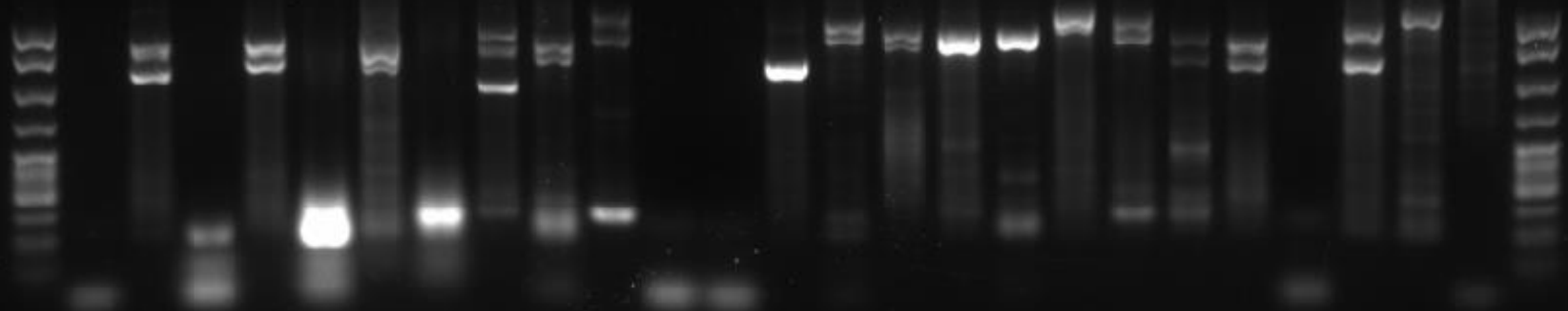
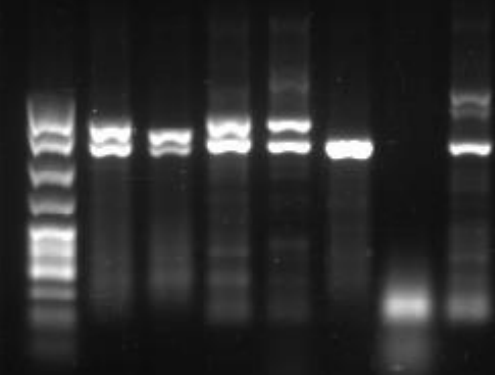


实验4、小鼠骨髓细胞染色体制片与观察

**健康中国战略，家国情怀
创新与创业**



A horizontal dashed line separates the top and bottom gel images.



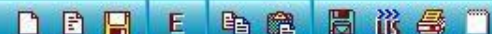
本次实验教学目标

1. 通过滴片法制作染色体制片，掌握核型分析的概念、方法及重要应用；
2. 了解造血干细胞及其相关疾病和治疗的研究进展；
3. 比较Amgen和Cetus公司的发展，思考创业成败的关键点，思考中国如何在生物技术产业上实现弯道超车。

核型分析



Metafer 玻片扫描平台可以与任何 *Ikaros* 或 *Isis* 系统无缝整合。借助 *Metafer* 可以实现全自动发现中期，甚至为核型分析、*FISH* 和 *mFISH* 全自动的采集图像。



[chrom_异常核型库] W4141, XXX, 女, 生殖中心, 46, XX, 1qh+, XXX

数据库管理

报告编辑



电脑编号 176

标本号 W4141

姓名 XXX

性别 女

年龄 20岁

门诊号 ZA2517143

住院号

科别 生殖中心

床号

标本种类 外周血

送检日期 2010-08-04

送检医师 陈士岭

临床诊断 不孕

核型 46, XX, 1qh+

检验者 XXX

检验者代码 wrf

审核者 XXX-XXX

典型病例

关键词 15811797736

报告日期 2010-09-07

备注

报告格式 报告模板1

不打印XY

片1-2

1 537x555
JPEG 18K
22.3, 108.5

46, XX, 1qh+

0 599x485
JPEG 18K
22.3, 98.8

46, XX, 1qh+

0 507x521
JPEG 14K
21.7, 97.8

46, XX, 1qh+

46



International System for Human
Cytogenetic Nomenclature (ISCN)

