

遗 传 学 实 验

——果 蝇 实 验

复旦大学生物系

(一) 果蝇实验技术

概 说

果蝇 (fruit fly) 是双翅目 (Diptera) 昆虫, 属果蝇属 (genus *Drosophila*), 约有九百多个种。通常作遗传学实验材料的是黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*)。用果蝇作为实验材料有许多优点: (1) 饲养容易, 在常温下, 以玉米粉等作饲料就可以生长、繁殖; (2) 生长迅速, 12 天左右就可完成一个世代, 每个受精的雌蝇可产卵 400—500 个, 因此在短时间内就可获得大量的子代, 便于遗传学分析; (3) 染色体数少, 只有 4 对; (4) 唾腺染色体制作容易, 横纹清晰, 是细胞学观察的好材料; (5) 突变性状多, 而且多数是形态突变, 便于观察。

果蝇的生活史

果蝇的生活周期长短与温度有密切关系。一般来说, 30℃ 以上温度能使果蝇不育或死亡, 低温能使生活周期延长, 生活力下降。饲养果蝇的最适温度为 20—25℃。

果蝇在 25℃ 时, 从卵到成蝇需 10 天左右。成虫

表 1-1 生活周期长短与饲养温度的关系

	10℃	15℃	20℃	25℃
卵→幼虫			8 天	5 天
幼虫→成虫	57 天	18 天	6 天	4 天

可活 26—33 天。果蝇的生活史如下:

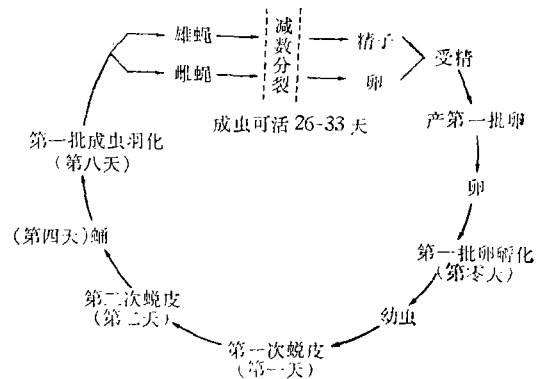


图 1-1 果蝇的生活周期和各发育阶段的经过时间

果蝇性别及突变性状的鉴别

果蝇的每一体细胞有 8 个染色体 ($2n = 8$), 可配成 4 对。其中 3 对在雌雄果蝇中是一样的, 称常染色体, 另外一对性染色体, 在雌果蝇中是 XX, 在雄蝇中是 XY。

果蝇的雌雄在幼虫期较难区别, 但到了成虫期区别相当容易 (图 1-2)。雄性个体一般较雌性个体小, 腹部环纹 5 条, 腹尖颜色深, 第一对脚的跗节前端表面有黑色鬃毛流苏, 称性梳 (sex combs, (见图 1-3)。雌性环纹 7 条, 腹尖色浅, 无性梳。

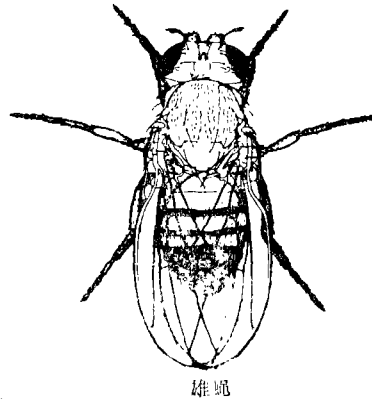
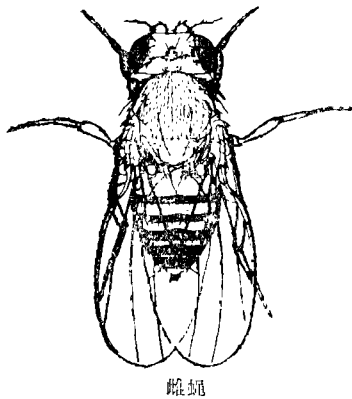


