

ABO 血型综合实验基因分型技术简化及其群体遗传分析拓展

胡健¹, 周逸人¹, 丁佳琳¹, 王志远¹, 刘凌², 王业开¹, 娄慧玲¹,
乔守怡¹, 吴燕华¹

1. 复旦大学生命科学学院, 上海 200433;
2. 复旦大学医学院, 上海 200032

摘要: ABO 血型是生活中最常见、运用最广泛的遗传性状之一。人类 ABO 血型由 I^A 、 I^B 和 i 3 个复等位基因决定, 它们负责编码不同的糖基转移酶, 进而决定 3 种红细胞表面抗原。ABO 血型涉及复等位基因、基因互作、单核苷酸多态(SNP)、基因演化等多个关键知识内容, 是理想的遗传学教学案例。本文以 ABO 血型为研究对象, 对遗传学实验进行了创新与整合。首先, 在分子遗传学模块中建立了新颖的 ABO 血型基因分型方法: 基于 SNP 位点设计特异性引物, 通过实时定量 PCR 鉴定基因型; 其次, 在群体遗传学模块中创新了基因演化的实验教学方法, 开发群体遗传学软件, 利用计算机模拟不同条件下 ABO 血型决定基因频率的演化趋势。这些教学改革举措旨在丰富遗传学实验内容, 拓展教学手段, 提高学习效率。

关键词: ABO 血型; 遗传学教学; 教学改革; 基因分型; 群体遗传学

Simplification of genotyping techniques of the ABO blood type experiment and exploration of population genetics

Jian Hu¹, Yiren Zhou¹, Jialin Ding¹, Zhiyuan Wang¹, Ling Liu², Yekai Wang¹,
Huiling Lou¹, Shouyi Qiao¹, Yanhua Wu¹

1. School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China
2. Shanghai Medical College of Fudan University, Shanghai 200032, China

Abstract: The ABO blood type is one of the most common and widely used genetic traits in humans. Three glyco-

收稿日期: 2017-01-20; 修回日期: 2017-03-27

基金项目: 国家基础学科人才培养基金项目(编号: J1210012)和上海市教委本科教学质量与教学改革计划资助[Supported by Undergraduate Training Project of National Science Foundation of China (No. J1210012) and Undergraduate Teaching Quality and Teaching Reform Project of Shanghai Municipal Education Commission]

作者简介: 胡健, 本科在读, 专业方向: 生物科学。Tel: 021-54237410; E-mail: jianhu12@fudan.edu.cn

周逸人, 本科在读, 专业方向: 生物技术。Tel: 021-51630594; E-mail: 14307110146@fudan.edu.cn

丁佳琳, 本科在读, 专业方向: 生物科学。Tel: 021-51630555; E-mail: 14307110346@fudan.edu.cn

胡健、周逸人和丁佳琳为并列第一作者。

通讯作者: 乔守怡, 教授, 博士生导师。研究方向: 人类医学与分子遗传学。Tel: 021-65643716; E-mail: syqiao@fudan.edu.cn

吴燕华, 副教授, 硕士生导师。研究方向: 人类医学与分子遗传学。Tel: 021-51630593; E-mail: yanhuawu@fudan.edu.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.17-029

网络出版时间: 2017/4/12 11:15:01

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20170412.1115.002.html>

syltransferase-encoding gene alleles, I^A , I^B and i , produce three red blood cell surface antigens, by which the ABO blood type is classified. By using the ABO blood type experiment as an ideal case for genetics teaching, we can easily introduce to the students several genetic concepts, including multiple alleles, gene interaction, single nucleotide polymorphism (SNP) and gene evolution. Herein we have innovated and integrated our ABO blood type genetics experiments. First, in the section of Molecular Genetics, a new method of ABO blood genotyping was established: specific primers based on SNP sites were designed to distinguish three alleles through quantitative real-time PCR. Next, the experimental teaching method of Gene Evolution was innovated in the Population Genetics section: a gene-evolution software was developed to simulate the evolutionary tendency of the ABO genotype encoding alleles under diverse conditions. Our reform aims to extend the contents of genetics experiments, to provide additional teaching approaches, and to improve the learning efficiency of our students eventually.

