

**KAJIAN KROMOSOM PESAKIT SINDROM
TURNER MENGGUNAKAN TEKNIK
KARYOTYPING DENGAN KAEDAH
PEWARNAAN JALUR G**

AIZATI AZLIN BINTI KHAIRUL ANWAR

**PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2007



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: KAJIAN KROMOSOM PESAKIT SINDROM TURNER MENGGUNAKAN
TEKNIK KARYOTYPING DENGAN KAEDAH PEWARNAAN JALUR G

Ijazah: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

SESI PENGAJIAN: 2004 - 2007

Saya AIZATI AZLIN KHAIROL ANWAR

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. **Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

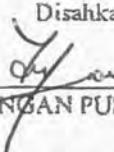
TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh


(TANDATANGAN PENULIS)


(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 313, LRG PEMUDA,
KG. TAL TUJUH, 17030

DR ROZIAH KAMBOL
Nama Penyelia

PASIR MAS, KELANTAN

Tarikh: 20/4/2007

Tarikh: 20/4/2007

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

17 April 2007



AIZATI AZLIN BINTI KHAIRUL ANWAR

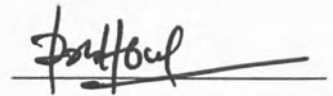
HS2004-4823



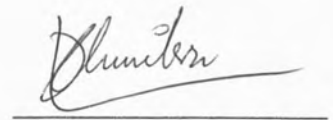
DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

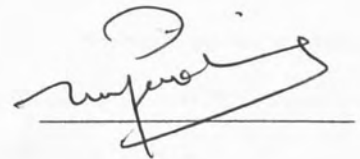
1. PENYELIA

(DR. ROZIAH HJ KAMBOL)

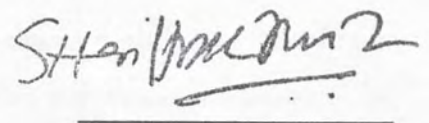
2. PEMERIKSA I

(DR. LEE PING CHIN)

3. PEMERIKSA II

(PUAN TEOH PEIK LIN)

4. DEKAN

**(SUPT/KS. PROF. MADYA DR. SHARIFF
A.K OMANG, ADK)**

PENGHARGAAN

Alhamdulillah serta selawat dan salam ke atas junjungan baginda, Nabi Muhammad s.a.w., ahli keluarga serta para sahabat baginda. Setinggi-tinggi syukur saya panjatkan ke hadrat Allah s.w.t. kerana dengan izin dan limpah kurniaNya, saya telah berjaya menyiapkan disertasi ini dalam masa yang ditetapkan. Dalam kesempatan ini saya ingin merakamkan ucapan jutaan terima kasih dan setinggi-tinggi penghargaan kepada keluarga, penyelia, pensyarah dan semua individu yang banyak membantu dalam menyiapkan kajian ini.

Ucapan jutaan terima kasih dan setinggi-tinggi penghargaan saya tujukan kepada:

- Teristimewa buat insan yang melahirkan, mendidik dan membesarkan saya iaitu Mama, Puan Hajah Hafsa Mamat dan Abah, Tuan Haji Khairul Anwar Khairuddin, yang banyak berkorban demi anakmu yang jauh ini. Abang-abang, kakak dan adik-adik yang banyak meniup semangat dan memberi sokongan dalam semua aspek. Perjuangan ini akan kuteruskan demi kalian.
- Penyelia saya iaitu Dr Roziyah Haji Kambol di atas segala tunjuk ajar, bimbingan, nasihat dan teguran sepanjang saya menjalankan kajian dan penulisan disertasi ini. Tanpa bimbingan anda, saya tidak mungkin berjaya menghasilkan disertasi seumpama ini. Saya juga memohon kemaafan di atas segala salah dan silap.
- Para pensyarah Sekolah Sains dan Teknologi, Universiti Malaysia Sabah terutamanya semua pensyarah kursus HG07, Bioteknologi sesi 2004 hingga 2007. Jasa kalian sentiasa kukenang.
- Semua warga Pusat Genom Manusia (PGM), Universiti Sains Malaysia, Kampus Kesihatan, Kelantan. Terutamanya Pengarah PGM, Dr Zilfalil Alwi dan Pakar Perunding Sitogenetik, Prof Ravindran Ankathil yang membenarkan dan mengalu-alukan kedatangan saya untuk menjalankan kajian. Terima kasih daun keladi, panjang umur saya ke PGM lagi. Insya-Allah.