图 1-2 果蝇的外形

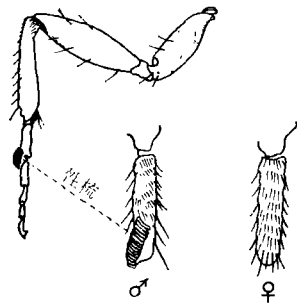


图 1-3 雄果蝇的性梳

实验中选用的果蝇突变性状一般都可利用肉眼鉴定。例如红眼与白眼,正常翅与残翅等,而另一些性状可在解剖镜下鉴定,如焦刚毛与直刚毛等。现列表如下:

表 1-2 实验中使用的果蝇突变品系

影响部分	突变名称	基因符号	染色体上座位
翅	残翅	vg	IIIR 67.0
眼色	白眼	w	X 1.5
体色	黑檀体	e	IIIR 70.7
刚毛	焦刚毛	sn ¹⁾	X 21.0
翅形	小翅	m	X 36.1

1) 焦刚毛的基因应为 sn³, 本文简写为 sn.

果蝇的实验用品和实验技术

果蝇的实验用品较简单,常用的是,恒温箱,解剖镜,指管,白瓷板,海绵垫,麻醉瓶,毛笔,毛边纸,镊子,消毒锅等。这里仅就麻醉瓶作一简单介绍。麻醉瓶形状如图 1-4。

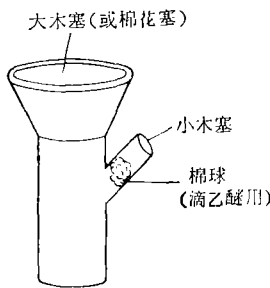


图 1-4 麻醉瓶

如这种麻醉瓶难以得到,也可用广口瓶代用,在广口瓶上加木塞,木塞内钉一个用纱布包的棉球,乙醚滴在棉球上。

在做果蝇的实验之前,要先将镊子、白瓷板用酒精棉擦拭,毛笔尖要用手揉软(不能用水泡软,要保持笔尖干燥)。

1. 麻醉: 对果蝇进行检查时,用乙醚麻醉,使果蝇

处于昏迷状态。使用时将乙醚(2-3滴)滴到麻醉瓶的棉花球上(注意不要让乙醚流进瓶内)。麻醉瓶要保持干燥,否则会粘住果蝇翅膀,影响观察。麻醉果蝇时,先将长有果蝇的培养瓶在海绵垫上敲,使果蝇全部震落在培养瓶底部。然后迅速打开培养瓶的棉塞,把果蝇倒入去盖的麻醉瓶中,并立即盖好麻醉瓶。待果蝇全部昏迷后,倒在白瓷板上进行观察。

果蝇的麻醉程度看实验要求而定。对仍须培养的果蝇以轻度麻醉为宜;但对不再培养,单单进行性状观察的果蝇,可以深度麻醉,甚而致死也不妨(果蝇翅膀外展 45°角,说明已死亡)。检查完毕后,把不需要的果蝇倒入盛有煤油或酒精的瓶中(死蝇盛留器)。

2. 果蝇交配: 将雌雄果蝇放在一起培养。雌蝇的生殖器官中有贮精囊,可保留交配所得的大量精子。雌蝇一次交配所得的精子,足够它多次排出的卵受精。因此在做杂交试验时,雌蝇必须选用处女蝇(没有交配过的雌蝇)。雌蝇孵出后 12 小时内不会交配,这个时间内可把果蝇全部倒出,分出雌雄蝇,单独饲养。这时收集的雌蝇是处女蝇。杂交时将所需品系的雄蝇直接放到处女蝇培养瓶中,贴好标签,注明两亲本的基因型及交配日期,进行培养。7-8 天后倒掉亲本(一定要倒干净,以免亲代和子代混淆)。待 F₁ 成蝇羽化后开始计数,观察性状。计数及观察的安全期是培养开始后的 20 天以内(再晚, F₂ 也可能有了)。若须继续实验,观察 F₂, 可在 F₁ 内挑出雌雄蝇数对,另外培养。因为这次是用 F₁ 作亲本,进行个体间互交,所以这时不是处女蝇也可以。但如要把 F₁ 雌蝇与另一品系雄蝇杂交时,还要严格地选取处女蝇,方法同上。

