

一、试剂

1. 缓冲液

Chromed GB 20×缓冲液 (Sinochrome, 货号: CM-GB-100/ CM-GB-250)

Chromed TB 10×缓冲液 (Sinochrome, 货号: CM-TB--500)

2. 胰酶

Chromed E 胰酶, 0.5% (Sinochrome, 货号: CM-E-05)

3. Giemsa 染色液

Chromed G 吉姆萨染色液 (Sinochrome, 货号: CM-G-100/ CM-G-250)

4. 0.9% NaCl 溶液/ 生理盐水

5. 蒸馏水

二、试剂配制

| 试剂 | 总体积 | 组成 | 用量 |
|--------------|-------|-------------------|-------|
| 0.005%胰酶工作液 | 400mL | Chromed TB 10×缓冲液 | 40mL |
| | | 0.5%胰酶溶液 | 4mL |
| | | 蒸馏水 | 356mL |
| Giemsa 染色工作液 | 400mL | Chromed GB 20×缓冲液 | 20 mL |
| | | Chromed G | 20 mL |
| | | 蒸馏水 | 360mL |

三、染色准备

- 1、参考下表，向每个液缸加入相应的溶液；
- 2、将液缸 1 放入到 37°C 水浴锅中，调节胰酶溶液的温度。

表：液缸试剂

| 步骤 | 液缸 | 试剂 | 体积 | 说明 | 温度 |
|----|------|---------------|-------|------|------|
| 1 | 液缸 1 | 胰酶工作液(0.005%) | 400mL | 消化 | 37°C |
| 2 | 液缸 2 | 0.9% NaCl | 400mL | 终止 1 | 室温 |
| 3 | 液缸 3 | 0.9% NaCl | 400mL | 终止 2 | 室温 |
| 4 | 液缸 4 | Giemsa 染色工作液 | 400mL | 染色 | 25°C |
| 5 | 液缸 5 | 蒸馏水 | 500mL | 清洗 | 室温 |

四、G 显带方法

1. 老化处理：显带前将滴有染色体的载玻片 80°C 老化 3 小时，或 90°C 老化处理 1 小时。
2. 消化处理：载玻片放入缸 1 胰酶溶液消化处理 60~80 秒。
3. 终止 1：载玻片放入生理盐水 1 中，15 秒。
4. 终止 2：载玻片放入生理盐水 2 中，60 秒。
5. 染色：载玻片放入染色工作液，120~160 秒。
6. 清洗：载玻片放入蒸馏水中，60 秒。
7. 显带结束，离心甩开或烘干载玻片表面的水。

*：批量显带前须用 1~2 张载玻片进行试染色，以确保所有试剂工作正常。

*：每步的处理时间与收获和滴片方法、老化方法、载玻片质量、培养基质量等诸多因素相关，使用时请根据试片结果进行调整。

*：显带处理的每步时间与试剂的质量相关。

*：胰酶的消化时间与细胞种类、载玻片老化处理和细胞密度相关，但主要与载玻片老化处理程度（时间和温度）相关。老化处理有助于消除染色体发毛的情况，提高带纹的对比度。

参考文献

1. The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 3rd Ed., Edited by M. Barch, T. Knutsen, J. Sppurbeck, 1997, pas: 77-171.