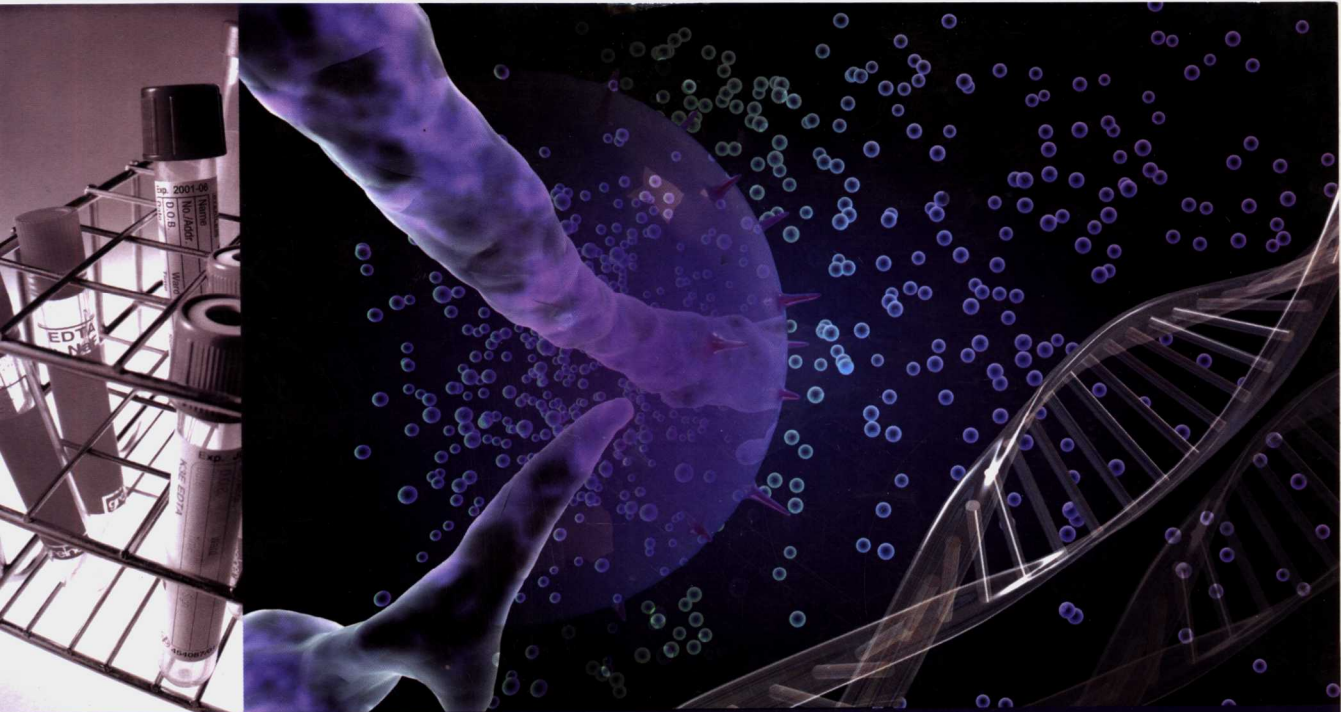




高等医药院校教材★基础医学实验系列教材

供基础、临床、口腔、预防、影像、护理等专业用

医学遗传学实验

主 编/李 光 副主编/刘 云 李 莉 郑 红 樊 红



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

高等医药院校教材
基础医学实验系列教材
供基础、临床、口腔、预防、影像、护理等专业用

医学遗传学实验

主 编 李 光

副主编 刘 云 李 莉 郑 红 樊 红

编 者 (按姓氏笔画为序)

宁志芬 (天津医科大学)	宋士伟 (天津医科大学)
刘 云 (川北医学院)	谷 超 (天津医科大学)
刘云霞 (天津医科大学)	郑 红 (郑州大学)
刘淑娟 (天津医科大学)	苗绪红 (天津医科大学)
李 光 (天津医科大学)	贺 颖 (郑州大学)
李 莉 (山西医科大学)	赵主江 (东南大学医学院)
李 健 (天津医科大学)	姜余梅 (天津医科大学)
李凤荣 (天津医科大学)	高文和 (天津医科大学)
李克秋 (天津医科大学)	樊 红 (东南大学医学院)

