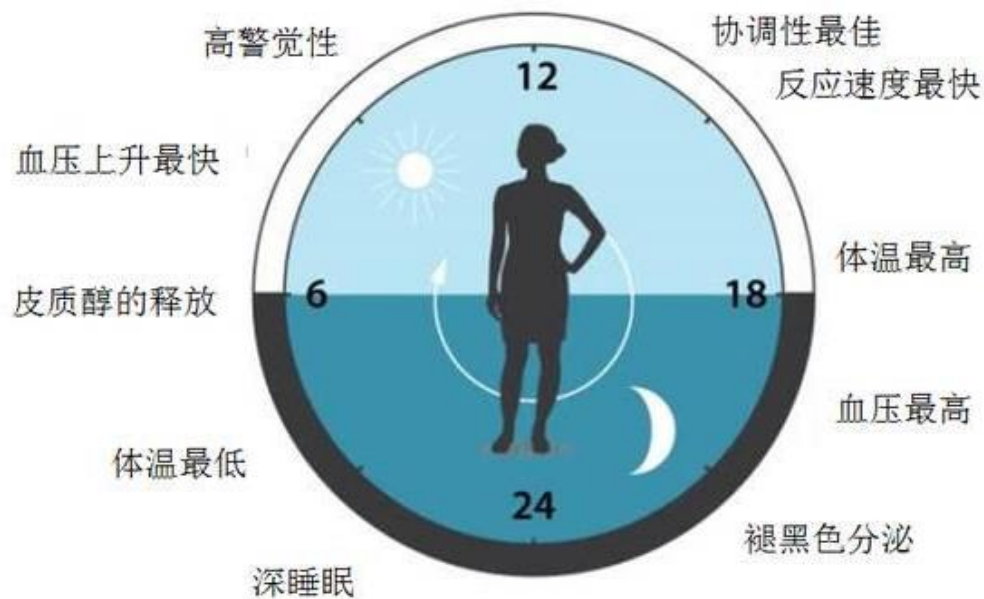
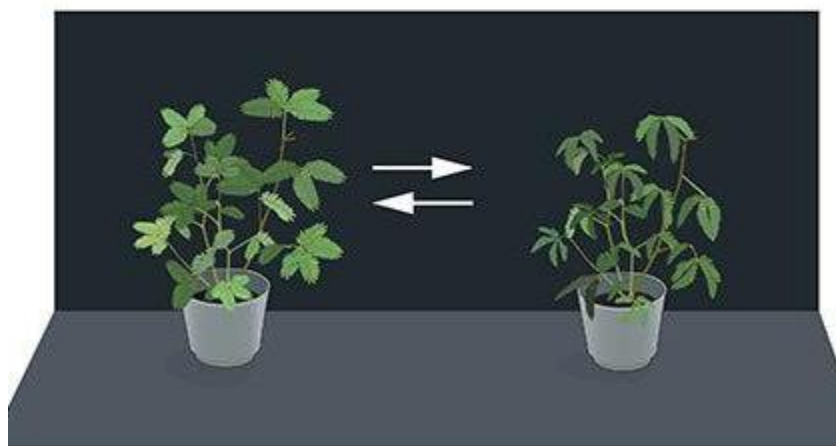
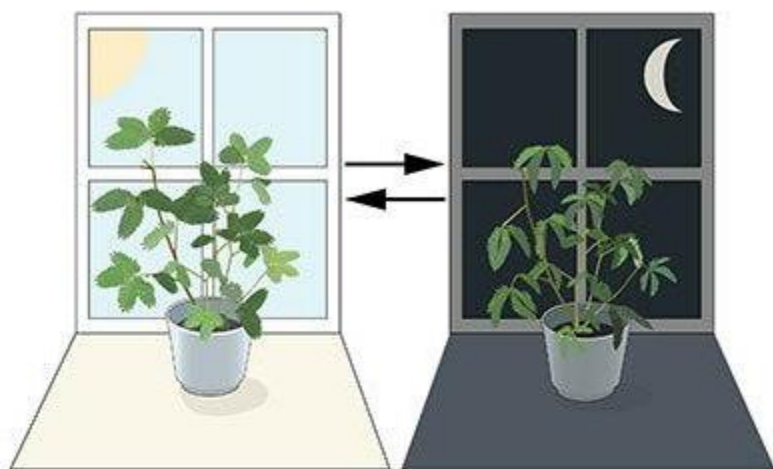
Jeffrey C. Hall

Michael Rosbash

Michael W. Young

学生劳夫·格林斯潘
(Ralph Greenspan)

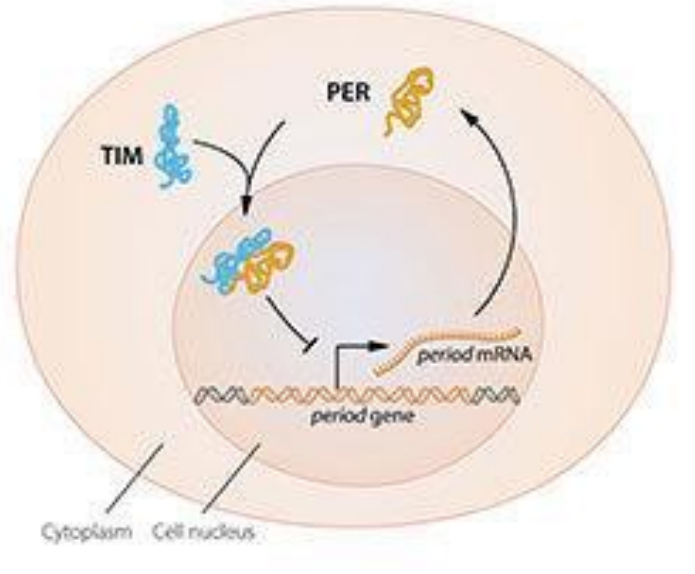
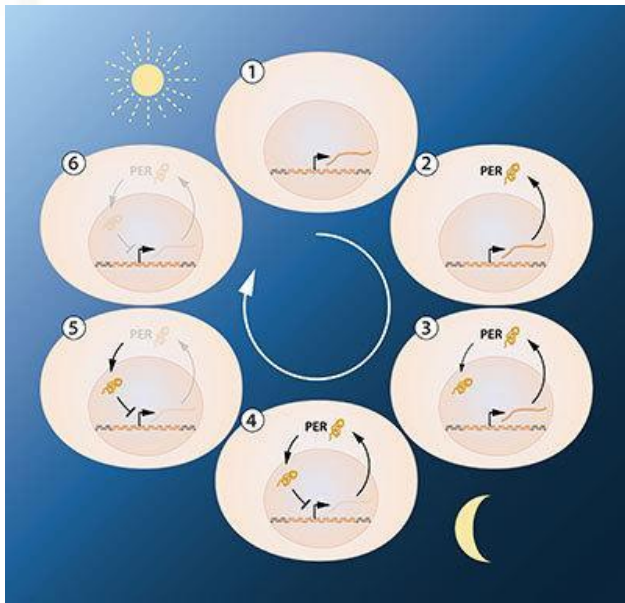
如何把自己的导师Hall“捧”成诺奖得主



“昼夜节律是非常基础而且意义重大的研究成果，与睡眠紊乱、自闭症、代谢疾病、肿瘤等多种疾病都密切相关，虽然目前还没有直接的靶向药物。”

果蝇又立功了

- Seymour Benzer和学生Ronald Konopka于20世纪70年代，在果蝇中提出period（简称per）基因，开创生物钟研究（可惜2007年和2015年相继去世）。
- 1984年，杰弗里·哈尔和迈克尔·罗斯巴什成功克隆出period基因（迈克尔·杨），发现了由period编码的PER蛋白质。
- 1994年迈克尔·扬发现了第二个生物钟基因timeless，编码TIM蛋白质。



https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2017/press.html

勇气和运气：生物钟的分子研究 | 饶毅深度解读2017年诺奖

《BBC：生物钟的秘密》：<https://url.cn/khtDGZsl?sf=uri>（腾讯视频）

《生物钟是怎么被发现的？》，<https://url.cn/6b3OOio9?sf=uri>（腾讯视频）

<http://flybase.org/>

New Release: FB2016_05, released October 18th, 2016

FB2016_05, released October 18, 2016



A Database of *Drosophila* Genes & Genomes

Home Tools Downloads Links Community Species About Help Archives

| | | | | | | |
|---|-------------|--|--------------------------|---|-----------------|--|
| D.melanogaster D.virilis A.mellifera BLAST | GBrowse | Antibodies Databases Interactions RNAi CRISPR Bioinformatics Orthologs cDNAs Stocks Resources | ON OFF RNA-Seq | GO PHENOTYPE ANATOMY DISEASE MORE Vocabularies | ImageBrowse | FIELD DATA XML sequence Batch Download |
|---|-------------|--|--------------------------|---|-----------------|--|



FAST-
TRACK
YOUR
PAPER



NEWS



FLY BOARD



COMMUNITY



MEETINGS



COURSES



COMMUNITY
ADVOCACY

QuickSearch

| | | | | |
|---|------------|-----------------|-------------|------------|
| Human Disease | Expression | GO | Phenotype | References |
| Simple | Orthologs | Protein Domains | Gene Groups | Data Class |
| <p>Species: <input type="checkbox"/> include non-Dmel species</p> <p>Enter text: <input type="text"/></p> <p><input type="button" value="Search"/></p> <p>Note: Wild cards (*) can be added to your search term</p> | | | | |

Commentary [See all commentaries](#)

Gene Snapshots

| General Information | |
|---------------------|---|
| Symbol | DmelEgfr |
| Name | Epidermal growth factor receptor |
| Feature type | protein_coding_gene |
| Gene Model Status | Current |
| Also Known As | DER, tgp, ft, Ets, dEGFR, EGF-c, c-erbB |
| Gene Snapshot | Epidermal growth factor receptor (Egfr) is the TGF β family (gfr, spi, vn, and Kin), which ut regulation, cell survival and developmental p |

(More)

Jul 25, 2016. In a new project led by the UK Medical Research Council-funded FlyBase members, FlyBase is providing 'Gene Snapshots' within the *D. melanogaster* gene reports. These are designed to provide a quick overview of the function of each gene's products. We solicited draft summaries from members of the Drosophila community that have published on each gene, and FlyBase curators then revised them for consistency. We are very grateful to all those who responded to our requests, listed [here](#)....

