

IX Congresso Nazionale SIGU
Venezia, 11 novembre 2006

I TRUCCHI DEL MESTIERE NELLA PRATICA QUOTIDIANA

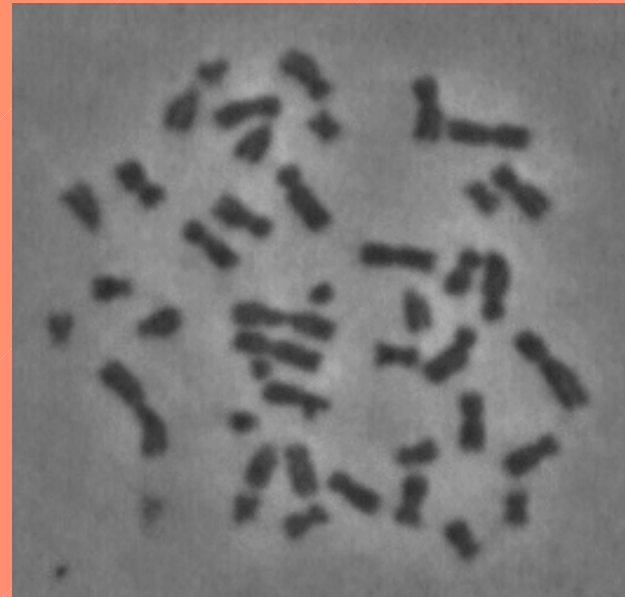
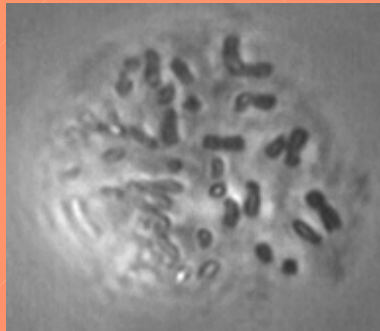
Relatore: Marina Di Segni

Autori: Marina Di Segni, Gianluigi Terzoli.

Laboratorio di Genetica Medica (Responsabile: D. Coviello)
Dipartimento dei Servizi - Area di Laboratorio (Codirettore: E. Torresani)
Fondazione Ospedale Maggiore Policlinico Mangiagalli e Regina Elena

Si ringraziano per il loro essenziale contributo **Marco Baccarin** e **Cristina Botta**.