- ❧ Tidak dilupakan kepada staf Makmal Sitogenetik PGM iaitu Encik Ahmad Tarmizi Abu Baker, Cik Suhaida Md Akhir, Cik Siti Mariam Ismail dan Puan Norhashimah Mukhtar yang gigih membimbing dan tidak pernah jemu membantu. Jasa kalian tidak ternilai harganya.
- ❧ Teman-teman sitogenetik seperjuangan iaitu Noor Farhana, Tan Suat Cheng, Nurul Huda dan Sherra yang seiring sejalan menempuhi cabaran dalam menyempurnakan kajian ini serta tidak lokek berkongsi pengalaman dan ilmu. Tidak dilupakan Aidil Faszrul, Wan Fahmi, Hoo Kit Mei, Low Aileen, Raha Haniza dan Nabila Hana yang sentiasa menyumbang idea, tenaga dan masa kalian.
- ❧ Pembantu makmal SST Puan Radizah, Encik Rizal dan Encik Musbah yang sentiasa menghulurkan bantuan tanpa rasa jemu. Kakitangan Institut Penyelidikan Borneo (IPB) terutamanya Encik Richard yang sentiasa sedia membantu dan sabar dengan karenahku.
- ❧ Teman-teman yang tersayang khususnya Farrah, Norazila, Siti Aisah, Siti Fuziah dan Nur Khairunnisa yang sentiasa jatuh bangun bersama dan berpimpin tangan dalam perjuangan tiga tahun ini. Teristimewa juga untuk Kak Irah dan Lady yang sentiasa memahami dan meringankan bebanku.
- ❧ Semua teman-temanku di UMS dan teman-teman baruku di USM dan UKM. Kehadiran kalian semua membawa sinar kegembiraan dan meninggalkan kenangan terindah untuk selamanya. Terutamanya Kak Chik yang banyak berkongsi pengalaman dan memberikan galakan.

Jutaan terima kasih buat kalian semua.



ABSTRAK

Kajian ini dilakukan bagi memperolehi serakan metafasa kromosom dan membentuk kariotip atau profil kromosom daripada individu perempuan normal dan penghidap sindrom Turner. Sebanyak 15 hingga 20 serakan metafasa telah dikaji bagi mendapatkan serakan metafasa dan profil kromosom yang terbaik. Kariotip bagi individu perempuan normal adalah 46,XX manakala kariotip bagi penghidap sindrom Turner adalah 45,XO. Kariotip 45,XO mengesahkan diagnosis terhadap remaja perempuan 18 tahun iaitu sampel kajian sebagai positif menghidap sindrom Turner. Dalam kajian ini, pencirian dan penyusunan kromosom dilakukan dengan teknik karyotyping menggunakan kaedah pewarnaan jalur G. Kaedah ini melibatkan perawatan kromosom dengan enzim tripsin sebelum diwarnakan dengan pewarna Giemsa atau Leishman. Hasilnya ialah jaluran gelap dan cerah yang dapat membezakan setiap kromosom dengan berpandukan kariotip piawai antarabangsa ISCN. Kajian ini mendapati bahawa 23 pasang kromosom manusia terbahagi kepada tujuh kumpulan yang diwakili dengan huruf dari A hingga G dan terdiri daripada tiga jenis kromosom iaitu metasentrik, submetasentrik dan akrosentrik. Kumpulan A terdiri daripada kromosom 1, 2 dan 3 dari jenis metasentrik. Kumpulan B dan C pula terdiri daripada kromosom jenis submetasentrik iaitu kromosom 4 dan 5 dalam kumpulan B manakala kromosom 6 hingga 12 dan kromosom X dalam kumpulan C. Seterusnya, kumpulan D terdiri daripada kromosom 13, 14 dan 15 dari jenis akrosentrik. Kumpulan E terdiri daripada satu kromosom jenis metasentrik iaitu kromosom 16 dan dua kromosom jenis submetasentrik iaitu kromosom 17 dan 18. Kromosom 19 dan 20 pula termasuk dalam kumpulan F ialah kromosom jenis metasentrik. Akhir sekali, kumpulan G terdiri daripada kromosom 21 dan 22 serta kromosom Y adalah dalam jenis akrosentrik. Kromosom jenis telosentrik tidak terdapat dalam manusia.