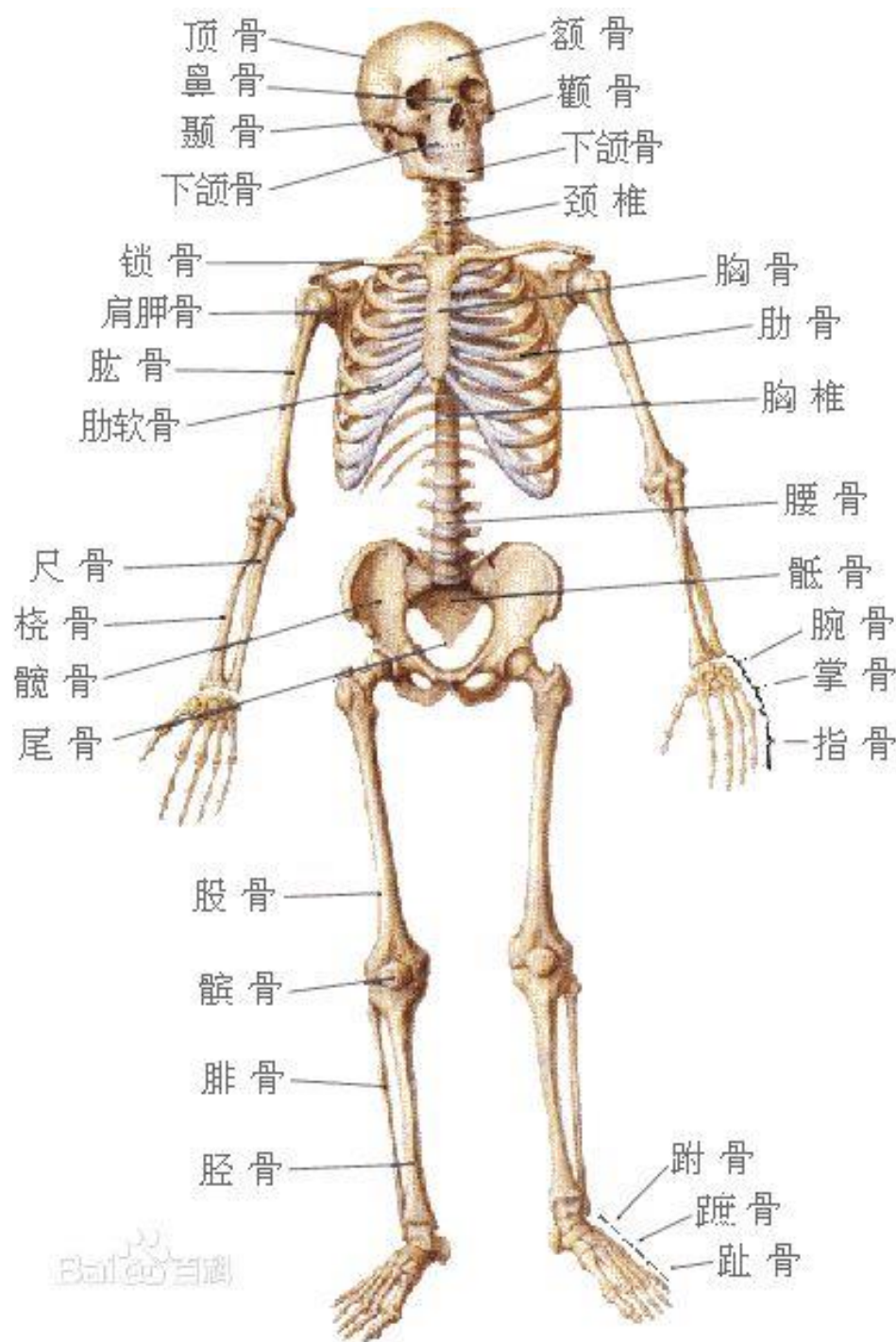


OK/S OK/S

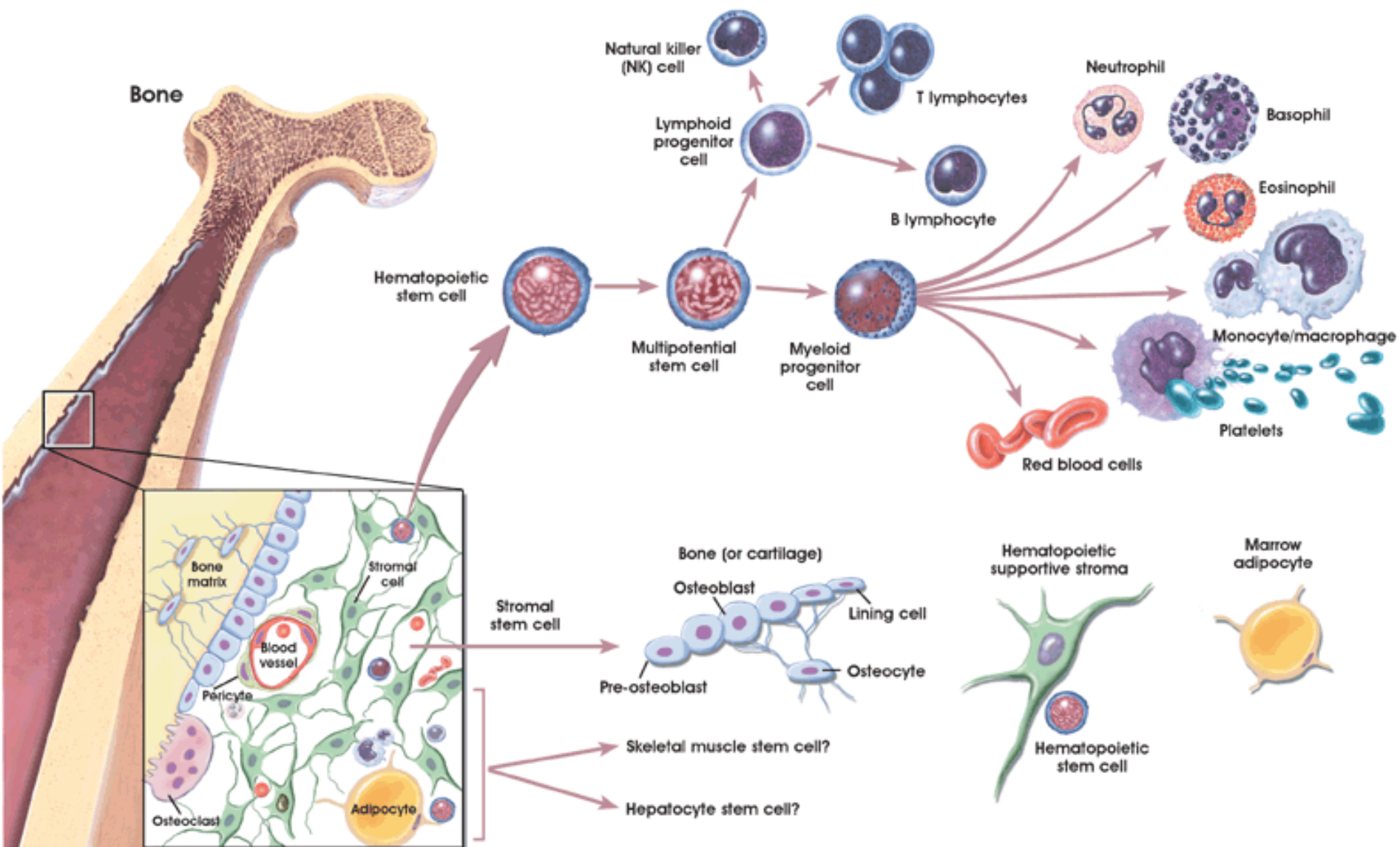
Baidu 百度

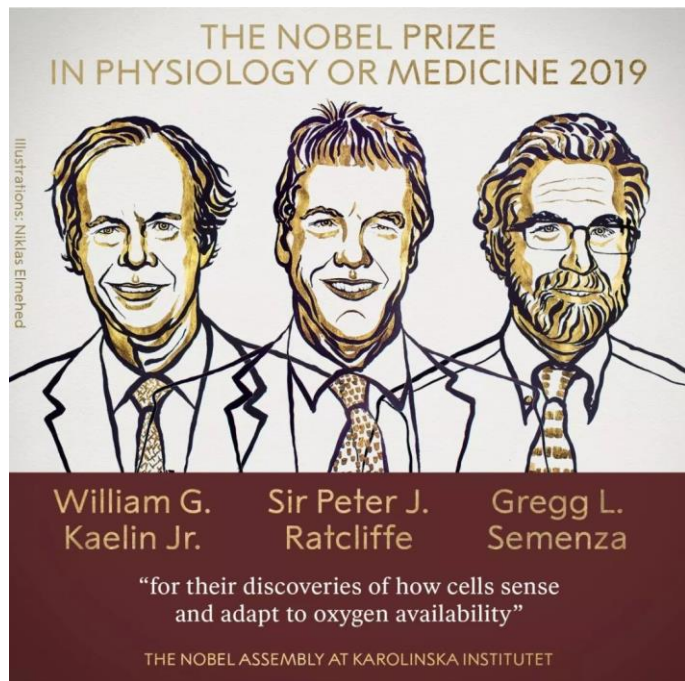
核型分析的用途

- ❖ 遗传疾病诊断：主要做外周血G带染色体分析，一般用于临床医学、婚前检查和优生优育。
- ❖ 产前诊断：主要做羊水G带染色体分析。