实验内容

- ❖ 1、黑腹果蝇的雌雄鉴别及突变体性状的观察 (课堂做)
- ❖ 2、果蝇唾液腺染色体制片与观察 (课堂做)
- ❖ 3、果蝇杂交实验 (课余做)

实验1、黑腹果蝇的雌雄鉴别及突变体性状的观察

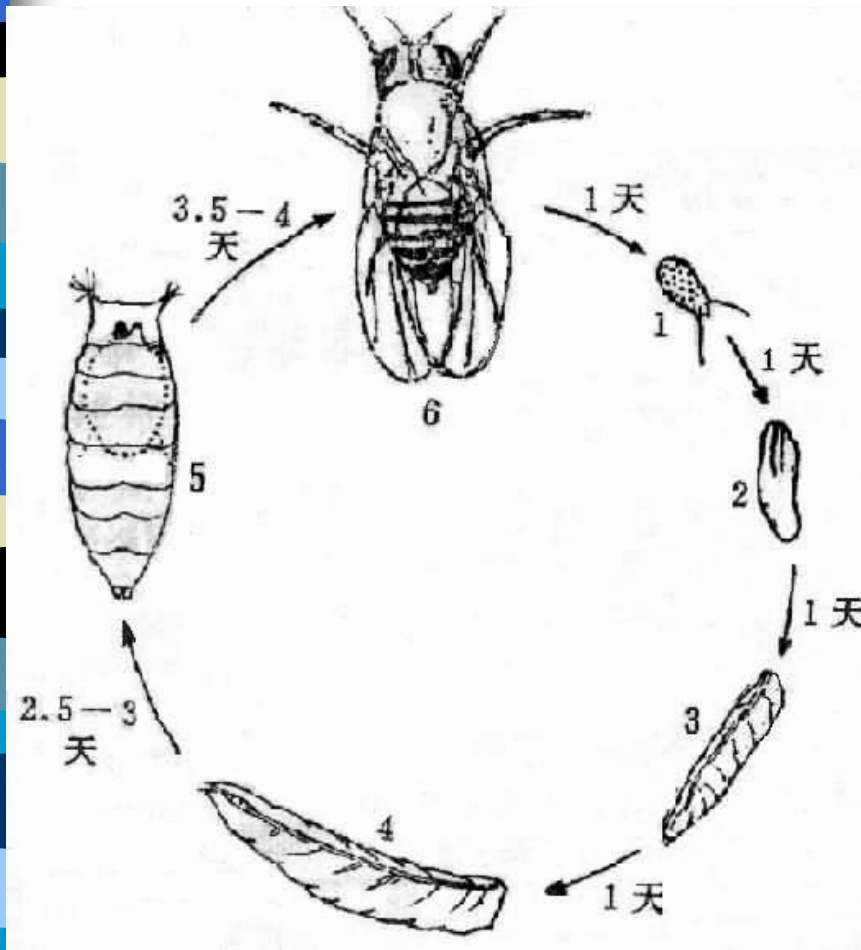


图1 果蝇的生活史

1.卵 2.一龄幼虫 3. 二龄幼虫
4.三龄幼虫 5.蛹 6.成虫

最适温度: **20-25°C**

(30°C以上不育和死亡)

生活史周期:

12-15 day (20-25°C)

10 day (26°C)

57 day (10°C, 生活力降低)

羽化后:

8-12h 交配

两天后产卵

成虫存活: **15 day** (25°C)

果蝇麻醉



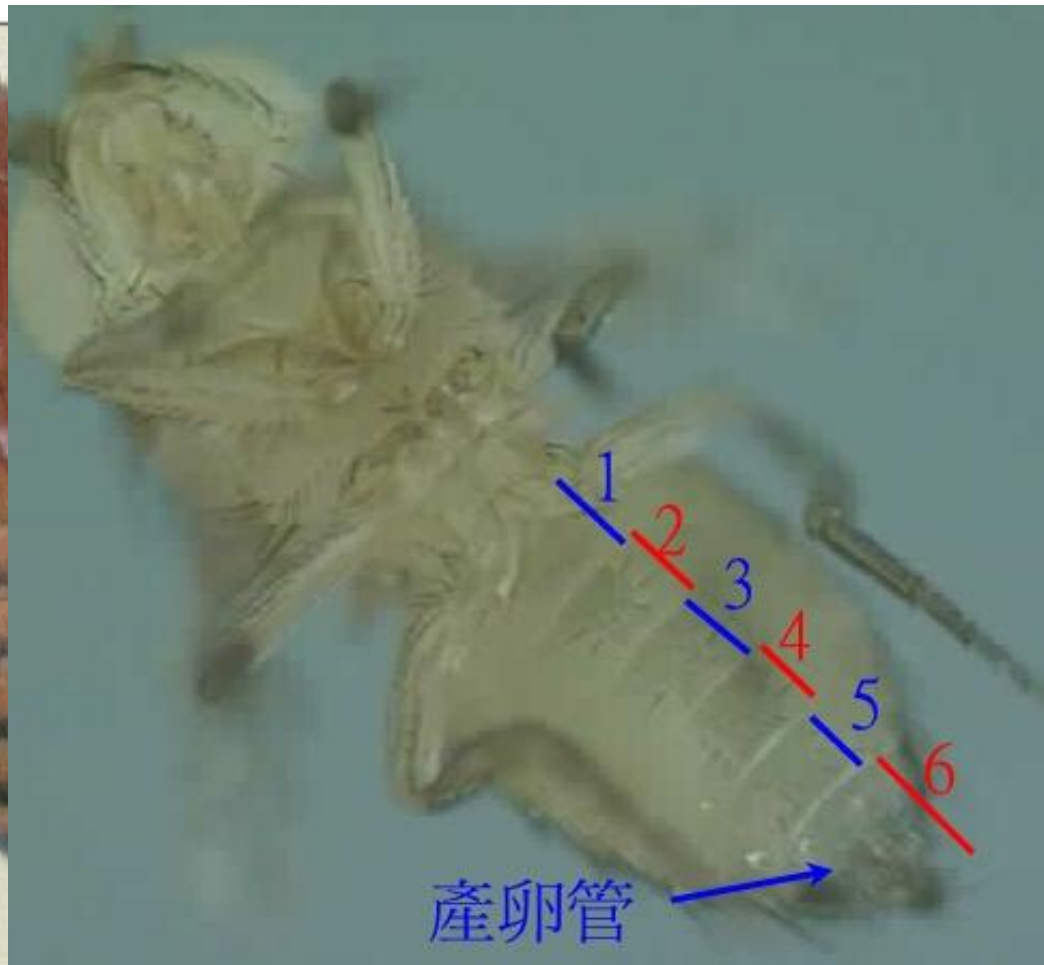
- 二氧化碳或乙醚
- 注意不能麻醉过度，如果果蝇的翅膀与身体呈 45° 角翘起，表明麻醉过度，不能复苏而死亡。

