

邱信芳 汪松延 李钧伦\*\* 钱汝红 项 维

(复旦大学遗传学研究所)

1970年发现染色体分带技术后,1971年召开的国际性巴黎会议上,为G、Q、C和R带四种分带技术建立了命名法。分带技术的广泛应用,大大加速了染色体研究的进展。

本文所介绍的常用三种带型——G、R和C带的显带技术,是我们实验室所采用的效果较好的方法。

### 一、血细胞培养和制备

同步化外周血培养<sup>[1]</sup>:外周血培养<sup>[2]</sup>按常规操作。细胞培养至72小时,加入胸腺嘧啶核苷,最终浓度为每毫升0.3毫克。继续培养17小时。用Hanks液清洗细胞2次后,加入新鲜的培养基其中仍需含有PHA。置37℃温箱中再培养5小时后加入秋水仙素,最终浓度是每毫升0.07微克,在37℃中处理2小时,常规染色体制片。镜检时,可看到很多分散满意的分裂相。

### 二、G带<sup>[3]</sup>

试剂:

① 固定液:3份甲醇,1份醋酸(现配现用)。

② 磷酸缓冲液:溶液A——0.1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,溶液B——0.1M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,pH6.8为49.1毫升A液加50.9毫升B液,pH7.0为61.1毫升A液加38.9毫升B液。

③ ICN液:pH7.0,NaCl 0.8克,KCl 0.02克,Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 0.3克,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.02克,蒸馏水100毫升。

④ GKN液:pH7.0,葡萄糖0.1克,KCl 0.04克,NaCl 0.8克,蒸馏水90毫升。

⑤ Giemsa染色液:pH6.8,20毫升0.1M磷酸缓冲液中加1毫升Giemsa原液。

⑥ 0.25%胰酶溶液:胰蛋白酶250毫克

溶于100毫升ICN液中。

### 2. 显带步骤:

① 前述方法所制标本以5%Giemsa液(蒸馏水稀释)染色5分钟后,放入蒸馏水中漂洗。这种染过色的标本至少可保存一周。

② 制备G带前一天,将染过色的标本用固定液脱色5分钟,置60℃烘箱中16—24小时。

③ 将烘过的标本置预热到37℃的0.25%胰酶溶液中1—2分钟后,立即放入GKN液中漂洗15秒钟。

④ 然后用Giemsa液染色25分钟。蒸馏水冲洗空气干燥。镜检(见图1a)。

### 3. 注意事项:

① 片子上的染色体分裂相中,不可有明显的细胞质。

② 胰蛋白酶浓度不变的情况下,处理时间应随气温高低而有所不同。一般规律是气温高处理时间则应适当缩短。同时,标本存放的时间越长,在胰酶液中处理的时间也应越长,太新鲜的标本,染色体会出现毛茸现象。

③ 胰酶溶液经多次使用后,酶活力会降低而影响分带效果。故酶液宜新鲜配制。

### 三、R带<sup>[4]</sup>

#### 1. 试剂:

① 磷酸盐缓冲液:溶液A——1/15M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,溶液B——1/15M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>。将溶液A1000毫升和溶液B900毫升混合,pH为6.8。

② Earles液:溶液A——NaCl 6.8克,KCl 0.4克,NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.14克,去离子水800毫升。溶液B——无水CaCl<sub>2</sub> 0.2克,

\* 本文图解承潘家瑾同志摄影特此致谢。

\*\* 广西壮族自治区卫生防疫站。

MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.17 克, 去离子水 200 毫升。

将溶液 A 倒入溶液 B 中混合后 pH 为 6.5。

③ Hoechst-33258 原液: Hoechst-33258 2 毫克, 去离子水 4 毫升。

Hoechst 工作液: 200 毫升 1/15M 磷酸盐缓冲液中加 0.75 毫升原液。

④ 吖啶橙(Acridine orange)

a. 磷酸缓冲液: 溶液 A —— 0.07 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O, 溶液 B —— 0.07 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 将溶液 A 32 毫升和溶液 B 68 毫升混合后, pH 为 6.5。

b. 吖啶橙工作液: 0.1 克吖啶橙溶于 100 毫升 0.07M 的磷酸缓冲液中。

⑤ Giemsa 染液: 20 毫升 1/15M 磷酸缓冲液中加 0.5 毫升 Giemsa 液。

2. 显带步骤:

① 制备标本: 前述同步化外周血培养过程中, 在 Hanks 液清洗细胞后, 加入新鲜培养液的同时, 再加 BudR (5-溴脱氧尿嘧啶核苷) 最终浓度为每毫升 10 微克。然后按同步化培养处理制片。

② 所制标本在 Hoechst 工作液中浸染 20 分钟或在吖啶橙工作液中浸染 5 分钟, 再用磷酸缓冲液冲洗二次。

③ 标本上铺满磷酸缓冲液, 放在 45°C 铁板上 8W 紫外灯距离 5 厘米照射 15—20 分钟后, 蒸馏水洗二次。

④ 86°C 水浴锅中的 Earles 液中处理 1—2 分钟后, 蒸馏水洗二次。

⑤ Giemsa 染色 5—10 分钟后镜检(见图 1b)。

3. 注意事项:

标本宜新鲜, 一般制备标本三天后应进行显带。紫外灯照射时间越长, 在 Earles 液中处理时间就应越短。

四、C 带<sup>[5]</sup>

1. 试剂:

① 5% Ba(OH)<sub>2</sub> 水溶液: Ba(OH)<sub>2</sub> 5 克, 蒸馏水 100 毫升。

② 2×SSC 溶液: NaCl 1.75 克, 柠檬酸三钠 0.082 克, 蒸馏水 100 毫升。

③ Giemsa 染色液(1:10)。

2. 显带步骤:

① 前述同步化法制备染色体标本在 0.2N 盐酸液中室温下处理 1 小时后水洗。

② 将标本浸于 50°C 的 5% Ba(OH)<sub>2</sub> 液中 10 秒—几分钟后水洗。

③ 在 60°C 的 2×SSC 液中处理 1 小时后水洗。

④ 用 (1:10) 的 Giemsa 染色 10—20 分钟。水洗, 空气干燥镜检(见图 1c)。

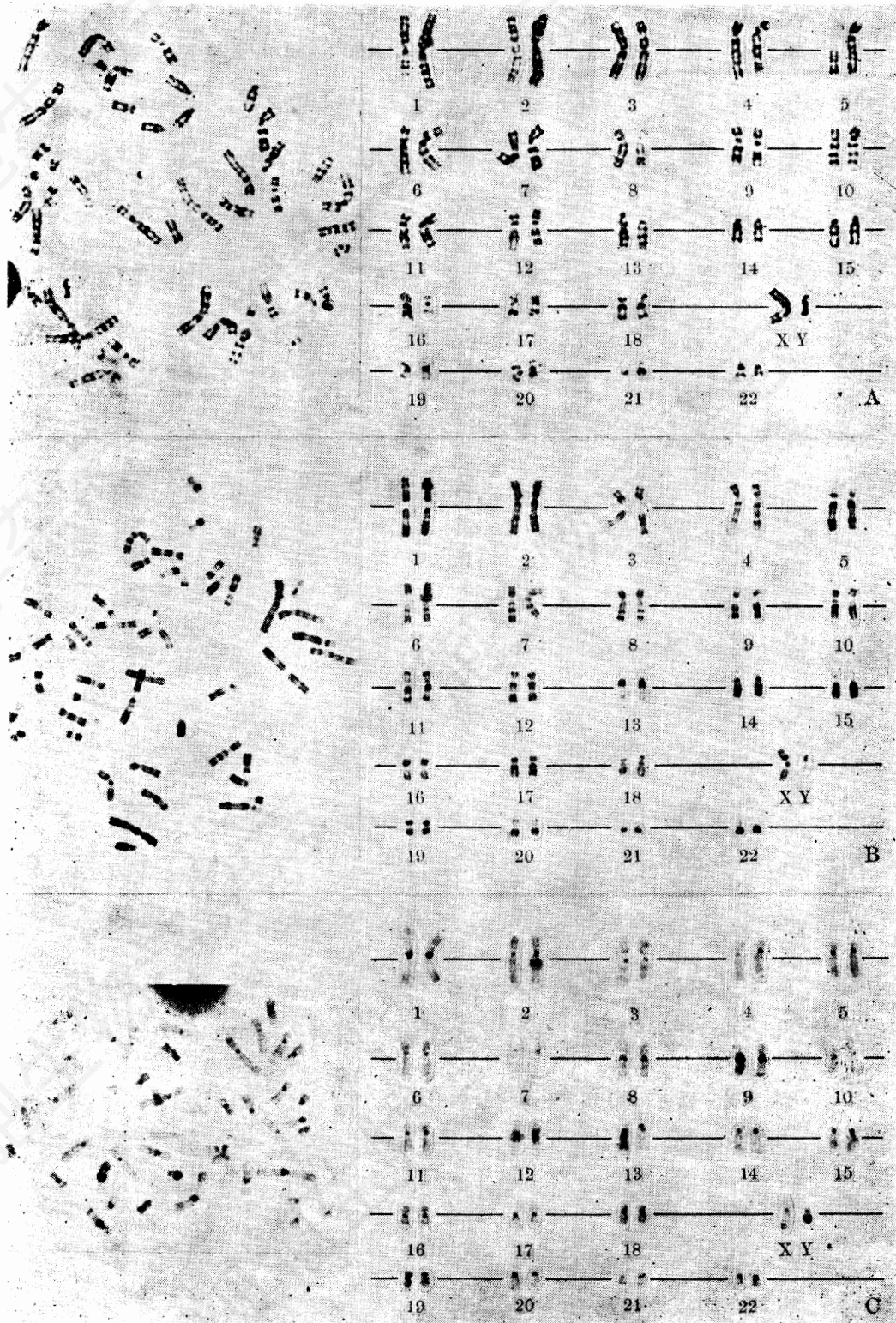
3. 注意事项:

c 带法的特点是专门显示着丝粒区域异染色质部位、次级缢痕部位及 Y 染色体。但不能对每个染色体加以鉴别。显带步骤中盐酸处理有时可省去, 但效果不如用盐酸处理的好。另外 Ba(OH)<sub>2</sub> 处理时间应随气温高低有所不同, 气温高处理时间短。标本存放时间的长短不影响显带效果。

## 参 考 文 献

- [1] 邱信芳等(1981) 遗传学报(即将发表)。
- [2] 项维等(1963) 科学通报 7: 61-62.
- [3] Özkinay, C. et al. 1979. Hereditas, 90 (1): 1.
- [4] Dutrillaux, B. et al. 1980. Cytogenet. Cell Genet. 27: 45-51.
- [5] Sumner, A. T. et al. 1972. Exptl. Cell Res. 75: 304-306.
- [6] David, E., 1978. Ann. Rev. Genet. 12: 25-46.
- [7] Franke, U. et al. 1978. Human Genet. 45: 137-165.
- [8] 田中信德编(1978) 新しい细胞遗传学 p 75-84.

邱信芳：图版 I



人体染色体分带核型及组型比较  
a. G带 b. R带 c. C带