

医学细胞遗传学和 细胞培养

J. H. 普里斯特 著



科学出版社

内 容 简 介

本书是一本方法学书籍,详细介绍了有关染色体分析和细胞培养的各种方法和技术。诸如染色体的显微镜检查、照相和核型分析;用培养的人体细胞或直接用人体组织进行的染色体分析;染色体处理;性染色质的检查;细胞培养原则;细胞培养的特殊操作步骤等。同时涉及正常和异常的人类染色体的识别,有助于染色体病的诊断。可供医学、遗传学、细胞学研究工作者、有关医务工作者及医学院校师生参阅。

J. H. Priest

MEDICAL CYTOGENETICS AND CELL CULTURE

Lea & Febiger. 2nd ed., 1977

医学细胞遗传学和细胞培养

J. H. 普里斯特 著

刘权章 徐碧瑜 译

李 璞 校

责任编辑 姜梦兰

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1985年9月第一版 开本:787×1092 1/32

1985年9月第一次印刷 印张:14 3/4

印数:0001—6,600 字数:332,000

统一书号:14031·85

本社书号:4298·14

定价: 3.45 元

序 言

在过去五年中，人类细胞遗传学领域中出现的新方法要求我对第一版完全重写。在第二版中把重点放在细胞培养的方法学上，以及在大多数章节的后面附上了供学生实验室练习的内容看来是合适的。一个主要的难题是在增加新资料的同时不丢弃原有的必需内容，并仍保持合适的篇幅。

Henry Harris 在他著的《细胞核与细胞质》一书的第三版中说：“在大多数科学书籍是由许多人把专家们的文章汇编而成的时代，有许多读者仍然对某个人关于细胞问题的观点感兴趣，无论他的观点是多么不完善；发现这一点，甚至给我以更大的愉快”。我希望我的读者继续发现人类细胞遗传学中有关方法学的有用的观点。

本版是奉献给我的已故父亲 Edwin F. Hirsch 博士的。本来在他逝世之前，就应该把第一版献给他，但是，似乎总是在回顾以往的时候，我们才能认识到一个人一生的价值。早在现代实验病理学发展的初期，他就清楚地认识到了细胞培养技术在认识人类疾病过程中的重要意义。

Jean H. Priest

于佐治亚州，亚特兰大市

目 录

(标有*号的题目只供参考)

第一章 细胞遗传学引言	1
有丝分裂的染色体	1
历史发展	1
显带	1
培养技术	9
染色体检查	11
染色体的亚结构和功能	13
减数分裂的染色体	18
男性的减数分裂	18
女性的减数分裂	20
培养技术	21
命名法	21
间期细胞的染色体和性染色质	22
推荐的补充读物	26
参考文献	27
第二章 人类染色体的变异和异常	31
与临床综合征无规律关联的变异和异常	31
历史发展	31
长度	33
随体	34
副缢痕	34
嵌合	37
平衡易位或结构重排	37
Q、G 和 C 带的多态性	38

与临床综合征有关的人类染色体异常	40
性染色体	40
常染色体	49
肿瘤	64
流产	64
染色体病的产前诊断	66
减数分裂时的染色体异常	67
染色体异常的病因学	68
母亲的年龄	68
照射	69
感染	70
药物	71
家族性趋势	72
推荐的补充读物	72
参考文献	73

第三章 正常和异常的人类染色体的命名和识别

有关插图和表的历史发展和说明	79
图 3-1 Q、G 和 R 显带带型的复合模式图	81
图 3-2 Q 显带带型的模式	82
图 3-3 胰酶处理后的 G 显带带型的模式	83
图 3-4 染色体界标和带的图解	84
图 3-5 R 显带带型的模式	85
图 3-6 C 显带带型的模式	86
图 3-7 未显带染色体根据着丝粒位置和递减的相对长度的标准分类法	88
表 3-1 有关染色体带的术语	80
表 3-2 Q、G 和 R 显带 (C 带也列入) 间的一致性的一些例外情况	80
表 3-3 Q 显带中的荧光强度和带 (Q 或 C) 的大小	82
表 3-4 按带的长度 (大小) 和在染色体上的位置所确立	