果蝇成虫的形态构造

头部：有一对复眼和一对触角。

胸部：有三对足，一对翅和一对平衡棒。

腹部：背面有黑色环纹，腹面有腹片，外生殖器在腹部末端，全身有许多体毛和刚毛。



果蝇雌雄外形判别（体形大小）



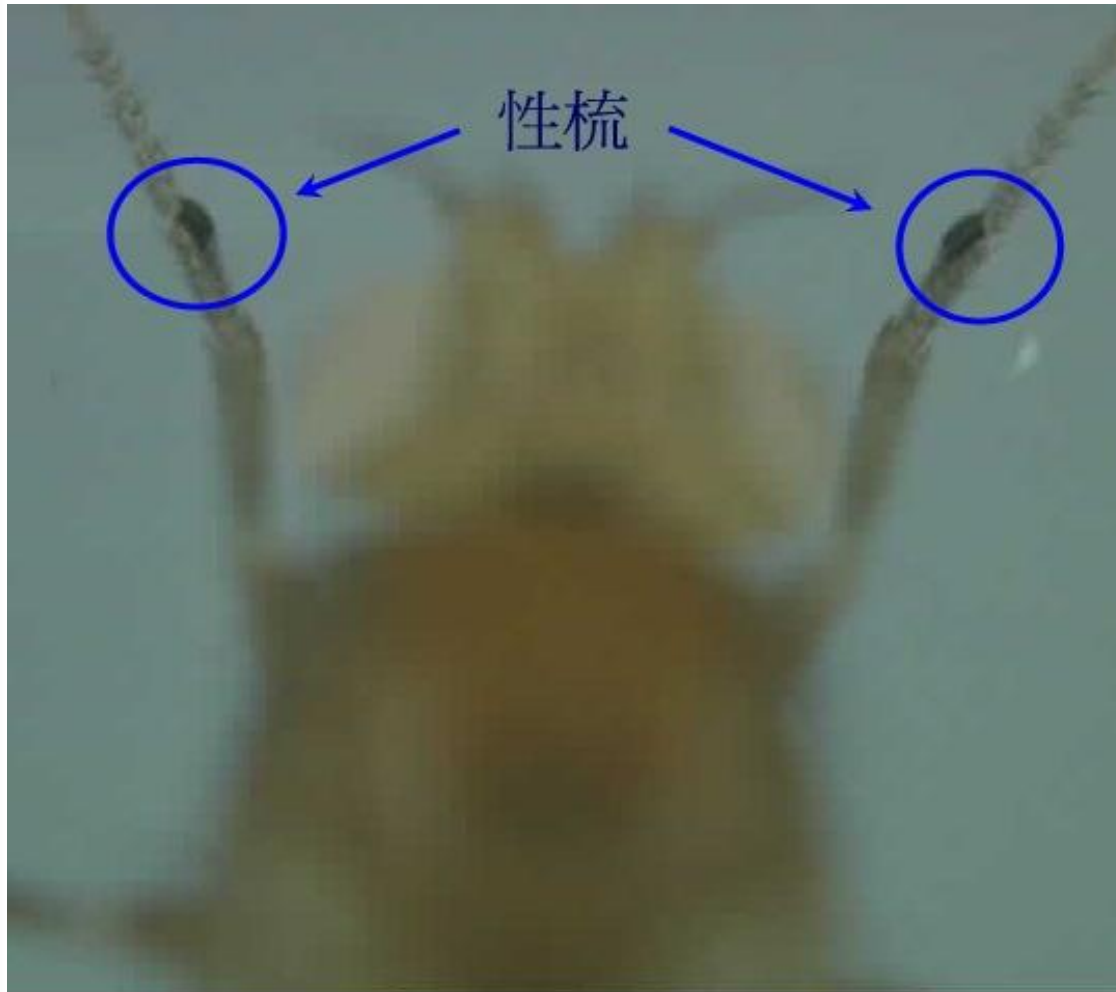
雌

雄

(四) 果蝇的雌雄鉴定

| | ♀ | ♂ |
|----|--------------------|------------------------------------|
| 大小 | 大 | 小 |
| 形态 | 腹部末端稍尖 | 腹部末端呈钝圆形 |
| 颜色 | 腹部末端色浅，腹部背面呈5条黑色条纹 | 腹部末端黑色，腹背3条条纹，最后一条极宽，并延伸到腹面，呈一明显黑斑 |
| 性梳 | 无 | 第一对足跗节基部有性梳 |
| 腹部 | 6个腹片 | 4个腹片 |

雄果蝇在第一对足的跗节基部具有性梳



一些常见的突变性状



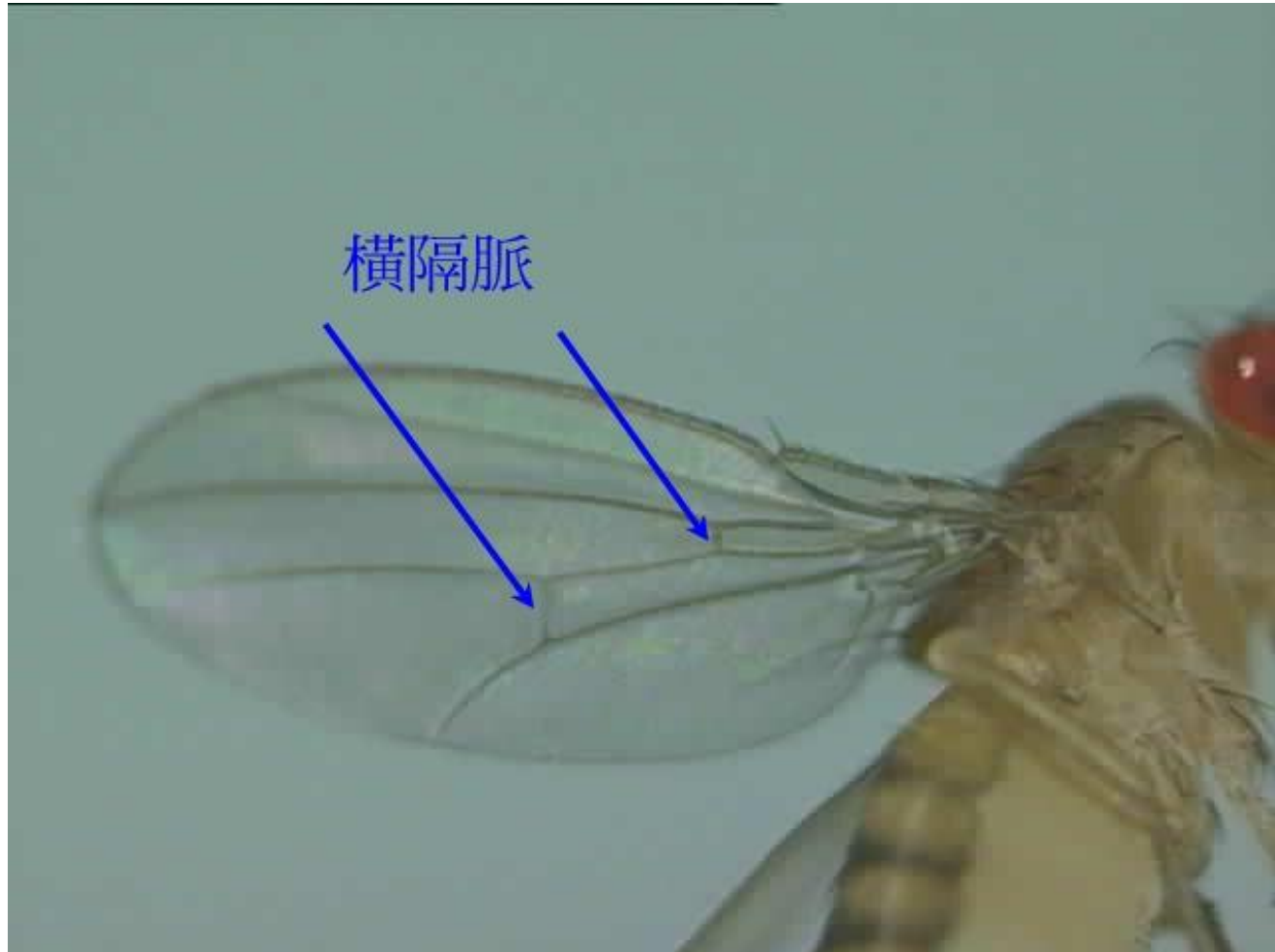
| 突变性状 | 基因符号 | 染色体号 | 性状特征 |
|------|------|------|----------------|
| 棒眼 | B | 1 | 复眼呈狭窄垂直棒形，小眼数少 |
| 褐眼 | bw | 2 | 眼呈褐色 |
| 卷曲翅 | Cy | 2 | 翅膀向上卷曲，纯合致死 |
| 小翅 | m | 1 | 翅膀小，长度不超过身体 |
| 白眼 | w | 1 | 复眼白色 |
| 黑檀体 | e | 3 | 身体呈乌木色，黑亮 |
| 黑体 | b | 2 | 体黑色，比黑檀体深 |
| 黄体 | y | 1 | 全身呈浅橙黄色 |
| 残翅 | vg | 2 | 翅明显退化，部分残留，不能飞 |
| 叉毛 | f | 1 | 毛和刚毛分叉且弯曲 |
| 猩红眼 | st | 3 | 复眼呈明亮猩红色 |
| 墨色眼 | se | 3 | 羽化时眼呈褐色并深化成墨色 |

