

تهیه سریع کاریوتایپ موش و تشخیص کروموزوم‌ها با رنگ آمیزی گیمسا و

نوارگذاری تریپسین - گیمسا

دکتر عصمت میراب زاده اردکانی *

The rapid method of preparing mouse karyotype and mouse chromosomes identified by Gimsa staining and Trypsin - Gimsa banding

E. Mirabzadeh Ardakani

□ **Abstract**

Background: Preparation and staining of mouse chromosomes by Gimsa and T-G banding is the cornerstone of many researches on diagnosis, prevention and treatment of many diseases, production of new drugs and quality control of biological derivatives.

Objective: To provide a sample karyotype of mouse.

Methods: Mouse chromosomes were prepared from bone marrow of male outbred mice (NMRI). After culturing and preparing the slides, they were studied by staining with Gimsa and Trypsin- Gimsa (T-G) banding techniques. Karyotypes were prepared according to the standard karyotype of the mouse.

Findings: Metaphase with spread from diploid cells contained 40 chromosomes and all of them were characterized by their banding patterns.

Conclusion: T-G technique provides greater detail and demonstrates more bands, in contrast with other methods.

Key words: Chromosome, Karyotype, Trypsin- Gimsa (T-G) Banding, Mouse.

□ **چکیده**

زمینه: تهیه و رنگ آمیزی کروموزوم‌های موش به روش گیمسا و نوارگذاری تریپسین - گیمسا پایه بسیاری از تحقیقات در زمینه شناخت، پیشگیری و درمان بیماری‌ها، کشف و تولید داروهای جدید و کنترل کیفی بسیاری از فرآورده‌هاست.

هدف: پژوهش حاضر به منظور ارائه الگویی از کاریوتایپ موش انجام شد.

مواد و روش‌ها: با برداشت و کشت نمونه‌ای از مغز استخوان موش سفید آزمایشگاهی غیر هم خون NMRI، گسترش تهیه و رنگ آمیزی به دو روش گیمسا و روش نوارگذاری تریپسین گیمسا انجام شد و میتوزهای مناسب مورد مطالعه قرار گرفتند. سپس از آنها عکس گرفته شد و کاریوتایپ‌ها بر اساس کاریوتایپ استاندارد موش آماده گردید.

یافته‌ها: کروموزوم‌های سلول دیپلوئید موش $2n=40$ بود که همگی تلو سنتریک بودند. همچنین تعداد باندها در هر کروموزوم و کلید تشخیص هر کروموزوم معلوم شد. با استفاده از روش نوارگذاری تریپسین - گیمسا، کروموزوم‌های موش به صورت تک تک تشخیص داده شدند و باندهای به دست آمده با استفاده از این روش با باندهای به دست آمده از روش‌های دیگر همخوانی داشتند.

نتیجه‌گیری: روش نوارگذاری تریپسین - گیمسا نسبت به سایر روش‌ها، باندهای بیشتر و جزئیات مهم‌تری را به نمایش می‌گذارد.

کلید واژه‌ها: کروموزوم - کاریوتایپ - نوارگذاری تریپسین گیمسا - موش

□ مقدمه :

روش‌های کوئین آکرین فلوروسنت، NaOH، رنگ‌آمیزی گیمسا، نوارگذاری تریپسین گیمسا و همچنین *ASG) Gimsa Acetic-Saline* به دست آمده است.^(۵)

روش نوارگذاری G توسط نس بیت در سال ۱۹۷۳، کاول در سال ۱۹۸۴ و سایر همکاران در سال ۱۹۸۷، بر روی استرین‌های مختلف موش هم خون و بافت‌های مختلف آنان ارائه گردیده است. (۱۶ و ۱۷) با توجه به کاربرد فراوان تهیه کاربوتایپ موش و تشخیص کروموزوم‌ها و لزوم انجام این تحقیقات در دانشگاه‌های کشور بر آن شدید تا این کار را با روش سریع در آزمایشگاه انجام دهیم.

