

# 染色体分散动力学

Dynamics of chromosome spreading

&

## Chromprep S4 恒温系统

应用于染色体滴片

Copyright 2012 Sinochrome. All rights reserved

# **Sinochrome**

Solutions for cytogenetics

上海乐辰生物科技有限公司 (Sinochrome) 专注于细胞遗传学技术和产品的研发, 致力于向细胞遗传学家提供标准化&自动化的染色体制备方案。

## **经营哲学**

专业&优质是我们对产品和服务的追求!

染色体分析  
标准化

✓ 细胞培养

优化的培养基, 相同的方法, 基本实现

✗ 染色体制备

方法差异大;  
染色体制备结果的重复性和一致性不够。

✓ 染色体核型分析

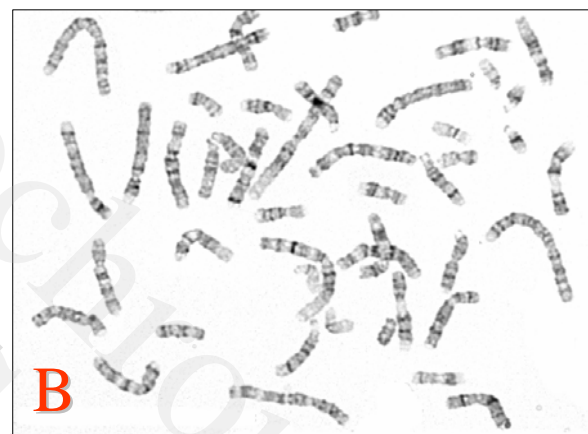
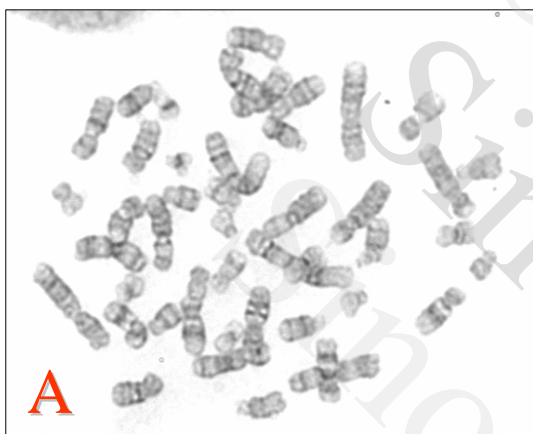
随着工作站的推广, 基本实现。

- ◆ 染色体制备质量的评价
- ◆ 染色体制备方法
- ◆ 影响染色体质量的因素
- ◆ 如何评价影响因素
- ◆ 染色体展开动力学
- ◆ 国内相关医院状况
- ◆ 结论
- ◆ Chromprep S 恒温系统
- ◆ 相关解决方案

## 染色体质量的评价

### Criteria for Spreading Chromosome

- ✓ 展开面积/Metaphase area
- ✓ 染色体重叠数/Number of Chromosome Overlaps
- ✓ 断裂染色体数/Frequency of Broken Metaphase
- ✓ 带显分辨率/Bands per Haploid Set (BPHS)



细胞遗传学家更希望B中的结果!

1. 准确性(微缺失更易诊断);
2. 分析效率高。

## 染色体制备方法 Protocol for Chromosome Preparation



- 培养/Culture
- 收获/Harvest
- 低渗处理/Hypotonic treat
- 固定/Fixation
- 分散/Spreading
- 显带/Banding

## 影响染色体质量的因素 Factors Affecting Quality of Chromosome

- 温度&湿度/T&RH for chromosome spreading
- 低渗处理/Appropriate hypotonic treatment
- 固定处理/Adequate fixation
- 抗收缩试剂/Anti-contraction agents

- 细胞同步化处理/Synchronisation
- 制片的方法/Slide condition
- 细胞密度/Cell density culture initiation
- 最佳收获时间/Optical time for harvest
- Mitotic arrestant/ (Cons and duration)

高质量的染色体制备关键在于:

**标准的方法:** 有效控制以上各影响因素;  
但首先是关键影响因素。

## 如何评价影响因素 How to evaluate these factors

U W Grummt *friedrich schiller university, Germany*

It is well known to experienced cytogeneticists that the quality of metaphase spreads is mainly determined by evaporation of the fixative from the slide, a process that is influenced by climate conditions, such as **relative humidity(湿度) and room temperature(温度)**.