La dinamica dei cromosomi durante l'evaporazione finale del fissativo

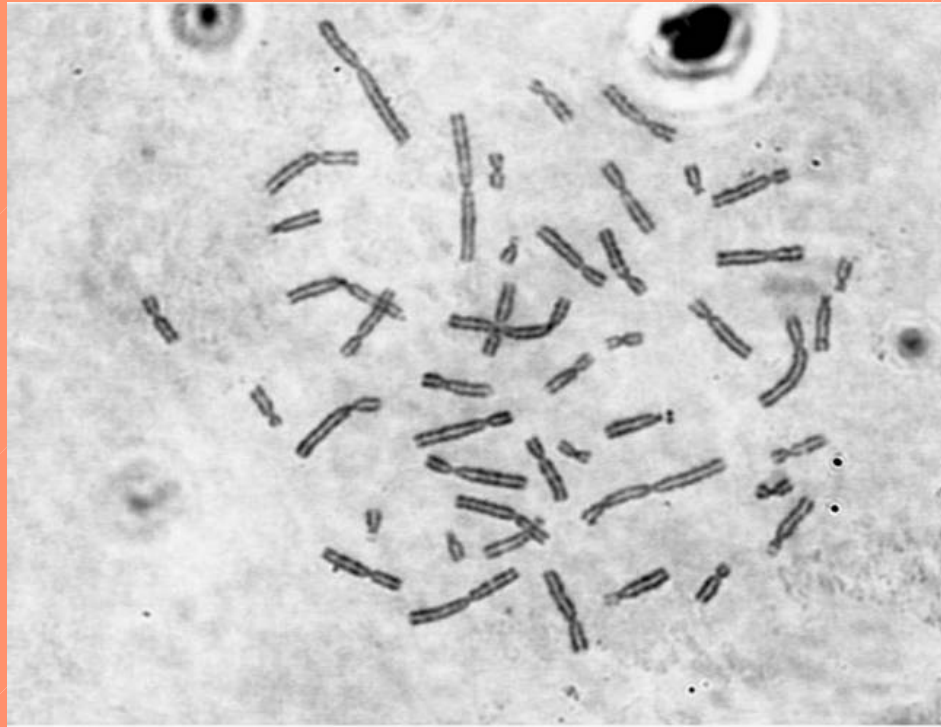


La dinamica dei cromosomi durante l'evaporazione finale del fissativo

- Il metanolo evapora per primo
- L'acido acetico entra in contatto con l'acqua atmosferica: la reazione è innescata
- Le proteine del citoplasma vengono idratate, si rigonfiano e provocano lo sparpagliarsi dei cromosomi (spreading)
- Anche le proteine dei cromosomi vengono idratate, ne consegue il graduale aumento nelle tre dimensioni

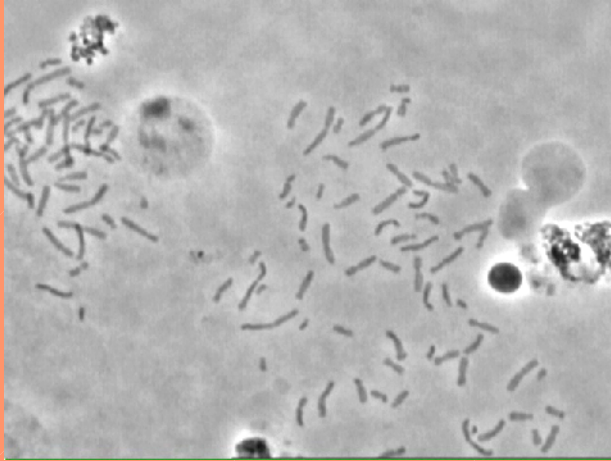
**Questo incredibile fenomeno
rende possibile l'indagine citogenetica**

Perché il fenomeno dell'idratazione sia utile per l'analisi citogenetica occorre controllare l'umidità e la temperatura in cui avviene l'evaporazione finale

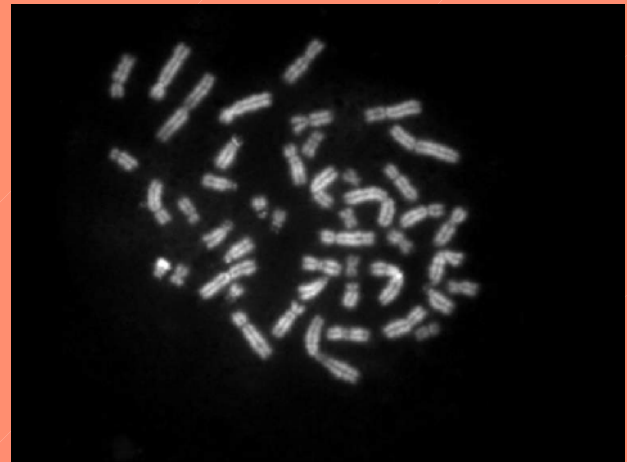
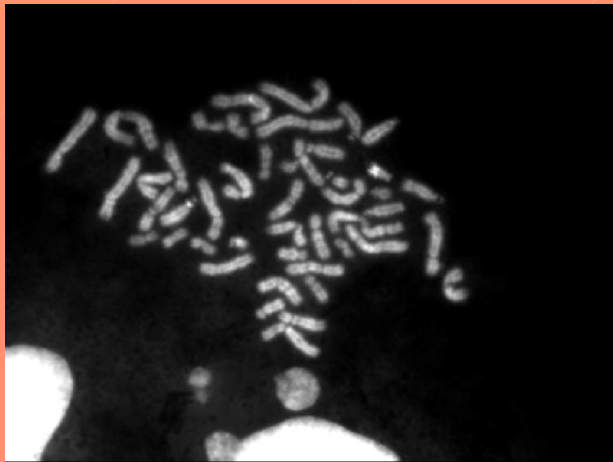