□ مواد و روش‌ها:

این مطالعه توصیفی بر روی ۲۰ سر موش بالغ سفید آزمایشگاهی غیر هم خون NMRI از جنس نر انجام گرفت. پس از انتخاب نمونه‌ها، اعمال حیاتی حیوان با روش *Cervical dislocation* قطع و یک استخوان فمور از هر حیوان برداشته شد. دو سر استخوان توسط اسکالپل قطع و مغز استخوان توسط شستشو با ۲ سی‌سی محلول بافره با فسفات (PBS) که pH آن برابر ۷ بود در لوله آزمایش جمع آوری گردید. ۱۰ میلی لیتر از محیط کشت (*Minimum Essential Medium*) ساخت کارخانه گیبکو که برابر دستور ساخت آماده و از فیلترهای میلیپور عبور داده شده بود، به آن اضافه گردید و بلافاصله ۲ قطره از محلول کلشیسین (یک میلی گرم در میلی لیتر) به لوله اضافه و پس از مخلوط کردن برای

مطالعه بر روی ساختمان کروموزوم‌ها و نقشه ژنی موش، در استفاده از آن به عنوان مدلی برای تحقیقات ژنتیکی به طور فزاینده‌ای اهمیت یافته است. تهیه کاربوتایپ و روش نوارگذاری تریپسین گیمسا در موش در تحقیقات مربوط به ژنوم، مطالعه بر روی سرطان‌ها و کنترل و بررسی مواد دارویی، آرایشی و بهداشتی از لحاظ سرطان‌زایی، کاربرد فراوان دارد. زیرا پس از تاثیر دارو بر حیوان و تهیه کاربوتایپ، اختلالات ایجاد شده در کروموزوم شامل تغییر تعداد، جابجایی، واژگونی، حذف و اضافه قابل تشخیص هستند. (۱۷ و ۲۱) همچنین می‌توان از این روش در کنترل نهایی واکنش‌های ویروسی و آگاهی از رفع خطرات احتمالی ویروس بر روی کروموزوم‌ها، در بررسی‌های مربوط به اثر تابش اشعه ایکس و پیگیری و ردیابی اثر نشت اشعه رادیواکتیو در محل‌های تولید اشعه مثل نیروگاه‌ها و آزمایشگاه‌های مربوطه استفاده نمود. (۲۴ و ۲۲)

با ظهور تکنیک‌های نوارگذاری جدید برای کروموزوم، تعدادی از متخصصین آزمایشگاه گزارش‌های موفقیت‌آمیزی را دال بر تشخیص و تعیین هویت کروموزوم‌های موش ارائه داده‌اند. (۱۵ و ۱۴) کمیته استاندارد سازی و نام‌گذاری کروموزوم‌های موش (*The Committee on Standardized Genetic Nomen Clature for Mice*) مقایسه نتایج به دست آمده توسط روش‌های مختلف و استاندارد نمودن کاربوتایپ موش را بر اساس اندازه‌های طولی و الگوی باندینگ عهده‌دار شد. الگوهای باندینگ به منظور استاندارد نمودن کاربوتایپ موش از مقایسه

مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند و سپس در زیر آب شیر با فشار کم شسته و در هوای اتاق خشک شدند. در روش نوارگذاری تریپسین گیمسا لام‌های تهیه شده در محلول ۵۰ میلی گرم درصد تریپسین به مدت ۱۰ الی ۲۰ ثانیه قرار داده شدند و سپس در محلول PBS سرد جهت شستشو غوطه‌ور شدند و نهایتاً طبق روش قبل با گیمسا رنگ‌آمیزی شدند. کلیه لام‌ها با کمک میکروسکوپ نوری دوربین دار *hund wetzlar* با درشت‌نمایی ۱۰۰ مشاهده و از میتوزهای مناسب عکس و نهایتاً کاربوگرام تهیه گردید. کاربوتایپ نمایش گذاشته شده طبق کاربوتایپ استاندارد موش که بر اساس کمیته استاندارد سازی ۱۹۷۲ تهیه گردیده، ارائه شده است. (۲۰)

□ یافته‌ها:

نتایج به دست آمده از گسترش‌های رنگ‌آمیزی شده توسط گیمسا نشان داد که تعداد کروموزوم‌های دیپلوئید در ۹۵ درصد از سلول‌ها $2n=40$ بوده است و هیچ کدام از سلول‌ها، کروموزوم بیشتر از ۴۰ نداشتند و سلول‌هایی که کروموزوم آنها از ۴۰ کمتر باشد نیز بسیار نادر بودند.

