

人類細胞遺傳學及染色體分析的基本原理與應用

楊勉力

摘要

人類是生物中雙套染色體 (diploid) 最具代表性的，每一對染色體，其中之一來自父方，另一同源染色體 (homologous chromosome) 來自母方，重要的遺傳物質蘊藏於細胞核中的染色體。人類於單一細胞的受精卵，就進行了無數次的細胞分裂，每次分裂前染色體均複製一套，因而在分裂後每個子細胞具有與母細胞相同的 46 個染色體，此種過程稱為有絲分裂 (mitosis)。

有絲分裂是人類體細胞細胞分裂的方法，最後上億的細胞發育及形成人類重要的組織及器官。以細胞學的觀點來看，不同組織的細胞藉助於有絲分裂的過程，將細胞核內的染色質 (chromatin) 複製，在細胞分裂的末期將複製完成的染色體平均傳給子代細胞，因而每一子代細胞核內的染色體的組成與母細胞完全相同。

哺乳動物的細胞周期 (cell cycle) 平均為 18 小時，所謂細胞周期是指細胞從前一次細胞有絲分裂結束到下一次細胞分裂終止所經歷的過程。其中間期 (interphase) 有 17 小時，包括第一生長期 (G1) 有 9 小時，DNA 合成期 (S) 有 5 小時，第二生長期 (G2) 有 3 小時。而重要的細胞分裂期 (mitosis) 有 1 小時，細胞有絲分裂是一連續過程，可區分為四個時期，分別是 1. 前期 (prophase) 2. 中期 (metaphase) 3. 後期 (anaphase) 4. 末期 (telophase)，在細胞分裂到達中期時，隨著核仁、核膜的解體及消失，凝集濃縮的染色體逐漸移向細胞中央，排列在赤道板 (equator)





上，而細胞中間形成紡錘體 (spindle)，其中有許多紡錘絲 (spindle fiber)，一端附屬於染色體中節 (centromere)，另一端與中心粒 (centriole) 相連，染色體分佈於其上，此時期為觀察染色體最清晰的時間。

1.1 基本原理與應用

人類細胞遺傳診斷學的發展已有一百多年，在早期的階段，由於技術上的困難，無法辨識染色體的正确數目，其中最主要的原因是無法將細胞內的染色體散開出去，直到1956年Tjio及Levan從胎兒的肺部組織加以培養後，確認人類染色體的組成，其數目為46個。此項重要的突破歸功於兩者，其一為使用秋水仙素 (colchicine) 能將細胞分裂停止於分裂中期 (metaphase)，如此可以收成 (harvest) 更多的分裂細胞以供研究。其二為使用低張溶液處理細胞，使細胞因膨脹而使細胞內的染色體分散得更好。

在人類的體細胞中，只有骨髓細胞具有持續的分裂活性，因而可用來做直接染色體分析 (direct chromosome preparation)，不過其缺點為活性的分裂細胞的比例偏低，分裂指數 (mitotic index) 不良，因而無法製成高品質的染色體，染色體呈濃縮且短小，無法做精確的診斷。短期細胞培養 (short-term culture) 可提昇分裂指數，以期獲得更多分裂活性的細胞，因而骨髓細胞經過24小時短期培養，分裂細胞增多，染色體的長度增長，製作的品質更為良好。可供為人類染色體研究的細胞及組織很多，除了前述的骨髓細胞外、血液淋巴球、體表皮膚、各類不同器官的組織、子宮內流產的胚胎組織、中期妊娠的羊水細胞、早期妊娠的絨毛組織及死產不久的胎兒都可以作為細胞培養的對象，來探討各類先天異常的原因。其中最常使用為染色體研究的對象為血液淋巴球。

1960年Nowell在短期淋巴球細胞培養液中加入激化細胞分裂的活化物質PHA (phytohemagglutinin)，72小時後收成的分裂細胞增加很多，這個發現使人類染色體的研究進入一新的境界，提供此一侵襲性的檢查方法為大家所接受，許多體染色體及性染色體異常相繼在幾年中被發現。血液淋巴球的短期培養採用懸浮液培養法 (suspension culture)，細胞的分裂是在在懸浮液中完成，通常在48至72小時內可以收成細胞。1966年Steele及Breg首度完成人類子宮內胎兒羊水細胞培養及染色體分析，他們使用長期培養法 (long-term culture)，使具有活性 (viable) 的羊水細胞在細胞培養瓶內以單層細胞 (monolayer) 在培養瓶中分裂及發展成分裂細胞群落 (cell colonies)，當分裂細胞的數目足夠製作染色體核型圖分析時，可提供為診斷先天胎兒染色體異常的方法，此一