Keywords: ABO blood type; genetic teaching; teaching reformation; genotyping; population genetics

近年来, 以提升“学生的知识储备、科学素质、创新能力”为教育核心理念的成效为本的教育方式 (outcome-based education) 在教学改革中彰显出了巨大优势^[1]。相比于传统的以内容为本的教学方式, 成效为本的教学理念强调在教学设计和教学方法上的创新, 以培养学生的知识、能力和素质为主。Handelsman 等^[2]曾列举出一系列提高学习成效的教学方法, 例如问题导向的实验课程 (inquiry-based labs) 和可互动的电脑学习 (interactive computer learning) 等。遗传学是生物专业本科生的必修课程之一, 更是一门理论与实践并重的专业课程。利用实验教学提升学生的学习成效对于遗传学课程既恰当又便利。通过实验课程体系的精心设计, 教学方法的科学选择, 学生实践的有效组织, 能够有效提高遗传学的学习效果, 又能为学生在未来从事科学研究打下坚实的基础^[3]。在近两年中, 笔者结合自身的遗传学教学经验, 以 ABO 血型为案例进行了遗传学实验的再设计与整合, 旨在探索提升遗传学学习成效的有效方法。

ABO 血型是在输血和移植医学中最重要血型系统, 也是遗传学教学中的经典案例^[4,5]。“利用抗原抗体反应的免疫学方法进行 ABO 血型分型”是许多生物专业院校开设的生物学实验内容, 但事实上这一实验手段与遗传学并无直接联系。从遗传水平上说, I^A 、 I^B 和 i 复等位基因决定了 A、B、O 抗原。 I^A 、 I^B 分别编码 N-乙酰基半乳糖胺转移酶和 D-半乳糖基转移酶, 对抗原前体 H 进行不同修饰从而得到 A、B 抗原。与此同时, i 基因不能编码任何糖基转移酶, 因此抗原前体 H 保持不变^[6]。

ABO 血型决定基因定位于 9q34.1-9q34.2, 包含

了 7 个外显子和 6 个内含子。其中第 6、7 号外显子负责编码 ABO 糖基转移酶的催化结构域^[7]。由于 ABO 血型决定基因内部存在大量单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点, 人群中的等位基因类型远多于 3 种, 它们在不同人群中的频率不同^[8]。为了帮助学生从遗传学水平真正理解 ABO 血型, 我们改革了 ABO 血型的分型方法: 引入实时定量 PCR 技术, 针对 SNP 位点进行复等位基因特异性的 DNA 扩增, 区分不同个体的 ABO 血型决定基因的基因型。与此同时, 我们以基因分型结果为原始数据, 利用软件进行编程运算, 模拟 ABO 血型决定基因的演化情况, 从中观察遗传漂变、自然选择等因素对基因演化的影响。改革后的实验内容将分子遗传学与群体遗传学知识进行整合, 通过 ABO 血型实验全面深入地传授遗传学知识, 培养学生的创新能力和科研素质。

1 利用实时定量 PCR 改革 ABO 血型的基因分型实验

I^A 、 I^B 和 i 等位基因之间的核苷酸序列差异主要分布在第 6 和第 7 外显子中。与 I^A 、 I^B 相比, i 基因存在 261 位单碱基 G 的缺失 (261delG); 而相比 I^A 和 i , I^B 基因存在 796 位碱基从 C 到 A 的置换 (C>A) 以及 803 位碱基从 G 到 C 的置换 (G>C)^[7]。根据这两个 SNP 位点, 并参考 Muro 等^[9]的工作, 我们设计了特异性扩增引物, 通过实时定量 PCR 的方法, 以 SYBR Green 为示踪扩增产物量变化的物质, 利用扩增曲线确定有无扩增, 从而鉴定 DNA 样品的基因型。