کاربوتایپ شامل ۴۰ کروموزوم تلوسنتریک بود که طول آنها به تدریج کاهش می‌یافت و تفاوت بسیار ناچیزی در اندازه جفت‌های مجاور یکدیگر وجود داشت. تنها کروموزوم Y و کوتاه‌ترین جفت اتوزوم (کروموزوم شماره ۱۹) کاملاً قابل تشخیص بودند (شکل شماره ۱).

نتایج به دست آمده از گسترش‌های رنگ‌آمیزی شده توسط نوارگذاری تریپسین گیمسا نشان داد که بهترین باندینگ بر روی کروموزوم‌هایی ایجاد می‌شود

مدت ۴۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس لوله محتوی ماده را به مدت ۷ دقیقه با دور $1000 \times g$ سانتریفیوژ کرده و مایع رویی توسط پی‌پت خارج شد. ۵ سی سی کلروپتاسیم ۰/۷۵/۰ مولار به رسوب باقی مانده اضافه شد و پس از مخلوط نمودن برای مدت ۱۸ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (محلول هیپوتونیک کلروپتاسیم باعث تورم سلول و پخش کروموزوم‌ها می‌شود) سپس محتویات لوله را سانتریفیوژ کرده و پس از خارج کردن مایع رویی، رسوب حاصله توسط محلول ثابت‌کننده کارنوی که با مخلوط اسید استیک ۱۰۰ درصد و متانول ساخت کارخانه مرک به ترتیب به نسبت ۱ به ۳ ساخته شده بود، مخلوط و سانتریفیوژ شد. این عمل سه مرتبه تکرار شد تا مواد زاید حاصل از تخریب گلبول‌های قرمز حذف و رسوب کاملاً صاف و شفاف گردد. رسوب باقی مانده حاوی گلبول‌های سفیدی است که در مرحله متافاز به وسیله کلشیسین متوقف شده‌اند. چند قطره محلول کارنوی تازه تهیه شده به رسوب جمع شده در ته لوله اضافه گردید و سپس هر قطره از مایع توسط پیپت پاستور از ارتفاع ۳۰ سانتی متری بر روی یک لام چکانده شد. لام‌های تهیه شده به مدت ۷ تا ۱۵ روز در هوای ۲۲ تا ۲۵ درجه اتاق نگهداری و سپس به نسبت مساوی و به صورت تصادفی (یک در میان) به دوروش گیمسا و نوارگذاری تریپسین گیمسا رنگ‌آمیزی شدند. پاره کردن دیواره سلول بر روی لام و رنگ‌آمیزی آن امکان مشاهده کروموزوم‌ها را ایجاد خواهد نمود.

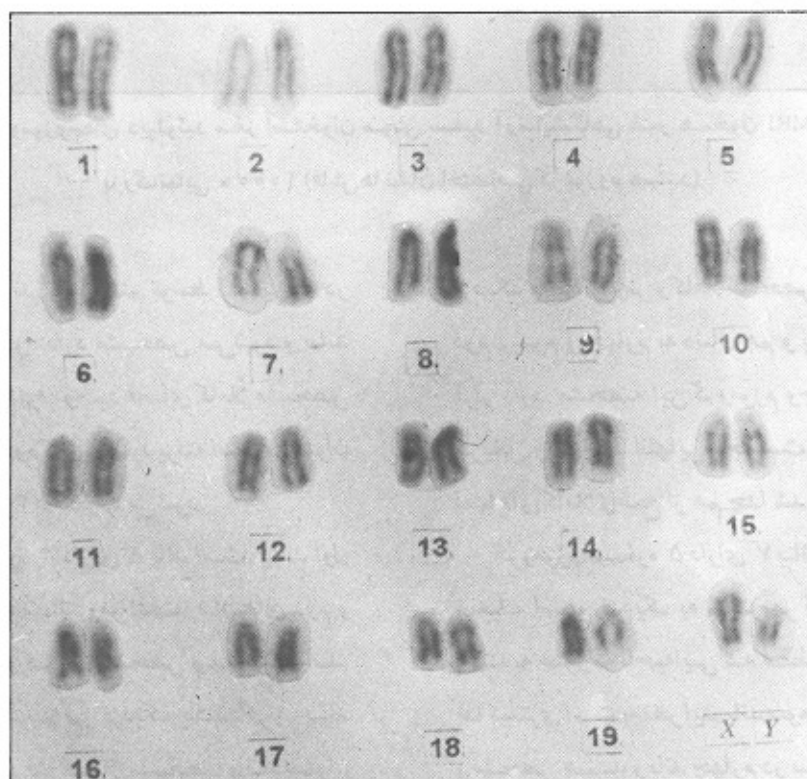
برای رنگ‌آمیزی به روش گیمسا، لام‌ها در محلول ۵ میلی لیتر گیمسای صاف شده که ۹۰ میلی لیتر بافر فسفات با $pH=7.2$ برابر ۶/۸ به آن اضافه شده بود برای