野生型：

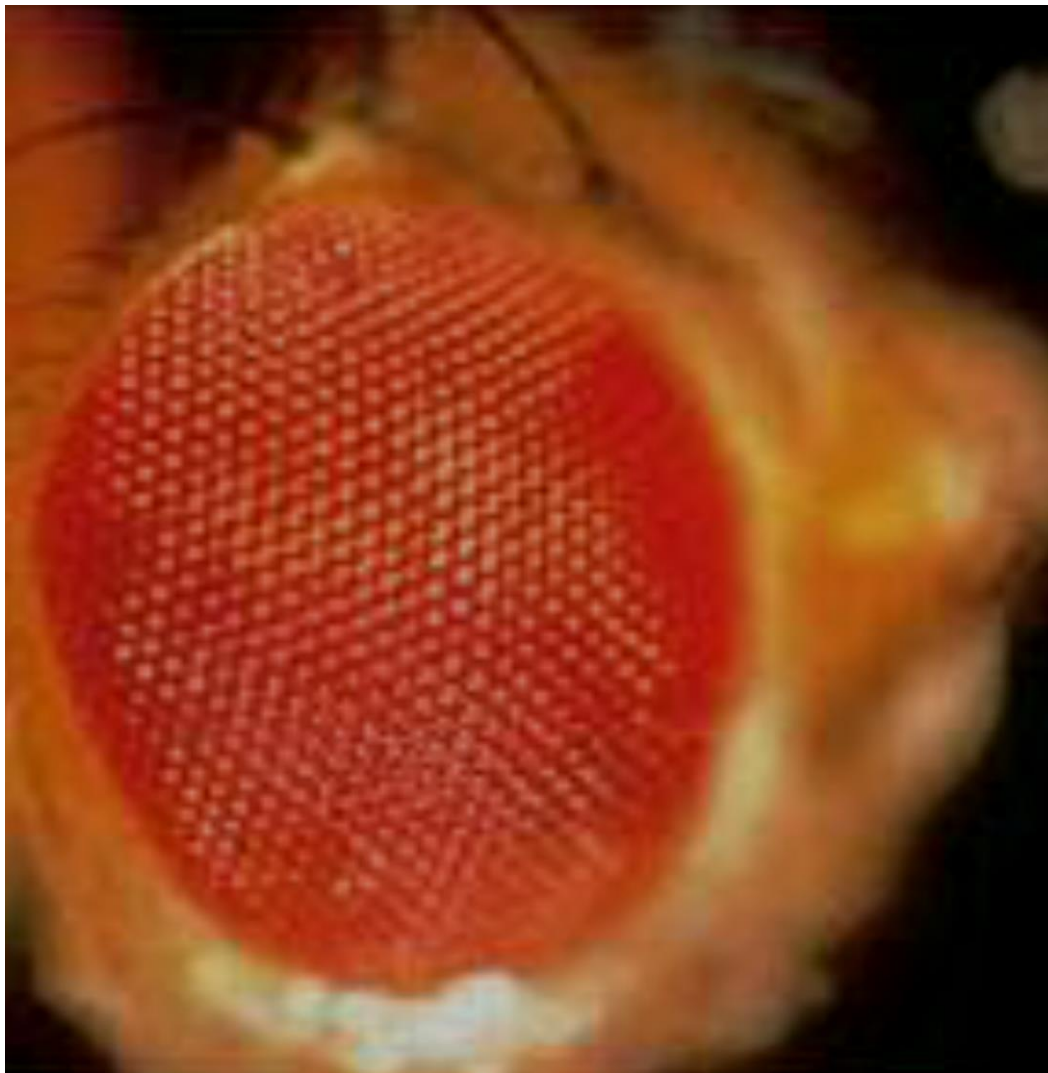
体色灰；翅膀呈圆卵型，静止时平放交叉重叠，长度约为腹部长度的两倍；



野生型：翅膀有横隔脉



野生型：眼睛颜色为砖红色，饱满圆形



野生型：刚毛——头胸部以及复眼的周围具有平直，先端略弯的长型粗黑硬毛



突变型：白眼（w）



突变型：小翅（m）



突变型：卷翅 (Cy)



突变型：残翅（vg）



果蝇的饲养

果蝇以**酵母菌**为食，常采用发酵的培养基繁殖酵母菌来饲养果蝇。培养基常用玉米粉、米粉或香蕉配制。

果蝇培养基成份（100ml）

| | |
|-----|-------|
| 水 | 80ml |
| 玉米粉 | 8.25g |
| 糖 | 6.2g |
| 琼脂 | 0.62g |
| 丙酸 | 0.5ml |
| 酵母 | 少许 |



六、作业：

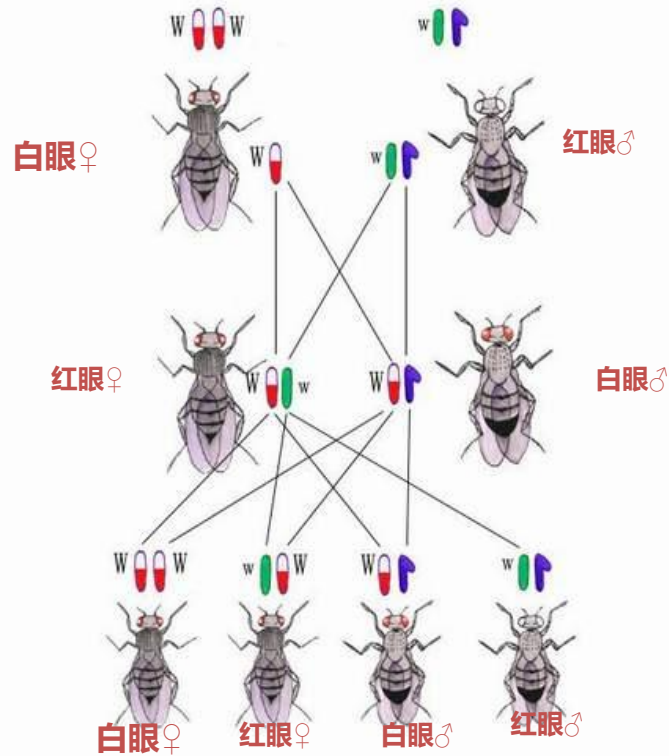
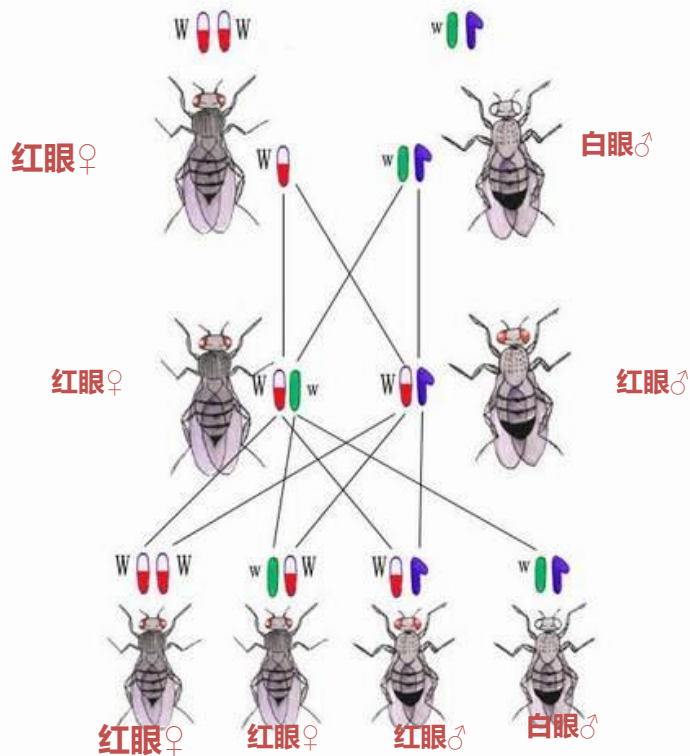
- 1.观察果蝇成体的外部性状，包括体色、翅形、眼形和眼色、刚毛等。比较同一品种雌雄果蝇成体的外形区别（画图并标注特征）。
- 2.为什么要研究果蝇，有何重要发现，对你有何启发？
- 3.科学发现的动力是什么？好奇心 or 功利？

实验3、果蝇杂交实验

2位同学一组，互相协作，共同完成以上实验。

正交组合

反交组合



果蝇杂交实验成功的关键是什么？

果蝇杂交实验成功的关键是什么？

1. 挑处女蝇，每次只挑8h（严格点3或4h）内羽化成虫。

2. 亲本3 - 5对每管，防损伤和死亡。



1352928

冯羽

实验步骤

1. 收集**处女蝇**：一般选择在早上8点钟把亲本(种蝇)全部活的成虫转出处死(一个都不能剩)，把培养瓶里**8h内(绝对不能超出12h)**羽化的成虫转出，并按♀、♂分开培养，所得的♀蝇即为处女蝇。(刚羽化交配前的处女蝇腹部有明显黑点即为胎粪)
2. 按各杂交组合需选的果蝇品系，每瓶放入**3 - 5对**，塞好瓶塞，**做好标记**，置于25℃恒温培养箱中培养(防止粘死，要正反交)。