首先通过常规 PCR 扩增、重组质粒构建和克隆

测序的方法从已知血型的个体的唾腺 DNA 中获得了代表 I^A 、 I^B 和 i 等位基因片段的阳性模板。其次, 根据 SNP 位点共设计了 4 对特异性定量 PCR 引物, 用于扩增对应的基因片段(表 1)。再次, 用阳性模板优化定量 PCR 实验条件, 得到可以区分 3 种等位基因的扩增图线(图 1)。

在验证 4 对引物对这 3 个等位基因的扩增有效后, 我们收集了同学们的唾腺 DNA 样本进行实验, 结果如表 2 所示, 实验测得的结果与实际血型全部一致, 确认了方法的可行性与准确性。在实验过程中发现样本 DNA 浓度在 10 ng/ μ L 以上且无较多离子污染和蛋白质污染的情况下可以得到较好的分型结果。

综上所述, 我们将实时定量 PCR 作为一种新的基因分型方法引入了遗传学实验教学。经过原理讲

解与操作指导, 学生独立完成 DNA 的提取以及定量 PCR 等实验过程, 根据老师提供的阳性模板曲线可进行结果分析。检查扩增曲线是否合理、分析结果是否正确即可考察学生细致操作、精确加样等实验操作能力以及数据处理、结果分析的能力。

2 利用计算机软件创新群体遗传学教学方法

遗传漂变是基因演化中的重要理论概念, 它指的是群体内由于抽样误差造成等位基因频率的随机波动。这种抽样过程包括两个方面: 一是配子形成过程中等位基因发生分离, 导致后代所携带的等位基因类型具有随机性; 二是各种亲本组合所产生的子代数不同, 不同等位基因类型的后代个体数目亦有不确定性。样本中基因频率的随机波动, 在较大的群体中, 可能摆动在原始频率的附近, 但在有

表 1 特异性定量 PCR 引物

Table 1 Primers for quantitative real-time PCR

引物名称	引物序列(5'→3')	备注
ex6-AB-F	GGAAGGATGTCCTCGTGGTGA	I^A 、 I^B 在 6 号外显子的特异性引物
ex6-O-F	GATGTCCTCGTGGTAC	i 在 6 号外显子的特异性引物
ex6-R	CTCGTTGAGGATGTCGATGTTG	ex6-AB-F 和 ex6-O-F 的通用反向引物
ex7-AO-F	TCTACTACCTGGGGGG	I^A 和 i 在 7 号外显子的特异性引物
ex7-B-F	GACGAGGGCGATTCTACTACA	I^B 在 7 号外显子的特异性引物
ex7-R	TTGGCCTGGTCGACCATCATG	ex7-AO-F 和 ex7-B-F 的通用反向引物

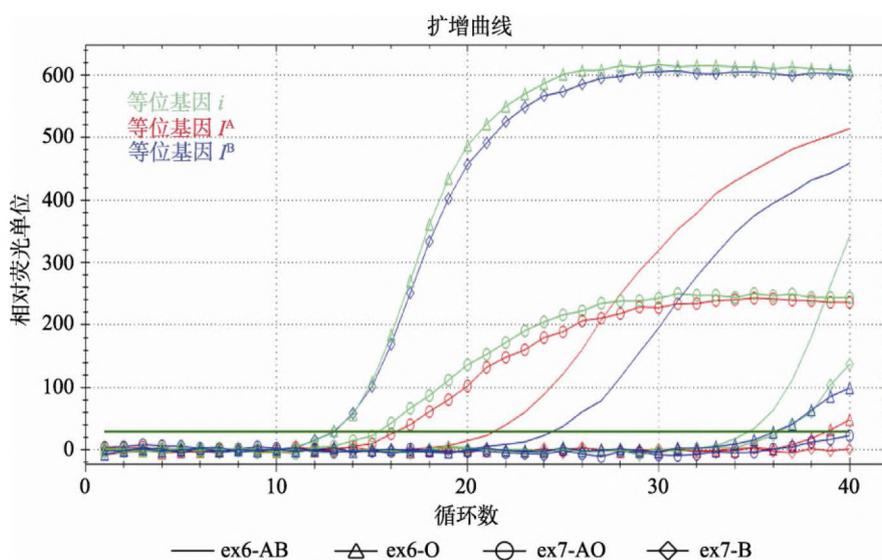


图 1 I^A 、 I^B 和 i 等位基因阳性模板经 4 对引物扩增得到的实时扩增曲线

Fig. 1 Real-time amplification curves of allele I^A 、 I^B and i by different primers