- ❖ 白血病诊断：主要做骨髓R带染色体分析。
- ❖ 物种亲缘关系与进化。
- ❖ 远缘杂种的鉴定。



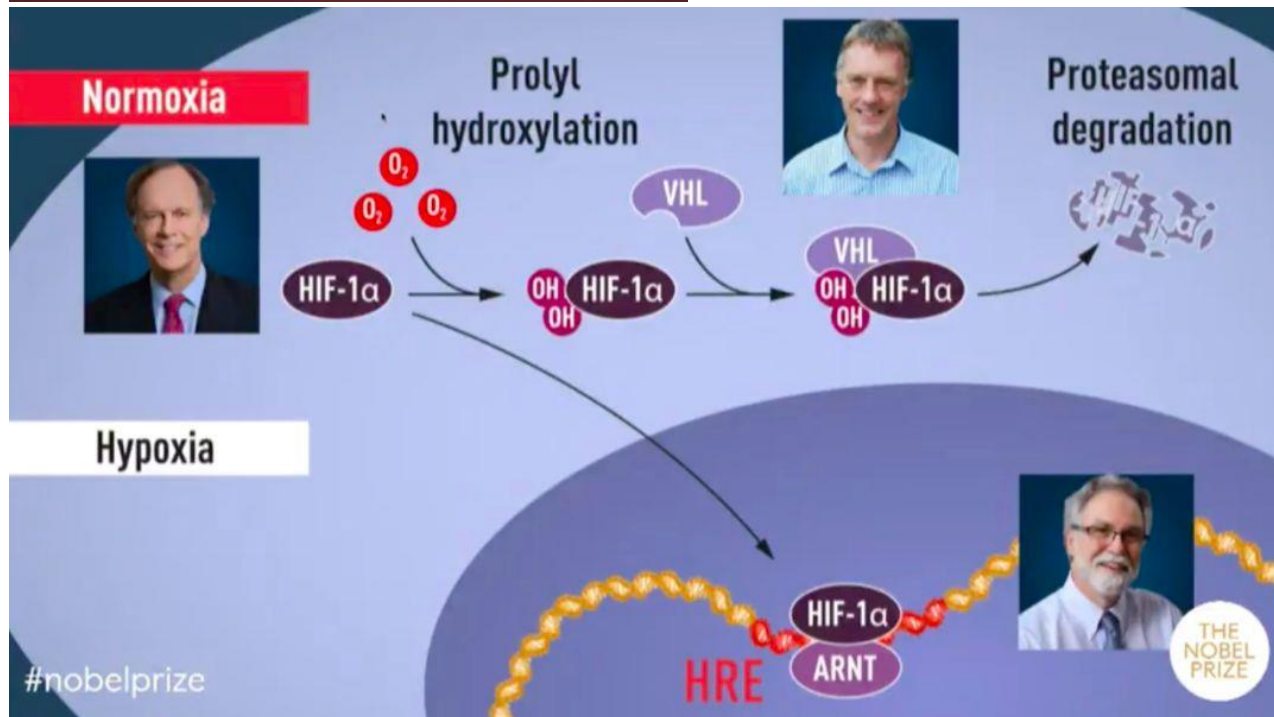
- ❖ **骨髓 (bone marrow)** 是存在于长骨（如肱骨、股骨）的骨髓腔，扁平骨（如髌骨、肋骨）和不规则骨（胸骨、脊椎骨等）的松质骨间网眼中的一种海绵状的组织。
- ❖ 成年人分两种：红骨髓和黄骨髓。
- ❖ 骨髓不但是**造血**器官，它还是重要的**免疫**器官。





