

文章编号: 1000-7423(2000)-04-0249-01

## 人源细粒棘球蚴染色体 G-和 C-带初步分析\*

(1 兰州军区乌鲁木齐总医院, 乌鲁木齐 830000; 2 新疆畜牧科学院, 乌鲁木齐 830000; 3 解放军农牧大学, 长春 130062) 陆家海<sup>1</sup>\*\* 冯德元<sup>1</sup> 郭中敏<sup>2</sup> 李德昌<sup>1</sup> 郭国<sup>2</sup>

中图分类号: R383.33

文献标识码: A

人源细粒棘球蚴染色体数目初步测定为 14~18 条<sup>[1]</sup>。本实验进一步对染色体 G-带和 C-带作了研究。

## 1 材料与方法

1.1 培养材料的制备 临床手术确诊的肝包虫(细粒棘球蚴)病患者, 女性, 包裹直径为 10 cm, 按参考文献 [2] 制备生发层细胞和原头节培养材料用于培养, 并制备染色体标本。

1.2 G-带的制备方法 将干燥的未染色的染色体片置于磷酸缓冲液 (PB) 中湿润, 60℃ 温育 10 min; 空气中自然干燥, 每张片滴加 1 ml 胰蛋白酶姬姆萨液染色, 均匀铺满整个载玻片, 室温放置 15 min 后, 用自来水冲洗, 去离子水漂洗, 自然干燥, 中性树脂胶 (DPX) 封片, 油镜下观察并摄影。

胰蛋白酶 姬姆萨液含有: 1% 胰蛋白酶液 (1:250) 0.55 ml, PB 6.5 ml, 甲醇 2.5 ml, 姬姆萨液 0.22 ml。

1.3 染色体中同时产生 G-带和 C-带的方法 用 5% 姬姆萨液染色按常规方法将染色体片染色 5 min, 自来水细流冲洗数秒, 阴干; 在甲醇/冰醋酸 (3/1) 中褪色 5 min 后, 依次置于: 二甲苯 5 min, 换 2 次→二甲苯/无水乙醇 (1/1) 5 min→无水乙醇 5 min→甲醇/冰醋酸 (3/1) 5 min, 使染色体褪色。再将已褪色的染色体片置 60℃ 温箱中温育 24 h, 然后放入 0.25% 胰酶-磷酸缓冲液中处理 2~4 min, 在葡萄糖氧化钠氯化钾平衡盐溶液 (GNK) 溶液中漂洗 15 s; 姬姆萨液 (1:10) 染色 30 min; 自来水冲洗, 空气中干燥, DPX 封片, 油镜下观察, 并摄影。

## 2 结果

2.1 染色体计数及核型分析 油镜下见比较清晰的染色体分裂相 61 个, 染色体数分布见表 1。染色体分散良好, 核型清晰, 有 18 条染色体占明显优势, 其核型数为 28 个, 每一核型有 1 对大型染色体、3 对中型及 5 对小型染色体。

表 1 人源细粒棘球蚴染色体数分布

染色体数	核型数	%
20	1	1.6393
18	28	45.9016
17	6	9.8361
16	6	9.8361
15	3	4.9180
14	6	9.8361
13	3	4.9180
12	4	6.5574
11	3	4.9180
5	1	1.6393

2.2 G-带及 C-带 1 对大型染色体 G 带较清晰, 有 2 个明带, 3 个暗带, 其余染色体未能见到明暗相间的 G 带; 两条大型染色体为亚中间着丝粒, 其余为端着丝粒染色体 (图 1)。C 带表现为染色体上出现浓染的 C 斑。

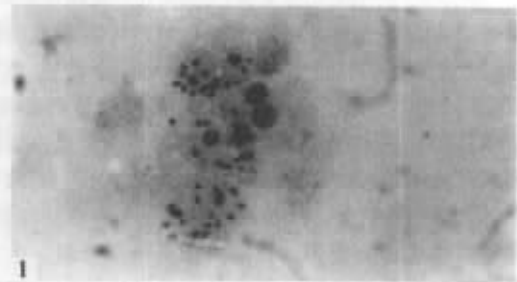


图 1 人源细粒棘球蚴染色体 G-及 C-带

## 3 讨论

染色体分带技术是根据染色体本身结构状态的差异, 用不同的染色方法, 使其产生带状的明暗区域。即用不同的染料和处理方法, 可显示出不同的带谱, 形成鲜明的染色体个体性。1968 年, 瑞典 Caspersen 等<sup>[3]</sup>首先提出了染色体荧光分带技术, 以后分带技术相继出现, 是用于鉴别单个染色体和染色体组的一种手段。每个种的染色体区别、染色体组型的建立和染色体模式图的绘制以及亲缘关系、远缘杂交与染色体工程中的细胞学鉴定等均具有广阔前景。而在棘球蚴的染色体研究中, 尚未见有关分带研究的报道。G 带是用姬姆萨液染色显示出来的带谱, 而 C 带是着丝粒异染色质带, 是基因组 DNA 中高度重复顺序 DNA 部位。然而, 随着对棘球蚴及其疾病研究的进一步深入, 染色体及其分带研究仍相当重要。尤其在种属分类鉴别中更具有重要意义。

本试验测定了人源细粒棘球蚴染色体, 初步探讨了 G-带与 C-带, 这将为棘球蚴遗传分类研究提供参考。本实验采用不同方法制备 G-带和同时显示 G-带及 C-带的方法, 结果较为满意, 但 these 方法尚需进一步优化程序和稳定条件。尤其是同时显示 C-带和 G-带的方法。掌握胰酶适宜的处理时间、浓度和染色体的片龄十分关键。1 wk 的片龄, 胰酶处理 2 min, 大多数中期分裂相中就可产生清晰的 G-带, 处理时间延长, G-带呈进行性消失而 C-带出现, 处理 2~3 min 才能同时显示较为清晰的 G-带和 C-带, 如超过 4 min 则两种带型均破坏。

如何获得分裂相多且染色体分散良好的标本片, 有关技术仍需继续摸索。在染色体制备技术成熟的基础上, 开展染色体分带研究, 可望从遗传学上阐明棘球蚴是否存在不同地理株。

## 参 考 文 献

- [1] 陆家海, 孔长青, 郭中敏, 等. 人源细粒棘球蚴染色体测定. 中国人兽共患病杂志, 1998, 14 (5): 73-74.
- [2] 陆家海, 程维兴, 郭中敏, 等. 细粒棘球蚴生发细胞体外培养的实验观察. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1997, 15: 392-394.
- [3] 余新柄主编. 现代应用寄生虫学. 北京: 中国医药科技出版社, 1993: 5-35.

\* 军队医药卫生青年基金资助课题 (No. 96Q023)

\*\* 现单位: 中山医科大学基础医学博士后流动站, 广州 510089

收稿日期: 1999-02-30

(编辑: 夏天)