表 2 采用实时定量 PCR 方法对学生 DNA 样本进行基因分型的结果。

Table 2 Genotyping results of students' DNA examples by quantitative real-time PCR

样本编号	引物类型				理论基因型	理论血型	实际血型
	ex6-AB	ex6-O	ex7-AO	ex7-B			
1	+	-	+	+	$I^A I^B$	AB	AB
2	-	+	+	-	ii	O	O
3	-	+	+	-	ii	O	O
4	+	+	+	+	$I^B i$	B	B
5	+	+	+	-	$I^A i$	A	A
6	+	-	+	+	$I^A I^B$	AB	AB
7	+	-	+	+	$I^A I^B$	AB	AB
8	-	+	+	-	ii	O	O

注：+：有扩增；-：无扩增。

限大小的群体中，可能偏离原始频率，甚至完全保留或完全丢失一种等位基因^[6]。

目前多数高校在讲授遗传漂变时采用的都是单纯的教师讲解方式，教学手段单一。如能结合案例进行实验设计，则可有效提高教学效果，促进学生的理解。为此，我们再次以 ABO 血型为讨论对象，设计了 3 等位基因条件下模拟遗传漂变的软件。

S.G Wright 和 R.A Fisher 曾经在 20 世纪初提出了 Wright-Fisher 模型，该模型适用于有限个体种群基因频率的遗传漂变^[10]。Wright-Fisher 模型模拟了自然界中随机交配产生后代的过程，并对后代重采样，保持每代的种群大小保持不变，从而得到遗传漂变的过程^[11]。Joe Felsenstein 团队制作的 Simul8、PopG 程序以及 Bob Sheehy 制作的网页版 PopGen 均是在 Wright-Fisher 模型的基础上成功模拟了两等位基因在遗传漂变、种群瓶颈、突变、迁移、自然选择等情形下的基因频率变动。虽然 Wright-Fisher 模型理论非常简明优美，但是计算异常复杂，不适用于 3 等位基因的计算。

在软件开发过程中，我们基于已有的理论和实验，用 Python2.7.12 语言编写程序，用 wxPython 包制作图形化界面，使用 matplotlib 包绘图，完成了模拟 ABO 血型基因遗传漂变的软件(<http://life.fudan.edu.cn/bioc>)。程序设计的主要思路为：设置第一代的基因频率和群体个数，在种群数较小的情况下，使其自由交配、随机获得后代的基因型，重采样得到种群个数不变的第二代，计算第二代的基因频率。如此反复至 n 代，得到 n 个基因频率，绘制曲线，