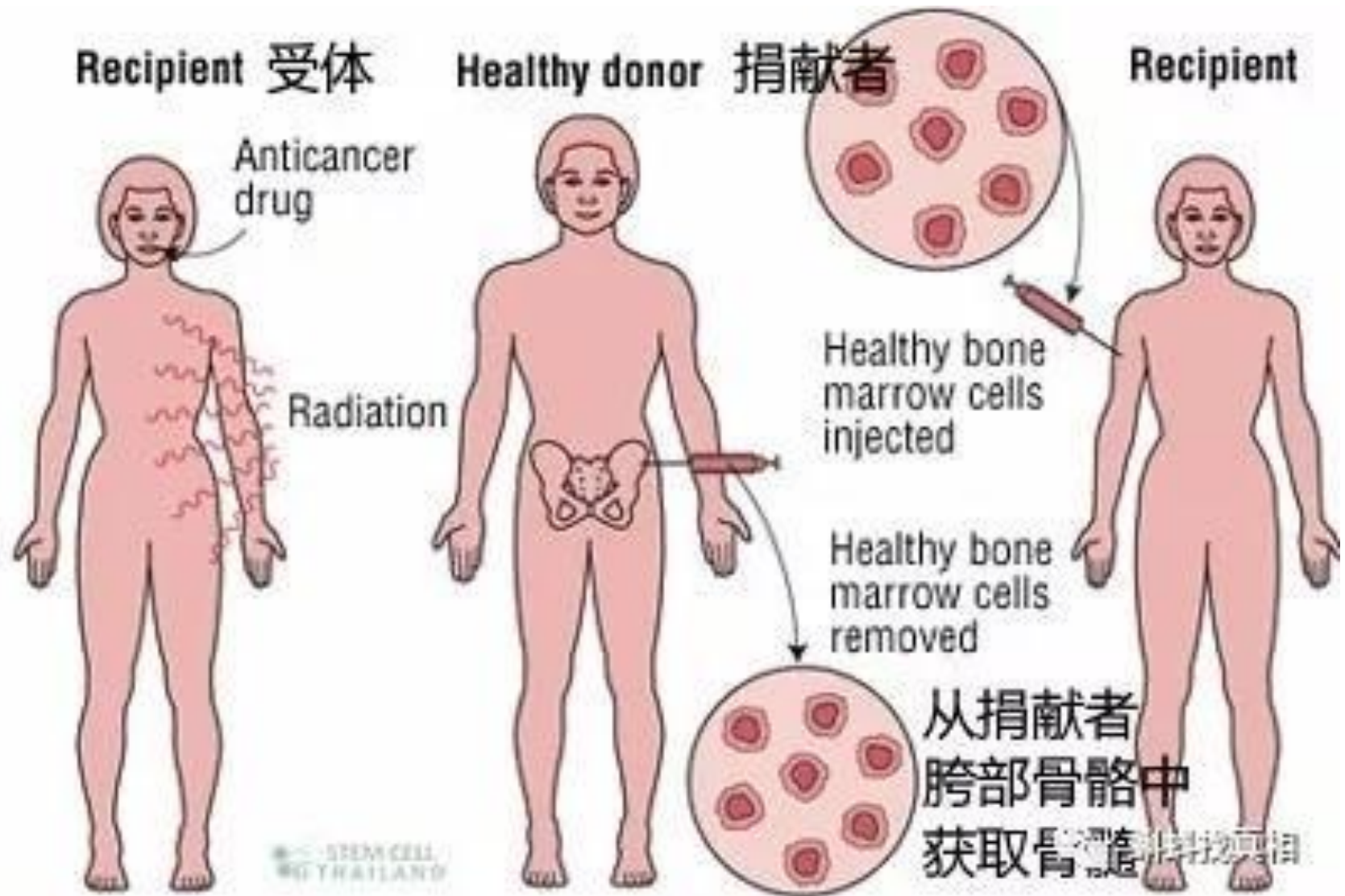
安进（Amgen）发展史及创业启示

- 1980: 4人创建，3VC+1科学家；8+1940万美金
- 1981: 第7个科学家 林福坤（中国台湾）
- 1983: 上市融到4300万美金，年底烧完，濒临破产，林福坤克隆到EPO基因序列。
- 1984: 日本麒麟投 4450万美金，烧完
- 1985: 强生投1000万美金（收497亿），EPO临床
- 1987: EPO临床实验非常成功，融到7500万美金
- 1989: 红药上市，促红细胞生成素（EPO）
- 1991: 白药上市，粒细胞集落刺激因子(G-CSF)，主要是用于治疗癌症放疗或化疗后引起的白细胞减少症。
- 2018: 世界500强（487），医药第十