的C带	85
表 3-5 用常规染色法染色的正常人有丝分裂染色体的描述	87
表 3-6 根据着丝粒位置的分类	89
表 3-7 相对长度和着丝粒指数的测量	90
表 3-8 命名符号	92
表 3-9 数目异常的记录	93
表 3-10 结构异常的记录	94
表 3-11 染色体断裂点的详细说明	97
表 3-12 用放射自显影术显示的有助于人类染色体识别的末端标记(复制)型	100
表 3-13 有助于明确识别一些主要的人类染色体异常的带型	101
表 3-14 每个减数分裂二价体的相对长度、着丝粒指数和交叉数目	102
表 3-15 减数分裂染色体的命名	104
推荐的补充读物	105

第四章 短期培养的人体外周血或其它淋巴细胞的染色

体分析	107
外周血短期培养的常规方法	108
外周血短期培养的微量方法	111
外周血培养物的染色体标本制作的常规方法	112
胰酶-吉姆萨显带(G 显带)的常规方法	116
关于胰酶技术的一般评论	116
操作步骤	117
有关胰酶-吉姆萨显带标本的照相技术的建议	118
有关胰酶-吉姆萨显带的常规染色体分析的一般建议	118
作培养用的外周血的运送	119
人类白血病患者外周血的培养与染色体分析	120
尸体解剖的脾淋巴细胞(或婴儿胸腺)的短期培养	121

人死后的外周血的短期培养	122
其它哺乳动物的外周血的短期培养与染色体标本的制作	122
长期的淋巴细胞培养	123
Moore 的淋巴细胞系培养法	123
Beratis 和 Hirschhorn 的淋巴细胞系培养法	126
红菜豆的植物凝血素提取条例	128
人类淋巴细胞对植物凝血素反应的定量分析	128
推荐的补充读物	130
实验室练习	131

第五章 初始培养或连续(长期)培养的人体细胞的染色

体分析	132
怎样建立皮肤活检的培养物	132
怎样建立外科手术材料的、尸体解剖组织的和胎儿组织的培养物	138
适于染色体研究用的连续(长期)单层培养物的维持	140
连续(长期)单层细胞培养物的染色体标本制作	144
羊水细胞的培养与染色体分析	148
来自初始培养物包括初始克隆的染色体	158
长期的淋巴细胞培养和染色体研究	161
体细胞杂交和染色体研究*	161
推荐的补充读物	162
实验室练习	162

第六章 直接用人体组织进行的染色体分析

骨髓染色体标本的制作	163
在体外用秋水仙胺处理后的直接检查	163
在体外用秋水仙胺处理后直接检查的另一种方法(庄和王)	165
实体瘤或组织的染色体	169
肿瘤渗出液的染色体	170
用作染色体分析的早期胚胎组织的 Klinger 氏快速操作法 ..	170

推荐的补充读物	174
实验室练习	174
第七章 有丝分裂染色体的处理	175
有丝分裂中期的抑制剂	175
分散染色体的低渗处理方法	177
用于染色体检查的固定液	178
玻片标本的制备	180
分散染色体的气干技术	180
用火焰干燥法使染色体分散	183
用压片技术制备染色体标本	184
染色体的染色	185
醋酸-地衣红染色	186
吖啶橙(荧光染料)	186
石炭酸-复红*	187
曙红-Stevenel 蓝染色*	187
孚尔根反应	187
吉姆萨染色	188
Hoechst-33258 (荧光染料)	189
松柏氰醇	190
喹吖因(荧光染料)染色	191
番红染色*	193
四色染色 (MacNeal)	193
甲苯胺蓝染色	194
赖特染色*	195
封片	195
染色体的显带	195
喹吖因的荧光显带(Q 显带)	195
吉姆萨显带(G 显带)	204
C 显带(结构异染色质的染色)	216
在同一中期分裂相上的多重染色技术	220

C 显带和另一种显带技术的结合	220
G 显带和 Q 显带的结合	221
常规染色与 Q 显带结合	223
染色体的特殊分化染色或处理	224
银氨染色	224
着丝粒的染色	225
螺旋结构的显示	226
增强副缢痕的显现	227
第 9 号染色体的异染色质节段	228
第 9 号染色体的异染色质节段及某些特定染色体的其它 着丝粒区	228
免疫荧光*	229
原位杂交*	229
分裂中期染色体的分离*	230
染色体的定量分析*	230
复制型(复制显带)*	231
推荐的补充读物	232
实验室练习	232
第八章 染色体的显微镜检查、照相和核型分析	233
用眼的核型分析	233
自玻片标本中直接计数染色体	236
根据照片进行的核型分析	238
显微照相	243
胶片	249
胶片的显影	251
印相	253
照相用的显微镜滤色片	254
照相记录	255
记录分裂相的位置	256
推荐的补充读物	257
实验室练习	258