秘 书 苗绪红

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

医学遗传学实验/李光主编. —北京:
人民卫生出版社, 2007. 9
ISBN 978-7-117-09082-7

I. 医… II. 李… III. 医学遗传学-实验-医学院校-
教材 IV. R394-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 119565 号

医学遗传学实验

主 编: 李 光
出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)
地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼
邮 编: 100078
网 址: <http://www.pmph.com>
E - mail: pmph@pmph.com
购书热线: 010-67605754 010-65264830
印 刷: 北京市卫顺印刷厂
经 销: 新华书店
开 本: 787×1092 1/16 印张: 12.25
字 数: 314 千字
版 次: 2007 年 9 月第 1 版 2007 年 9 月第 1 版第 1 次印刷
标准书号: ISBN 978-7-117-09082-7/R·9083
定 价: 25.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394
(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

前言

《医学遗传学实验与课程学习指导》是根据七年制临床、口腔、影像、基础医学专业和五年制临床、口腔、预防、护理、影像、药学、药剂、法学、康复、检验、生物医学工程、生物技术与信息等专业的医学遗传学教学大纲编写而成的，是“基础医学实验学系列教材”之一。

为帮助医学生理解、掌握医学遗传学的基本理论、基本知识和基本技能，根据本系列教材“内容要新一点、深一点、精一点”的编写要求，编者严格把握教材内容的深度和广度，突出思想性、科学性、先进性、启发性和适用性，力争使医学生能在有限时间内掌握学科精髓，建立医学遗传学思维平台，提高运用遗传学规律分析、解决遗传病相关问题的能力，以适应七年制和五年制高等医学教育培养目标的需要。本书可与各种版本的《医学遗传学》教材配套使用。

全书分为两部分：实验和课程学习指导（含习题）。第一部分包括 27 个实验内容：小白鼠精母细胞减数分裂标本的制备和观察；小白鼠骨髓多染性红细胞微核标本的制备和观察；人体外周血淋巴细胞染色体标本的制备和观察；正常人非显带染色体的核型分析；人类染色体核仁形成区银染标本的制备和观察；人类染色体 C 显带技术；人类染色体 G 显带标本的制备和观察；人类染色体 R 显带技术；人类染色体 Q 显带技术；人类染色体 T 显带技术；人类高分辨染色体（HRC）标本的制备和观察；人类外周血淋巴细胞姊妹染色单体互换技术；荧光原位杂交技术；细菌抑制筛选试验；显色反应技术—— FeCl_3 试验；酶活性测定技术；蛋白质含量测定技术；人类的皮肤纹理分析；PTC 尝味实验；人类性状的遗传学分析；遗传病的系谱分析；人基因组 DNA 的提取；DNA 的限制性内切酶酶解技术；DNA 酶解片段的电泳分离技术；DNA 分子杂交技术；致病基因的 RFLP 连锁分析；遗传与优生咨询（计算机多媒体软件应用）。第二部分包括绪论、遗传的物质基础、单基因病、分子病与先天性代谢缺陷、多基因病、染色体病、线粒体病、群体遗传、肿瘤遗传、出生缺陷与先天畸形、临床遗传的学习指导与习题。

在本教材的编写过程中参考了全国高等医学院校教材及一些相关著作，在此向给与我们帮助的编者们表示感谢。

参加本书编写的作者来自河南、江苏、山西、四川、天津五所高等院校的教学一线，他们在总结多年教学经验的基础上，结合各自的教学成果，参考了国际一流杂志、互联网最新进展的资料撰写完成全书。本教材的编写还得到了参编学校的大力支持，在此表示感谢。