*Cytogenet Genome Res 98:136-146(2002)*

U W Grummt *friedrich schiller* 大学 德国

有经验的细胞遗传学家都非常清楚的认识中期染色体的分散质量主要决定于载玻片上固定液(甲醇-乙酸)的挥发过程, 而这一过程主要受环境的**温度**和**相对湿度**影响。

*Cytogenet Genome Rcs 98:136-146(2002)*

Wen Deng *University of Hong Kong China*

**Humidity (湿度)** over the slide was the most important variable affecting the quality of chromosome spreads.

*Cytometry Part A 51 A:46-51 (2003)*

Wen Deng · 香港大学 中国

载玻片表面的**湿度**是影响染色体分散质量的最重要因素。

*Cytometry Part A 51 A:46-51 (2003)*

Jack L. Spurbeck

*Division of Laboratory Genetics and Section of Biostatistics,  
Mayo Clinic and Mayo Foundation, American*

Optimum metaphase areas can be achieved at various combination of relative **humidity** and **temperature**. We propose that the use of an environmental control unit is a practical way of achieving optimum chromosome spreading routinely and in a highly consistent manner.

*American Journal of Medical Genetics 61:387-393 (1996)*

Jack L. Spurbeck

美国

不同**相对湿度**和**温度**的协同作用可以保证最佳中期染色体分散面积 (Optimum metaphase areas)。我们认为环境控制仪的使用是获得最佳染色体分散质量，保证高度一致性的有效方法。

*American Journal of Medical Genetics 61:387-393 (1996)*

G. Terzoli

*Laboratorio di Citogenetica, Presidio Ospedaliero Regina Elena, via  
Manfredo Fanti 6, 20122, Italy*

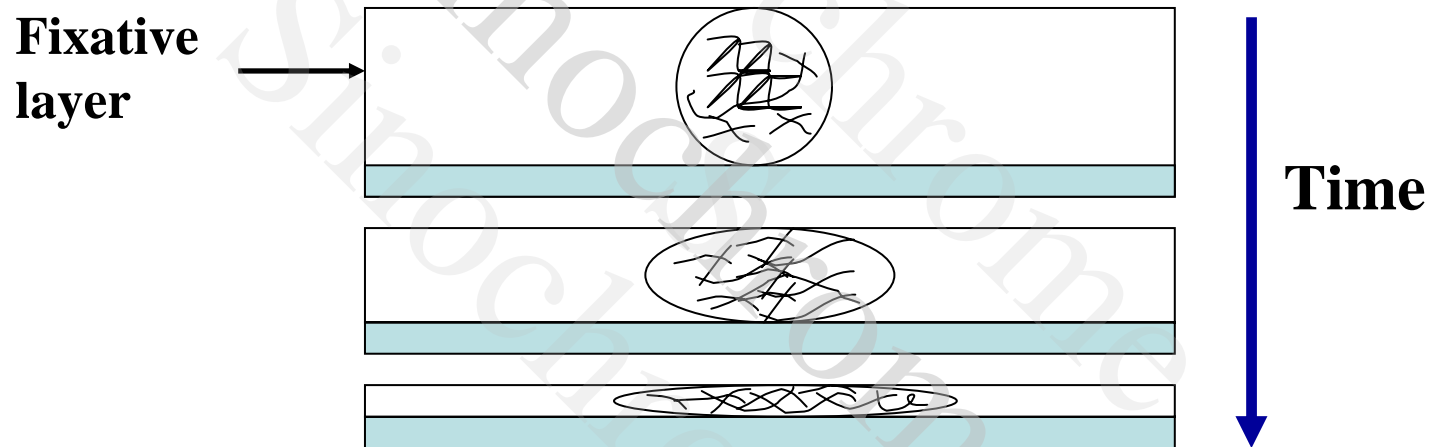
Metaphases are sometimes incomplete with chromosome loss or chromosomes are embedded into the cytoplasmatic matrix with poor banding quality. Such a variability is a common problem in laboratories without appropriate air conditioning during the weather changing.