ABSTRACT

This study is conducted in order to obtain the chromosome spread at metaphase and prepare the karyotype or chromosome profile from a normal female and a patient of Turner syndrome. The most qualified metaphase spread and chromosome profile prepared from the study of about 15 to 20 metaphase spreads. The karyotype of normal individual female is 46,XX while for the Turner syndrome patient is 45,XO. This 45,XO karyotype authenticated the diagnosis of 18 years old girl; whom was diagnosed positive having Turner syndrome. In this study, the arrangement and classification of chromosome were carried out by karyotyping technique using the G-banding staining. This G-banding staining method include the chromosome treatment using trypsin enzyme before the chromosome being stained by Giemsa or Leishman dye. This method give a formation of dark and light bands on the chromosome which distinguished each chromosome based on the ISCN international standard karyotype. From this study, it is known that 23 pairs of human chromosome are divided into seven groups represented by alphabet from A to G and consist of three type of chromosome that are metacentric, submetacentric and acrocentric. Group A consists of metacentric chromosome which is chromosome 1, 2 and 3. Group B and C consist of submetacentric chromosome, they are chromosome 4 and 5 in group B and chromosome from 6 to 12 and chromosome X in group C. Group D consists of chromosome 13, 14 and 15 which is acrocentric. In group E, there is one metacentric chromosome which is chromosome 16 while the other two, chromosome 17 and 18 are submetacentric. Chromosome 19 and 20 are metacentric represented by group F. Finally, chromosome 21, 22 and chromosome Y in group G are acrocentric. There is no telocentric chromosome in human being.



KANDUNGAN

Muka Surat

PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
SENARAI KANDUNGAN	viii
SENARAI JADUAL	xi
SENARAI RAJAH	xii
SENARAI SIMBOL, UNIT, SINGKATAN DAN ISTILAH	xiv
BAB 1 PENGENALAN	1
1.1 Latar belakang Kajian	1
1.2 Objektif Kajian	3
BAB 2 ULASAN LITERATUR	4
2.1 Kajian Kromosom	4
2.1.1 Kromosom dan Karyotyping	5
2.1.2 Pengkulturan Sel Darah dan Kitar Sel	7
2.1.3 Jenis Pewarnaan dalam Karyotyping	11
2.2 Kromosom dan Keabnormalannya	13
2.2.1 Kromosom Seks	16
2.2.2 Keabnormalan Kromosom	18
2.3 Sindrom Turner	20
BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH	24
3.1 Penyediaan Medium Kultur RPMI 1640	25
3.1.1 Penyediaan Medium Kultur RPMI 1640 dalam bentuk Larutan	26



3.1.2	Penyediaan Medium Kultur RPMI 1640 dalam bentuk Serbuk	26
3.2	Persampelan Darah	29
3.2.1	Sampel Kajian	29
3.2.2	Prosedur Persampelan Darah	29
3.3	Pengkulturan Sel Darah	30
3.4	Penahanan Sel Darah pada Peringkat Metafasa	31
3.5	Penuaian Kultur Sel	32
3.6	Penyediaan Slaid	33
3.7	Pewarnaan Slaid	34
3.7.1	Penyediaan Larutan Penimbal dan Enzim Tripsin	34
3.7.2	Perawatan Kromosom dengan Enzim	35
3.7.3	Penyediaan Pewarna Giemsa dan Pewarna Leishman	35
3.7.4	Pewarnaan Kromosom	35
3.8	Pemerhatian dan Penganalisaan Slaid	36
3.9	Penyusunan Kromosom (Karyotyping)	37
BAB 4	KEPUTUSAN	38
4.1	Individu Perempuan Normal	40
4.1.1	Makmal Sitogenetik, PGM	40
	a. Serakan Metafasa	40
	b. Kariotip	41
4.1.2	Makmal Penyelidikan Bioteknologi, SST	43
	a. Serakan Metafasa	43
	b. Kariotip	44
4.2	Penghidap Sindrom Turner	46
	a. Serakan Metafasa	46
	b. Kariotip	47
BAB 5	PERBINCANGAN	49
5.1	Keputusan bagi Individu Perempuan Normal	49



5.1.1	Serakan Metafasa	49
5.1.2	Kariotip	53
5.2	Keputusan bagi Penghidap Sindrom Turner	54
5.2.1	Serakan Metafasa	54
5.2.2	Kariotip	54
5.3	Penyusunan dan Pencirian Kromosom	55
5.3.1	Kumpulan A	57
	a. Kromosom 1, 2 dan 3	57
5.3.2	Kumpulan B	59
	a. Kromosom 4 dan 5	59
5.3.3	Kumpulan C	60
	a. Kromosom 6 dan 7	60
	b. Kromosom 8, 9 dan 10	61
	c. Kromosom 11 dan 12	62
5.3.4	Kumpulan D	63
	a. Kromosom 13, 14 dan 15	63
5.3.5	Kumpulan E	64
	a. Kromosom 16, 17 dan 18	64
5.3.6	Kumpulan F	66
	a. Kromosom 19 dan 20	66
5.3.7	Kumpulan G	67
	a. Kromosom 21 dan 22	67
5.3.8	Kromosom Seks	68
5.4	Langkah Berjaga-jaga	69
BAB 6	KESIMPULAN	77
	RUJUKAN	80
	LAMPIRAN	84