کروموزوم شماره ۱ دارای ۸ باند است. باند اول نزدیک به سانترومر است و به دنبال آن یک فضای مجزا و کوچک قرار دارد. باند دوم، سوم و چهارم بسیار نزدیک به هم قرار گرفته‌اند. به دنبال پنجمین باند فضایی وجود دارد که قابل اندازه‌گیری است. از نشانه‌های اختصاصی کروموزوم ۱ وجود فضای کاملاً مشخص بین باندهای پنجم و ششم است، باندهای هفتم و هشتم بسیار ضعیف هستند و فقط به صورت نقاطی بر روی کروماتید به نظر می‌رسند.

کروموزوم شماره ۲ دارای ۸ باند است. باند اول نزدیک به سانترومر است و باند دوم و سوم نزدیک یکدیگرند. باند چهارم، پنجم و ششم نیز نزدیک

که کاملاً بلند و کروماتیدهای آنها کاملاً موازی یکدیگر قرار گرفته باشند. تنها ۵ تا ۱۰ درصد از میتوزها ممکن است بر روی لام مناسب پخش شده باشند، یعنی بر روی یکدیگر قرار نگرفته و همچنین باندهای کافی و خوبی برای آنالیز داشته باشند. الگوی باندینگ هر کروموزوم کاملاً ثابت و هر کروموزوم دارای یک نشان اختصاصی و برجسته است که تشخیص آن را ساده و غیر قابل اشتباه می‌کند (شکل شماره ۲).

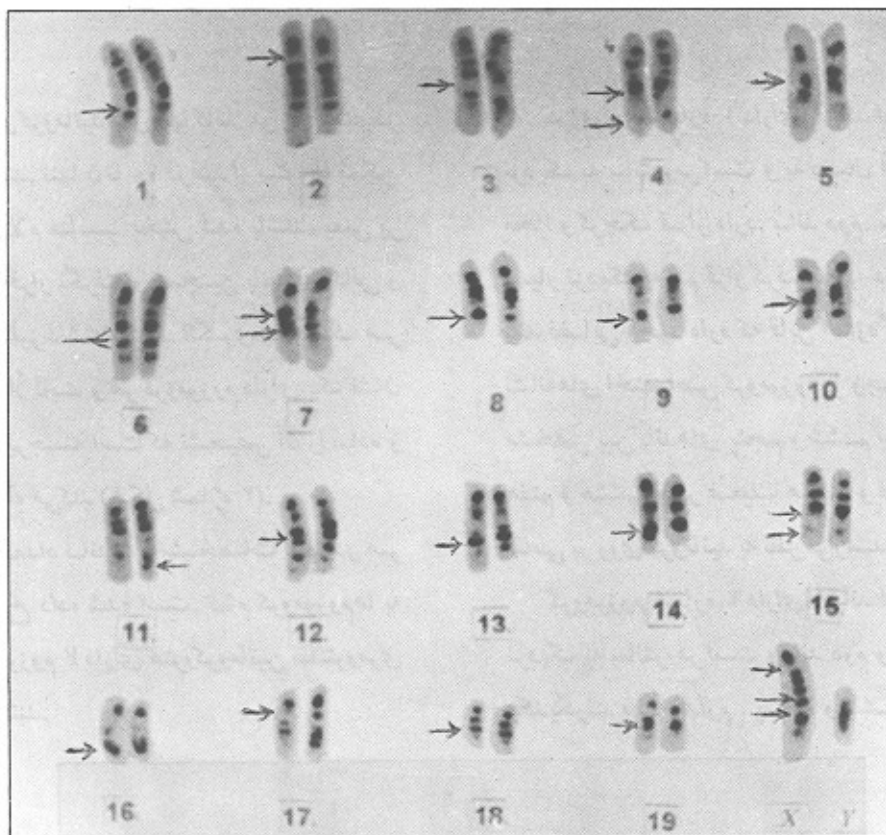
در ذیل تعداد باندها و مشخصات آنها در هر کروموزوم شرح داده شده است. تمام کروموزوم‌ها به استثنای کروموزوم Y دارای هتروکروماتین سانترومری تیره رنگ هستند.