附录

1. 果蝇饲料的配制: 果蝇是以酵母菌作为主要食料的,因此实验室内凡能发酵的基质,都可用作果蝇饲料。常用的饲料有玉米饲料、米粉饲料、香蕉饲料等,配方如下表。

附表 果蝇饲料的几种配方

	玉米饲料	米粉饲料	香蕉饲料
水(毫升)	150	100	50
琼脂(克)	1.5	2	1.6
蔗糖(克)	13	10	—
香蕉浆(克)	—	—	50
玉米粉(克)	17	—	—
米粉(克)	—	8	—
麸皮(克)	—	8	—
酵母粉(克)	1.4	1.4	1.4
丙酸(毫升)	1	1	0.5-1

(1) 玉米饲料: (i) 取应加量水的一半,加入琼脂,煮沸,使充分溶解。加糖,煮沸溶解。(ii) 取另一半水混和玉米粉,加热,调成糊状。(iii) 将上述两者混和,煮沸。(iv) 待稍冷后加入酵母粉及丙酸,充分调匀,分装。按附表用量配制,可得

饲料 200 毫升左右。

(2) 米粉饲料：方法与玉米饲料相同，用米粉代替玉米粉。

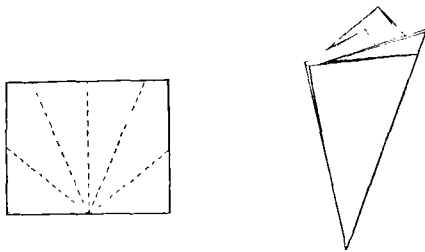
(3) 香蕉饲料：(i) 将熟透的香蕉捣碎，制成香蕉浆。(ii) 将琼脂加到水中煮沸，使充分溶解。(iii) 将琼脂溶液拌入香蕉浆，煮沸。(iv) 待稍冷后加入酵母粉及丙酸，充分调匀，分装。

丙酸的作用是抑制霉菌污染，用量参照附表。每 200 毫升饲料约加 1 毫升左右。如无酵母粉，也可用酵母菌液代替，但用法不同。若用酵母菌液则在饲料分装到培养瓶中以后再加入，每瓶加数滴。

培养果蝇用的饲养瓶可用牛奶瓶，或大、中型指管，用纱布包的棉花球作瓶塞。实验室中保存原种、以及杂交实验以中指管为宜。培养瓶用前要消毒，而后装饲料（每瓶 2 厘米厚即可）。待饲料冷却后，用酒精棉花擦瓶的内壁。然后插入消毒过的吸水纸，作幼虫化蛹时的干燥场所。

吸水纸的作法可用毛边纸裁成长方形（6×4 厘米左右，用于牛奶瓶的可大些），然后按附图折叠：

折好的吸水纸用牛皮纸包好，高压消毒（15 磅/15 分钟），待用。棉花塞也要消毒。



附图 吸水纸的折叠法

2. 原种培养：在作新的留种培养时，应事先检查一下果蝇有没有混杂，以防原种丢失。亲本的数目一般每瓶 5—10 对，移入新瓶时，须将培养瓶横卧，然后用毛笔将麻醉的果蝇从白瓷板上轻轻扫入，待果蝇清醒过来后再把培养瓶竖起，以防果蝇粘在饲料上。原种每 2—4 周换一次培养基（依温度而定，10—15℃ 约 4 周换一次，20—25℃ 约 2 周换一次）。每一原种培养至少保留两套。培养瓶的标签上要写明突变名称，培养日期等。作原种培养温度可控制在 10—15℃。培养时避免日光直射。