Metafase con spreading ottimale

Il fenomeno dell'overspreading e della fuzziness del bandeggio



Metafasi con perdita di cromosomi



Metafasi con cromosomi fuzzy

Causa del fenomeno dell'overspreading e della fuzziness del bandeggio

Ritardo dell'evaporazione finale dell'acido acetico

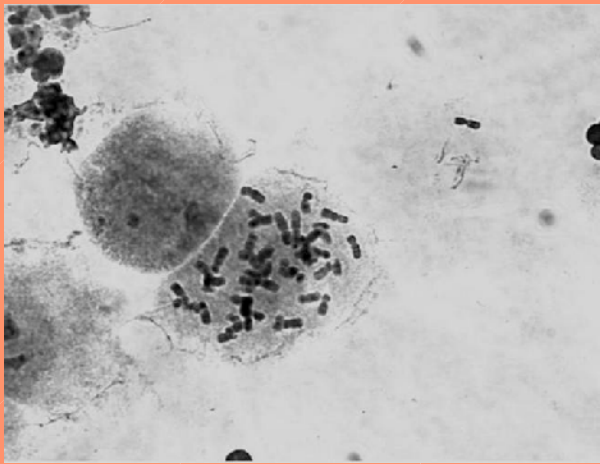
dovuta a:

- **eccesso di fissativo sul vetrino**
- **eccesso di umidità ambientale**

Rimedi:

- modificare la temperatura ambientale e l'umidità relativa
- aumentare la quantità relativa dell'alcol metilico rispetto all'acido acetico nell'ultimo fissativo (es: metil-acetico 4:1 invece di 3:1)

Il fenomeno dell'underspreading e dell'eccesso di citoplasma residuo con riduzione della qualità di bandeggio



Metafasi con cromosomi immersi nel citoplasma di dimensioni ridotte, non adatti all'analisi con bandeggio

Causa del fenomeno dell'underspreading e dell'eccesso di citoplasma residuo con riduzione della qualità di bandeggio

Rapidità eccessiva dell'evaporazione finale

dovuta a:

- scarsa umidità atmosferica
- temperatura troppo elevata

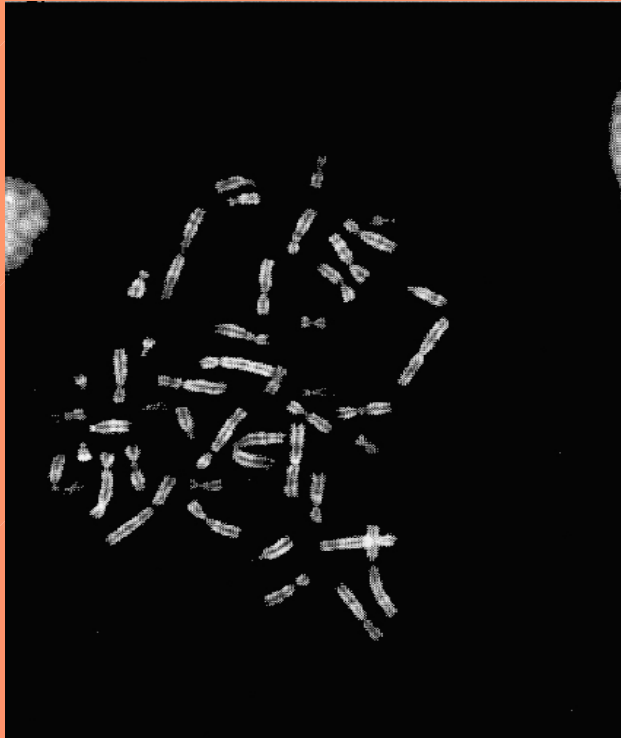
Rimedi:

- modificare temperatura ambientale ed umidità relativa
- aumentare la quantità relativa dell'acido acetico rispetto all'alcol metilico nell'ultimo fissativo (es: metil-acetico 2:1 invece di 3:1)

