

# 提高微生物遗传学实验课教学效果的体会

金建玲 鲍晓明 邹文 刘相梅

(山东大学微生物系, 济南 250100)

微生物遗传学是一门实验性很强的课程, 提高实验课教学效果, 是提高微生物遗传学教学质量的一个重要环节。几年来, 对此进行了探索, 积累了一些粗浅经验, 供同行们参考并请赐教。

为提高实验效果, 主要从以下几方面抓起。

## 1. 实验内容的选择<sup>[1-3]</sup>

随着分子生物学和分子遗传学的迅速发展, 微生物遗传学及其实验课内容不断扩展, 而课时有限, 选择合适的实验内容很有必要。我们选择实验内容遵循的原则是: ①保持实验课自身的独立性和系统性。基本实验内容应体现微生物遗传的基本理论, 涉及微生物的主要种类及达到基本实验技能的训练。②与课程内容的衔接与深化。③有助于提高学生实验技能和分析处理问题的能力。

对于微生物专业的学生, 我们选择的实验, 理论上涉及遗传物质基础——DNA 的性质(质粒 DNA 的提取)、基因概念(互补测验); 基因突变(突变型的诱变与筛选); 杂交与遗传重组分析(转导、转化、酵母菌杂交); 核外遗传(酵母呼吸缺陷型的诱变筛选、质粒 DNA 的提取)。菌种类别包括噬菌体、细菌、真菌。技术上覆盖微生物遗传学研究的基本技术。具体分析如下:

**1.1 质粒 DNA 的提取、检测及转化实验:** 质粒 DNA 的提取方案(热碱法)是依据超螺旋的质粒 DNA 对碱的抗性比细菌染色体 DNA 的抗性强而设计的。琼脂糖电泳检测结果表明: 超螺旋、线状和开环的质粒 DNA 电泳迁移率不同。以上两点可加深学生对“DNA 结构与其理化性质的关系”的理解。以抗生素的抗性

作为转化子的选择标记, 促使学生搞清质粒对抗生素的抗性机理。转化实验本身, 既是细菌遗传分析的手段, 也是基因工程的必需技术。

**1.2 互补测验:** 通过细菌接合使待测基因在同一细胞中处于杂合状态而不进行基因重组, 从而确定基因功能是否互补。通过对实验结果的分析, 既加深“基因是一个功能单位(顺反子)”的理解, 又区别于一般细菌接合导致遗传重组的过程: 因为互补测验的受体菌是  $recA^-$ , 而细菌接合是  $recA^+$ 。

**1.3 突变型的诱变与筛选实验:** 基因突变的频率, 诱变剂作用机理、DNA 损伤修复、表型延迟现象等一系列基本理论, 在实验步骤中得到具体体现。技术上包括差别杀菌、选择培养、生长谱鉴定营养需求、诱变等多种常规技术。

**1.4  $\lambda$  噬菌体的局限性转导实验:** 溶源菌经紫外线诱导、裂解、得到噬菌体裂解液(含转导噬菌体), 转导受体菌, 计数转导子数和转导频率。理论上, 学生通过实验可深入理解温和噬菌体溶源—裂解途径的转变及转导噬菌体的形成机理。技术上学生可掌握噬菌体效价测定技术、双层平板技术、转导技术。

**1.5 酵母菌杂交实验:** 使学生深入理解酵母菌有性生殖和无性生殖交替的生活史; 理解有性杂交与减数分裂所需的遗传和生理条件; 掌握遗传分析的不同方法。培养学生熟练掌握酵母菌生孢技术、子囊孢子分离技术, 基因标记的测定技术等。

**1.6 酵母呼吸缺陷型诱变筛选实验:** 用溴化乙锭诱变酵母菌, 可以得到高频率(>90%)的呼吸缺陷型—多由线粒体 DNA 突变而来。检出呼吸

缺陷型的方法,都是依据野生型具有正常的呼吸作用而突变型则没有。此实验表明:线粒体DNA远远高于染色体DNA的突变率,两者诱变行为不同。鉴定核基因突变的呼吸缺陷型依据孟德尔式遗传,线粒体基因突变的呼吸缺陷型表现不分离现象,两者遗传规律不同。

## 2. 实验技能的培养

实验课的主要目的之一在于培养学生的实验技能,提高独立工作能力。实验内容的选择,已体现了覆盖常规的基本实验技术。在实验的组织和实施过程中,我们采取放开的政策,实验自始至终全由学生自己动手,教师只负责原理解释及解决实验过程中出现的问题。实验全过程包括以下环节:①预习实验,写出实验过程的预习报告,确定实验用品及数量。②准备实验,配制常规试剂、培养基及其它实验用品,灭菌。③实验过程的具体操作。④实验结果分析,写出实验报告。此过程中,我们主要抓以下几点:

预习实验,学生预习实验不充分,对实验过程了解不深,常会出现实验用品准备不足的现象,如培养基不够用,无菌吸管、试管、离心管等数量不足,导致实验中间再次准备、灭菌、预习实验认真,实验中出差错的机率也减少,而且能得到较好的实验结果。同时,还可克服学生的依赖心理(其他实验皆为老师准备实验用品)。

实验过程中,要注意培养学生的规范化操作,提高独立工作能力。例如,从斜面移菌种到三角瓶、从试管移菌液至平皿中,原需两人协作完成,经训练独立操作,只需一人即可完成。注意纠正学生不规范的操作,使学生正确地熟练掌握各种常规技术。在实验课结束后,学生们一般都能具备独立开展常规实验的能力,为独立完成毕业论文实验打下了基础。

此外,在实验过程中注意改进实验方法。例如,酵母菌子囊孢子的观察,常规方法是用孔雀绿-番红染色,此法只能区分生孢细胞与非生孢细胞,不能观察子囊孢子形成的中间过程。我们改用美蓝染色,用水浸片法进行观察,操作简便,还可以看到第一次减数分裂产物、第二次减数分裂产物(原孢子阶段)及成熟的子囊

孢子<sup>[4]</sup>。实验效果明显提高;加深了学生对酵母菌有性生殖过程的了解;教育学生树立既遵循前人经验又需改革创新的思想。

## 3. 实验结果的分析

获得预期结果,可让学生分析成功的关键和体会。未得到预期结果,可分析实验失败的原因并加以验证。

例1,  $\lambda$ 噬菌体的局限性转导实验,利用 *E. coli* k12( $\lambda$ ) gal<sup>+</sup>菌诱导释放的  $\lambda$ 噬菌体侵染 *E. coli* k12(S) gal<sup>-</sup>菌,在EMB平板上检测转导子,在LB平板上测  $\lambda$ 噬菌体效价,根据“转导子数/ $\lambda$ 噬菌体效价”得到转导频率。正常的转导频率约为  $10^{-6}$ 。学生实测结果往往高于此值,甚至达  $10^{-3}$ 。从转导频率计算公式分析结果偏高的原因,或者是转导子数测定偏高,或者是  $\lambda$ 噬菌体效价测定偏低。综合全班十几个实验小组的结果,发现“转导子数/毫升噬菌体裂解液”相差不大,由此判断第一个原因对转导频率的影响不大。重复实验的结果证实了这一点。那么,影响转导频率的因素,主要是  $\lambda$ 噬菌体效价测定偏低。这又有两个原因:其一是敏感菌不纯(夹杂部分溶源菌),其二是实验误差。为此,更换敏感菌,用 *E. coli* B(S)来测  $\lambda$ 噬菌体的效价,所测效价值提高。用此效价值计算所得的转导频率,与预期值相符。至此,断定敏感菌不纯是影响转导频率的主要原因。然后我们又组织学生自行设计,重新分离出敏感菌 *E. coli* k12(S) gal<sup>-</sup>。

例2,质粒DNA(pUC9A<sub>1</sub><sup>r</sup>)对 *E. coli* JM83的转化实验,在含氨苄青霉素的培养基上长出的抗性菌落,即为转化子。如果培养时间延长,在转化子周围出现一些微小的次生菌落。让学生分析次生菌落形成原因,在于转化子产生的 $\beta$ -内酰胺酶(周质酶)<sup>[5]</sup>,将菌落周围的氨苄青霉素降解所致,次生菌落并非真正的抗性菌。实验验证如下:分别挑取转化子大菌落和次生小菌落上的菌体,重新在含氨苄青霉素的平板上划线、培养,转化子大菌落的菌株(A<sub>p</sub><sup>r</sup>)能生长,而次生小菌落菌株(A<sub>p</sub><sup>s</sup>)不能生

(下转第175页)

(上接第 187 页)

长。这样,证实分析结果是正确的。

总之,通过对实验结果的分析 and 验证,培养了学生分析和解决问题的能力,又提高了实验兴趣和自主性,得到了良好的教学效果。

**致谢** 本人在教学工作和本文的写作过程中,得到高东老师的悉心指导,特此致谢。

## 参 考 文 献

- [1] 北京大学生物系编.遗传学实验方法和技术,北京:高等教育出版社,1984,4,17,35.
- [2] 王岳五,陈宁编译.微生物遗传学与实验技术,天津:南开大学出版社,1989,88~92,183~187.
- [3] 贾盘兴,蔡金科,等.微生物遗传学实验技术,北京:科学出版社,1992,277~287.
- [4] 金建玲.微生物学通报,1993,20(5):313~315.
- [5] 彭秀玲,袁汉英.基因工程实验技术,长沙:湖南科学技术出版社,1987,189~190.