

表 13-1 一般的な染色法

染色法(略語)	特徴	試薬	分染操作過程	顕微鏡観察・写真撮影条件ほか
G分染法 (GTG)	種々の前処理後、ギムザ染色を施す。バンドパターンの詳細な検討が可能であることから、最も一般的に用いられている。A-T 優位部が濃染して観察される。封入すれば長期保存が可能。	トリプシン溶液 Hanks 溶液 (-) メタノール (エタノール) ギムザ液 1/15 mol/l リン酸緩衝液 (pH6.8)	前処理については本文中に解説。 0.05%トリプシン/Hanks 溶液 (37°C) 中で標本を 10~60 秒処理。95~100% アルコールで反応を停止。3~5% ギムザ/リン酸緩衝液 (pH6.8) で 5~10 分間染色後、軽く水洗、乾燥。必要に応じ封入。	モノクロの写真にするので、コントラストをつけるためにグリーンフィルタをセットし撮影する。フィルムはミニコピー HR II (フジ) を用い、ISO12~25 の感度に設定する。現像は D76 (コダック) で 20°C, 10 分間処理する。印画紙は 2 号が適当。
Q分染法 (QFQ)	G分染法とほぼ同様のパターンとして A-T 優位部が蛍光バンドとして観察される。異型性の解析に有用。とくに Y 染色体の長腕のヘテロクロマチン領域が強い蛍光で観察される。	キナクリンマスタード MacIlvaine 緩衝液 (pH7.0) 蛍光顕微鏡用グリセリン	MacIlvaine 緩衝液に約 1 分間浸したのち、50 µg/ml キナクリンマスタード/MacIlvaine 緩衝液 (室温) で 15~30 分間染色(遮光)。再び緩衝液で余分な染色液を洗い流し、緩衝液とグリセリンの 1:1 混液で封入。	蛍光顕微鏡で観察。BV, B 励起のいずれかをセットする。フィルムはテクニカルパン 2415 (コダック), ISO200 前後で撮影。現像は D76 (コダック) で 20°C, 10 分間処理する。印画紙は 2~4 号が使用可能。
R分染法 (RBG)	Gバンドと逆 (Reverse) の濃淡を示す。G-C 優位部が濃染される。この方法で、後期複製される不活化 X 染色体を識別することもできる。	BrdU Hoechst33258 MacIlvaine 緩衝液 (pH8.25) 2×SSC 液 ギムザ液 1/15 mol/l リン酸緩衝液 (pH6.8)	細胞回収 5 時間前に、BrdU 液を終濃度約 25 µmol/ml になるように加え、細胞回収 1 時間前に、コルセミド液を添加、通常どおり収穫し標本を作製する。 50 µg/ml の Hoechst33258 水溶液で 10 分染色 (遮光)、精製水で洗浄後 MacIlvaine 緩衝液を滴下しカバーガラスをかける。約 20 cm 上から 100W 水銀ランプを 20~40 分照射し、水洗後 60°C に加温した 2×SSC 液に 15 分間浸し、さらに水洗後ギムザ染色する。	G分染法の条件と同じ。

表 13-1 (つづき)

染色法(略語)	特徴	試薬	分染操作過程	顕微鏡観察・写真撮影条件ほか
C分染法 (CBG)	繰り返し DNA 塩基配列の多い部分を濃染。1/9/16 番染色体の長腕着糸点付近や Yq 端部のヘテロクロマチン領域の確認、二動原体染色体の確認などに利用される。	飽和水酸化バリウム 0.2 mol/l 塩化セシウム ギムザ液 1/15 mol/l リン酸緩衝液 (pH6.8)	飽和水酸化バリウム水溶液と塩化セシウム水溶液を 60°C に加温しておく。飽和水酸化バリウム水溶液で 10~15 分処理後、水洗。次に塩化セシウム水溶液で 15~20 分処理後、水洗、4%ギムザ液で 20 分間染色、乾燥。	G分染法と同様。
DA-DAPI 染色法	1/9/16 番および Y 染色体の C-バンド領域と 15 番染色体短腕とを特異的に染める。ヘテロクロマチン領域の確認のほか、15 番染色体短腕の関係した構造異常 (i (15p) など) の同定に用いられる。	MacIlvaine 緩衝液 (pH7.0) 0.2 mg/ml ディスタマイシン A/MacIlvaine 緩衝液 0.4 µg/ml DAPI/MacIlvaine 緩衝液	MacIlvaine 緩衝液に 5 分浸したのち、ディスタマイシン A 溶液で 20 分染色(遮光)。再度 MacIlvaine 緩衝液で 1~2 分洗浄後、DAPI 溶液で 20 分染色 (遮光)、MacIlvaine 緩衝液で洗浄、封入する。	蛍光顕微鏡で観察。UV 励起使用。蛍光が強いのでレンズの絞りなどで調整する。平均測光 (ISO400) 約 4~6 秒。フィルム、現像条件などは Q 分染法と同様。
NOR 染色法 (Ag-NOR 法)	核小体形成部位 (nucleolus organizing regions) にある rRNA 遺伝子の存在部位を特異的に染め出す。D/G 群染色体のサテライトストーク部分を濃染する。	50%硝酸銀水溶液 (フィルタ透過) * ナイロクロス (孔径 130・148 µm)。病理検査で使用するサンプルパックを利用してもよい。	硝酸銀水溶液を標本に数滴のせ、ナイロクロスをかぶせ湿潤箱中に入れ、60°C にて静置。薄褐色になったら (25~50 分間) 取り出して十分に水洗、必要に応じてギムザ染色をうすく施す。	G分染法と同様。