G. Terzoli 意大利

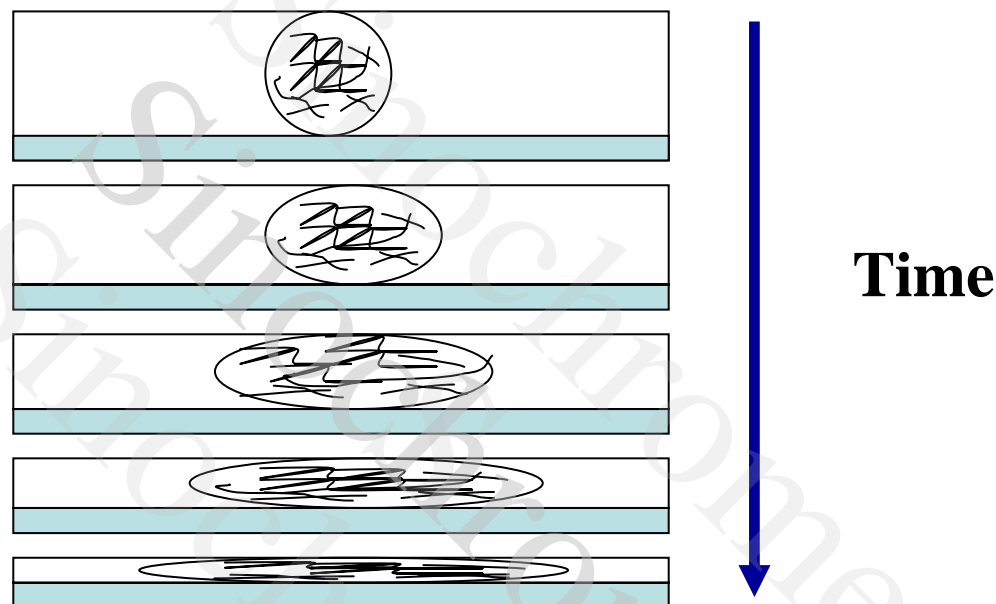
中期染色体有时不完整，染色体丢失；有时受细胞质干扰严重，显带质量差。在天气变化的过程中，没有适当的环境调控措施，此类变化将是实验中的常见问题。

