



## 『参考方法』

### 一、细胞计数

1. 稀释 0.1 ml 的骨髓样品到 2ml 的 Turck's solution (甲基紫溶液, 1%的醋酸配置) 中,
2. 在显微中进行细胞计数。

### 二、细胞培养&染色体制备

#### 1. 培养:

根据细胞计数结果, 向细胞培养管中无菌添加骨髓样品 (<1ml), 盖紧培养瓶, 充分混均, 培养12、24或48 h(37℃)。

#### 2. 秋水处理

加入20ul 秋水溶液, 37℃培养2 h。

#### 3. 低渗处理

离心5 min (2000 rpm), 去除上清液, 保留0.5ml的细胞液。

加入5ml 低渗溶液(KCl 0.075M), 充分混悬细胞, 室温低渗10~30 min。

#### 4. 预固定处理

加入1ml固定液 (甲醇:醋酸=3:1), 充分混悬细胞, 室温处理5min。

#### 5. 固定处理

离心5 min (2000 rpm), 去除上清液, 保留0.5ml的细胞液。

加入5ml固定液 (甲醇:醋酸=3:1), 充分混悬细胞, 室温处理5min。

#### 6. 重复固定处理(2次)

离心5 min (2000 rpm), 去除上清液, 保留0.5ml的细胞液。

加入5ml固定液 (甲醇:醋酸=3:1), 充分混悬细胞, 室温处理5min。

#### 7. 滴片

离心5min(1200 rpm), 去除上清液。

根据最后收集细胞的量, 加入适量新鲜配置的固定液混悬细胞。

在干的洁净载玻片上滴1~2滴细胞悬液, 每滴20~30ul。



### 推荐:

- a. 使用旋转细胞培养仪(Chromprep R), 优化细胞培养效果和提高不同样品的一致性;
- b. 滴片前将此样在室温下保持30min;
- c. 在染色体分散仪 (Chromprep S/AS) 中进行滴片, 保证最佳的染色体分散质量和分散的一致性。