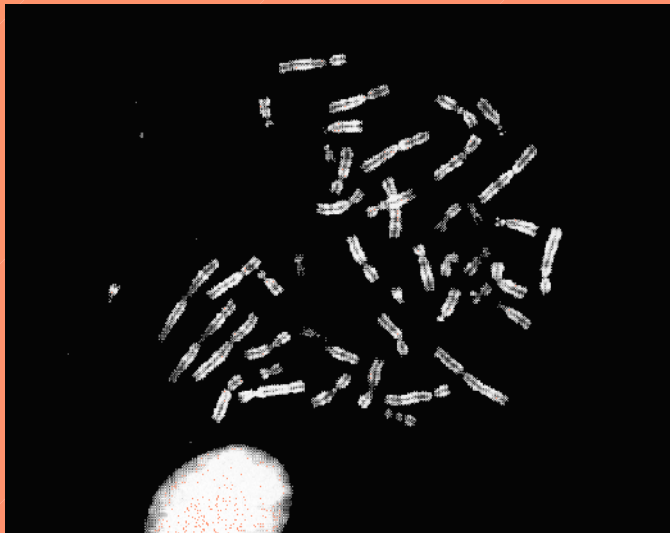
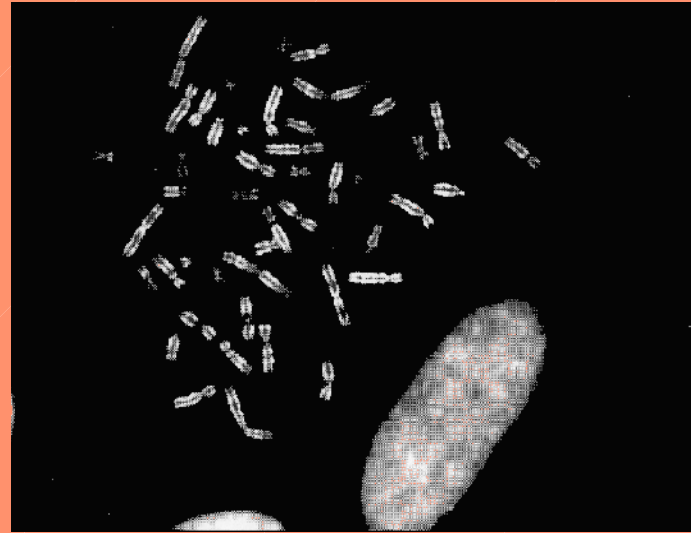
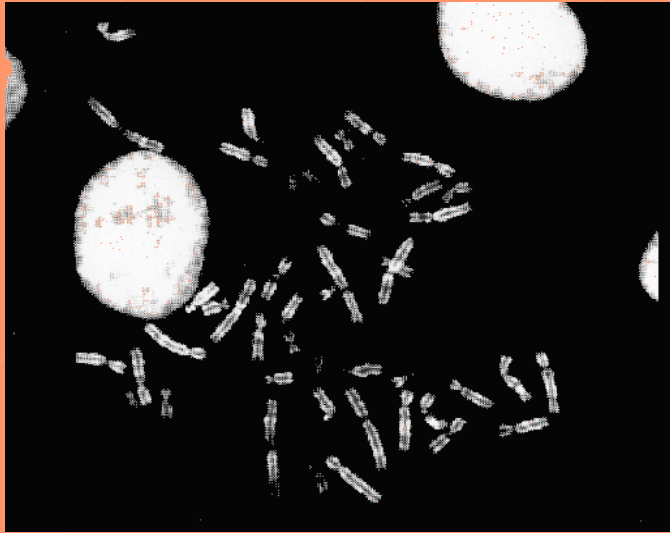
Colture di amniociti *in situ*: protocollo

- ✓ Utilizzo di un'ipotonica composta da Na_3Cit e KCl in piccola quantità
(in questa fase le pompe al Na^{2+} e al K^{+} sono efficienti in quanto le cellule durante il trattamento ipotonico sono ancora vive)
- ✓ Composizione del fissativo: metil-acetico (4:1)
- ✓ Evaporazione finale del fissativo ad una temperatura di 28°C e ad umidità relativa pari al 40%
(questa fase avviene nell'Optichrome: macchina a temperatura e umidità modificabili e controllabili)

