DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.04.017

放线菌素D诱导羊水细胞染色体高分辨G显带

何祖国 姚宏

(第三附属医院 妇产科)

近代染色体技术的进展，为增加带的分辨力和显带分析的精确性提供了有效的工具。我们在血、羊水细胞染色体G显带和外周血染色体高分辨显带的基础上，于1983年7月在没有见到国内外羊水高分辨染色体制作的情况下，仿效Yu等(1981)[1]放线菌素D诱导人类成纤维细胞染色体高分辨显带的方法，对羊水细胞培养收获前一小时加入最终浓度2μg/ml的放线菌素D及秋水仙素0.07μg/ml，成功的获得了羊水细胞染色体高分辨显带。现已完成27例。

材料与方法

羊水来自中期孕引产及中期孕产前诊断，离心去上清液保留于消毒瓶中，然后放置冰箱内备换液时用。瓶底留约4 ml羊水细胞混悬液，分别吸入四个羊水培养瓶内，加培养基3 ml(F_{10} 9 ml+胎牛血清3 ml用F_{10}或胎牛血清调pH至6.8～6.9) 置37℃恒温箱内静置培养，6～7天换液(F_{10} 7.5ml+胎牛血清2.5ml+自身羊水2 ml)。8～9天小园亮细胞出现较多，也就是细胞分裂最活跃时，同时加入放线菌素D 2μg/ml和秋水仙素0.07μg/ml处理一小时。

细胞收获 用原液轻轻吹打至亮细胞全部吹打脱落为为止，倒入离心管内，培养瓶用少量生理盐水冲洗，冲洗液仍倒入离心管内，离心去上清液后加入3～4 ml预温至37℃的低渗液（等量的0.4%枸橼酸钠与0.4%氯化钾混合液)。置37℃水浴箱中低渗8分钟。继后加入5～6滴固定液(甲醇:冰醋酸=3:1)，混匀置冰箱预固定15分钟，离心去上清液，加入4 ml固定液混匀后置冰箱过夜。滴片前更换固定液3次，每次固定的细胞保存于冰箱中15分钟。滴片时冰玻片约倾斜25～30°，不吹，置37℃培养箱保存2天。

常规吉姆萨－胰酶G显带

1. 消化液的配制：胰酶（新疆产品）25mg溶于25ml 0.02%EDTA PBS液和25ml生理盐水的混合液，用1当量的氢氧化钠溶液调pH至7.2，置37℃水溶箱内。

2. 待胰酶溶解，温度稳定，投入标本片，轻轻摇动，消化18～25秒钟，用PBS液和生理盐水各洗一次，置染色板上，用1:9的吉姆萨染液染色8～10分钟，流水冲洗，气干镜检计数，并找形态、分散好的核型照像分析。

结果

已作27例，每例标本计数500个裸体核细胞计算出平均分裂指数为6.71%。27例中染色体分裂相数最多者为1770个，最少者为29个，总分裂相为6797个，平均每例标本染色体分裂相数为251.74个。分裂相中，早中期以前的分裂相最多占96.84%，最少者为46.99%，平均81.62%。同时每例标本各找出染色体形态分散好的，带纹清晰的早中期、前中期及前期各一个核型照像剪贴分析(图1)。

讨论

1. 加入放线菌素D，是在G_2期当染色体接近有丝分裂时干扰它们的正常浓缩，结果产生许多未高度浓缩的伸长的染色体，使显带分辨力显著增加。在标本的制作过程中发现，如AMD剂量加大或加入后延至1.5小时制片染色体出现了损伤和断裂。如先加

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

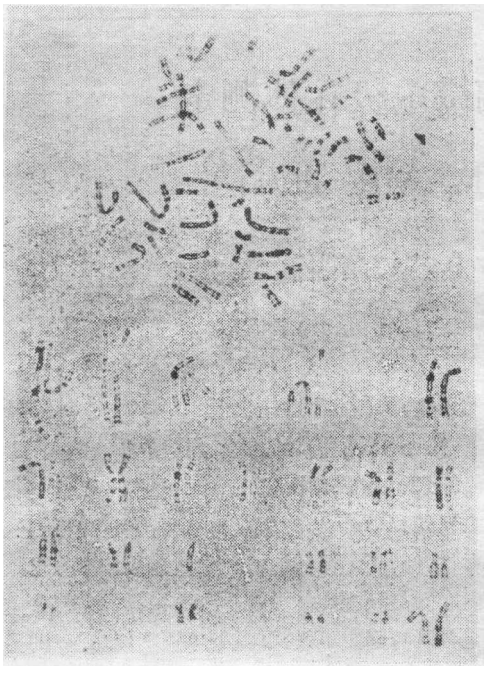


图1 羊水细胞高分辨染色体及其核型

AMD10～15分钟后再加秋水仙素仍1小时制片，分裂相明显减少，故我们认为AMD的最终浓度2 μg/ml作用时间1小时为好。

2．分裂指数的多少及染色体总数的多少，与培养细胞生长是否旺盛及加药终止时间的掌握有很大的关系，一般在生长最活跃小圆亮细胞出现稍多时加药终止为好，早中期以前的染色体较多。细胞出现老化时加药终止，染色体形态不好，易断裂，两臂多分开，分带带纹不清晰。

3．羊水高分辨染色体的制备过程中，要使染色体分散铺平较为困难，Hoo等(1983)[2]提出可以从数个分裂相中提出涉及双亲染色体并排的特定染色体。我们采用原液轻轻吹打(不用胰酶消化)直至亮细胞脱落为止，以后的过程仿效Yu等细胞收获的过程，冰箱4℃过夜，第二天更换固定液三次，每次固定的细胞保持在4℃15分钟后滴片，染色体相对较为分散平展，染色体显带好。

4．本方法所获的前中期染色体的400，550，和850条的带纹与ISCN（1981）高分辨模式图一致，其带纹达850条以上的前期染色体欠分散，带纹欠清晰，有待以后在制片过程中改进。

这一方法简便，又增加了可分析的带纹数目，故对胎儿的染色体分析是有用的。

参 考 文 献

1. Yu RL,et al, Cytogenet Cell Genet 1981; 31:111～114
2. HOO JJ, et al, Prenatal Diagnosis 1983; 3:265～267
3. Shan JV, et al, Prenatal Diagnosis 1983; 3:253～256

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net