SENARAI JADUAL

No. Jadual		Muka Surat
2.1	Anggaran kebarangkalian Sindrom Turner bagi beberapa negara di Asia Tenggara	20
2.2	Genotip seks daripada percantuman sel sperma dan sel ovum	22
3.1	Komponen bahan kimia dan fungsinya dalam proses karyotyping	28
5.1	46 kromosom manusia yang dikelaskan dalam tujuh kumpulan dan ciri-cirinya	57



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka surat
2.1 Kitar sel dalam sela masa jam	9
2.2 Struktur asas kromosom	13
2.3 Jenis kromosom berdasarkan kedudukan sentromer	14
2.4 Kariotip piawai antarabangsa atau ideogram ISCN	16
4.1 Serakan metafasa kromosom individu perempuan normal, 46 kromosom	41
4.2 Kariotip kromosom individu perempuan normal. (46, XX)	42
4.3 Serakan metafasa kromosom individu perempuan normal, 46 kromosom	43
4.4 Kariotip kromosom individu perempuan normal. (46, XX)	45
4.5 Serakan metafasa kromosom penghidap sindrom Turner, 45 kromosom	47
4.6 Kariotip kromosom penghidap sindrom Turner. (45, XO)	48
5.1 (Dari kiri) Kromosom 1, 2 dan 3.	58
5.2 (Dari kiri) Kromosom 4 dan 5.	59
5.3 (Dari kiri) Kromosom 6 dan 7.	60



5.4	(Dari kiri) Kromosom 8, 9 dan 10.	61
5.5	(Dari kiri) Kromosom 11 dan 12.	62
5.6	(Dari kiri) Kromosom 13, 14 dan 15.	64
5.7	(Dari kiri) Kromosom 16, 17 dan 18.	65
5.8	(Dari kiri) Kromosom 19 dan 20.	66
5.9	(Dari kiri) Kromosom 21 dan 22.	67
5.10	(Dari kiri) Kromosom X dan Y.	69



SENARAI SIMBOL, UNIT, SINGKATAN DAN ISTILAH

/	Solidus
X	Kuasa pembesaran kanta objektif
p	Petit (lengan pendek kromosom)
q	Turutan huruf selepas p (lengan panjang kromosom)
g	Gram
mM	Milimolar
°C	Suhu (darjah Celcius)
rpm	Putaran per minit (rotation per minute)
ml	Mililiter
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
μgml ⁻¹	Mikrogram per mikroliter
%	Peratus
v/v	Isipadu per isipadu
w/v	Jisim per isipadu
ISCN	International System for Human Cytogenetic Nomenclature
RPMI 1640	Roswell Park Memorial Institute 1640
FBS	Fetal Bovine Serum
PHA	Phytohaemagglutinin
PBS	Phosphate Buffered Saline



BAB 1

PENGENALAN

1.1 Latar belakang Kajian

Bidang sitogenetik melibatkan pengkhususan dalam kajian kromosom dan keabnormalannya pada manusia, haiwan dan tumbuhan. Ia melibatkan proses pengecaman perubahan dari segi bilangan dan struktur kromosom. Pengkhususan dalam bidang sitogenetik adalah sangat penting bagi meningkatkan taraf kesihatan dan kualiti hidup manusia. Dalam bidang perubatan, kajian ini merupakan prosedur diagnosis makmal yang terpenting bagi menentukan kesihatan bayi dalam kandungan ibu, masalah kerencatan mental dan kecacatan fizikal pada bayi baru lahir, individu yang mengalami kecelaruan jantina dan masalah pasangan yang mandul atau mengalami kekerapan keguguran kandungan. Selain itu, analisis sitogenetik juga penting sebagai panduan rawatan susulan bagi pesakit kanser dan berkaitan hematologi.



Teknik dalam kajian kromosom yang telah lama dipraktikkan ialah karyotyping. Karyotyping adalah teknik pemaparan secara visual profil lengkap kromosom atau kariotip suatu organisma. Teknik ini telah diperkenalkan sejak bertahun lama dahulu dan masih relevan sebagai asas dalam kajian genetik secara umumnya dan kajian kromosom secara khususnya pada hari ini. Selari dengan peredaran masa, teknologi baru telah meningkatkan keupayaan bidang sitogenetik melalui kaedah pewarnaan kromosom pada resolusi tinggi. Ini membolehkan diagnosis terhadap perubahan atau keabnormalan kromosom yang bervariasi dapat dikenalpasti dengan lebih tepat dan terperinci. Kaedah pewarnaan jalur G menggunakan pewarna Giemsa dengan perawatan enzim tripsin adalah kaedah pewarnaan kromosom yang dilaksanakan dalam kajian ini. Selain pewarnaan jalur G, terdapat beberapa kaedah lain yang boleh dilakukan dalam kajian kromosom iaitu pewarnaan jalur Q, jalur C dan jalur R.