# 染色体分散动力学

## Dynamics of chromosome spreading

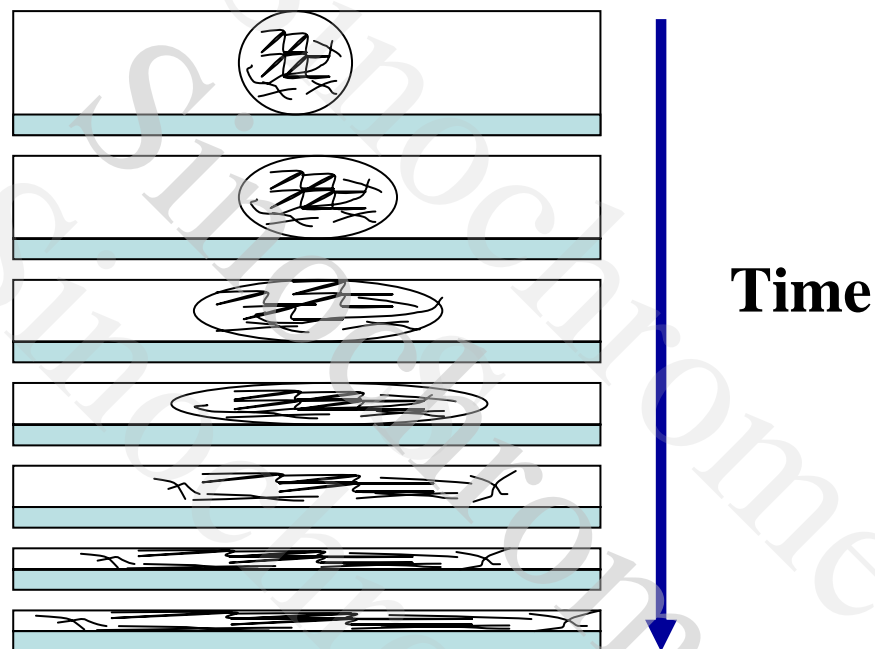


固定液蒸发太快，染色体分散不开  
Dry too fast and metaphase are tight



最佳蒸发速率，染色体重叠少，断裂少

Dry at optimum rate and metaphases have few overlaps  
and not broken

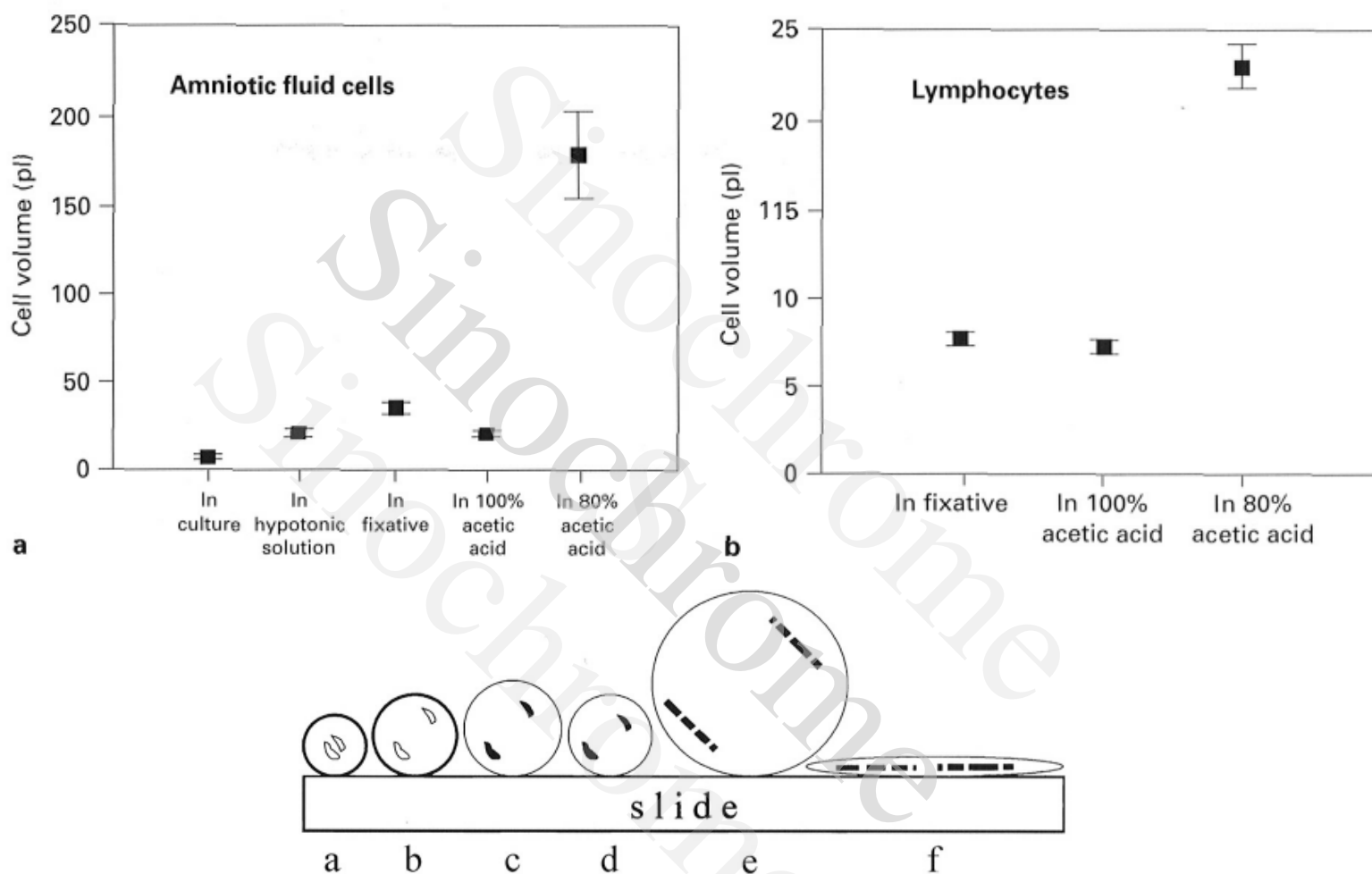


固定液蒸发太慢，染色体断裂、卷曲，分得太散  
Dry too slowly and metaphases are broken and rolled.

## 染色体展开过程

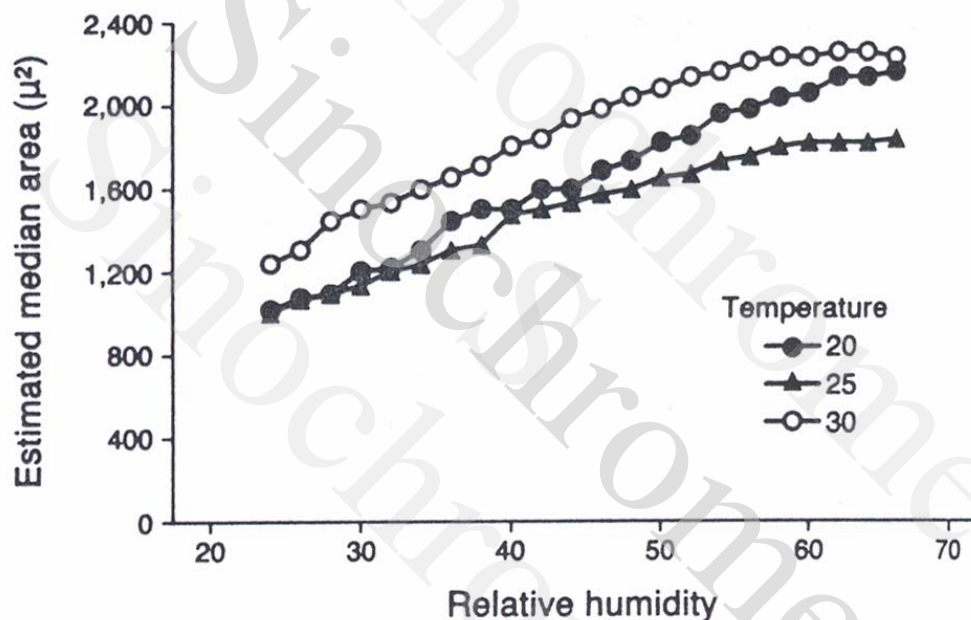
### Multiple Dynamic Steps in Metaphase spreading

- ✓ 0~10 s, 细胞漂移, 进而固定在玻片上  
Cells were seem to float and then touch the slide (immobile)
- ✓ 10~25 s, 染色体无可见展开  
No visible changes in dimensions of metaphases and chromosomes do not spread.
- ✓ 25~50 s, 染色体展开, 最后5s, 展开最快  
Dimensions of cells increase and chromosomes spread
- ✓ 50~90 s, 染色体变得可见  
Chromosomes are visible on the slides.