第九章 光学显微镜的放射自显影术	259
放射自显影用标本的制备	260
外周血	260
长期培养中的单层细胞	265
液体乳胶	272
剥膜胶片	277
双重照相	279
染色体显带和用放射自显影术显示的染色体复制型	279
特殊的操作步骤	280
除去放射自显影胶片(剥膜胶片)	280
去掉银粒(剥膜胶片)	281
去掉银粒(液体乳胶)	281
将乳胶置于盖满镜油(或封片)的载玻片上	282
双层放射自显影术*	282
推荐的补充读物	282
实验室练习	283
第十章 性染色质	284
X 染色质 (Barr小体) 的检查	284
固定	284
染色	286
Y 染色质的检查	292
口腔粘膜上皮涂片	293
获得标本的方法	293
口腔粘膜上皮涂片的染色	294
有关口腔粘膜上皮涂片的说明	295
用于口腔粘膜上皮涂片X染色质的醋酸-地衣红压片技术	300
外科手术及尸检组织,包括流产儿组织的性染色质检查	302
外科手术及尸检组织的 X 染色质	302

外科手术及尸检组织的 Y 染色质	304
有关外科手术和尸检组织中 X 和 Y 染色质的说明	305
在同一种组织中显示 X 和 Y 染色质	306
在间期癌细胞中的 Y 染色质	306
毛囊标本的制作	307
性染色质和性别的产前诊断	309
检查新生儿性染色质的筛检方法	310
X 染色质	311
Y 染色质	312
生殖道细胞的性染色质检查	312
尿液中细胞的性染色质检查	313
外周血白细胞的性染色质	314
外周血涂片的 X 染色质	314
外周血涂片的 Y 染色质	315
外周血培养物的 Y 染色质	316
精子的性染色质	316
初始培养物及长期单层培养的细胞的性染色质	317
初始培养	317
长期单层培养——盖玻片和载玻片小室的培养方法	317
长期单层培养——胰酶法	318
推荐的补充读物	319
实验室练习	320
第十一章 减数分裂染色体	321
用睾丸组织制备染色体标本	321
第一次减数分裂前期	321
第一次和第二次减数分裂中期	324
睾丸组织培养或器官培养	326
用卵巢组织制备染色体标本	327
第一次减数分裂前期	327
第一次和第二次减数分裂中期	328

减数分裂染色体的显带	329
推荐的补充读物	333
第十二章 细胞培养的原则	334
加热灭菌	334
干热	334
高压灭菌——快排气法	335
高压灭菌——慢排气法	335
过滤灭菌	336
培养用玻璃器皿的洗涮	337
不与细胞直接接触的器材洗涮条例的一般程序	338
与细胞直接接触的器材的洗涮条例	338
吸管的洗涤	339
玻璃器皿的硅化处理	340
细胞培养用水	340
温度、pH 和湿度的控制	341
培养基	342
推荐用于人类细胞的培养基	343
Dulbecco 和 Vogt's 修改的 Eagle 培养基(D 和 V)的成分 和制备	343
平衡盐溶液	347
分散作传代培养的单层细胞的溶液	348
抗微生物制剂	349
贮存单层培养物的常规处理	350
单层培养物的大量生产	352
单层细胞传代培养的机械方法	353
机械震荡法	353
刮剥法	353
用玻璃珠的单层传代培养	353
初始培养	355
特殊的人体细胞培养	355

生殖腺的培养	355
乳腺的培养	357
胶质细胞的培养	360
肝细胞的培养	361
悬浮培养	364
细胞培养物的长期贮存	365
设备	365
供冰冻用的细胞的制备	366
冰冻细胞	368
贮存细胞	368
融化细胞	369
如何获得人的细胞培养物	370
细胞培养物的运输和包装	371
防护罩	372
细胞培养所需的器材和设备	373
推荐的补充读物	376
第十三章 培养用的术语和一些标准	377
定义	377
细胞、组织和器官培养	377
培养的类型	377
染色体数目	379
其它培养术语	379
用以描述新细胞系的报告格式	381
一个细胞系的名称	381
在发表时用以描述一个细胞系或一个细胞株的报告格式	382
向遗传突变细胞库描述培养物所需的报告格式	382
人类二倍体细胞培养物的核学标准	383
关于淋巴样的和被病毒转化的人类细胞系的操作步骤和介绍	386
推荐的补充读物	388

