

1. 操作手順と解析法

骨髓、末梢血（白血病とその類縁疾患）の染色体検査

抗凝固剤 ■ ヘパリン：末梢血リンパ球培養（1121 頁）と同様に、採血に際してはヘパリン採血を行う。EDTA は Ca キレート作用をもつため培養に不適である。組織材料については、採取から培養までは、滅菌シャーレ中の生理食塩水あるいは培養液に入れ乾燥を防ぐ。

検体種類 ■ 骨髓液、末梢血、生検組織、手術材料：白血病においては、基本的に骨髓液を使用することが望ましい。dry tap など骨髓採取が不可能な場合には末梢血を代用し行う。しかし、末梢血に芽球が含まれていても骨髓液と同程度には分裂像が得られない場合があり、注意が必要である。リンパ腫における染色体検査の目的でリンパ節など生検組織が提出される。

試薬 ■ 培養液 (RPMI1640)、非働化済み FBS、抗生物質（ペニシリン、ストレプトマイシン）、コルセミド（10 ug/mL Invitrogen）：基本培養液として、末梢血リンパ球培養と同様に 10%FBS 含有 RPMI1640（ペニシリン、ストレプトマイシン含有）を用いる。

培養容器 ■ 平底培養チューブ（培養液 5 mL 使用）：腫瘍細胞の分裂能に依存する腫瘍細胞の染色体検査において、多くの分裂細胞を得るためには、下記に記すように培養において複数の条件で行う必要がある。限られた細胞を効率良く培養し分裂細胞を回収するため、培養液を 5 mL 使用し細胞培養からハーベストまで同一の容器で行う。

培養方法 ■ 無刺激・短期培養法：細胞数算定を行い、 1×10^6 /mL の細胞数を目安に培養液に加え、37 °C、5%CO₂インキュベータ内で培養を行う。末梢血リンパ球培養とは異なり、基本的には分裂促進物質を添加しない無刺激培養を行う。一般的に 48 時間以内の短期培養を行うが、腫瘍細胞の分裂能に依存しているため、2~3 時間培養、24 時間あるいは 48 時間培養など複数の条件で培養を行うなどの必要がある。

コルセミドは、各培養時間の培養液に染色体ハーベスト 1 時間前に終濃度 0.04 μ g/mL になるように添加する。また、コルセミドは、終濃度 0.02 μ g/mL に添加し一晚作用させハーベストを行うなど、条件を変えてできるだけ多くの分裂像を得るようにする。

リンパ節は、滅菌シャーレ内で細切し細胞浮遊液として、細胞数算定を行い、骨髓液および末梢血と同様に培養を行う。固形腫瘍の場合、白血病における骨髓液培養と比べ、48 時間培養など長めの培養で分裂像が得られることがある。提出される材料の大きさにもよるが、できるだけ複数の条件で培養を行う。

低張液処理、固定、標本作製、観察 ■ 末梢血リンパ球培養と同様である（1123 頁）。展開操作は、蒸気乾燥法あるいは染色体展開装置（HANABI、アドサイエンス）を用いて重なりが少ない標本作製を行う。染色体展開装置を使用する場合でも、染色体の広がり程度をチェックし適切な条件設定を行う必要がある。観察および解析での注意点は、広がりの良い染色体を示す分裂像は正常細胞であることが多いため、小さく縮んだ染色体を示す分裂像を含める。

FISH の方法 ■ （1147 頁参照）