天津医科大学生物学教研室的苗绪红老师为全书的编排、图表制作和校对做了大量工作，在此表示感谢。

医学遗传学是一门发展迅速的学科，其教学内容和体系都需要不断改进。由于时间、人力及编者水平和能力有限，本书难免存在不足之处，敬请广大师生和读者批评指正。

李 光

2007 年 4 月·天津

目 录

医学遗传学实验室规则与要求	1
医学遗传学实验的程序和要求	2

实 验

实验一 小鼠精母细胞减数分裂标本的制备和观察	3
实验二 小鼠骨髓多染性红细胞微核标本的制备和观察	7
实验三 人体外周血淋巴细胞染色体标本的制备和观察	10
实验四 正常人非显带染色体的核型分析	14
实验五 人类染色体核仁形成区银染标本的制备和观察	19
实验六 人类染色体 C 显带技术	22
实验七 人类染色体 G 显带标本的制备和观察	25
实验八 人类染色体 R 显带技术	32
实验九 人类染色体 Q 显带技术	34
实验十 人类染色体 T 显带技术	36
实验十一 人类高分辨染色体 (HRC) 标本的制备和观察	37
实验十二 人类外周血淋巴细胞姐妹染色单体互换技术	42
实验十三 荧光原位杂交技术	46
实验十四 细菌抑制筛选实验	49
实验十五 显色反应—— FeCl_3 试验	52
实验十六 酶活力的测定	54
实验十七 蛋白质含量测定技术	56
实验十八 人类的皮肤纹理分析	58
实验十九 苯硫脲尝味试验	63
实验二十 人类单基因遗传性状的观察与分析	66
实验二十一 遗传病的系谱分析	71
实验二十二 人基因组 DNA 的提取	75
实验二十三 DNA 的限制性内切酶酶解技术	77
实验二十四 DNA 酶切片段的琼脂糖凝胶电泳	80
实验二十五 DNA 分子杂交技术	84
实验二十六 致病基因的 RFLP 连锁分析	89
实验二十七 遗传与优生咨询 (计算机多媒体软件应用)	92
附录 常用溶液的配制	97

学习指导与习题

第一章	绪论·····	107
第二章	遗传的物质基础·····	110
第三章	单基因病·····	116
第四章	分子病与酶蛋白病·····	129
第五章	多基因病·····	138
第六章	染色体病·····	144
第七章	线粒体病·····	151
第八章	群体遗传·····	155
第九章	遗传与肿瘤·····	163
第十章	出生缺陷与先天畸形·····	172
第十一章	临床遗传·····	175
英汉医学遗传学名词·····		181

医学遗传学实验室规则与要求

1. 按时参加实验课，不得无故迟到、早退或缺课，有病或有事向任课教师请假。
2. 上实验课时应穿好白大衣，携带实验指导、预习报告、实验报告纸及文具，并按规定座位入座。
3. 实验室内应保持肃静，严禁大声喧哗或随意走动，不得进行与实验无关的活动。不得将与实验无关的物品带入实验室，不得将实验物品带出实验室。
4. 实验前应检查和清点即将使用的仪器和其他相关物品，如有缺损，应及时向老师报告。
5. 实验过程中，应爱护仪器设备、实验材料和标本；节约水电、药品和实验材料。使用仪器时要精心，严格遵守操作规程，因违反操作规程而损坏仪器、设备及物品者要按有关规定赔偿。仪器设备发生故障或损坏时，应首先切断电源，并立即报告任课教师及时处理。
6. 实验中使用易燃、易爆、有毒试剂及传染性强的物质时，应严格操作，注意自我保护。如发生意外应立即报告任课教师及时处理。
7. 实验结束时，应自觉清理实验台，将所用器皿处理干净，并将所用物品、仪器归回原位。值日生应负责整个实验室的全面卫生，包括清扫地面、处理垃圾、整理实验用品，以及关好门窗水电。经任课教师检查后，方可离开实验室。