果蝇在适宜条件下会产子代。在肉眼能看到幼虫时就可把亲本倒掉。几天以后，新的成蝇便产生。待成蝇有了足够保种的数量后，要调换培养瓶，作为下一代的亲本，继续培养。

原种果蝇培养常遇到的麻烦是饲料发霉。发霉的原因很多，用具没有灭菌，空气污染，亲本不及时倒掉... 都会引起饲料发霉。严重的霉菌污染会影响果蝇的生长。饲料中加丙酸可以抑制霉菌，但不能完全制止。发现培养瓶中有少量霉点时可用烧过的解剖针挑出。若大量霉菌污染，可把果蝇全部倒在一个消毒过的空指管中，让它活动 2—3 个小时，换一支指管，再活动 1—2 个小时，而后倒入一支新的培养瓶中继续培养，这样可以防止霉菌污染。

原种保存遇到的另一个问题是混杂，几个不同品系的果蝇在一起培养，一定要防止混杂。培养瓶的塞子要做的紧些，不使果蝇逃出。调换培养瓶时，要防止果蝇飞散，外逃的果蝇要打死。发现了混杂的原种，要根据原种果蝇的全部特征，挑出数对雌雄蝇饲养，进行筛选直至完全没有分离为止。这样做，费时费力，只是在不得已时才采用。一般混杂时，只要方便，可以重新引种，将混杂种弃去。

（乔守怡 江绍慧）

（二）果蝇的单因子实验

实验原理和目的

本实验通过对果蝇一对相对性状的杂交试验，验证孟德尔第一定律——分离定律。采用的果蝇品系是野生型（长翅）和残翅两种。两个品系杂交， F_1 都是长翅。 F_1 雌雄个体间互交， F_2 产生性状分离出现了两种表型，图示如下：

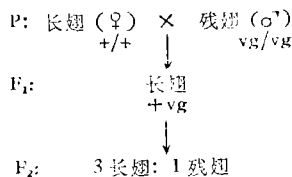


图 2-4 果蝇残翅的遗传

用棋盘法表示则为。（见图 2-2）

利用这个方法可以初步确定某一性状之差是一对基因还是多基因之差造成的。若这个性状的差异是由

于一对基因的差别，那么通过本实验的方法，对 F_2 测定，应得到 3:1 的比例。

	F_1 ♀ 配子	+	vg
F_1 ♂ 配子	+	+/+	+/vg
	vg	+/vg	vg/vg

图 2-2 残翅性状的后代分离

因为长翅对残翅显性，+/+、+/vg 基因型都表现出长翅性状。只有 vg/vg 才是残翅。所以所得 F_2 群体，长翅与残翅比为 3:1。其中长翅中有 2/3 是杂合体 +/vg，1/3 是纯合体 +/+。 F_2 代群体越大，越接近理论比。

实验准备

1. 用具：麻醉瓶，白瓷板，海绵板，放大镜，毛笔，镊子，盛有饲料的培养瓶 4 个。

2. 药品：酒精棉，乙醚。

实验步骤

1. 选野生型和残翅果蝇为亲本，做正交和反交组合。雌蝇一定要选处女蝇。处女蝇在实验前 2—3 天陆续收集，数目多少根据需要而定。

2. 把长翅果蝇和残翅果蝇进行杂交，正交与反交各一瓶。即：长翅(♀) × 残翅(♂)；长翅(♂) × 残翅(♀)。(1) 把长翅处女蝇倒出麻醉，挑出 5—6 只移到杂交瓶中。(2) 其次把残翅倒出麻醉，在放大镜下，白瓷板上仔细挑出 5—6 只雄蝇，移到上述杂交瓶中。(3) 贴好标签：