第十四章 细胞培养的特殊操作步骤	390
初始组织的分离	390
单个细胞的定量平板法	392
血清的平板效率(用于人二倍体单层细胞培养)	392
使人二倍体单层细胞培养物克隆化的单细胞平板法	394
建立克隆的步骤	396
用单个细胞平板法的环形法	396
挑选单个细胞的盖玻片法	398
建立克隆的毛细管技术*	399
分离大量克隆的方法*	399
建立克隆的软琼脂技术	400
复制培养物的方法	400
用于人二倍体单层细胞的常规复制平板法条例	400
适用于大量培养物的复制平板法*	401
细胞计数	402
血细胞计计数	402
培养细胞的电子计数*	403
用染料排除进行细胞活力测定	404
活细胞计数的常规方法	404
活细胞的染色	404
细胞生长率和细胞周期的研究	405
有丝分裂指数	405
生长率——在培养物的对数生长期从细胞群体倍增时 间估计平均细胞周期的时间	407
细胞周期合成期(S)的长度——根据掺入氚胸腺嘧啶核 苷脉冲标记细胞的百分数估计	408
细胞周期G ₂ 期的长度——根据掺入氚胸腺嘧啶核苷脉冲 标记后出现标记的有丝分裂所必需的时间进行估计	410
G ₁ 期的时间——已知S、G ₂ 和平均细胞周期时间时的间 接估计	411

用 BUdR-Hoechst 技术分析细胞周期*	411
细胞同步化和进入时相	411
在 S 期初的同步化——一个阻止 DNA 合成和在 G ₁ 期末	
积累细胞的抗代谢物 (FUdR) 的效应	412
有选择地移去中期分裂相使细胞在 G ₁ 期同步化	413
作为非有丝分裂群体的二倍体培养物的维持	415
用超量的胸腺嘧啶核苷使人的淋巴母细胞培养物同步化	416
间期细胞的组织学方法	417
异染性染色法	417
吉姆萨染色	418
赖特染色	418
用于人体染色体研究的特殊细胞培养技术*	419
DNA 结构(分子)的放射自显影术*	419
异染色质和常染色质的分离*	419
显微操作*	419
提前的染色体浓缩*	419
突变型的产生和分离*	420
体细胞融合和杂交*	420
转化*	420
推荐的补充读物	421
实验室练习	421
附录 染色体研究的新技术与应用	422
高分辨染色体标本的制作方法与应用	422
显示人体外周血淋巴细胞姊妹染色单体交换的技术	448
银染核仁形成区技术	450
参考文献	455

第一章 细胞遗传学引言

有丝分裂的染色体

历史发展

1956年, Tjio 和 Levan^[49] 采用徐道觉^[24] 创立而加以改良的技术, 检查了人胚肺细胞的有丝分裂后, 首先正确描述了正常人的二倍体染色体数目是 46。用来论证体细胞有丝分裂染色体的这些技术, 有两个重要步骤有利于分析染色体的数目和形态: (1) 应用秋水仙素来使分裂停止于分裂中期; (2) 在固定前, 用低渗溶液处理细胞, 使各染色体分散开。人类有丝分裂中期的染色体的旧的分类方法, 是根据丹佛分类(1960), 以及伦敦会议(1963)和芝加哥会议(1966)^[11] 的修订方案。染色体被尽可能地按照由长到短的顺序依次编成 1—22 号。性染色体叫作 X 或 Y。常染色体分为 7 组, 即 A—G 组(图 1-2 和 1-3; 并参阅第三章)。

显带

1970 年, 研究人类染色体的技术发生了巨大变化。各种各样的处理方法现在被用来产生每对染色体所特有的带型^[43]。Q 带(图 1-4)是用喹吖因(quinacrine)染色和荧光显微镜来显示的^[7]。C 带(图 1-5)是预先将染色体玻片标本用碱处理并在缓冲盐溶液中控制水解后产生的一些深染区^[1],