Kromosom merupakan jasad biologi yang terdapat dalam setiap nukleus sel organisma hidup. Ia terdiri daripada protein dan molekul DNA (asid deoksiribonukleik) yang berperanan dalam pengekspresan ciri-ciri fizikal atau fenotip setiap organisma. Fenotip yang luar biasa akan ditonjolkan daripada keabnormalan atau mutasi yang berlaku pada genotip organisma. Keabnormalan kromosom dapat dilihat dengan jelas dalam individu yang mengalami masalah genetik dan mewarisi penyakit keturunan. Teknik karyotyping dipraktikkan untuk mengesan sama ada berlakunya penambahan atau pengurangan bilangan kromosom dan perubahan struktur kromosom. Contohnya sindrom Down disebabkan oleh lebih bilangan kromosom 21 dan dikenali sebagai Trisomi 21.



Manakala Sindrom Turner pula disebabkan oleh kekurangan kromosom X dalam individu perempuan yang juga dikenali sebagai Monosomi X.

Sindrom Turner hanya berlaku dalam populasi perempuan dengan kebarangkalian kelahiran satu dalam setiap 2500 hingga 5000 kelahiran hidup bayi perempuan di seluruh dunia. Secara fizikalnya, pesakit sindrom ini kelihatan seperti perempuan normal tetapi mereka gagal untuk menonjolkan ciri perempuan secara sepenuhnya. Pesakit biasanya berbadan kecil, mengalami kerencatan perkembangan organ seksual, tidak mengalami haid dan berisiko tinggi menjadi mandul. Rawatan seperti terapi hormon perlu dijalankan bagi membantu meningkatkan kualiti hidup pesakit sindrom Turner.

1.2 Objektif Kajian

- a) Mengenalpasti dan mengkelaskan setiap kromosom berdasarkan kariotip piawai antarabangsa daripada International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN).
- b) Mempraktik dan menguji keberkesanan kaedah pewarnaan jalur G dengan perawatan enzim tripsin dalam karyotyping.
- c) Mengenalpasti kewujudan kromosom X tunggal dalam kariotip pesakit sindrom Turner dan membuat perbandingan kariotip dengan individu normal.



BAB 2

ULASAN LITERATUR

2.1 Kajian Kromosom

Kajian kromosom merupakan satu bidang kajian yang berkaitan dengan kromosom dan implikasi genetik terhadap individu. Kajian ini melibatkan pemerhatian dan penelitian terhadap bilangan dan struktur kromosom serta keabnormalan yang wujud. Kajian kromosom perlu melalui beberapa proses asas iaitu pengkulturan sel, penahanan sel pada peringkat metafasa, rawatan menggunakan larutan hipotonik, pembaikan sel, penyediaan slaid dan perawatan serta pewarnaan kromosom (Md. Equebal & Kucheria, 2002). Seterusnya, proses karyotyping akan dijalankan. Karyotyping berasal daripada kombinasi istilah Greek '*karyo*' iaitu kromosom dan '*typing*' iaitu pemaparan atau penulisan. Maka, karyotyping bermaksud pemaparan set kromosom yang lengkap bagi sesuatu organisma hidup dalam bentuk profil lengkap kromosom atau kariotip (Gardner & Sutherland, 2004).



Kariotip ialah susunan set lengkap kromosom sesuatu sel yang terdiri daripada kromosom pada peringkat metafasa sel. Pembentukan kariotip dapat dilakukan berdasarkan perbezaan kedudukan sentromer dan saiz di antara kromosom. Setelah kariotip dibentuk, kajian kromosom dapat dijalankan dengan teliti dan mendalam. Kariotip yang disediakan ini adalah penting dalam pengecaman sebarang perubahan kromosom sama ada dari segi bilangan atau struktur kromosom. Selain itu, ia adalah penting bagi memastikan bentuk dan penanda kromosom seperti satelit dan cerutan sekunder wujud dalam organisma tersebut (Fatimah, 2003).

2.1.1 Kromosom dan Karyotyping

Pada abad ke-19, suatu jasad di dalam nukleus sel hidup telah dijumpai dan digelar sebagai kromosom. Perkataan kromosom berasal daripada kombinasi istilah Greek iaitu *chroma* (warna) dan *soma* (jasad) yang bermakna jasad berwarna. Semasa pembahagian sel, kromosom dapat dilihat dengan jelas di bawah mikroskop cahaya seperti struktur bebenang atau sebagai jasad berwarna (Muller & Young, 2001). Kromosom adalah bahan pewarisan yang boleh diwarisi dari satu generasi ke satu generasi dalam semua organisma hidup.