*From: U. Claussen, Cytogenetic and Genome Research 2002;98:136-146.*

## 展开面积—温度+湿度 (淋巴细胞) Metaphase area—Humidity&Temperature (lymphocytes)

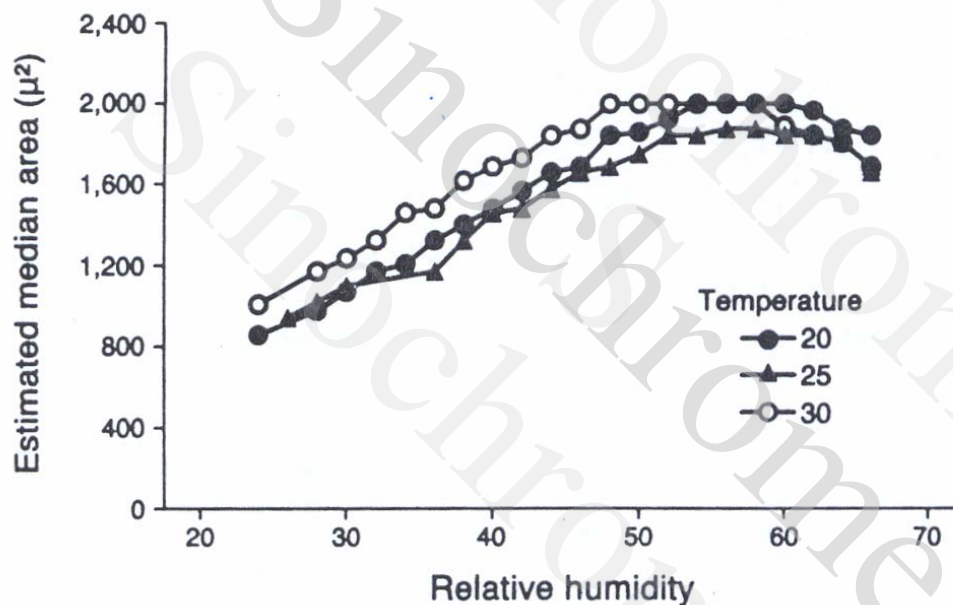


湿度的升高可以增加染色体的分散程度。

Fig. 7. Estimated median metaphase area as a function of temperature (°C) and relative humidity (%) for lymphocytes based on proportional hazards regression analysis.

*From: American Journal of Medical Genetics 61:387-393 (1996)*

## 展开面积—温度+湿度 (羊水细胞) Metaphase area—Humidity&Temperature(Amniocytes)



湿度的升高可以增加染色体的分散程度, 但存在一个阈值。

Fig. 5. Estimated median metaphase area for amniocytes as a function of temperature (°C) and relative humidity (%) based on proportional hazards regression analysis.

*From: American Journal of Medical Genetics 61:387-393 (1996)*

## 染色体断裂—温度+湿度 (羊水细胞) Breakens—Humidity&Temperature(Amniocytes)

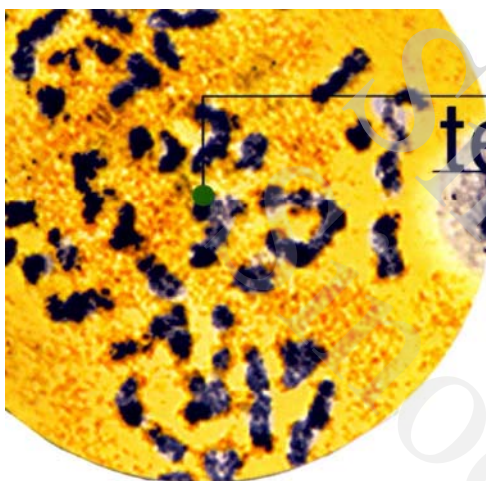
Relative Humidity(%)	Temperature		
	20	25	30
25			0/90
26		0/30	
30			
35	0/180	0/150	3/150
45	3/150	13/150	16/150
55	11/150	21/150	22/150
65	26/150	26/150	38/150