3. 过6 - 7天，可见到F₁幼虫出现，即**除去亲本**成虫（成虫一定要除干净）。

4. 再过4 - 5天，观察各杂交组合F₁**成蝇**的性状，观察时要注意所有用具都要消毒（用于培养F₂），并做好记录。

5. 分别把各杂交组合F₁果蝇**适度麻醉**，然后选3 - 5对移入新的培养基中继续培养（**无需挑处女蝇**）。

实验结果的观察和统计

根据实际观察数计算理论值。

计算 χ^2 值，结果必须与显著平准作比较

如： $p > 0.05$ 无显著差异

$p \leq 0.05$ 差异显著

$p \leq 0.01$ 差异极显著

样本自由度为 $n-1$ 。

作业

根据实验经过和结果（自己组的实验数据及全班的实验数据分别做卡方测验）写1份实验报告，要求结合遗传学有关的内容进行分析和讨论。

实验2、果蝇唾液腺染色体制片与观察



实验成功的关键

1.挑**已挂壁了**
的果蝇三龄幼
虫（白色的又
肥又大的）。

2.**解剖出唾液**
腺。

实验原理

果蝇唾液腺染色体特点：

- 巨大（比普通染色体大100-150倍，宽约 $5\mu\text{m}$ ，长约 $400\mu\text{m}$ ），称多线染色体（polytene chromosome）或巨大染色体；

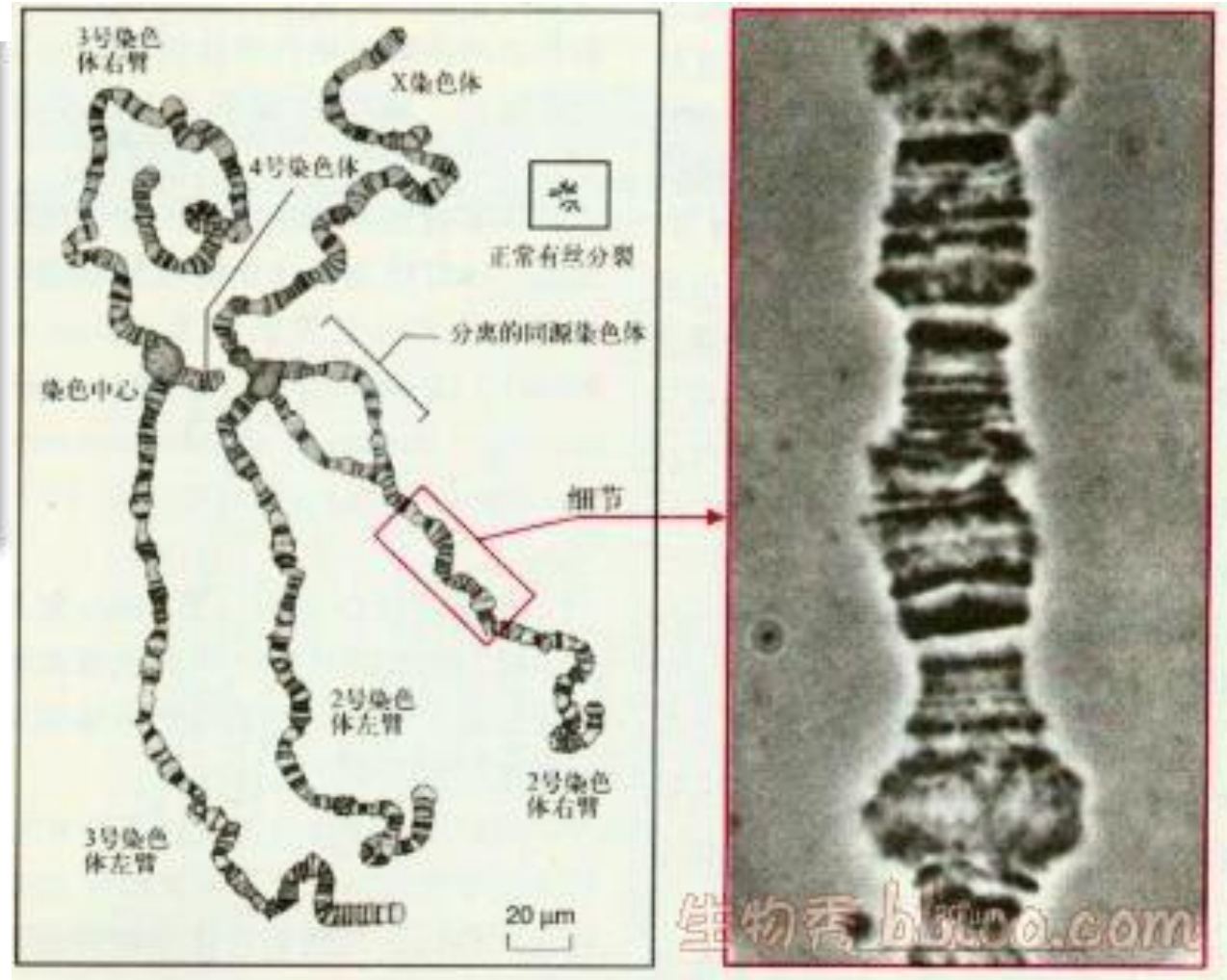
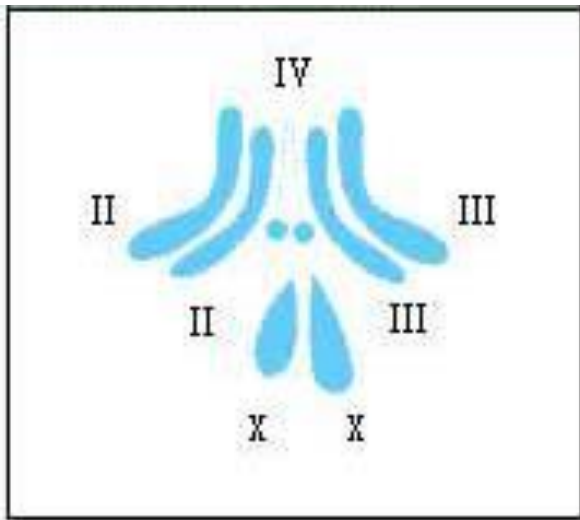
正常：间期DNA复制 → 两条染色单体 → 着丝点裂开 → 子染色体 → 核分裂 → 胞质分裂

果蝇唾液腺：DNA不断自我复制而着丝点不裂开，唾液腺细胞也不分裂。

- 多线染色体多发生在双翅目昆虫（果蝇、摇蚊等）幼虫期的消化管细胞中（从唾液腺到直肠）。

果蝇染色体模式核型

果蝇唾腺染色体图



- 同源染色体紧密配对：即体细胞联会

- 形成染色中心，从染色中心处伸出5条长臂，1条短臂；（Y染色体不与X染色体联会其着丝粒及其附近的异染色质参与染色中心的形成，并不可见）
- 染色后，出现一系列宽窄不同、染色深浅不一的横纹；