Kromosom adalah komponen terpenting dalam sesuatu organisma kerana ia melambangkan identiti tersendiri organisma yang membezakan antara spesies dengan spesies lain. Bilangan kromosom bagi setiap organisma adalah berbeza dan bilangannya tidak bergantung kepada saiz organisma terlibat. Hal ini berdasarkan bilangan kromosom

bagi anjing iaitu sebanyak 78 berbanding ikan kap iaitu sebanyak 104 (Lewis *et. al.*, 2004). Manakala manusia mempunyai 46 kromosom yang terdiri daripada 22 pasangan kromosom autosom dan satu pasang kromosom seks iaitu sama ada kromosom XX dalam individu perempuan atau XY dalam individu lelaki (Cantor & Smith, 1999).

Bagi menjalankan proses karyotyping, sel yang sedang aktif membahagi diperlukan. Keadaan ini adalah penting bagi mengawal dan menahan proses pembahagian sel (mitosis) untuk mendapatkan kromosom pada peringkat metafasa. Sampel daripada badan manusia yang boleh digunakan bagi tujuan ini adalah seperti darah, cecair sumsum tulang, bendalir amnion, tisu plasenta dan sampel vilus korion (Czepulkowski, 2001). Kebiasaannya, sampel darah paling banyak digunakan dalam analisis ini kerana ia senang diperolehi dan dimanipulasi di dalam kultur medium.

Bagi memastikan kultur sel darah dapat hidup dan berkembang, sampel darah yang diterima di makmal mestilah dalam keadaan segar dan tidak beku. Oleh sebab itu, sampel darah perlu diisi di dalam tiub steril yang mengandungi bahan antibeku seperti sodium heparin atau litium heparin. Tiub yang mengandungi bahan selain daripada dua jenis antibeku ini adalah tidak sesuai digunakan kerana boleh merosakkan kualiti kromosom manakala bahan kimia seperti *ethylene-diaminetetraacetic acid*, EDTA adalah toksik terhadap sel darah dan sekaligus boleh merosakkan kultur sel tersebut (Czepulkowski, 2001).



2.1.2 Pengkulturan Sel Darah dan Kitar Sel

Darah ialah tisu manusia yang paling mudah diperolehi dan dimanipulasi serta mempunyai kebolehan pertumbuhan yang amat baik melalui rangsangan mitogen. Kitar sel darah yang telah dicirikan oleh para saintis memudahkan kajian kromosom dijalankan menggunakan sel darah. Hal ini membolehkan penyelarasan tempoh pengkulturan sel darah dijalankan bagi mendapat kromosom yang panjang dengan resolusi jaluran yang berkualiti tinggi. Pengkulturan sel darah selama dua atau tiga hari adalah dijalankan dalam kajian kromosom bagi memperoleh kromosom pada peringkat mitosis yang bersesuaian (Babu & Verma, 1995). Dalam erti kata lain, pengkulturan jangka masa panjang dijalankan bagi sel darah berbanding pengkulturan jangka masa pendek bagi bendalir amnion dan vilus korion manakala pengkulturan serta-merta bagi sel sum-sum tulang dan sel tumor.

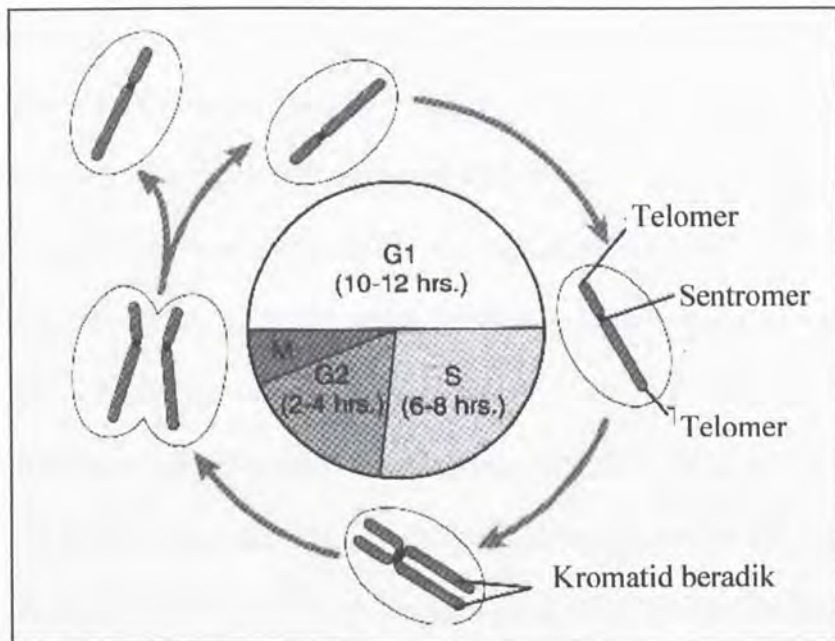
Darah terdiri daripada beberapa jenis sel iaitu sel darah merah, sel darah putih dan sel platlet. Dalam individu dewasa normal, sel darah merah dan sel platlet tidak mengandungi nukleus sel. Hanya sel darah putih sahaja mengandungi nukleus sel yang membolehkan kajian kromosom dan DNA dijalankan. Manakala dalam fetus pada peringkat awal perkembangan dan sel tumor *malignant*, sel darah merahnya mempunyai nukleus sel. Namun sel darah ini memerlukan penambahan faktor pertumbuhan spesifik ke dalam kultur bagi membolehkan pembahagian sel berlaku secara *in vitro* (Babu & Verma, 1995).



