

却沉淀不溶解;而凝溶蛋白一般在温度 40 ℃~60 ℃开始发生沉淀反应。故在试验过程中应严格控制温度的变化。

陆永绥等^[10]报道,取磺基水杨酸法检测为阳性的尿液 4 mL 于试管中,加醋酸盐缓冲液 1 mL,混匀,置 56 ℃水浴 15 min,当出现浑浊或沉淀时,将试管移至沸水中煮沸 3 min,观察试管中浑浊或沉淀的变化;在此基础上有人提出,受检尿液在 56 ℃产生沉淀后移至沸水中煮沸 3 min,离心取沉淀,再从该沉淀中检查是否含有本周蛋白。笔者认为,根据本周蛋白的特性,56 ℃水浴 15 min,如有浑浊或沉淀出现,采用离心的方法能有效将本周蛋白与其他清蛋白分离,能减少其他清蛋白对本周蛋白检出率的影响。此外,有人建议将 pH4.9 醋酸盐缓冲液加热至 56 ℃后,再加入试管中,笔者推荐先加入醋酸盐缓冲液后再进行加热,可提高本周蛋白的阳性检出率。

改良加热沉淀法利用本周蛋白特殊的热沉淀性质检测尿本周蛋白,该法作为初筛试验广泛用于临床,但其特异性和敏感性较差,其结果也受诸多因素影响,与原加热沉淀法比较,阳性率有一定的提高,其特异性和敏感性还低于免疫法。

本试验表明,采用改良加热沉淀法检测尿本周蛋白阳性,则免疫法检测为阳性;而免疫法检测为阳性的标本采用改良加热沉淀法却不一定检测为阳性。由于在临床工作中,普通医疗单位多不具备免疫法所需要的仪器,故作为初筛试验,改良加热沉淀法对于临床工作,尤其是基层医疗机构仍不失为一个好的检测方法。

• 检验技术与方法 •

染色体分散仪在中期染色体标本制备过程中的应用

谢志威,张 晶,李卫凯

(江门市中心医院检验科细胞遗传室,广东江门 529023)

摘要:目的 探讨染色体分散仪的工作原理及其在中期染色体标本制备过程中应用的意义。方法 采集外周静脉血制备细胞悬液,在 Maxchrome 染色体分散仪上分别设置几组不同的温度(20 ℃~30 ℃)和湿度(20%~70%),然后在染色体分散仪中分散染色体,并对制备的染色体质量进行分析。结果 相对湿度和温度的升高可以增加染色体的分散程度,其中相对湿度是染色体分散程度的主要影响因素,但存在一个阈值,当相对湿度和湿度升高到一定程度时,染色体的分散程度反而降低。将 Maxchrome 染色体分散仪温度设为 25 ℃,湿度设为 50%时,染色分散效果好。结论 染色体分散仪在不同实验室可以采用完全相同的参数,制备出高质量的染色体,提高染色体分析的准确性。

关键词:染色体分散仪; 染色体; 制备; 准确性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)09-1136-02

染色体是基因的载体,具有储存和传递遗传信息的作用。人类细胞遗传学研究的主要对象是染色体,生物体细胞染色体数目和结构是重要的遗传标志之一,因此,在染色体的分析研究中,制备染色体标本无疑是细胞遗传学最基本而重要的技术。优良的染色体制片方法是其他技术的先决条件。染色体的良好扩散是基础细胞遗传学研究的根本。然而,采用传统的染色体滴片技术,其染色体扩散效果不理想,重复性差。这在细胞遗传学研究中仍然是一个主要问题,因此,提高染色体扩散效果和重复性的滴片方法迫在眉睫,Spurbeck 等^[1]首次提出了染色体分散动力学,对染色体分散过程做出了详细的阐述,并为解决染色体分散问题提供了理论基础。在染色体制备过程中,应用染色体分散仪进行染色体制备。染色体分散仪是根据染色体分散动力学原理设计,通过控制载玻片表面固定液的挥发速度对染色体分散程度进行控制,保证最佳的染色体分