(正交)	
P: +/+ × vg/vg	
(♀)	(♂)
月	日
姓名	

杂交瓶放到 23℃ 温箱中培养。
反交与正交方法一样。

3. 7—8 天后，倒去亲本果蝇。

4. 再过 4—5 天，F₁ 成蝇出现，观察 F₁ 翅膀，连续检查 2—3 天。

5. 麻醉 F₁ 成蝇，移出 5—6 对果蝇，放到另一培养瓶内。这里雌蝇无须处女蝇，在 23℃ 温箱中培养（反交同样做一瓶）。

6. 7—8 天后，移去 F₁ 亲本。

7. 再过 4—5 天，F₂ 成蝇出现，开始观察。连续统计 7—8 天。被统计过的果蝇放到死蝇盛留器中。

实验结果

填写下列表格：

F ₁				
统计日期	观察结果		长翅♀ × 残翅♂	残翅♀ × 长翅♂
	长翅数	残翅数	长翅数	残翅数
合计				

F ₂				
统计日期	观察结果		长翅♀ × 残翅♂	残翅♀ × 长翅♂
	长翅数	残翅数	长翅数	残翅数
合计				

χ ² 测验			
	长翅 (+)	残翅 (vg)	合计
	(正交、反交合并)	(正交、反交合并)	
实验观察数 (O)			
预期数 (3:1) (C)			
偏差 (O - C)			
$\frac{(O - C)^2}{C}$			
自由度 = n - 1 = 3 - 1 = 2 $\chi^2 = \sum \frac{(O - C)^2}{C} = P_{0.05} =$			

(亦可仿 江绍慧)

(三) 果蝇的唾腺染色体

实验原理和目的

果蝇幼虫期的唾腺细胞核非常大，唾腺染色体比其它细胞的染色体大 200 多倍。且总是处于前期状态，两条同源染色体间有差别时，很容易看出来。例如：当一条染色体缺失一个片段时，它的同源染色体在这一段不能配对，就会拱起来，形成一个弧状结构。此外，重复、倒位、易位等染色体畸变也可以看到，所以唾腺染色体是研究染色体畸变的好材料。

唾腺染色体上有明显的横纹 (band)，其相对大小和空间排列是恒定的，可以作为识别唾腺染色体的标志。制备唾腺染色体标本，可用果蝇 3 龄幼虫，越肥越好（温度在 19℃ 左右，能使幼虫长得肥而大）。果蝇的幼虫呈半透明状，有黑点的一端是头部，黑点是它的神经节。唾腺在神经节下面，可在解剖镜下将它拉出，

唾腺呈两个半透明的棒状物，中间有一根细丝相连(图 3-1)。



图 3-1 果蝇的幼虫(唾腺在神经节下面)

通过本实验，练习果蝇幼虫解剖技术以及唾腺染色体制片法。

实验准备

1. 用具：双筒解剖镜，显微镜，镊子，解剖针，载玻片，盖玻片，培养皿。(下转第 5 页)

指根区外侧, C线(33.3%)走向小指根区外侧, D线(40.2%)走向第4指间区。其它指三叉主线走向占比例均小。可见中国人正常主线式与欧美人^[6]和日本人都不相同。A线在拇指球部区者, 本文仅有两例女性, 占0.5%, 而Preus统计占11%。

(五) 掌褶型分析 750例中正常型占78.60%, 通贯型4.87%, 桥贯型11.40%, 叉贯型2.73%, 中贯型2.40%。在临床诊断时, 典型通贯型, 特别是双手通贯型有重要意义。本文双通贯手14例, 占1.87%。男性的通贯型、桥贯型和叉贯型均大于女性, 而女性的中贯型则大于男性。

(六) 掌部花纹类型分析 在1000只手掌中, T/I₁区的真实花纹出现率为11.7%(男13.4%, 女10.0%)。男女双手之间有明显差异, 左14.8%, 右8.6%。双手相同真实花纹者占3.9%, 相同非真实花纹者占85.2%。真实花纹中以L^p最多, L^d次之。