医学遗传学实验的程序和要求

1. 实验前应认真预习与本次实验相关的内容并写出预习报告，以便对即将进行的实验的目的要求、基本原理和操作方法等有初步的了解。
2. 实验课上认真听讲，以了解本次实验的具体安排和注意事项，同时应及时向老师请教。
3. 为了培养学生独立工作和思考的能力，学生应严格按照实验教材的要求独立进行操作，教师只限于讲解实验内容的安排及注意事项，使学生有充裕的时间进行独立操作和观察。
4. 学生在实验中要根据实验教材要求，认真操作、仔细观察、如实记录，以严谨的科学态度对待每一次实验，自觉养成一丝不苟的科学作风。有关基本技能的训练，必须严格按照实验要求的操作程序进行，反复练习，务必切实掌握并达到一定的熟练程度。
5. 实验结束时，应如实地根据自己的观察和记录完成实验报告，不得伪造数据或抄袭他人的报告。实验报告或作业应于实验室完成。

125

实验一

小鼠精母细胞减数分裂标本的制备和观察

【实验目的】

1. 了解有性生殖过程中减数分裂的意义。
2. 掌握制备小鼠精母细胞减数分裂标本的基本技术。
3. 了解减数分裂各个时期的主要特点，学会在光学显微镜下识别减数分裂各期分裂相的方法。

【实验原理】

减数分裂 (meiosis) 是高等生物有性繁殖的基础，是一种特殊的有丝分裂，发生于有性生殖个体的配子形成过程中，故又称做成熟分裂 (maturation division)。在减数分裂过程中，一个细胞分裂两次，而染色体复制一次，结果产生四个子细胞，每一个子细胞只含有亲代母细胞染色体数目的一半，再经过雌雄配子的结合，所得到的受精卵中染色体又恢复到原来的数目。因此，减数分裂有两个重要作用，一是在形成配子时使染色体数目减半，以保证受精卵染色体数目与亲代母细胞相同；二是通过同源染色体之间的 DNA 重组和非同源染色体的独立分配，产生新的基因组合。因而减数分裂既保证了遗传物质的稳定性，又增加了变异的可能性，从而提高了生物适应环境的能力。

有性生殖细胞在进行减数分裂前，首先要经过一次或几次区别于一般细胞的减数分裂间期 (premeiosis interphase)。然后进入两次有序的减数分裂。减数分裂是一个连续变化的过程，但为了便于描述，可以将两次减数分裂分别划分为前期 I (prophase I)、中期 I (metaphase I)、后期 I (anaphase I)、末期 I (telophase I) 和前期 II (prophase II)、中期 II (metaphase II)、后期 II (anaphase II)、末期 II (telophase II) (见图 1-1)。对大多数生物而言，在减数分裂 I 和 II 之间还存在一个很短的减数分裂间期。

前期 I 变化最为复杂，又可划分为五个时期：①细线期 (leptotene stage) 或凝集期 (condensation stage) ——染色质凝集。染色体虽已复制，但仍呈单条细线，看不到成双的结构；②偶线期 (zygotene stage) 或配对期 (pairing stage) ——同源染色体发生配对，即联会，并形成联会复合体；③粗线期 (pachytene stage) 或重组期 (recombination stage) ——同源染色体之间发生 DNA 的片断交换，交换的结果使得同源染色体中父源与母源的基因部分重组；④双线期 (diplotene stage) 或合成期 (synthesis stage) ——联会复合体溶解，同源染色体开始分离，但仍有 X 形状的接触点，称为交叉。此时第一次看到四分

体（同源染色体中 4 条紧密结合在一起的染色单体）；⑤终变期（diakinesis stage）或再凝集期（recondensation stage）——染色体又开始紧密凝集，大多数种类核仁消失，四分体较均匀地分布在核中，交叉向染色体臂的端部移行，即端化。前期 I 结束后，再经过中期 I、后期 I 和末期 I，完成第一次减数分裂，1 个母细胞产生 2 个子细胞。第一次减数分裂结束后，经短暂的减数分裂间期后，进入第二次减数分裂。经前期、中期、后期 I 和末期 I 后完成第二次减数分裂，最终 1 个母细胞形成 4 个子细胞，每个子细胞均为单倍体。