即可展示在不同群体规模中的遗传漂变现象。为了简化计算，在种群数较大(>100)的情况下牺牲了一定的精确性，采用了正态分布拟合(图 2)。

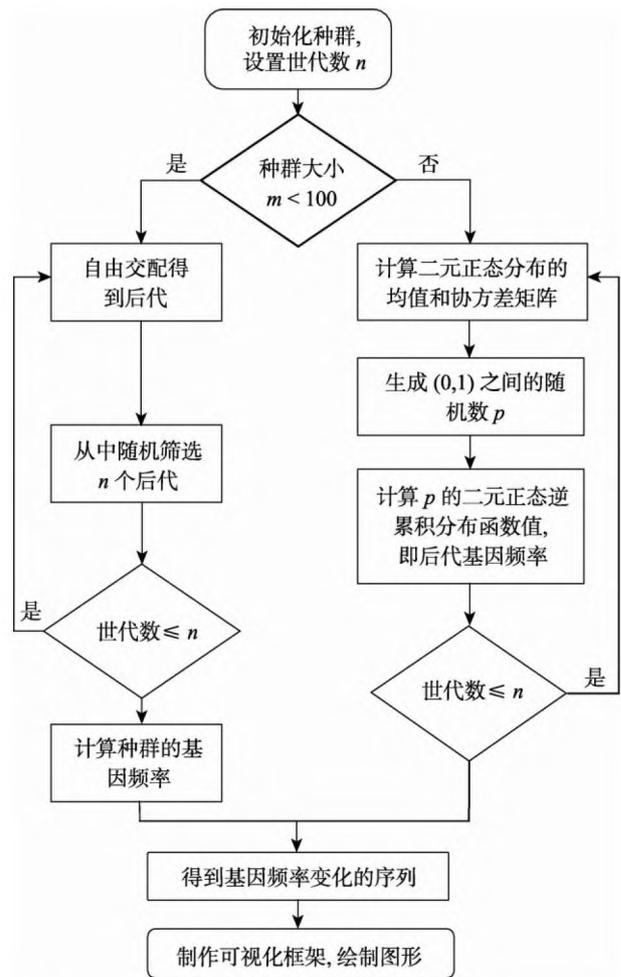


图 2 遗传漂变模拟程序逻辑图
Fig. 2 A flow chart of the simulation program

由于遗传漂变是一种随机波动,软件每次运算得到的基因频率变动曲线也都不相同,但群体规模一定的情况下,等位基因频率受遗传漂变的影响相对一致。使用者可以设定初始 I^A 、 I^B 基因频率、世代数和种群大小,运行程序后即可观察 i 基因频率的变动情况。改变群体规模的大小,可以发现群体越小,越容易受遗传漂变影响,从而导致杂合性丢失;群体越大,等位基因频率越容易维持原有水平(图3)。尽管现实中还未发现对 ABO 血型各表型造成选择压力的因素,但该软件可以模拟选择压力的影响。通过设置各表型的适合度(0~1),可以在计算中随机删除一定比例的相应表型,从而实现“自然选择”作用的模拟。

该软件还提供估计种群基因频率的方法。随机抽取的一个小群体,可以假设符合 Hardy-Weinberg 平衡,该软件提供最大期望算法(expectation maximization algorithm, EM)来估计群体的血型基因频率,即给定一个猜测的初始基因频率,然后根据种群的表现型数据计算各种基因型估计的数目,用估计的基因型数据得到估计的基因频率,继续迭代直至估

计的基因频率不再发生改变或者仅有微小改变。

我们将“ABO 血型基因的遗传漂变模拟软件”应用到了遗传学的实验教学中。将全班同学看作一个群体,以“基因分型实验”中的结果作为原始数据,计算 I^A 、 I^B 和 i 的初始基因频率,再设置种群大小、世代数和各表型的适合度等参数,即可在课堂上模拟“遗传漂变”等因素对基因演化的作用。除教师的课堂演示之外,学生可以自行使用软件或学习相关程序的编写方法。与以往遗传学实验体系中判断是否平衡群体的实验相比,利用软件进行“遗传漂变”作用的动态展示,既是对教学内容的丰富,更是教学手段的创新。

3 ABO 血型案例的改革与创新

遗传学教学内容的组织技巧是提升遗传学教学效果的关键因素之一,兄弟院校的一些遗传学教师将遗传信息作为衔接不同知识章节的主线,在遗传学的理论教学中取得了良好的教学效果^[12]。在我校的遗传学实验教学中,实验内容的设计与组织也被列为了教学改革的重点对象。此次改革,我们选择