1983年上市的美国家
十家生物科技公司
，包括Genentech,
Cetus, Chiron,
Biogen, Genex,
Immunex,
Amgen, Enzo
Biochem,
Genetics Systems,
Hybritech

骨髓移植 (hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)



2019年3月27日：同济大学 Retreat

骨发育与骨科疾病研究

邹卫国

中国科学院上海生命科学研究院
生物化学与细胞生物学研究所

- (1) 生物技术，例如：
(i) 纳米生物学；
(ii) 合成生物学；
(iv) 基因组和基因工程；
(v) 神经技术

进化和遗传计算（例如遗传算法，遗传编程）。

骨骼衰老相关的多种疾病

骨质疏松



骨关节炎



骨质增生



椎间盘常见病变



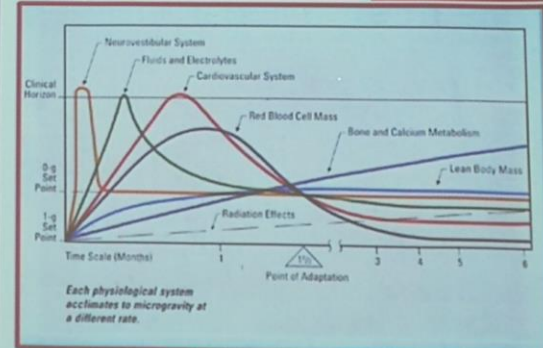
正常膝关节 (左) 与 骨关节炎膝关节 (右) 模式图

空间骨丢失

➤ 被列为太空易患疾病的风险因素之首，已成为制约人类进行载人深空探索的瓶颈因素之一

➤ 运动锻炼、营养补充和药物防护等措施都未能获得理想的效果

➤ 机理未阐明，没有针对性的防治措施



一、实验原理

骨髓直接涂片观察到的分裂相少，效果差，因此要进行必要的处理：

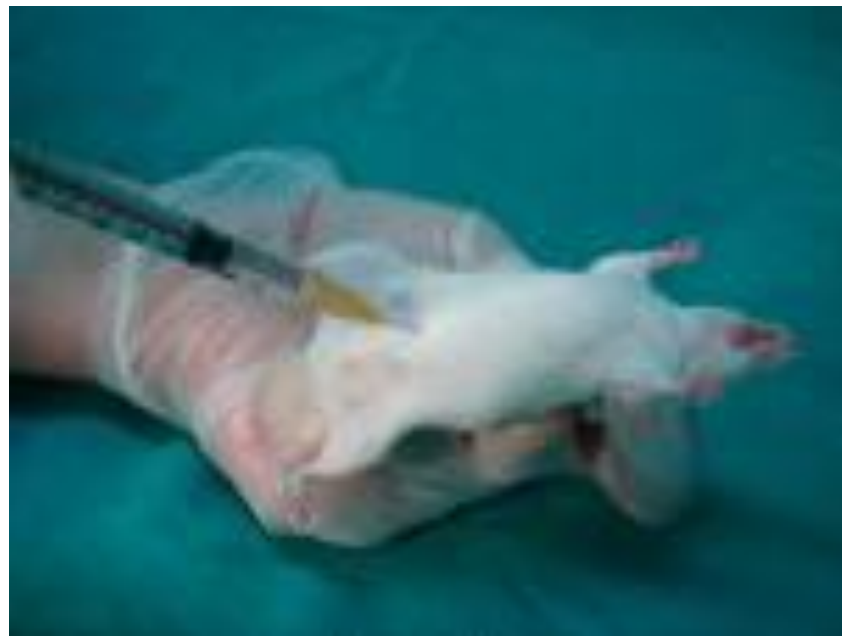
- ◆ 酵母液诱导增加分裂期的细胞数量；
- ◆ 秋水仙素使细胞处于有丝分裂中期；
- ◆ kcl溶液低渗使细胞膨胀；
- ◆ 甲醇和冰醋酸固定使染色体保持完好的形态。

二、实验步骤

预处理 (老师已做)