Sel darah putih atau leukosit adalah sel darah yang mempunyai nukleus sel. Semua sel darah putih mempunyai DNA yang membolehkannya dirangsang untuk membahagi dan menjalani proses mitosis. Antara sel darah putih yang terdapat dalam darah ialah granulosit, monosit dan limfosit. Sel granulosit mempunyai nukleus sel yang berkeluk dan terbahagi kepada neutrofil, basofil dan eosinofil berdasarkan perbezaan kandungan granula sitoplasmik. Sel monosit pula mempunyai nukleus sel yang berbentuk seperti buah pinggang atau bujur dengan granula sitoplasmik yang kecil. Akhir sekali, sel limfosit merupakan sel darah putih yang bersaiz kecil dengan nukleus sel yang bersaiz besar iaitu nisbah nukleus kepada sitoplasmik adalah tinggi. Sel limfosit juga terbahagi kepada beberapa jenis berdasarkan perbezaan ciri morfologi dan fungsinya (Babu & Verma, 1995; Czepulkowski, 2001).

Sel limfosit merupakan pilihan sel darah putih utama kerana sel tersebut mempunyai nukleus sel terbesar dengan kuantiti kromosom yang paling banyak serta mengalami proses kitar sel termasuk mitosis. Terdapat empat fasa atau peringkat utama dalam kitar sel iaitu fasa rehat pertama (G_1), fasa sintesis (S), fasa rehat kedua (G_2) dan mitosis (M). Fasa G_1 , S dan G_2 dikenali sebagai peringkat interfasa yang mengambil masa selama 16 sehingga 24 jam bagi satu kitar sel. Manakala mitosis hanya mengambil masa selama 1 sehingga 2 jam sahaja di akhir kitar sel (Nussbaum *et. al.*, 2001). Pada kebiasaannya, satu kitar sel lengkap dalam kebanyakan sel manusia mengambil masa 24 jam seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 2.1.





Rajah 2.1 Kitar sel dalam sela masa jam (hrs.= jam)
(Sumber daripada Nussbaum *et. al.*, 2001).

Mitosis merupakan fasa terpendek dalam kitar sel kerana ia berlaku kurang daripada 2 jam. Sejurus selepas mitosis, sel akan mengalami fasa G_1 di mana tiada DNA disintesis. Jenis sel yang berbeza mengambil masa rehat atau berada dalam fasa G_1 bagi tempoh atau sela masa yang berbeza. Terdapat sel yang berada dalam fasa ini selama beberapa hari, bulan atau tahun dan juga bagi tempoh beberapa jam seperti sel limfosit. Fasa G_1 diikuti dengan fasa S di mana DNA mula disintesis. Setiap kromosom tunggal daripada fasa G_1 akan bereplikasi atau mengganda menjadi kromosom dwibahagian dalam fasa S. Kromosom dwibahagian ini terdiri daripada sepasang kromatid beradik di mana setiap satunya mengandungi salinan asal molekul lurus DNA yang sama (Nussbaum *et. al.*, 2001).