参考文献

- [1] 叶任高,陆再英.内科学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2004.
- [2] 叶应妩,李健斋,王玉琛.临床实验诊断学[M].北京:人民卫生出版社,1989.
- [3] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:281-282.
- [4] 颜绵生,喻雄文,高玲.免疫固定电泳法的应用——检测本周氏蛋白[J].中华检验医学杂志,2001,24(5):269-271.
- [5] 赵亚娟,卢占勇,李荔,等.尿本周氏蛋白检测的探讨[J].中国误诊学杂志,2008,8(17):4097.
- [6] 周战修,唐云霞.改良热沉淀反应法检测本周氏蛋白[J].医学检验与临床,2008,19(2):112-113.
- [7] 李云,李雪梅.热沉淀法检查尿中本周氏蛋白的探讨[J].西南军医,2004,6(3):31-32.
- [8] 周晖,王丁.免疫固定电泳技术在鉴定多发性骨髓瘤 M 蛋白上的应用[J].实用预防医学,1999,6(3):27-29.
- [9] 曾祝伦,张司兰,熊曼.免疫固定电泳法检测尿本周蛋白的临床应用[J].重庆医学,2012,41(8):762-763.
- [10] 陆永绥,张伟民.临床检验管理与技术规程[M].杭州:浙江大学出版社,2004.

(收稿日期:2012-12-16)

散程度。每次制备过程设置相同的参数,可以保证染色体分散度的重复性。因此,染色体分散仪的应用对于染色体制备过程的标准化非常重要。

1 材料与方法

1.1 材料 1 575 份血液标本采自 2011 年本院生殖中心门诊就诊的患者外周静脉血。

1.2 主要仪器与试剂 主要仪器:Maxchrome 染色体分散仪(北京中科汇文遗传技术发展中心);主要试剂:淋巴细胞培养液^[2]、秋水仙素、0.075 mol/L 氯化钾低渗溶液、甲醇、冰醋酸、胰蛋白酶,均为美国 Gibco 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 细胞悬液的制备^[3-7] (1)无菌采集静脉血 2 mL 并接种于外周血淋巴细胞培养基中,37 ℃培养箱内培养 68 h,加入秋水仙素(培养基中秋水仙素的最终浓度为 0.4 μg/mL),继续

培养 2 h^[2-3]。将培养的细胞移入 10 mL 刻度离心管中离心 10 min(离心半径 10 cm, 2 000 r/min), 弃上清液。(2)向离心管中加入 10 mL 预温(37 ℃)的 0.075 mol/L 氯化钾低渗液, 用滴管混匀, 放入 37 ℃ 恒温水浴箱静置 25 min。(3)向离心管中加入固定液(甲醇与冰乙酸之比为 3 : 1) 2 mL, 轻轻混匀, 在室温下放置 10 min。(4)离心 10 min(离心半径 10 cm, 2 000 r/min)后弃上清液, 沿离心管壁加入新配制的固定液 10 mL, 混匀, 室温放置 30 min。(5)重复步骤(4), 再固定 1 次, 根据收获的细胞多少配制制成一定浓度的细胞悬液备用。

1.3.2 制片、显带和染色 在 Maxchrome 染色体分散仪上分别设置几组不同的温度(20 ℃~30 ℃)和湿度(20%~70%), 然后在染色体分散仪中分散染色体(在仪器抽屉中放入干的载玻片, 向每张载玻片滴加 30 μL 的细胞悬液, 分散 5 min)。显带方法参考人类染色体方法学手册。

2 结 果

不同湿度和温度组合下染色体的展开面积(μm²)见图 1, 由图 1 可以看出, 相对湿度和温度的升高可以增加染色体的分散程度, 其中相对湿度是染色体分散程度的主要影响因素, 但存在一个阈值, 当相对湿度和温度升高到一定程度时, 染色体的分散程度反而降低。因此, 适宜的相对湿度和温度对高质量染色体的制备具有非常重要的作用。参考仪器说明并根据图 1 中的数据分析, Maxchrome 染色体分散仪温度设为 25 ℃, 湿度设为 50% 时, 染色体分散效果好, 而且每次制备过程设置相同的参数, 能保证良好的重复性。