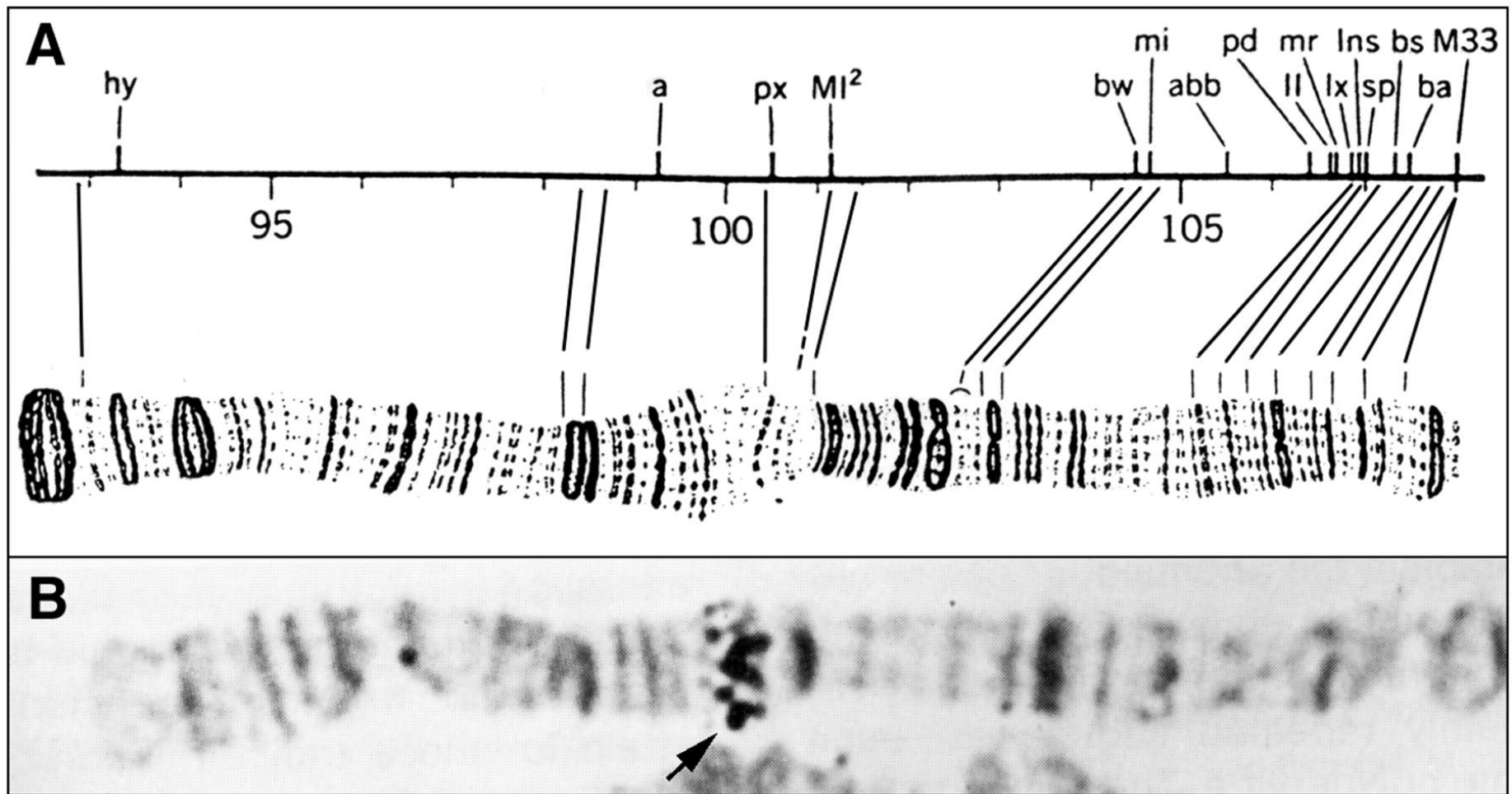


Figure 2. (A) Corresponding points in the polytene chromosome map and the linkage map for the tip of the second chromosome [modified from (35)]. The region shown covers about 5 Mb of DNA. (B) In situ hybridization (36) of a cloned segment of *Drosophila* DNA to polytene chromosomes, demonstrating the first mapping of a cloned gene to its chromosomal location [modified from (13)].

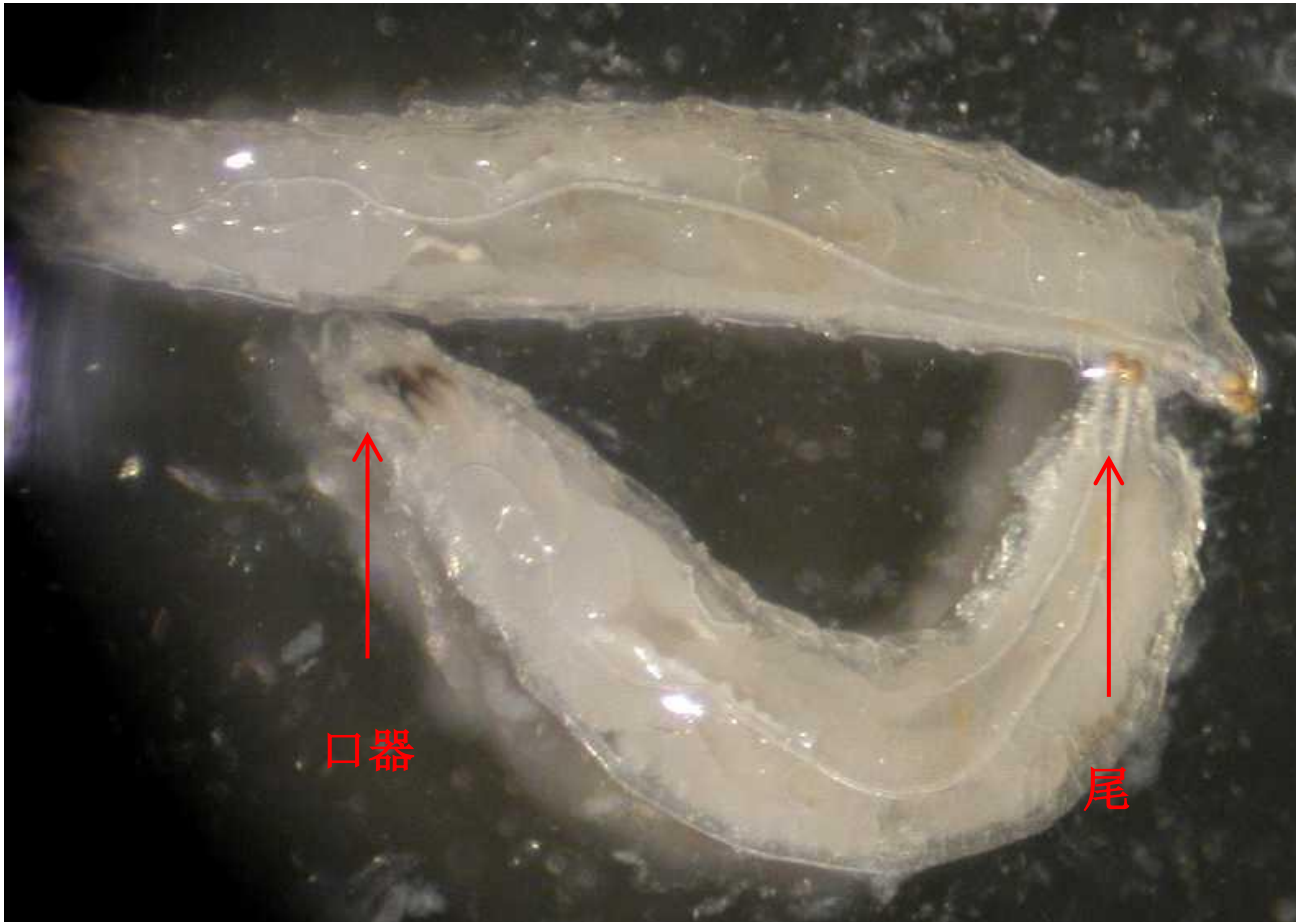
A Brief History of *Drosophila*'s Contributions to Genome Research. *Science*, 2000(287), 5461:2216 - 2218

实验步骤

- 1、选取三龄幼虫；
- 2、唾液腺剖取；
- 3、唾液腺解离（HCl室温一般10-15min较好）；
- 4、染色15min左右；
- 5、压片；
- 6、观察；

1、选取幼虫：

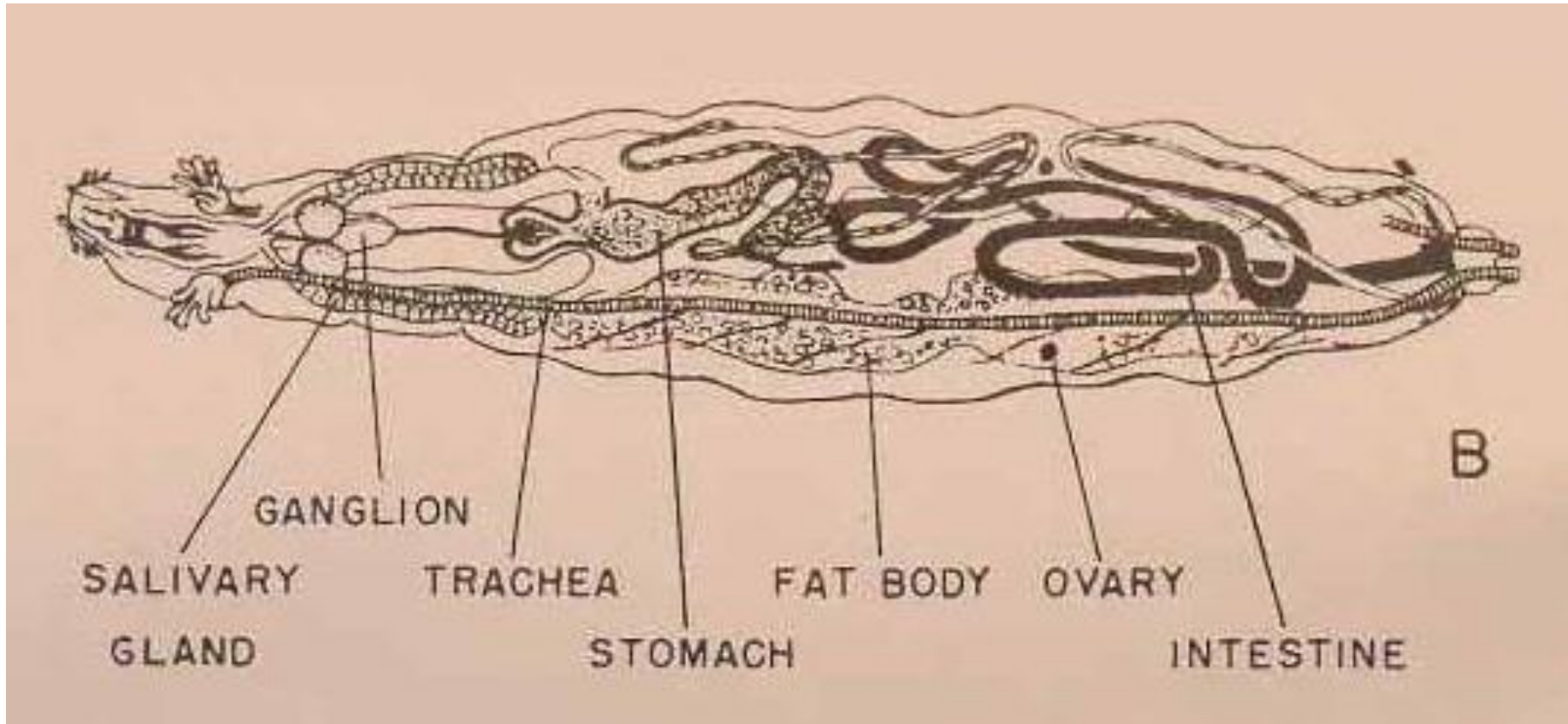
- 取**三龄幼虫**，置于载玻片上，并滴加**一滴**生理盐水，观察幼虫结构：体长可达4-5mm，具一钝尾和**带黑色口器**的尖头端。