شکل ۱:

کاریوتایپ موش سفید آزمایشگاهی غیر همخون NMRI از جنس نر بر طبق کاریوتایپ استاندارد موش با روش گیمسا.

بزرگ نمایی $1000 \times$



شکل ۲:

نوارگذاری T-G کروموزوم‌های دیپلوئید مغز استخوان موش سفید آزمایشگاهی غیر همخون NMRI از جنس نر، بزرگ‌نمایی $\times 1000$ (فلش‌ها نشان اختصاصی کروموزوم هستند)

نزدیک به سانترومر و کاملاً مشخص است. باندهای دوم، سوم و چهارم به دنبال هم و باند پنجم در انتها قرار دارد. مشخصه این کروموزوم وجود یک کمربند عریض و یک باند انتهایی مجزاست که همگی توسط فضاهای کاملاً واضح از هم جدا شده‌اند.

کروموزوم شماره ۵ دارای ۷ باند است. باند اول ضعیف است، نزدیک به سانترومر قرار دارد و ممکن است به صورت ناحیه‌ای که فقط به رنگ سیاه - خاکستری است به نظر آید. باند سوم و پنجم کاملاً تیره و مشخص هستند و باند چهارم در بین آن دو قرار دارد. از مشخصات این کروموزوم باندهای سوم و پنجم آن است که تیره و به صورت قرینه هستند.

کروموزوم شماره ۶ دارای ۷ باند است. اولین باند

یکدیگر قرار گرفته‌اند. باند هفتم توسط فضایی که در بالا و پایین آن وجود دارد مشخص می‌شود و باند هشتم در انتها قرار دارد. وجود فضای کاملاً مشخص بین باندهای اول و دوم که رنگ نپذیرفته است به عنوان مشخصه کروموزوم ۲ محسوب می‌شود.

کروموزوم شماره ۳ دارای ۸ باند است. باند اول ضعیف و نزدیک به سانترومر است. باندهای دوم و سوم به دنبال هم و کاملاً مشخص و برجسته‌اند. باندهای چهارم و پنجم نیز نزدیک یکدیگرند. باند ششم که رنگ نپذیرفته کاملاً مشخص و به عنوان مشخصه این کروموزوم محسوب می‌شود. باندهای هفتم و هشتم بسیار ضعیف هستند.

کروموزوم شماره ۴ دارای ۵ باند است. باند اول

دسته باند نسبتاً ضعیف قرار دارد، که مجموعاً باند دوم را تشکیل می‌دهند و پایین‌ترین آن در مرکز قرار گرفته است. سپس باند سوم به صورت یک فضای کاملاً مشخص و به دنبال آن باند چهارم که مشخص است قرار دارند. تشخیص این کروموزم به وسیله وجود باندی پهن در $\frac{2}{3}$ قسمت ابتدایی کروموزم ممکن می‌شود که به واسطه باند سوم که رنگ نپذیرفته از باند نزدیک به انتها که برجسته است معجزا می‌شود.

کروموزم شماره ۱۱ دارای ۵ باند است. باند اول کاملاً مشخص است. باند دوم و چهارم بسیار ضعیف هستند و باند سوم در مرکز واقع شده است. باند پنجم باند انتهایی است که نازک اما مشخص است و تشخیص این کروموزم را آسان می‌سازد.

کروموزم شماره ۱۲ دارای ۶ باند است. باند اول و دوم ضعیف هستند و باند سوم به صورت دو باند پررنگ در مرکز کروموزم قرار دارد. باند چهارم نزدیک به انتها و روشن و باند پنجم انتهایی است و هر دو کاملاً مشخص هستند. این کروموزم یکی از مشخص‌ترین کروموزوم‌های موش است.