【实验器材和试剂】

表 1-1 所需实验器材和试剂

器材、试剂	每组学生所需数量
实验动物	
雄性小白鼠（体重 22~24g）	1 只
试剂、药品	
秋水仙素（10 μ g/ml）	适量
2%柠檬酸钠	20ml
固定液（甲醇：冰醋酸=3：1）	40ml（现用现配）
Giemsa 染液（Giemsa 原液：pH6.8 磷酸缓冲液=1：10）	公用（现用现配）
二甲苯	公用
香柏油	公用
0.075mol/L KCl	10ml
玻璃器皿	
烧杯（50ml）	1 个
量筒（100ml）	1 个
培养皿	2 个
离心管	2 支
吸管	2 个
注射器（2ml）	1 支
冰冻载玻片	1 张/人
仪器、设备	
普通光学显微镜	1 台/人
恒温培养箱	公用
普通离心机	公用
解剖盘	1 个
剪刀	1 把
镊子	1 把
解剖针	1 个
天平	公用
试管架	1 个
研钵	1 套
记号笔	1 支
擦镜纸	若干

【分组形式】

每组 3 人。

【操作步骤】

1. 实验前约 3~4h, 于小鼠腹腔注射秋水仙素 (约 $4\mu\text{g/g}$)。

2. 3~4h 后用颈椎脱臼法处死小鼠, 立即取出睾丸放入盛有 2% 柠檬酸钠溶液的培养皿中, 清洗后, 放入另一个盛有 2% 柠檬酸钠溶液的平皿中, 剪开被膜, 用解剖针和镊子剥离出曲细精管 (seminiferous tubules), 除去结缔组织和脂肪, 将曲细精管和溶液一起移至研钵中, 将曲细精管剪碎成 1mm 左右的短管, 研磨 5~10min (应以均匀适度的速度和力度研磨)。

3. 将研磨好的悬液倒入离心管中, 配平后以 $200\sim 300\text{r/min}$ 离心 3~4min, 使组织残渣沉淀, 用吸管吸取中层细胞悬液 2~4ml, 移入另一个离心管中, 加入等体积 0.075mol/L KCl 溶液, 混匀后在 37°C 恒温培养箱中低渗处理 20min。

