

## 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-I 胰酶, 10 g/瓶 (Sinochrome, 货号: CM-E-10)

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

### 3. Giemsa染色液

Chromed G 姬姆萨染色液 (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

液缸	试剂	总体积	组成	配置
液缸1	0.005%胰酶工作液	450mL	Chromed TB 10×缓冲液	40mL
			0.5%胰酶溶液	4mL
			蒸馏水	406mL
液缸4	Giemsa染色工作液	400mL	Chromed GB 20×缓冲液	20mL
			Chromed G	20mL
			蒸馏水	360mL

## 三、染色准备/Chromprep染片仪准备

1. 将液缸1~5放入到Chromprep G的1~5位置;
2. 将温度传感器放入到相应的液缸中;
3. 参考下表, 向每个液缸中加入相应的溶液;
4. 通过触摸屏, 设定G显带方法;
5. Chromprep G 自动染片机根据温度设定值对各溶液的温度进行控制, 当每个液缸的温度指示显示为绿色时, 仪器准备完成, 开始染片操作。

**表：液缸试剂**

步骤	液缸	试剂	体积
1	液缸1	0.005%胰酶工作液	450mL
2	液缸2	0.9% NaCl	400mL
3	液缸3	0.9% NaCl	400mL
4	液缸4	Giemsa染色工作液	400mL
5	液缸5	蒸馏水	500mL

## 四、G显带方法

1. 老化处理：显带前将滴有染色体的载玻片 90°C老化处理 1 小时/80°C老化处理 3 小时。
2. 将载玻片装上载玻片架，设定 Chromprep G 程序，启动运行，机械臂自动将载玻片依次经过以下溶液进行处理。
3. 消化处理：载玻片放入胰酶溶液消化处理，参考时间：60~80秒。
4. 终止1：载玻片放入生理盐水1，15秒。
5. 终止2：载玻片放入生理盐水2，60秒。
6. 染色：载玻片放入染色工作液，参考时间：120~160秒。
7. 清洗：载玻片放入蒸馏水中，60秒。
8. 显带结束，仪器发出提示音。取下载玻片架，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。

\*：显带处理的每步时间与试剂的质量相关。

\*：没有Chromprep G 自动染片机，可以手动定时操作。

\*：缸1中加入胰酶，且温度达到设定温度后，等待4分钟，再开始试片，确保胰酶溶解完全。

\*：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.