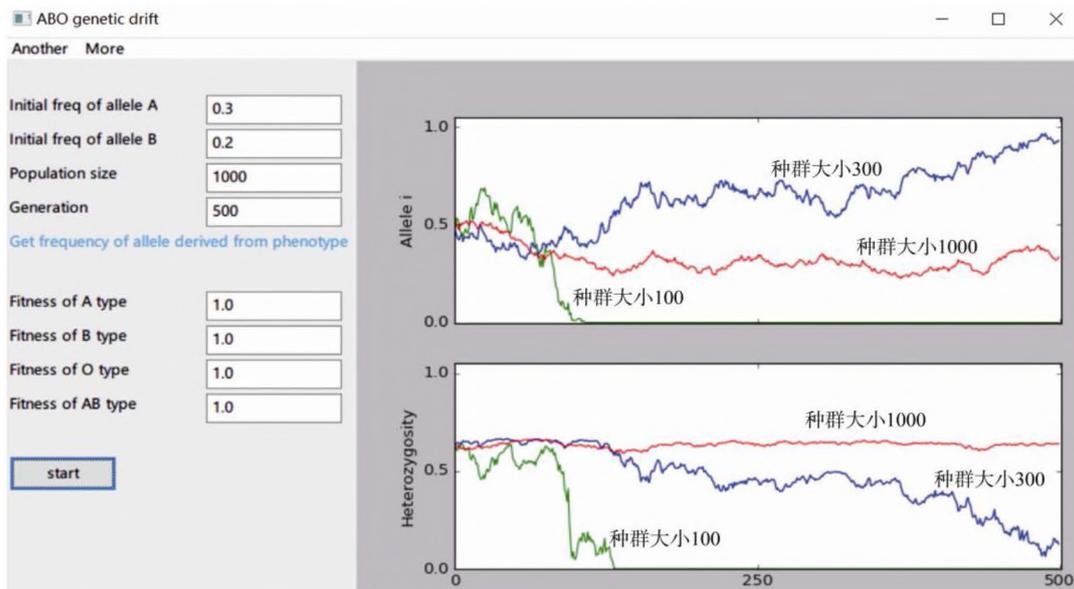


图3 ABO 血型基因的遗传漂变模拟软件界面

Fig. 3 Interface of the population genetics software for ‘ABO genetic drift’

软件界面左侧为参数设置区域:左上方可设置 I^A 、 I^B 基因初始频率、种群大小以及世代数;左下方可以设置各血型的适合度,即可模拟选择压力导致的基因频率变化。右侧为展示区:右上方展示了在群体规模为 100、300、1000 的情况下 i 基因频率的变动情况,右下方为杂合度变化曲线。可以看出群体越小,受遗传漂变影响越大,基因频率波动越大,越容易丢失杂合度;群体越大,受遗传漂变影响越小,基因频率变动较稳定,杂合度得以保持。

了经典的 ABO 血型,以案例为主线,衔接不同实验模块,整合遗传学知识内容。我校的 ABO 血型实验经历了从“基于抗原抗体反应的表型鉴定”到“基于 RFLP 分型的基因分型”,再到“基于实时定量 PCR 的基因分型方法”3 个阶段。据调查,也有部分兄弟院校开设前两种实验内容。但是,我们在教学实践过程中意识到,“抗原抗体反应”不能反映 ABO 血型的遗传机制,与理论课程讲授的复等位基因、基因互作等知识内容脱节。同时,“RFLP 分型”方法虽能体现 ABO 血型决定基因的遗传差异,但在实验设计上具有较多的局限性:(1)“RFLP 分型”实验中的 PCR 技术、凝胶电泳技术与其他分子遗传学实验中的操作技术存在较多重叠;(2)实验操作要求高,结果稳定性差,学生在实践中容易陷入技术的细节而忽视了理论的应用;(3)“RFLP 分型”技术的应用局限,与当下的科研工作联系疏松。因此,本次教学改革我们围绕 ABO 血型案例,进一步改革了实验设计,成功运用实时定量 PCR 进行基因分型,这一方法具有效率高、准确度高、灵敏度高等多项优点,且定量 PCR 技术本身也能让学生从中获益。在实验改革推广初期,我们也在小范围的学生群体中进行了调研,对比“RFLP 分型”传统方法与“实时定量 PCR 基因分型”新方法的实践效果,以评估这项实验改革的潜在价值。在亲手完成实验之后,很多学生反映这一方法高效简便且运用广泛。反馈意见集中见表 3。