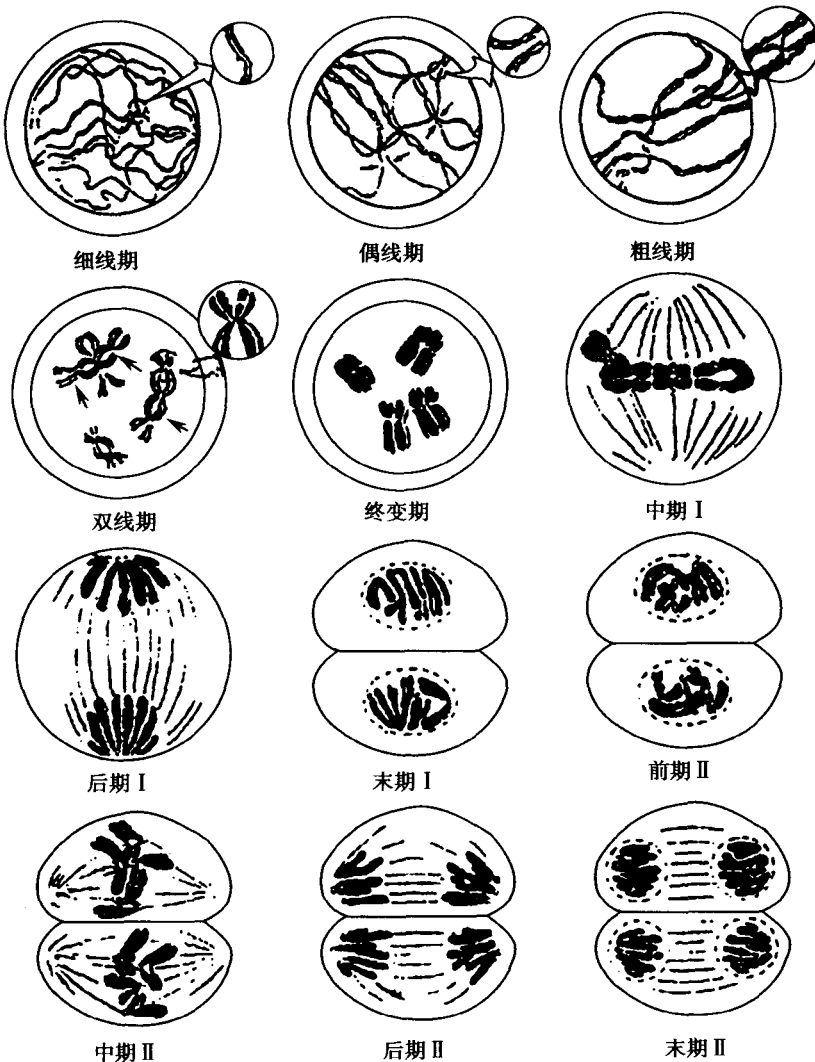


图 1-1 减数分裂各时期示意图

4. 低渗后, 以 $1,000\text{r/min}$ 离心 5min , 轻轻吸取上清并弃掉。
5. 向沉淀中加入 5ml 固定液, 用吸管吹打混匀, 室温静置, 固定 20min 。
6. 以 $1,000\text{r/min}$ 离心 5min , 弃上清。
7. 根据沉淀量的多少, 加入适量固定液, 吹打混匀, 制成细胞悬液。
8. 将 $2\sim 3$ 滴细胞悬液滴在冰冻的载玻片上, 迅速用口吹散悬液, 自然晾干。
9. 用 Giemsa 染液染色 $30\sim 40\text{min}$, 蒸馏水冲洗, 在空气中干燥。

【观察与记录】

取制备好的标本在光学显微镜下观察, 首先在 10 倍镜下找到细胞, 换 40 倍镜仔细观察, 若找到特征明显的分裂相, 可改用油镜进一步观察。

1. 寻找处于第一次分裂时期的分裂相, 观察 20 对同源染色体相互配对的现象。 20 对同源染色体中有 19 对呈现环状连接, 而且 Y 染色体表现出一定程度的深染。
2. 寻找第二次分裂的细胞中期相, 观察 20 对姊妹染色单体尚未分离时的形态。
3. 寻找前期 I 的各个时期, 注意各期特点。

【注意事项】

1. 秋水仙素的浓度和处理时间对标本制备的成败非常关键。应进行预试来确定秋水仙素的最佳浓度和处理时间, 以便获得较多的分裂相, 同时保证染色体的适当长度。
2. 低渗处理对获得良好的分裂相至关重要。低渗时间不足, 则细胞膨胀不够, 导致染色体分散不好, 不易于观察; 低渗时间过长, 易使细胞膜过早破裂, 造成染色体的丢失。
3. 离心速度要适当。速度过低, 细胞沉降不充分, 易造成细胞的丢失, 使分裂相减少; 速度过高, 会造成细胞团块过紧, 这样, 一方面会导致膨胀的细胞破裂, 造成染色体的丢失; 另一方面, 会使染色体不易散开。
4. 固定液应现用现配, 固定处理要充分, 一般应重复 $2\sim 3$ 次。

(李 健)

实验二

小鼠骨髓多染性红细胞微核标本的制备和观察

【实验目的】

1. 了解微核形成的机制和微核实验的意义。
2. 掌握微核标本的制备方法。
3. 熟悉微核的统计方法。

【实验原理】

当细胞受到物理、化学或生物等有害因子的作用时，会产生细胞核以外的其它小核。这些小核与细胞主核化学成分相同，但体积较小，因此称为微核。导致微核形成的物质主要有两类：染色体断裂剂和纺锤体毒性剂。染色体断裂剂可以引起染色体的断裂，形成无着丝粒的断片或环，这些断片或环在细胞分裂后期不能移向细胞两极进入子核，而遗留在细胞质中，成为微核。纺锤体毒性剂（如秋水仙素等）能抑制纺锤丝的形成，破坏染色体和纺锤体的连接，阻止染色体在细胞分裂后期移向细胞两极，从而滞留于细胞质中，形成微核。