❖ 取材前28h背部注射10%的酵母液，每只0.4ml。

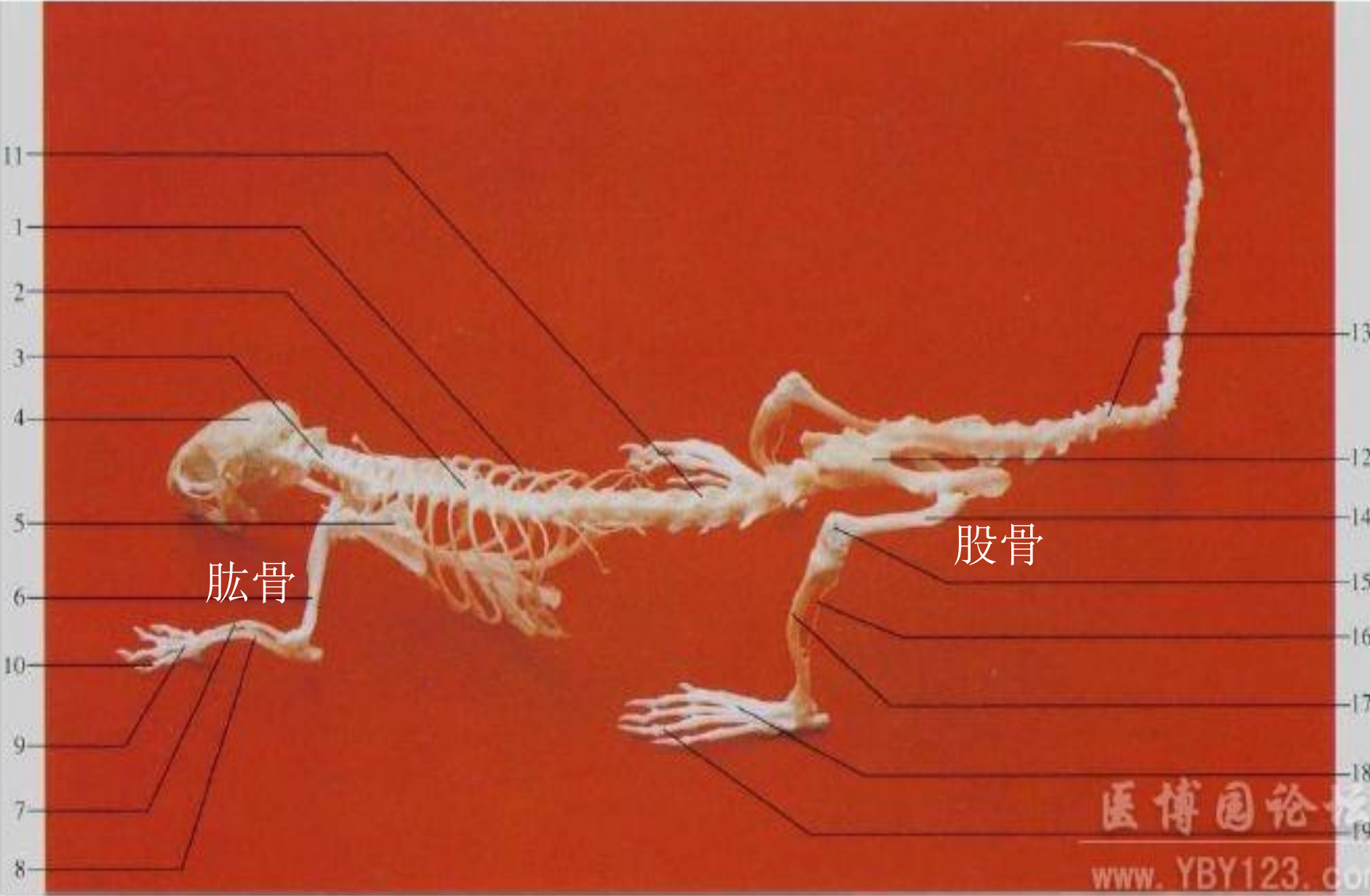


❖ 取材前3-4 h腹腔注射0.02 % 秋水仙素溶液(0.01 ml / g体重)