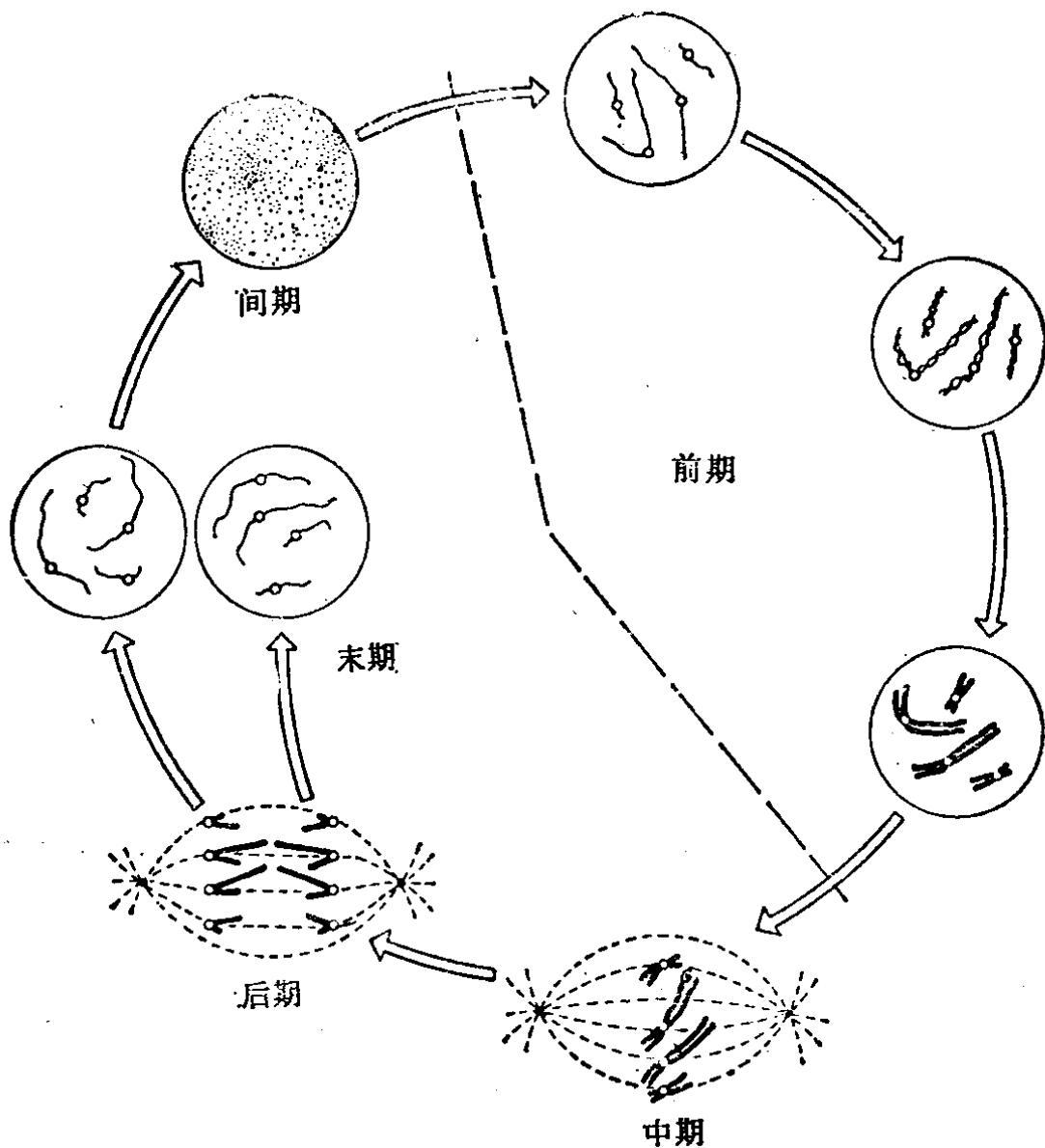


图 1-1 显示两对染色体。只描述了细胞核。末期以后形成新的核膜，细胞分成两个在遗传内容上与母细胞相同的子细胞。[根据 H. Eldom Sutton: An Introduction to Human Genetics (1965) 复制]

G带(图 1-6)可以由用吉姆萨(Giemsa)染色显示横带的各种技术来产生:例如调整染液的 pH 至 9.0^[40]。预先用盐液水解^[48]和预先用胰酶处理^[46]。R带(图 1-7)是用 Dutrillaux 和 Lejeune^[20]的技术显示的“相反”的带型。这种显带的分类,在 1971 年的巴黎会议^[39]上已经标准化,在本书第三章中将进一步详细讨论。