因为微核的产生与染色体和 DNA 损伤有密切关系，因此，长期以来，微核试验一直作为一种常规的遗传毒理试验，用于染色体诱裂剂和干扰细胞有丝分裂物质的快速检测。微核是细胞中主核以外的颗粒，染色与主核一致，其大小相当于细胞直径的 $1/20 \sim 1/5$ ，呈圆形或杏仁状。由于它们能留存，故在有核细胞间期可计数；也可在主核刚被排出的骨髓多染性红细胞（polychromatophilic erythroblast, PCE）中计数。由于 PCE 中无主核，更便于对微核的识别，而且 PCE 中还含有核糖体，故用 Giemsa 染色时呈嗜碱性，细胞被染成灰蓝色或淡蓝色。当核糖体消失后，成熟红细胞（正染性红细胞，NCE）细胞质呈嗜酸性，被染成橘红色或粉红色，故两种细胞很容易区分。因此，本实验选取小鼠骨髓细胞为实验材料，并用环磷酰胺作诱导剂，促使细胞中染色体断裂，产生微核，观察并计数骨髓 PCE 中的微核。

【实验器材和试剂】

表 2-1 所需实验器材和试剂

器材和试剂	每组学生所需数量
实验动物	
雄性小白鼠（体重 22~24g）	1 只
试剂、药品	
环磷酰胺	公用
小牛血清（已灭活）	2ml
甲醇	公用
Giemsa 染液（Giemsa 原液：pH6.8 磷酸缓冲液=1：9）	公用（现用现配）
生理盐水	适量

器材和试剂	每组学生所需数量
二甲苯	公用
香柏油	公用
玻璃器皿	
烧杯 (50ml)	1 个
量筒 (100ml)	1 个
培养皿	1 个
离心管	2 支
吸管	2 个
注射器 (2ml)	1 支
载玻片	2 张/人
仪器、设备	
普通光学显微镜	1 台/人
普通离心机	公用
解剖盘	1 个
剪刀	1 把
镊子	1 把
天平	公用
试管架	1 个
记号笔	1 支
擦镜纸	若干

【分组形式】

每组 3 人。

【操作步骤】

1. 实验前, 给小鼠腹腔注射环磷酰胺 (60mg/kg)。
2. 给药后 30h 以颈椎脱臼法处死小鼠。
3. 取两根股骨, 剔净肌肉, 用生理盐水清洗后, 剪去股骨头, 用注射器吸取 2ml 小牛血清, 插入骨髓腔中, 缓慢均匀地推动注射器, 将骨髓冲入离心管内, 然后用吸管吹打混匀, 以 1,000r/min 离心 10min, 弃去上清。
4. 将管底沉淀混匀, 滴一滴于干净载玻片上, 按推血涂片方法制片, 自然晾干。
5. 将涂片放入甲醇中固定 15min, 取出后晾干。
6. 用 Giemsa 染液染色 10~15min, 蒸馏水冲洗, 晾干。

【观察与记录】

先在低倍镜下观察, 选择细胞分散较好的区域, 换高倍镜或油镜观察。微核多呈圆形, 边缘光滑整齐, 呈蓝紫色或紫红色, 多染性红细胞 (PCE) 呈灰蓝色, 而成熟红细胞 (NCE) 呈粉红色或橘红色。在有核细胞中也可见到微核。一个细胞中可有一个或两个以上微核。

在油镜下计数 1000 个 PCE, 同时记录有微核的 PCE 数, 计算出微核率 (‰)。

【注意事项】

1. 小鼠股骨细而短，剪股骨头时，应尽可能少剪，以保持股骨中段的完整。
2. 做涂片时，取材量要适中，细胞涂抹要均匀，密度适当，以便绝大多数细胞分散良好，便于观察。
3. 调整好染液的浓度、pH 值和染色时间，保证染色质量，以便在镜下正确辨认 PCE 和 NCE。
4. 正确掌握微核的形态特征，避免假阳性。PCE 中的 RNA 颗粒、含酸性多糖的颗粒以及一些附着的染料颗粒染色后与微核颜色一致，易与微核混淆，应注意辨别。