腹腔内注射秋水仙素3~4小时后，
断头处死小鼠。



图VIII-1 整体骨骼侧面观 The skeleton. Lateral View

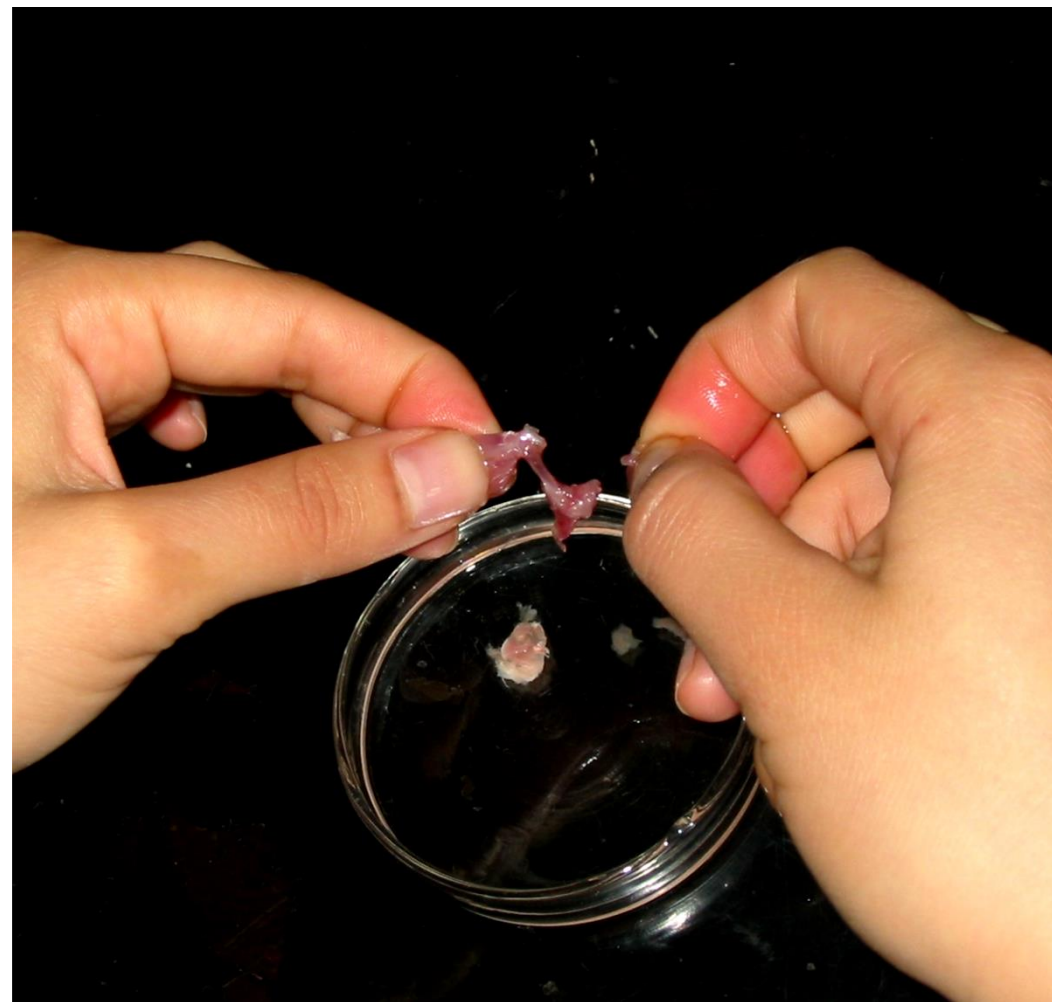


(注： 6为肱骨， 14即股骨)

取出小鼠的后肢骨，注意**不要将股骨剪断**，
否则容易造成骨髓细胞的流失。



滴加适量生理盐水进行冲洗，并仔细地将皮肤、肌肉等组织清除干净。



取骨髓细胞：用剪刀剪开股骨的两端使骨髓露出。用注射器抽取3 ml生理盐水，从一头插入骨髓腔缓慢冲洗，冲洗液接入10ml离心管内，洗3次至骨髓腔变灰白色，共约9ml。

低渗：1000 r / min离心7 min后小心吸走上清液，留下的细胞（约0.3ml）加入0.075 mol / L KCl低渗液6 ml，用吸管将骨髓细胞吹打成细胞悬液，37℃恒温水浴锅中低渗**30 min**。

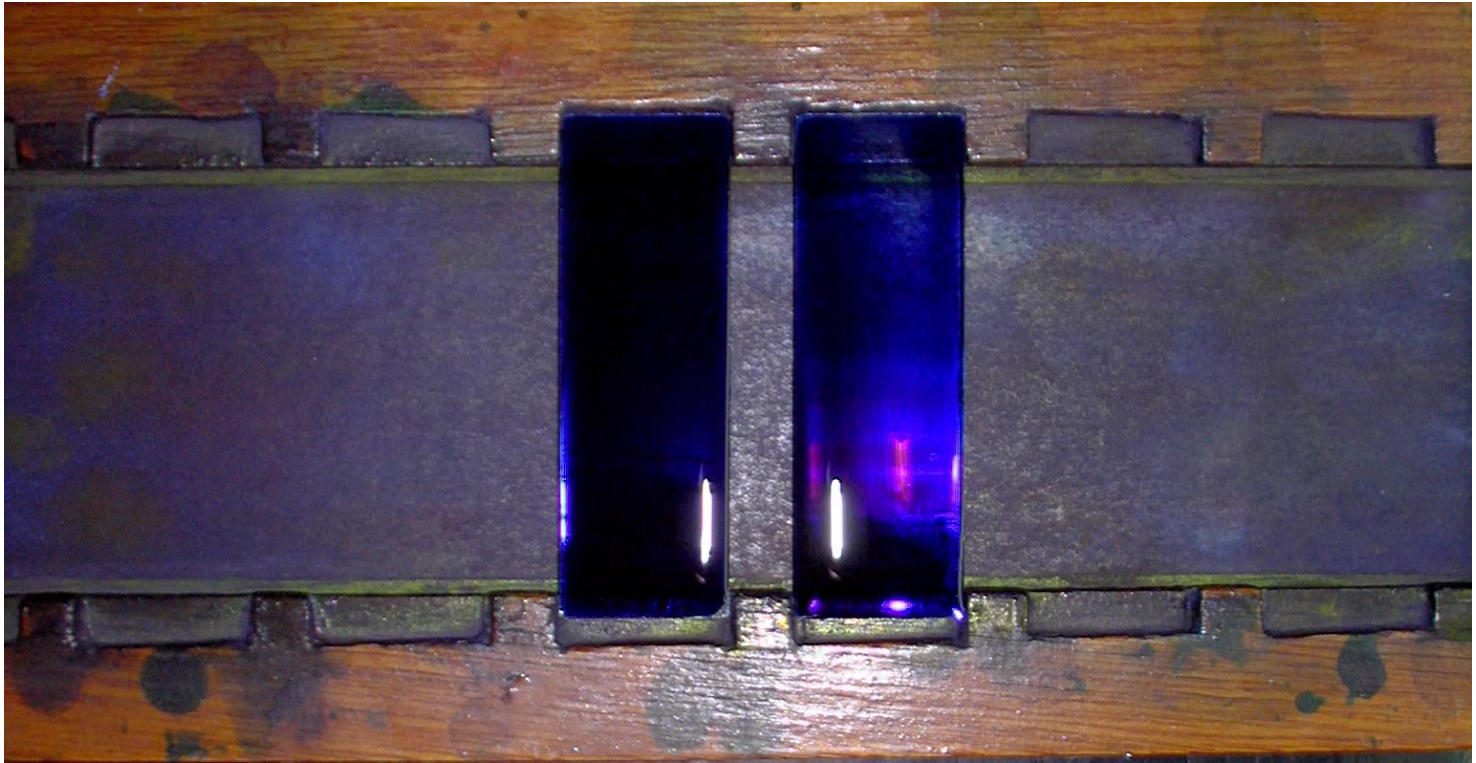
预固定：加入新配制固定液(甲醇:冰醋酸 3:1) 5-6滴，轻轻打匀，室温下预固定5 min。