کروموزم شماره ۱۳ دارای ۴ باند است. باند اول ضعیف و معمولاً به صورت یک منطقه خاکستری رنگ به نظر می‌رسد. باند دوم ضعیف‌تر بوده و در مرکز واقع شده است. باند سوم مشخص و نزدیک به انتها و باند چهارم در انتها قرار دارد. این کروموزم با کروموزم شماره ۹ اشتباه می‌شود، اما به واسطه این که معمولاً در $\frac{2}{3}$ ابتدایی خود روشن‌تر از کروموزم ۹ و $\frac{1}{3}$ انتهایی آن تیره‌تر می‌باشد، قابل تفکیک است.

کروموزم شماره ۱۴ دارای ۵ باند است. باند اول در زیر سانترومر و به دنبال آن باند دوم قرار دارد که هر دو ضعیف هستند. باند سوم به صورت باندی نازک تقریباً

نزدیک به سانترومر است و فضایی روشن باندهای اول و دوم را از هم جدا می‌کند که خود نیز ضعیف است. باندهای سوم، چهارم و پنجم مشخص و نزدیک به یکدیگرند و از مشخصات این کروموزم به حساب می‌آیند. باندهای ششم و هفتم در انتها قرار دارند.

کروموزم شماره ۷ دارای ۶ باند است. باند اول نزدیک به سانترومر است و به دنبال آن باند دوم قرار دارد که هر دو ضعیف هستند. باند سوم و پنجم تیره و معجزا به نظر می‌رسند و باند چهارم به رنگ خاکستری در بین این دو باند قرار دارد. باندهای ششم و هفتم ضعیف هستند و فقدان هر گونه باند و یا رنگ تیره در انتهای کروموزم و همچنین باندهای سوم و پنجم که به طور شدید رنگ گرفته‌اند سبب تشخیص این کروموزم می‌شود.

کروموزم شماره ۸ دارای ۵ باند است. باند اول در زیر سانترومر قرار دارد و مشخص است. باند دوم کاملاً برجسته و مرکزی است. باند سوم ضعیف و نزدیک به باند دوم قرار دارد. باند چهارم مشخص و نزدیک به انتهاست که به عنوان مشخصه این کروموزم محسوب می‌شود. باند پنجم در انتها ضعیف است.

کروموزم شماره ۹ دارای ۶ باند است. در مبدأ منطقه‌ای خاکستری رنگ و نسبتاً عریض وجود دارد که در حقیقت باند اول است. باند دوم و چهارم ضعیف هستند و باند سوم به صورت باندی خاکستری رنگ در بین آن دو واقع شده است. باند پنجم نزدیک به انتها و کاملاً مشخص دیده می‌شود که به عنوان مشخصه این کروموزم محسوب می‌شود. باند ششم در انتها و ضعیف است. تشخیص کروموزم شماره ۹ از ۱۳ مشکل است. کروموزم شماره ۱۰ دارای ۴ باند است. باند اول به صورت فضایی در زیر سانترومر است. به دنبال آن سه

مشخص هستند. باند ششم انتهایی و ضعیف است. فضای موجود در زیر سانترومر و باندهای دوم و چهارم که منطقه‌ای کاملاً بی رنگ هستند از مشخصات این کروموزم محسوب می‌شوند.

کروموزم Y تنها کروموزمی است که هتروکروماتین سانترومریک را نشان نمی‌دهد و به طور یکنواخت تیره رنگ است.

□ بحث و نتیجه‌گیری:

در تحقیق حاضر تعداد کروموزوم‌ها در برخی از سلول‌های مورد بررسی کمتر از ۴۰ بود که علت آن می‌تواند به میزان شدت پخش کروموزوم‌ها بر روی لام و پراکنندگی آنها مربوط باشد. یافته‌های به دست آمده در ارتباط با باندهای اصلی با نتایج به دست آمده از روش‌های دیگر باندینگ و هم چنین نتایج به دست آمده از همین روش بر روی استرین‌های هم خون مورد مطالعه مغایرتی ندارد. (۱۷ و ۱۶)

با روش نوارگذاری تریپسین گیمسا، منطقه سانترومر به شدت رنگ می‌گیرد. (۳) در اینجا نیز این امر کاملاً مشخص و واضح است. با استفاده از این روش در مقایسه با نوارگذاری Q باندهای بیشتری قابل تشخیص هستند. (۱۰) نتیجه این تحقیق نیز موید این امر است.