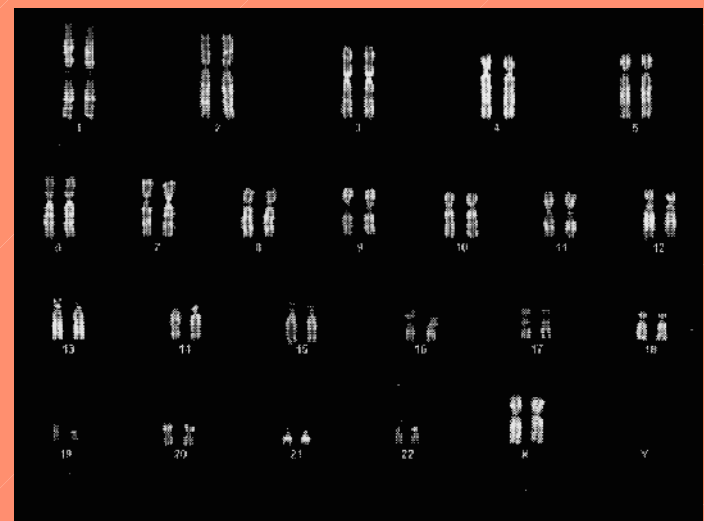
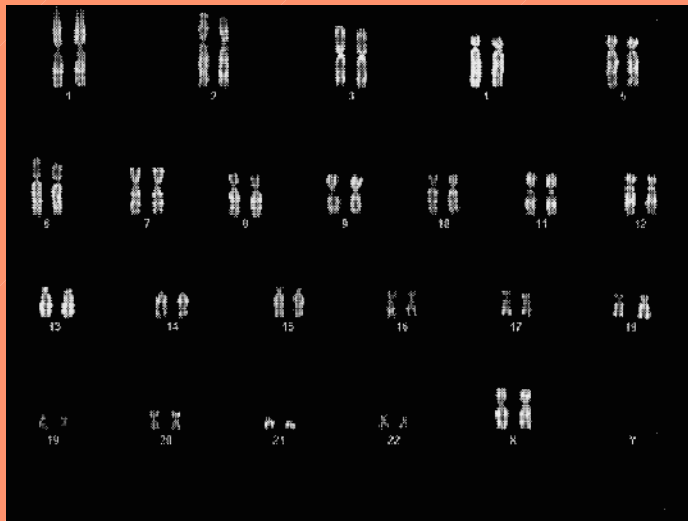
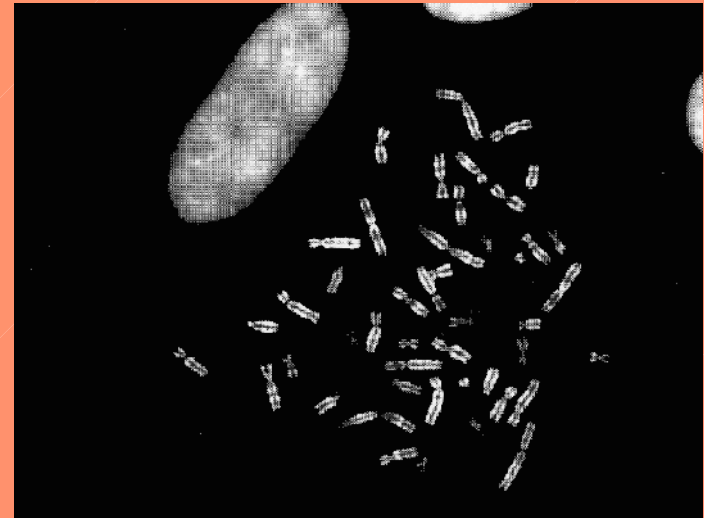
Risultati ottenuti da colture di amniociti nella routine quotidiana con il protocollo descritto



(1) Bandeggio QFQ



(2) Metafasi dello stesso caso



(3) Metafasi e relativo cariogramma