2、唾液腺剖取：

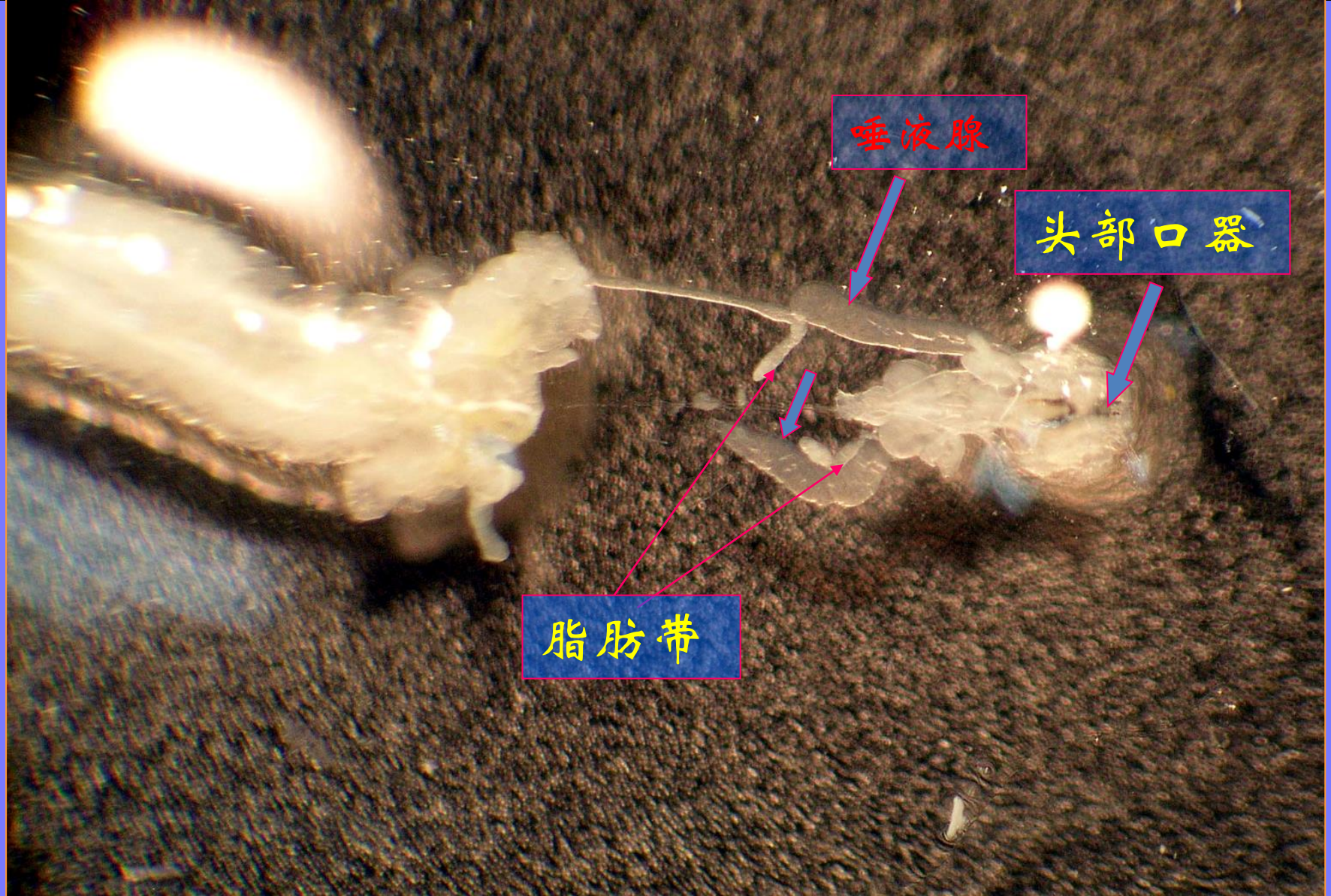
■一对唾液腺连在口器后面食道两侧。

■把载玻片放于解剖镜载物台上，左手持解剖针按住幼虫中部固定幼虫，右手持另一解剖针按住幼虫头部口器处向右拉，把虫体前端扯断，唾液腺随之露出。



Motic体视镜透射光(较好)





入射光黑色或绿色背景下为半透明，表面呈网格状，边缘附有乳白色脂肪体

3、唾液腺解离：（千万要小心，不要弄丢）

- 剥离脂肪体及其他杂物，尽量分离出纯净的唾液腺，用吸水纸小心吸去生理盐水。
- 加1滴1N HCl，浸约15分钟左右（使组织疏松，以便压片时细胞分散，染色体散开）。



4、染色：

- 用吸水纸吸去盐酸，加1滴蒸馏水轻轻冲洗后吸干，重复2次，洗净残留的盐酸。
- 加2滴卡宝品红染液，染色15分钟左右（此过程应保持腺体一直处于染液的浸泡中）。



5、压片：

- 用镊子取一盖玻片，以 45° 角徐徐落下，排净气泡，取少许吸水纸铺在盖玻片上，用左手食指和拇指固定盖玻片位置，右手拇指使劲按压。为使染色体铺展得舒张，可站起来把上半身的体重施于右拇指上，效果会更好。（注意不要使盖玻片移动）



6、观察：

- 将制片置**低倍镜**下找到分散好的标本，移至视野中心，然后转到**高倍镜**下观察。
- 对分散良好、染色体臂充分伸展的片子，应仔细观察染色体的横纹数量、形状和排列顺序，对照模式照片辨认出不同的染色体臂。