برخی از محققین اظهار داشته‌اند که نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده به روش نوارگذاری تریپسین گیمسا بسیاری از باندهای اصلی را نشان می‌دهد. که خود شامل چند باند فرعی هستند. (۱۶) در تحقیق حاضر نیز تعدادی از باندهای فرعی در تمام کروموزوم‌ها به جز کروموزوم‌های شماره ۱۳ و ۱۶ و ۱۷ و کروموزوم Y قابل تشخیص بودند. این امر ممکن است به دلیل پخش

در مرکز قرار دارد. باند چهارم ضعیف و نزدیک به انتها و باند پنجم دقیقاً در انتها واقع شده است و گاهی به صورت تکمه‌ای پر رنگ نشان داده می‌شود.

کروموزم شماره ۱۵ دارای ۶ باند است. باند اول در زیر سانترومر قرار دارد و ضعیف است. باند دوم و چهارم کاملاً مشخص و تیره رنگ هستند. باند سوم و پنجم ضعیف و باند ششم کاملاً در انتها قرار دارد. این کروموزم تنها کروموزمی است که هترومرفیسم در آن مشاهده شده است.

کروموزم شماره ۱۶ دارای ۳ باند است. اولین باند ضعیف است. باند دوم مشخص و در مرکز واقع شده و باند سوم در انتها و کاملاً برجسته است.

کروموزم شماره ۱۷ دارای ۵ باند است. باند اول به وسیله یک فضای کوچک و مشخص از سانترومر جدا می‌شود. باند دوم ضعیف و باند سوم مرکزی است. باند چهارم ضعیف‌ترین باند است و باند پنجم در انتها قرار دارد. از مشخصات این کروموزم فضای کاملاً مشخص بین باندهای اول و دوم است.

کروموزم شماره ۱۸ دارای ۵ باند است. باند اول و سوم ضعیف هستند. باند دوم تقریباً در مرکز قرار دارد. باند چهارم نزدیک به انتها و کاملاً مشخص و باند پنجم ضعیف و در انتها قرار دارد.

کروموزم شماره ۱۹ هر چند به واسطه اندازه‌اش قابل تشخیص است، دارای الگویی مشخص شامل سه باند است. باند اول در زیر سانترومر قرار دارد و روشن است. باند دوم در مرکز قرار دارد و باند سوم انتهایی است.

کروموزم X دارای ۶ باند است. باند اول به دنبال فضایی خالی در زیر سانترومر قرار دارد. باندهای دوم و چهارم ضعیف و باندهای سوم و پنجم کاملاً تیره و

Chromosomal abnormalities in neutron-induced acute myeloid leukemias in CBA/H mice. Radiat Res 1996; 146(3): 349-52

3. Buckland RA, Evans HJ, Summer AT. Identifying mouse chromosomes with the ASG technique. *Cell Res 1971; 69:231 - 6*

4. Cherkeziiia SE, Mikhailova GR, Gorshunova LP. Disorders in the murine chromosome apparatus induced by immunization with a complex of antiviral vaccines. *Vopr virusol 1979; (5): 547 - 50*

5. Committee on standardized Genetic Nomenclature for mice: Standard karyotype of the mouse. *Mus musculus J Hered 1972; 63: 69-72*

6. Cowell JK. A photographic representation of the variability in the G- banded structure of the chromosomes in the mouse karyotype. *Chromosoma 1984; 89:294-320*

7. Derby RW, Seldin MF. Human/mouse homology relationships. *Genomics 1996; 33(3): 337-51*

8. Dev VG, Grewal MS, Miller DA, Kouri RE, Hutton JL, Miller OJ. The quinacrine fluorescence karyotype of *Mus musculus* and demonstration of strain differences in secondary constrictions. *Cytogenetics 1971; 10:436-51*

9. Emery AEH, Mueller RF. Elements of Medical Genetics. 7th ed, 1988

10. Francke U, Nesbitt M. Identification of the

نامناسب میتوزها بر روی لام باشد، به طوری که باندهای کافی و خوب برای آنالیز نداشته‌اند.