(李 健)

实验三

人体外周血淋巴细胞染色体标本的制备和观察

【实验目的】

1. 掌握人体外周血淋巴细胞的短期培养方法。
2. 掌握人体外周血淋巴细胞染色体标本的制备方法。

【实验原理】

人体外周血淋巴细胞体外短期培养和染色体制备技术是人类细胞遗传学基本实验方法之一，它是各种染色体显带技术的基础，并且在临床上已广泛应用于多种遗传病的诊断。

人体的每毫升外周血约含有 $(1\sim3)\times 10^6$ 个小淋巴细胞，它们通常都处于间期的 G_0 和 G_1 期，一般情况下不再分裂，所以很难见到正在分裂的淋巴细胞。在人工体外培养条件下，向培养基中加入植物血球凝集素 (phytohemagglutinin, PHA) 可刺激小淋巴细胞转化为淋巴母细胞，重新进入增殖周期进行有丝分裂。当体外培养至 72 小时左右时，大多数淋巴细胞处于第二增殖周期，此时用有丝分裂的阻断剂秋水仙素 (colchicine) 处理细胞，可使正在分裂的细胞都停留在中期，从而得到大量的分裂中期细胞。再经低渗、固定等处理后，按常规制片法即可制备出质量较好的染色体标本。

【实验器材和试剂】

表 3-1 所需实验器材和试剂

器材和试剂	每组学生所需数量
实验材料	
静脉血	0.3~0.5ml
试剂、药品	
PRMI-1640 培养液	分装每瓶 5ml
小牛血清	3ml
青霉素	适量
链霉素	适量
植物凝集素 (PHA)	0.2ml
0.2%肝素	适量
2%碘酒棉球	若干
酒精	适量
秋水仙素 (10 μ g/ml)	0.2ml
5%NaHCO ₃	适量
0.075mol/L KCl	适量
固定液 (甲醇:冰醋酸=3:1)	40ml (现用现配)
Giemsa 染液 (Giemsa 原液:pH6.8 磷酸缓冲液=1:10)	公用 (现用现配)

器材和试剂	每组学生所需数量
玻璃器皿	
10ml 离心管	3 只
吸管	3 只
试管架	1 个
量筒	1 个
培养瓶	3 瓶
试剂瓶	公用
酒精灯	公用
烧杯 (50ml)	1 个
载玻片	若干
仪器、设备	
普通光学显微镜	1 台/人
离心机	公用
恒温培养箱	公用
冰箱	公用
天平	公用
无菌注射器	1 支
止血带	公用
切片盒	1 个
镊子	1 把

【分组形式】

每组 3 人。

【操作步骤】

(一) 人体外周血淋巴细胞的培养

1. 培养液的组成和分装 在超净工作台内, 将培养液分装, 每瓶培养液的组成如下:

RPMI-1640	4ml
小牛血清	1ml
青霉素	终浓度为 100U/ml
链霉素	终浓度为 100U/ml
PHA	0.2ml

用 5% NaHCO_3 调 pH 到 7.2~7.4, 用橡皮塞塞紧, 置于冰箱 0℃ 保存。使用前于 37℃ 恒温箱中温育 10min。

2. 采血 用无菌的 2ml 注射器抽取 0.2% 的肝素 0.2ml, 润湿针管。用碘酒和酒精消毒皮肤, 自供血者的肘静脉采血 0.3~0.5ml。

3. 培养 在酒精灯火焰旁, 将 0.3~0.5ml 的血直接注入培养瓶内, 盖紧瓶塞, 轻摇几次, 做好标记, 放入 37℃ 恒温培养箱中, 培养 66~72h。

(二) 人体外周血淋巴细胞中期染色体标本的制备与观察

1. 秋水仙素处理 终止培养前 3~4h 用 1ml 注射器向培养瓶中加入 0.2ml 秋水仙素