2016拔尖：郑羿

2018年12月6日，气温：5℃

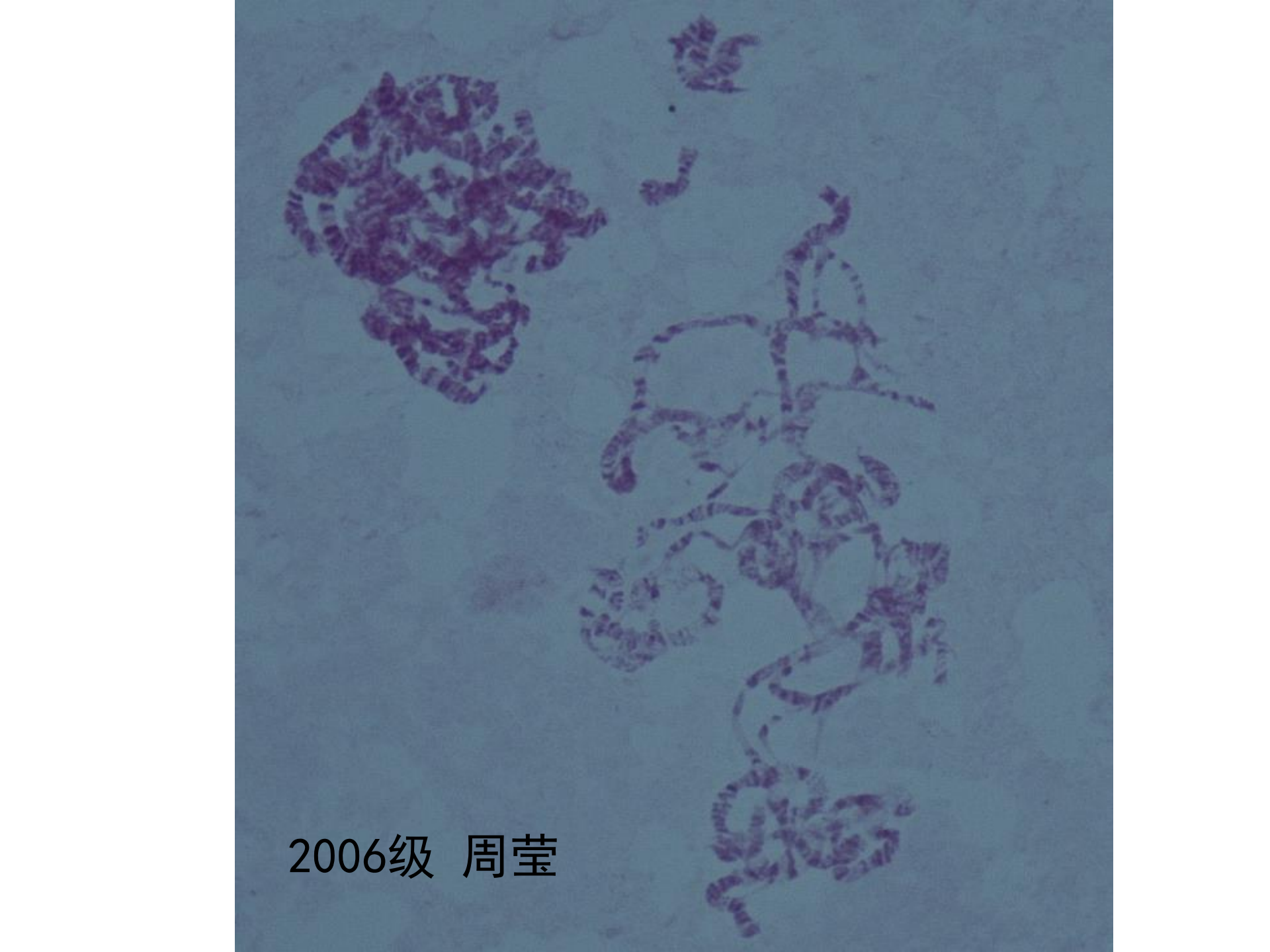
解离时间：20min

染色时间：10min

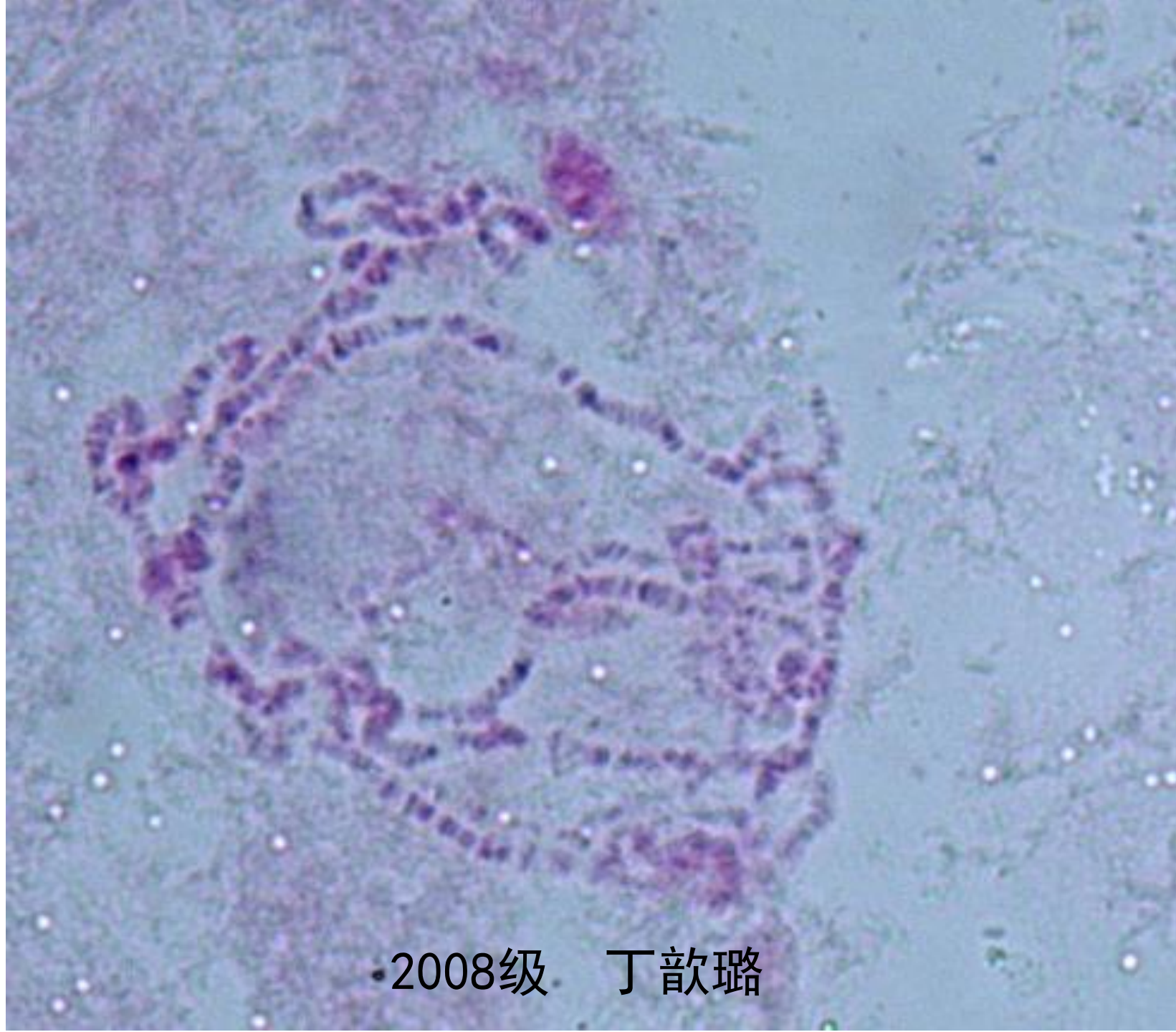




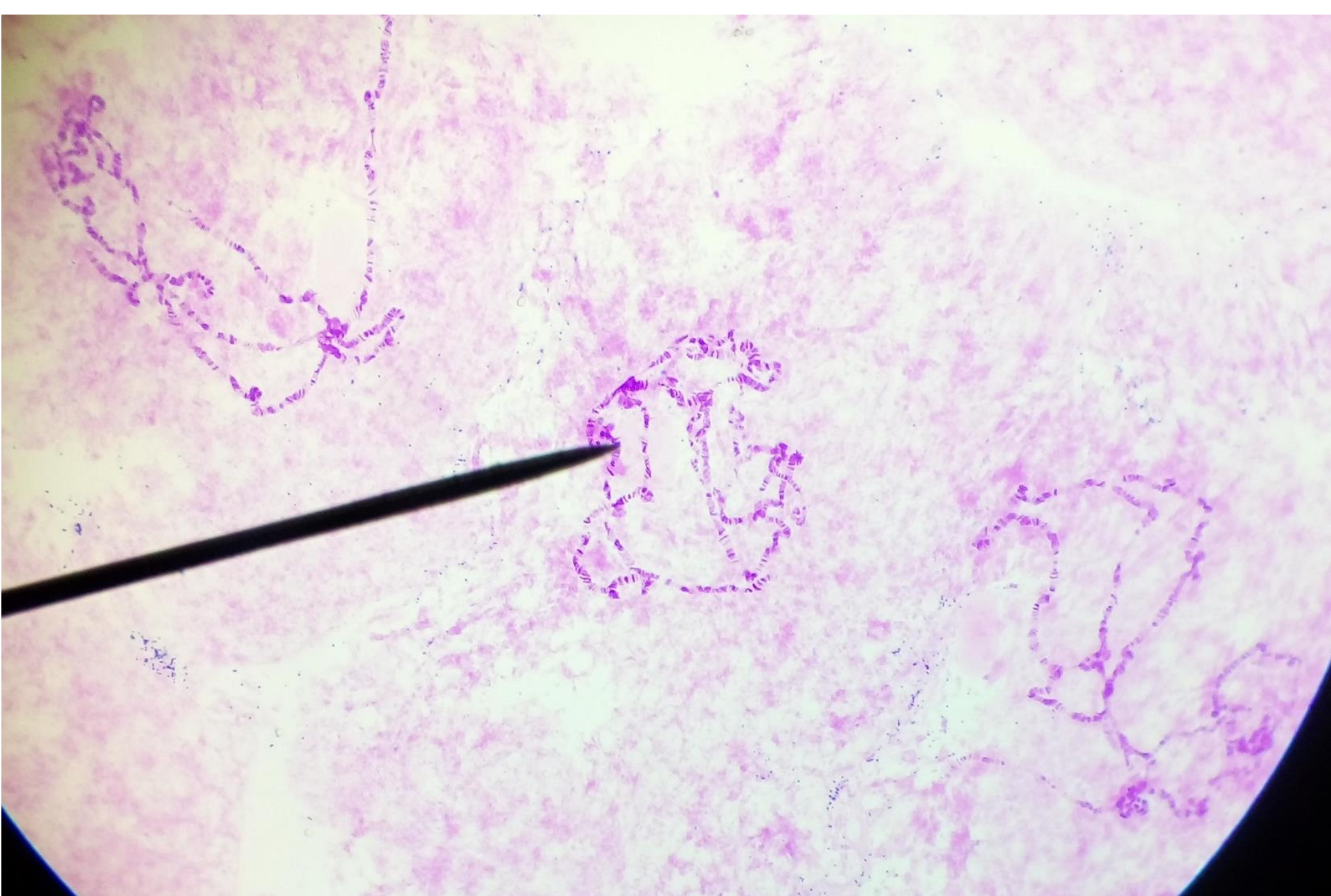
2011级 吴悠



2006级 周莹



2008级 丁歆璐



2012生物技术

王将&丁祥

六、作业

- 1.你观察到的唾液腺染色体照片，及实验成功或失败的主要原因。