综上,前期的实践获得了较为理想的效果,同学们对新方法、新技术的认可度很高,利于后期的进一步推广。

本次改革针对的另一个知识难点是群体遗传学中的遗传漂变。美国的一项教学研究显示,高达 99% 的学生最开始学习遗传漂变的时候都存在理解困难的问题^[13]。而国内的遗传学教师也普遍感到学生难

以直观地将“小群体”、“抽样误差”这些关键词与遗传漂变建立联系^[14]。目前,已有部分兄弟院校和国外高校将软件操作引入到了群体遗传学实验的平衡群体计算中,并获得了理想的教学效果^[15,16]。这些改革做法给予了我们很多启示。我们组织了一支学生队伍,鼓励他们自主创新独立研发更加系统和全面的群体遗传学软件。如前所述,学生们在 Wright-Fisher 数学模型的基础上,同时考虑了自然选择、突变和迁入迁出等多个因素,成功建立了基于二等位基因的群体演化模拟软件。随后,指导教师又提出是否能够就以 ABO 血型决定基因为研究对象,进行软件的升级,将基因分型实验与群体遗传学实验进行整合。ABO 血型决定基因属于复等位基因,且具有不完全显性的相互作用关系,但学生们利用多项(3 项)分布的方法来模拟遗传漂变,用最大似然法从表型频率估计基因型频率,最终取得了成功。

教学相长是高校教师促进教学能力上升的重要途径,但笔者在教学实践中意识到,教学相长既可以是教师自身的教与学的结合,也可以是教师教与学生学的相互反馈和促进。在本次教学改革中,教师提出了改革初衷,学生们在实验学习过程中发现了已有实验的不足与局限,与教师积极交流,并勇于承担了课程改革的全部实验工作,包括基因分型实验平台的搭建与完善,软件的开发与更新。这种基于科学实践的学习方法正是一种主动的学习方式,学生们在实践过程中大胆创新,边实践边总结,不仅积累了宝贵的科学研究经验,更培养了独立科研的能力,寻找到了适合自己的科学研究方向。我们认为,鼓励学生参与教学改革,尤其是实验教学改革将是促进高校教学发展、提升学生学习成效的新途径。

表 3 传统分型方法与实时定量 PCR 方法的对比

Table 3 A comparison between RFLP method and quantitative real-time PCR

RFLP 分型	实时定量 PCR 基因分型
中间步骤多,成功率低,实验周期长	一步便可完成扩增与检测,快速准确
结果不稳定,条带结果常常模棱两可	结果比较稳定,阴性阳性结果判断准确
需要配制高浓度琼脂糖胶,有一定技术困难	可操作性好
核酸染料有一定毒性,存在安全隐患	安全性好
与其他教学实验中的操作技术存在较多重叠	方法新颖,让学生有机会接触前沿的生物学技术手段

参考文献(References):

