

9.5 G-band法の簡易化に関する研究

神奈川県立こども医療センター

黒木良和

松井一郎

山本佳史

研究目的

トリブシン-ギムザ分染法は不安定な面はあるが、非常に簡便で短時間のうちに結果をだせるため、臨床病院での実施が比較的容易である。この分染法手技のうち、必須の条件は何かを検討するのを目的とした。

研究方法

4p-症候群患者1例の末梢血につき

- (1) 全血微量法(自家製キット)3日培養
 - (2) コルセミド処理1時間
 - (3) 低張処理 0.075M, KCL液 15分(37℃)
 - (4) カルノア固定4回
 - (5) 空気乾燥あるいは火炎固定で標本作成, 次の手順に従って分染法を施行した。
 - (6) 標本を37℃孵卵器中で7日以上保存
 - (7) 3.7℃恒温槽中で
Hanks液(Ca, Mg free) 4~5秒
0.25%トリブシン液 5~40秒
水道水にて水洗
50倍ギムザ液で染色 15分
- この手法のうち、以下の点について検討した。
- (1) Hanks液のpH (pH 7.4, 5)
 - (2) Hanks液の使用と非使用での相違
 - (3) トリブシン液溶解後の保存日数(10℃, 1~11日)

- (4) トリブシン液の pH (pH 5, 9)
- (5) ギムザ染色液の pH (pH 6.8, 9)
- (6) 他の患者の古い (3.5ヶ月) 標本についての応用

研 究 成 果

- (1) Hanks 液の pH はアルカリ側でも酸性側でもよい。
- (2) Hanks 液前処理をしない場合は染色ムラを生じ易い。
- (3) トリブシン液溶解保存 4 ~ 5 日のものが時間的コントロールをとりやすい。
- (4) トリブシン液の pH は無関係
- (5) ギムザ染色液の pH も無関係
- (6) 同様の手法で、3.5ヶ月保存の比較的古い標本でも良好な結果を得た。

考

察

染色体 G バンドは比較的自然的な方法、特に緩衝液のイオン強度、染色液の濃度の調整のみでも出現するようである (Walther ら 1974)。G バンドの際に種々提唱されている前処理は、この自然に存在すると思われる傾向を安定ないし強化させる方法といってよい。トリブシンは、この安定化作用を持つと考えられるが、消化作用と分染作用はある程度別物で (Sehested, 1973), 酵素作用の強力な新鮮溶液よりむしろ、4 ~ 5 日保存したものが時間的コントロールをとり易いように思われた。また、トリブシンのこの安定作用は溶液の pH、染色液の pH にはあまり左右されないことが判明した。

しかし、標本によってはトリブシンを 1 分以上作用させても満足なバンドが得られない場合がある。このような時には A S G 法との併用、即ち、 $2 \times SSC$ で $60^{\circ}C$ で 1 時間処理後トリブシンを作用させると通常のトリブシン作用時間内で良好なバンドを得ることがあるので、注目すべき方法と考えられる。

将来、純粋な G バンド安定因子の開発で、より安定した方法の確立が望まれるが、現在のトリブシン液では多少のバンドの出現ムラがあるのは否めない事実であり、基本的な条件として、拡りのよい適当な長さの分裂中期染色体が多

数ある、いわゆるよい標本を分染に供するのが重要である事はいうまでもない。

『日本遺伝学』 発表論文 (1975年)

1) Chiyo, H., Kuroki, Y., Matsui, I., Yanagida, K. and Nakagome, Y. (1975). A 6p trisomy detected in a family with a "Giant satellite". *Humangenetik*, 30, 63-67.

2) 井上信男, 坂井慶子, 黒木良和 (1976). 最近の検査技術, 「染色

体検査法」, 検査と技術 4, 34-40.

（以下は非常に薄い文字で印刷された、ほとんど読めない文章が続きます。内容は主に遺伝学に関する検査技術や研究結果の報告と思われる。）

↓ **検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

研究目的

トリプシン-ギムザ分染法は不安定な面はあるが、非常に簡便で短時間のうちに結果をだせるため、臨床病院での実施が比較的容易である。この分染法手技のうち、必須の条件は何かを検討するのを目的とした。