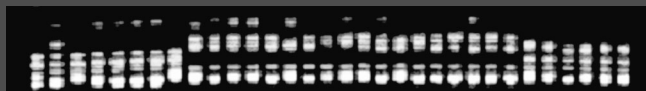
實驗室的成就，為日後胎兒組織及細胞培養奠定了穩固的基礎及產前遺傳診斷的基石。

以傳統的培養瓶培養 (flask method)，從細胞培養開始到單層細胞群落產生及細胞收成通常需要 10 天至二週時間，一直到染色體染色、顯微鏡下觀察及染色體完成核型圖製作，約需三週才能有正式的報告，為了縮短細胞培養及染色體製作的過程，1977 年 Peakman 使用蓋玻片 (coverslips) 於細胞培養皿 (petri dishes) 內替代培養瓶，細胞培養及收成都原培養皿中，此種方法稱為原位培養及收成 (*in situ culture and harvesting*)，堪稱細胞培養的一項突破，使染色體製作完成及顯微鏡下觀察的時間縮短為七至十天，而染色體的分析診斷報告在二週內大都可以完成。分裂中期染色體經 Giemsa 染色法染色後呈現為無帶染色體 (unbanded chromosome) 只能憑其大小及外觀來區分，無法做個別辨識，因而無法診斷許多染色體的構造異常。直到 1968 年 Caspersson 首次以螢光染色及螢光顯微鏡下觀察，染色體呈暗帶及亮帶分佈的顯帶染色體 (banded chromosome)。一年以後 Giemsa-trypsin 染色法引進後，染色體呈黑白深淺不一的分佈，使染色體的辨識更為容易及準確。

染色體的顯帶數目與其在細胞分裂的期別有所不同，在分裂中期 (metaphase) 的顯帶數約為 400 至 500，而在分裂前期 (prophase) 的顯帶數為 850 以上，愈是顯帶數目增加，愈能診斷出細微的染色體異常及缺失 (microdeletion)，如 Prader-Willi、Angelman 及 Di George 等症候群。1976 年 Yunis 研發成功將分裂細胞的收成提早到分裂前期而能將染色體加長到 850 顯帶數目，因而對於上述細微染色體缺失的診斷更有幫助。在 1980 年中期以後，由於分子及細胞遺傳診斷技術的大幅進步，結合各種不同的探子 (probes)，如全染色體探子 (whole chromosome probe)、中節特異探子 (centromere-specific probe) 及單一基因複製探子 (single copy probe)，直接在染色體上呈現各類染色體數目及結構上的細微異常，此外更能結合各種基因疾病的探子而診斷出更多單基因的遺傳疾病。此項劃時代的進展—螢光原位雜交法 (FISH) 徹底的改變過去以染色體顯帶做為診斷的基礎，到直接探索染色體內基因變異的直接快速診斷。

1.2 結語及展望

細胞遺傳學及染色體分析經數十年來的研發，已有長足的進展，從細胞培養技術的改良，包括培養基 (culture medium) 及培養方法的改進，縮短了活性分裂細胞的收成





時間。原位細胞培養法更將細胞培養及收成的過程合而為一，實驗室的技術人員在七至十天內就可以在顯微鏡下觀察染色體及完成標準的作業流程。而染色體的製作過程包括核型分析，顯微鏡下的照相、暗房照片的沖洗、染色體剪貼及報告的發出，都需要繁複的人力操作，相當耗時及費力。最近十年來，染色體自動分析儀在電腦軟體程式的改良，有相當快速的進步，實驗室人員使用染色體分析儀，其操作方法相當簡便及得心應手，從染色體檢視到核型分析、報告存檔及列印都可以同步完成。由於科技發展，改進了細胞遺傳診斷的技術，縮短了實驗室工作的時間，使產前遺傳診斷邁進了新的里程碑。