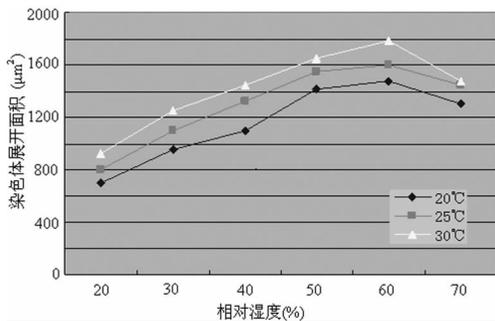


图 1 不同湿度和温度组合下染色体的展开面积

3 讨 论

传统的染色体制备方法未考虑到温度和湿度对染色体分散程度的影响, 不同的实验方法有差异, 最终制备的染色体扩散效果不理想, 且重复性差。染色体分散动力学原理指出中期染色体的分散质量主要决定于载玻片上固定液的挥发过程, 而这一过程主要受环境温度和相对湿度的影响。不同相对湿度和温度的协同作用可以保证最佳中期染色体分散面积。在染色体制备过程中, 本室应用了染色体分散仪进行染色体制备。染色体分散仪是根据染色体分散动力学原理设计, 通过载玻片表面固定液的挥发速度对染色体分散程度进行控制, 保证最佳的染色体分散程度; 每次制备过程设置相同参数, 可保证染色体分散度的重复性; 染色体分散仪内部均一的层流气流使载玻片表面的全部细胞染色体在相同条件下分散, 保证其分散的一致性。因此, 染色体分散仪的应用对于染色体制备过程的标准化非常重要。染色体分散仪在不同实验室可以采用完全相同的参数, 从每一个染色体样品制备出高质量的染色体, 提高染色体分析的准确性, 减少误判的可能性。

参考文献

- [1] Spurbeck JL, Zinsmeister AR, Meyer KJ, et al. Dynamics of chromosome spreading[J]. Am J Med Genet, 1996, 61(4):387-393.
- [2] 刘祖洞, 江绍慧. 遗传学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1987: 153.
- [3] 周焕庚, 夏家辉, 张思仲. 人类染色体[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 25.
- [4] 董烁, 谢振兴. 浅谈人体外周血淋巴细胞染色体的制备[J]. 食品工程, 2008(2): 25-27.
- [5] 朱俊真, 余小平, 张德峰, 等. 唐氏综合征儿出生和母龄年轻化变动趋势及预防策略[J]. 中国优生与遗传杂志, 2006, 14(11): 49.
- [6] 蔡绍京. 细胞生物学与医学遗传学实验指南[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2002.
- [7] 柳家英. 医学遗传学[M]. 北京: 北京医科大学出版社, 1998: 223-234.

(收稿日期: 2012-12-14)

(上接第 1110 页)

旁路产物在血液和组织中大量堆积并从尿中排出, 过量的苯丙氨酸有神经毒性作用, 会导致患儿严重的智力障碍和体格发育落后。中国 PKU 的平均发病率为 0.09%(1/11 144), 桂林市发病率为 0.01%(1/111 578), 明显低于全国 PKU 平均发病水平。由于 0~3 岁是神经组织, 尤其是大脑发育的快速阶段, 也是智能发育的关键时期, 因此, PKU 患儿的早期治疗尤为重要。PKU 患儿在出生后 1 个月内, 采用低苯丙氨酸饮食疗法进行治疗, 结合恰当的早期干预训练, 可完全避免脑损伤, 使患儿正常生长发育, 防止智障的发生^[4-5]。本调查中的这例 PKU 患儿, 在出生后 1 个月左右开始治疗, 治疗效果好, 经随访, 智力和体格发育正常。

综上所述, 新生儿疾病筛查为患儿提供了早期诊断和治疗, 减少了出生缺陷和残疾, 提高了人口素质, 避免了家庭不幸和减轻社会负担。因此, 应加大宣传力度, 让社会更多的人来

关注这项工作, 使新生儿疾病筛查广泛地惠及大众。

参考文献

- [1] 黄雨三, 张建新. 新生儿疾病筛查与临床诊断治疗技术规范全书[M]. 哈尔滨: 黑龙江音像出版社, 2005.
- [2] 徐艳华, 秦玉峰, 赵正言. 中国新生儿先天性甲状腺功能低下症与苯丙酮尿症筛查 22 年回顾[J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(1): 18-22.
- [3] 朱文斌, 郑玉兰, 王旌, 等. 新生儿甲低筛查 TSH 切值的讨论[J]. 中国妇幼保健, 2009, 24(4): 503-504.
- [4] 张玉敏, 秦茉莉, 裘雷. 43 例苯丙酮尿症患儿低苯丙氨酸饮食的监测分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2001, 9(1): 5-6.
- [5] 陈天, 吕军, 孙晓明, 等. 上海市新生儿 PKU 筛查实施效果评价[J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(30): 4277-4278.

(收稿日期: 2012-12-26)