- [1] KJ Kennedy. Conceptualising quality improvement in higher education: policy, theory and practice for outcomes based learning in Hong Kong. *Jhepm*, 2011, 33 (3): 205–218.
- [2] Handelsman J, Ebert-May D, Beichner R, Bruns P, Chang A, DeHaan R, Gentile J, Lauffer S, Stewart J, Tilghman SM, Wood WB. Scientific Teaching. *Sci*, 2004, 304 (5670): 521–522.
- [3] WU Yan-Hua, GUO Bin, LOU Hui-Ling, CUI Yu-Liang, GU Hui-Juan, QIAO Shou-Yi. From gene cloning to expressional analysis——Practice and experience from educational reform of experimental gene engineering. *Hereditas(Beijing)*, 2012, 34(2): 248–252.
吴燕华, 郭滨, 娄慧玲, 崔玉良, 顾惠娟, 乔守怡. 从基因克隆到表达分析——改革基因工程实验课程的实践与体会. *遗传*, 2012, 34(2): 248–252.
- [4] WU Yan-hua, LU Da-ru, LIN Juan, QIAO Shou-yi. Utilizing and Effect Analysis of Case-based Teaching in Genetics Course. *Biology Teaching in University (Electronic Edition)*, 2013, 3(2): 25–29.
吴燕华, 卢大儒, 林娟, 乔守怡. 案例式教学在遗传学课堂中的运用与效果分析. *高校生物学教学研究(电子版)*, 2013, 3(2): 25–29.
- [5] PI Yan, LI Xiao-Ying, HUAI Cong, WANG Shi-Ming, QIAO Shou-Yi, LU Da-Ru. Exploration on human blood type case in teaching practice of genetics. *Hereditas(Beijing)*, 2013, 35(8): 1040–1044.
皮妍, 李晓莹, 怀聪, 王诗铭, 乔守怡, 卢大儒. 以人类血型为遗传学案例教学的思考与实践. *遗传*, 2013, 35(8): 1040–1044.
- [6] LIU Zu-Dong, QIAO Shou-Yi, WU Yan-Hua, ZHAO Shou-Yuan. *Genetics(3rd Edition)*. Higher Education Press, 2013.
刘祖洞, 乔守怡, 吴燕华, 赵寿元. *遗传学(第3版)*. 高等教育出版社, 2013.
- [7] Yamamoto F, Clausen H, White T, Marken J, Hakamori S. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. *Nat*, 1990, 345(6272): 229–233.
- [8] Seltsam A, Hallensleben M, Kollmann A, Blasczyk R. The nature of diversity and diversification at the ABO locus. *Blood*, 2003, 102(8): 3035–3042.
- [9] Muro T, Fujihara J, Imamura S, Nakamura H, Kimura-Kataoka K, Toga T, Iida R, Yasuda T, Takeshita H. Determination of ABO genotypes by real-time PCR using allele-specific primers. *Leg Med*, 2012, 14: 47–50.
- [10] Wright S. Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 1931, 16(2): 97–159.
- [11] Richard R. Hudson, Generating samples under a Wright–Fisher neutral model of genetic variation. *Bioinformatics*, 2002, 18(2): 337–338.
- [12] XING Wan-Jin, Morigen, Alatangaole Damirin, SU Hui-Min. Restructuring teaching contents of genetics by focusing on the genetic information and its connection with other courses. *Hereditas (Beijing)*, 2011, 33(6): 661–664.
邢万金, 莫日根, 阿拉坦高勒, 苏慧敏. 以遗传信息为主线的遗传学教学架构及与其他课程的衔接. *遗传*, 2011, 33(6): 661–664.
- [13] Andrews TM, Price RM, Mead LS, McElhinny TL, Thanukos A, Perez KE, Herreid CF, Terry DR, Lemons PP. Biology Undergraduates’ Misconceptions about Genetic Drift. *CBE Life Sci Educ*, 2012, 11(3): 248–59.
- [14] Chunming Wang. Exploration of the concept of genetic drift in genetics teaching of undergraduates. *Hereditas (Beijing)*, 2016, 38(1): 82–89.
王春明. 本科遗传学教学中的遗传漂变概念探讨. *遗传*, 2016, 38(1): 82–89.
- [15] Jian Zhao, Dongmei Hu, Dade Yu, Mingliang Dong, Yun Li, Yingming Fan, Yanwei Wang, Jinfeng Zhang. Teaching design and practice of human blood type traits in genetics comprehensive laboratory course. *Hereditas (Beijing)*, 2016, 38(5): 461–466.
赵健, 胡冬梅, 于大德, 董明亮, 李云, 范英明, 王延伟, 张金凤. 人类血型性状综合遗传大实验的设计与教学实践. *遗传*, 2016, 38(5): 461–466.
- [16] [http://faculty.washington.edu/herronjc/SoftwareFolder/AlleA1.html](http://faculty.washington.edu/herronjc/SoftwareFolder/AlleleA1.html).

(责任编辑: 陈德富)