I₂-I₄指间区真实花纹出现率为69.9%(男为70.4%, 女69.4%), 其中在两个指间区同时有花纹者占4.4%, 在三个指间区同时出现者占0.3%; 仅在男性左手I₄区有一个单独的斗型纹; 箕斗纹同时出现者3个掌, 其余都是L^d。L^d

以I₄区出现率最高, 占76.5%, 其中3.9%为并列双L^d纹。双手I₄均有L^d者占86.4%, 比单手者多。男女之间及左右手之间差异不显著。此外, 还发现一男性右手近腕褶处有一个罕见的斗型纹。

小指球部真实花纹占18.7%(男17.8%, 女19.6%)。男女之间及左右手之间差异均不显著。双手为相同真实花纹者占17.2%, 弓型相同者占80.2%, 未见帐弓相同者。

手掌花纹类型是一种群体遗传性状, 有无种族差异值得注意。本文与Preus统计比较, 无明显种族差异。

参 考 文 献

- [1] 李崇高等: 1979. 630例正常学龄儿童手的皮纹学观察. 遗传, 1(4):7.
- [2] 苏应元: 1979. 皮纹畸形与先天畸形. 遗传, 1(1): 21.
- [3] Yunis, J. J.: 1974. *Human Chromosome Methodology*. 2nd, Acad. Press, New York, p 281.
- [4] Nora, J. J. et al.: 1974. *Medical Genetics*. Lea and Febiger. p. 288—289.
- [5] Forbes, A. P.: 1964. *New Engl. J. Med.*, 270: 1268.
- [6] Barnett, H. L.: 1972. *Pediatrics*. 15th. Appleton-century-crofts. p. 313.
- [7] Preus, M. et al.: 1972. *Amer. J. Dis. Child.*, 124: 933.
- [8] Miller, J. R. et al.: 1966. *J. Pediat.*, 69: 302.

(上接第42页)

2. 药品: 醋酸洋红或醋酸地衣红, 冰醋酸, 生理盐水(0.7% NaCl), 1NHCl, 蒸馏水, 无水乙醇。

实验步骤

1. 把载玻片放于双筒镜下, 其上滴一滴生理盐水。取幼虫置于生理盐水中, 两手各握一枚解剖针, 以针压住幼虫末端1/3处, 固定幼虫, 另一针揪住幼虫头部, 用力向前拉, 把头部身体拉开, 腺体即随之而出。低倍显微镜下检查, 腺体由二层规则排列的细胞组成。腺体拉出后, 用针剔除脂肪。

2. 在载玻片上把幼虫其他部分除去, 并用吸水纸吸去生理盐水, 而后在腺体上滴一滴1NHCl, 浸2—3分钟。HCl的作用是使组织疏松, 易于压片和获得良好图象。

3. 吸去HCl, 用蒸馏水轻轻冲洗腺体。

4. 吸去蒸馏水, 加一滴醋酸洋红(也可用醋酸地衣红)染色30分钟。

5. 用镊子加上盖玻片, 压片。显微镜下观察。

6. 好的片子可以制成永久片。把片子依次移入含有下列溶液的培养皿中: 固定液(冰醋酸:酒精=1:3, 在固定液中的时间以盖玻片脱下来为准)——纯酒精 $\xrightarrow{1\text{分钟}}$ 纯酒精 $\xrightarrow{1\text{分钟}}$ 加伏巴拉尔(Euparal)一滴封片(或纯酒精脱水后, 经二甲苯 $\xrightarrow{5\text{分钟}}$ 二甲苯 $\xrightarrow{5\text{分钟}}$ 加拿大树胶封片)。

7. 待封胶干后观察, 贴标签。

实验结果 绘制你所看到的图象。

(乔守怡 江绍慧)