RUJUKAN

- Aidil Faszrul bin Abdul Rahim. 2006. *Kajian Kromosom Pesakit Sindrom Down Menggunakan Teknik Karyotyping Penjaluran G*. Disertasi Sarjana Muda Sains, Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu. (Tidak diterbitkan)
- Babu, A. dan Verma, R.S. 1995. *Human Chromosomes Principles and Techniques*. Ed. ke-2. McGraw Hill, Inc., New York.
- Butler, M. 2004. *The Basic from Background to Bench, Animal Cell Culture and Technology*. Ed. ke-2. Garland Science/ BIOS Scientific Publishers Ltd., New York.
- Cantor, C.R. dan Smith, C.L. 1999. *Genomics; The Science and Technology behind the Human Genome Project*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Crowley, L. 2004. *An Introduction to Human Disease: Pathology and Pathophysiology Correlations*. Ed. Ke-6. Jones & Bartlett Publishers, Massachusetts, USA.
- Czepulkowski, B. 2001. *The Basic from Background to Bench, Analyzing Chromosomes*. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford.
- Fatimah Mohamed. 2003. *Genetik (Konsep dan Masalah)*. UPSI Tanjung Malim, Malaysia.
- Freshney, R.I. 2000. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*. Ed. Ke-4. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Friedman, J.M., Dill, F.J., Hayden, M.R. dan McGillivray, B.C. 1992. *The National Medical Series for Independent Study: Genetics*. Williams&Wilkins, USA.



Gardner, R. J. M. L. dan Sutherland, G. R. 2004. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling*. Oxford University Press, Inc., New York.

Genetic Features of Turner Syndrome. 2004.
<http://turners.nichd.nih.gov/GenFrIntro.html>.

International Atomic Energy Agency. 2001. *Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment, A Manual. Technical Reports Series No. 405*. International Atomic Energy Agency, Vienna.

ISCN ideogram. 2006. <http://members.aol.com/chrominfo/ideogram.htm>.

Kannan, T.P. 2006. *Cytogenetic: An Overview*. Nota Kuliah Genetic Clinic. 8 Jun 2006. Hospital Universiti Sains Malaysia, Kelantan. (Tidak diterbitkan)

Kugler, M. 2003. *Sex chromosome disorder in females*.
<http://rarediseases.about.com/cs/turnersyndrome/a/020803.htm>.

Lewis, R., Gaffin, D., Parker B. dan Hoefnagels M. 2004. *Life*. McGrawHill Companies, Inc., New York.

Lumley, J.SP. (pynt.). 2001. *Hamilton Bailey's Physical Signs: Demonstrations of Physical Signs in Clinical Surgery*. Ed. ke-18. Arnold (Hodder Headline Group), London.

Md. Equebal, A. dan Kucheria, K. 2002. Image Analysis System and its use in Cytogenetic Analysis. *Indian Journal of Human Genetics* 8 (1), ms. 15-19.

Muller, R. F. dan Young, I. D. 2001. *Emery' Elements of Medical Genetics*. Ed. ke-11. Churchill Living Stone, USA.



- Nussbaum, R.L., McInnes, R.R. dan Willard, H.F. 2001. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*. Ed. ke-6. W.B. Saunders Company, USA.
- Nyberg, D. A., McGaham, J.P., Pretorius, D.H., dan Pilu, G. 2003. *Diagnostic Imaging of Fetal Anomalies*. Lippincott Williams&Wilkins, USA.
- Pritchard, D. J. dan Korf, B. R. 2003. *Medical Genetics at Glance*. Blackwell Science Ltd, Oxford.
- Rooney, D.E., Czepulkowski, B.H., Rickwood, D. dan Hames, B.D. (pynt.). 1992. *Human Cytogenetics: A Practical Approach Vol I Constitutional Analysis*. Ed. ke-2. Oxford University Press, New York.
- Skirton, H. dan Patch, C. 2002. *Genetics for Healthcare Professionals: A Lifestage Approach*. BIOS Scientific Publishers Ltd, UK.
- Sung, J.JY., Wong, L.KS., Li, P.KT., Sanderson, J. dan Kwok, T.CY. (pynt.). 2002. *Principles and Practice of Clinical Medicine in Asia: Treating the Asian Patient*. Lippincott Williams and Wilkins Asia Ltd., China.
- Statistics by Country for Turner Syndrome. 2007.
http://www.wrongdiagnosis.com/t/turner_syndrome/stats-country.htm.
- Teague, M.L., Mackenzie, S.L.C. dan Rosenthal, D.M. 2006. *Your Health Today Choices in A Changing Society*. McGraw-Hill Companies, Inc., New York.
- Trent, R.J. 1997. *Molecular Medicine: An Introductory Text*. Ed. ke-2. Churchill Livingstone, Edinburgh, UK.
- Turner Syndrome. 2006.
http://en.wikipedia.org/wiki/Turner_syndrome.



Walker, J.M. dan Cox, M. 1995. *The Language of Biotechnology: A Dictionary of Terms*.
Ed. ke-2. American Chemical Society, USA.

Zilfalil Alwi, Mohamad Ros Sidek, Azlina Ahmad, Ahmad Tarmizi Abu Baker dan
Wati@ Hayati Shamshudin (pnyt.). 2006. *Cytogenetic and Molecular Genetic
Guide Book*. Human Genome Centre, USM, Kelantan.