固定：1000 r / min离心7 min，弃上清液，留细胞；加入4 ml新鲜固定液，轻轻打匀，室温下固定**25 min**；离心(条件同上)后小心吸走上清，留细胞（约0.2-0.4ml）。

滴片：用细头滴管轻轻打匀细胞。取冰浴中的载玻片一张，甩掉载玻片上的冰水后，迅速用吸管吸取细胞悬液，从35-40cm的高度滴到载玻片上，每张载片滴2-3滴，滴面不要重复，立即用嘴向一个方向轻轻吹开，使细胞染色体散开，但避免将细胞吹到一端。在酒精灯上过火2-3次，自然干燥备用。每只动物滴3-5张标本。

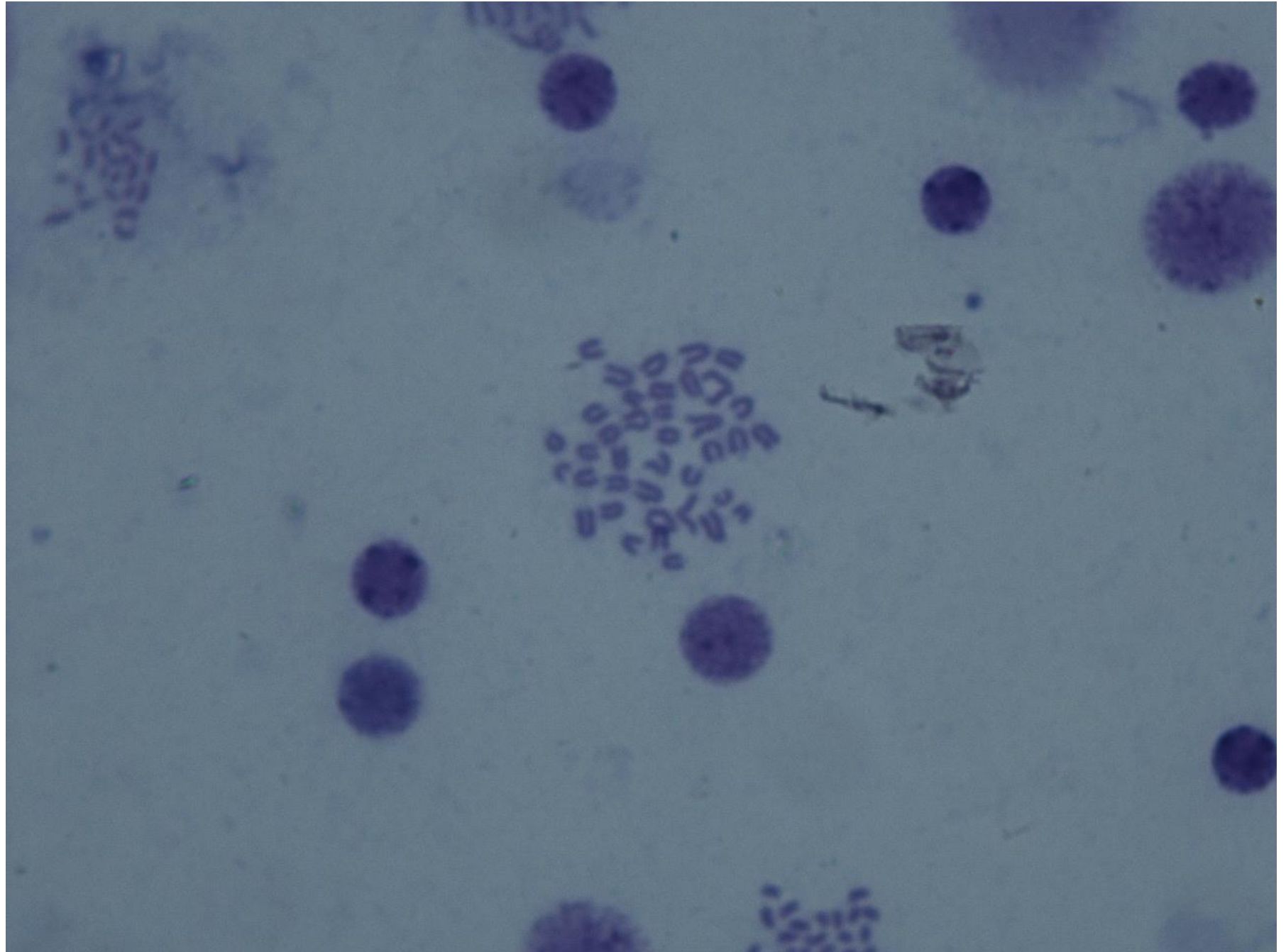


染色：将玻片平放于桌上，用**吉姆萨**使用液染色
15-20 分钟后，用蒸馏水或自来水小心冲去染液，
干后镜检。



结果显示

05级生物技术, 40倍物镜



05级生物技术, 100倍物镜



12拔尖班-赵堃

作业及思考题

1. 小鼠骨髓染色体制备的关键步骤和结果照片。
2. 简述骨髓异常可能导致的疾病，查找干细胞研究方面的重大学术造假，论述诚信为什么重要及你会如何做到学术诚信？
3. 思考你能为中国生物技术产业弯道超车做些什么？