

3.8.3 实验内容

目录

- 实验一 细菌的局限性转导
- 实验二 果蝇的形态观察和遗传规律验证
- 实验三 果蝇的唾腺染色体观察
- 实验四 mtDNA 的进化分析
- 实验五 DNA 指纹图谱的遗传分析
- 实验六 化学合成双链小 RNA 干扰绿色荧光蛋白的表达

实验一 细菌的局限性转导

【实验原理】噬菌体将一个细菌的遗传物质传带到另一个细菌中的过程称为转导(transduction)。转导有两种：普遍性转导(generalized transduction)和局限性转导(restricted transduction)，又称特异性转导(specialized transduction)。本实验以局限性转导为例，用 λ 噬菌体专一性转导半乳糖发酵基因的现象来说明转导的基本原理，并初步掌握转导实验的基本技术。

【实验方法】利用转导噬菌体(λ dg *gal*⁺)感染受体菌 *E.coli* K₁₂*gal*⁻，可通过两种不同途径进行转导：一种是通过整合形成部分二倍体，这种转导子不稳定，可因 λ 的切离或丢失而又回复成 *gal*⁻品系。另一种是通过携带的 *gal*⁺和受体的基因 *gal*⁻进行同源配对，经双交换，产生重组的转导子，这种转导子比较稳定，可通过半乳糖 EMB 培养基对重组转导子进行筛选。

【实验材料】供体菌株：*E.coli* K₁₂(λ)*gal*⁺；受体菌株：*E.coli* K₁₂*gal*⁻

【实验课时】3 学时

实验二 果蝇的形态观察和遗传规律验证

【实验原理】位于同一条染色体上的基因是呈线性的并且连锁的，而同源染色体的基因之间会发生一定频率的交换，其连锁关系因此会发生改变，使子代中出现一定数量的重组型。这类重组型的比例又和两个基因之间的距离密切相关。遗传学上以重组百分值来代表基因之间的距离，即遗传图距。在果蝇中，交换只发生在雌蝇中，雄蝇不发生，因此可用雌性的重组率来作为某两个基因的距离。红眼白眼基因和长翅小翅基因都位于 X 染色体上，测定它们之间的重组值可以反映这两个基因之间的距离。

【实验方法】利用乙醚对果蝇成虫进行麻醉，在显微镜下观察果蝇的形态特征。配制玉米培养基对果蝇进行传代培养，挑取突变型处女蝇，与野生型雄蝇进行交配，观察 F1 和 F2 代果蝇性状。

【实验材料】黑腹果蝇，野生型，红眼 (+)，长翅 (+)，正常刚毛 (+)
突变型，白眼 (w)，小翅 (m)，卷刚毛 (sn)

【实验课时】3 学时

实验三 果蝇的唾腺染色体观察

【实验原理】果蝇幼虫时期的唾腺细胞一直处于细胞分裂的间期，每条核蛋白纤维都处于伸展状态。唾腺染色体经染色后，呈现深浅不同、疏密各异的横纹(band)。这些横纹的数目、位置、宽窄及排列顺序都具有种的特异性。从其横纹分布特征可对物种的进化特征进行比较分析，并且如果染色体发生了缺失、重复、倒位、易位等，也可较容易的在唾腺染色体上观察识别出来。唾腺染色体技术是遗传学研究中的一项基本技术。

【实验方法】选取发育良好的果蝇三龄幼虫放于载片上，在解剖镜下，用解剖针剥离出唾腺，对唾腺进行解离和染色压片处理，最后在显微镜下观察染色体分散好的图像。

【实验材料】普通果蝇的三龄幼虫活体

【实验课时】3 学时

实验四 mtDNA 的进化分析

【实验原理】人线粒体基因组的遗传遵循母系遗传的规则。和细胞核基因组不同，人类的线粒体基因组在细胞中是多拷贝的，是个闭合环状分子，共含有 37 个基因，其中 13 个基因编码细胞内蛋白质，22 个基因编码 tRNA，2 个基因编码 rRNA。mtDNA 中的绝大多数 DNA 序列均为编码序列，但仍有一段长约 1 200 bp 的非编码区域，包含两段高度变异的区域 HVS（Hypervariable control regions, HVS）1 和 2，其碱基变异速度大约为核基因组的 10 倍。因此，常被用于进行 DNA 进化分析。

【实验方法】这是一个综合性实验，共分解成 7 个连续小实验（人口腔细胞 DNA 的提取，人线粒体序列的 PCR 扩增，PCR 扩增产物电泳检测和胶回收，回收片段的连接和细菌的转化实验，阳性菌的质粒 DNA 抽提，质粒 DNA 的酶切鉴定，测序及 mtDNA 结果进化分析），每次的实验结果为下一次的实验材料，每次实验 3 课时。

【实验材料】人口腔细胞

【实验课时】21 学时

实验五 DNA 指纹图谱的遗传分析

【实验原理】“DNA”指纹是指可以利用 DNA 差异来进行与传统指纹分析相似的身份识别。DNA 指纹是以 DNA 的多态性为基础，所选择的方法是 *DIS80* 指纹图谱分析的常用方法。

【实验方法】 抽提人口腔细胞 DNA，通过 PCR 的方法获得人类 1 号染色体上的 VNTR *D1S80* 序列，该基因核心序列由 16 个核苷酸组成，拷贝数在 13~44 个之间，已知 32 种不同的等位基因。通过琼脂糖凝胶电泳的方式获得 *DIS80* DNA 指纹图谱。

【实验材料】 人口腔细胞

【实验课时】 3 学时

实验六 化学合成双链小 RNA 干扰绿色荧光蛋白的表达

【实验原理】 RNA 干扰是指通过双链 RNA (double strand RNA , dsRNA) 与靶 mRNA 或 DNA 互补的特性来诱导基因表达沉默的一种转录后调控机制。这种调控方式最初只认为是在少数植物中存在的奇异现象, 如今却是分子生物学最热门的研究领域之一, 已经证明在植物和动物中广泛存在。

【实验方法】 选择绿色荧光蛋白为靶基因, 通过转染的方法将短小双链 RNA 导入体外培养的哺乳动物细胞株中, 从而抑制转入该细胞的绿色荧光蛋白基因的表达。

【实验材料】 293T 细胞

【实验课时】 3 学时