کروموزم X یکی از بلندترین کروموزم‌ها در مجموعه است که می‌توان آن را تقریباً در ردیف جفت اول قرار داد. نتیجه این تحقیق موید نظرات کاول، لیوان، تی‌پلو، گال‌تون و همکاران است. (۱۹ و ۱۳ و ۱۶ و ۱۷ و ۱۸)

در این مطالعه کروموزم Y تنها کروموزمی بود که هتروکروماتین سانترومیک را نشان نداد و به طور یکنواخت تیره رنگ بود. این یافته با نتایج سایر مطالعات مطابقت دارد. (۱۸ و ۱۷ و ۱۶ و ۱۵ و ۱۴ و ۱۳ و ۱۲ و ۱۱ و ۱۰ و ۹ و ۸ و ۷ و ۶ و ۵ و ۴ و ۳ و ۲ و ۱)

برای تشخیص کروموزم‌ها علاوه بر شیوه‌های رنگ‌آمیزی، از روش Flow cytometry که تکنیکی نسبتاً جدید است استفاده می‌شود. این روش آنالیز کارئوتایپ را به طور سریع و بدون توسل به بسیاری از روش‌های معمول و وقت‌گیر امکان‌پذیر می‌سازد. متأسفانه گران بودن این دستگاه، استفاده کلینیکی از آن را محدود ساخته است. (۹) لذا با توجه به کم هزینه بودن روش حاضر و تشخیص دقیق کروموزم‌ها، استفاده از آن در آزمایشگاه‌ها توصیه می‌شود.

☐ سپاسگزاریم :

بدین وسیله از همکاری خانم وحیده فراهت کارشناس بخش بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تشکر می‌گردد.

☐ مراجع:

1. Banerjee TS et al. Evaluation of the genotoxicity of lac dye. *food chem toxicol 1984 Aug; 22(8) : 677-9*

2. Bouffler SD, Meijne El, Huiskamp R, CoxR.

- mouse chromosomes by Quinacrine mustard staining. *Cytogenetics* 1971; 10: 356-66
11. Galton M, Holt SF. Asynchronous replication of the sex chromosomes. *Exp Cell Res* 1965; 37: 111-6
12. Hande MP, Nataryan AT. Induction and persistence of cytogenetic damage in mouse splenocytes following whole-body X-irradiation analysed by fluorescence in situ hybridization: Iv Dose response. *Int J Radiat Biol* 1998; 74(4): 441-8
13. Levan A, Hsu TC, Stich HF. The idogram of the mouse. *Hereditas* 1962; 48: 677-87
14. Miller DA, Kouri RE, Dev VG, Grewal MS, Hutton JJ, Miller OJ. Assignment of four linkages group to chromosomes in *Mus musculus* and a cytogenetics method for locating their centromeric ends. *Proc Nat Acad Sci* 1971; 68: 2699 - 702
15. Miller OJ. et al. Identification of the mouse karyotype by Quinacrine fluorescence and tentative assignment of seven linkage groups . *Proc Nat Acad Sci* 1971; 68: 1530-3
16. Nesbitt MN, Franke U. A system of nomenclature for band patterns of mouse chromosomes. *Chromosoma* 1973; 41: 145-58
17. Sawyer JR Moore MM, Hozier J. High resolution G-banded chromosomes of the mouse. *Chromosoma* 1987; 95: 350-8
18. Schnedl W. The karyotype of the mouse. *Chromosoma* 1971; 35: 111-6
19. Tiepolo L, Francearo M, Hulten M, Linslein J, Mannini M, Ming PML. Timing of sex chromosomes replication in somatic and germline cells of the mouse and rat. *Cytogenetics*. 1967; 6:51-66.
20. Van Etten Wj. et al. Radiation hybrid map of the mouse genome. *Nat Genet* 1999; 22(4) : 384-7
21. Vasmel WL, et al. Distinct Chromosomal abnormalities in murine leukemia virus - induced T-and B cell lymphomas. *Int J Cancer* 1989; 43(6): 1112-9
22. Volgareva GM, Tolcheev IUD. The Safety of a vaccinal preparation made of bacteria of the genus proteus. *Zh Microbiol Epidemiol Immunobiol* 1988; (9): 70-5
23. Xiao Y, Darroudi F, Grigorova M, Natarajan At. induction and presistence of chromosomal exchanges in mouse bone marrow cells following whole-body exposure to X-rays. *Int J Radiat Biol* 1999; 75(9): 1119-28