*From: American Journal of Medical Genetics 61:387-393 (1996)*

## 染色体断裂—温度+湿度 (淋巴细胞) Breakens—Humidity&Temperature (lymphocytes)

Relative Humidity(%)	Temperature		
	20	25	30
35			2
38		0	
45	0	1	4
55	3	2	13
65	0	8	22

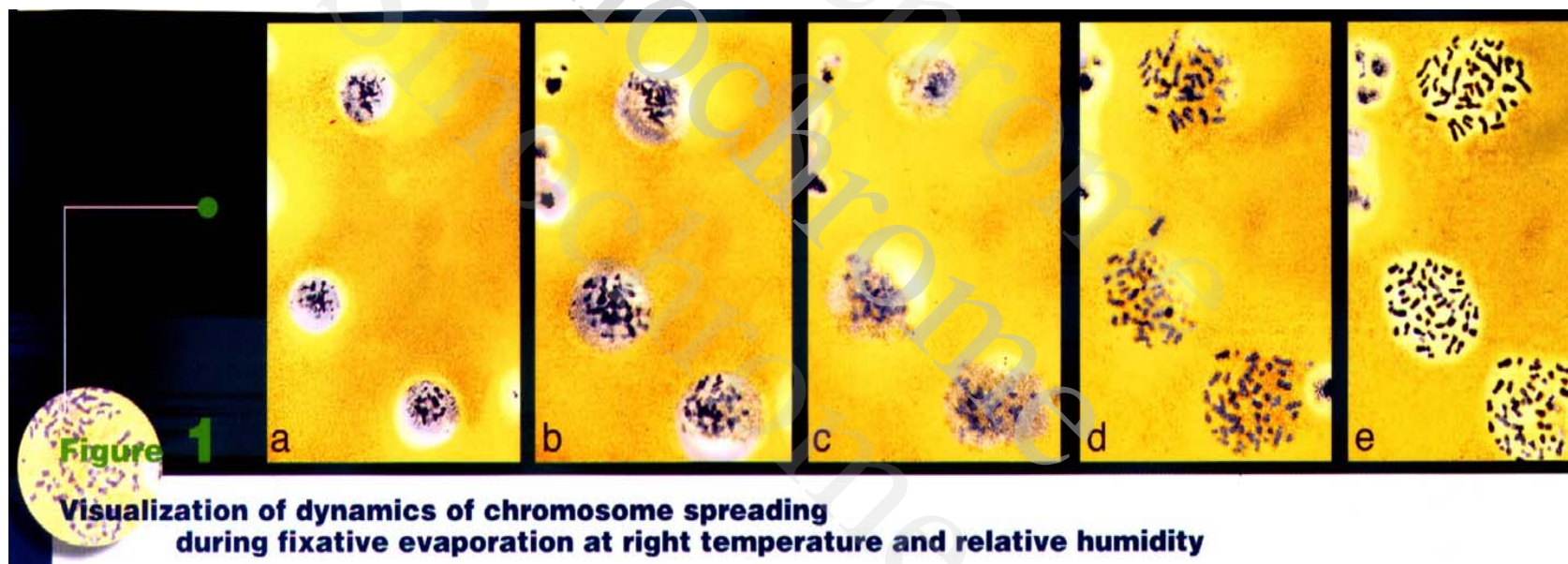
*From: American Journal of Medical Genetics 61:387-393 (1996)*



## Influence of temperature and humidity on the dynamics of chromosome spreading

从理论到实践...

## 适当的挥发时间、温度 & 湿度条件下的结果



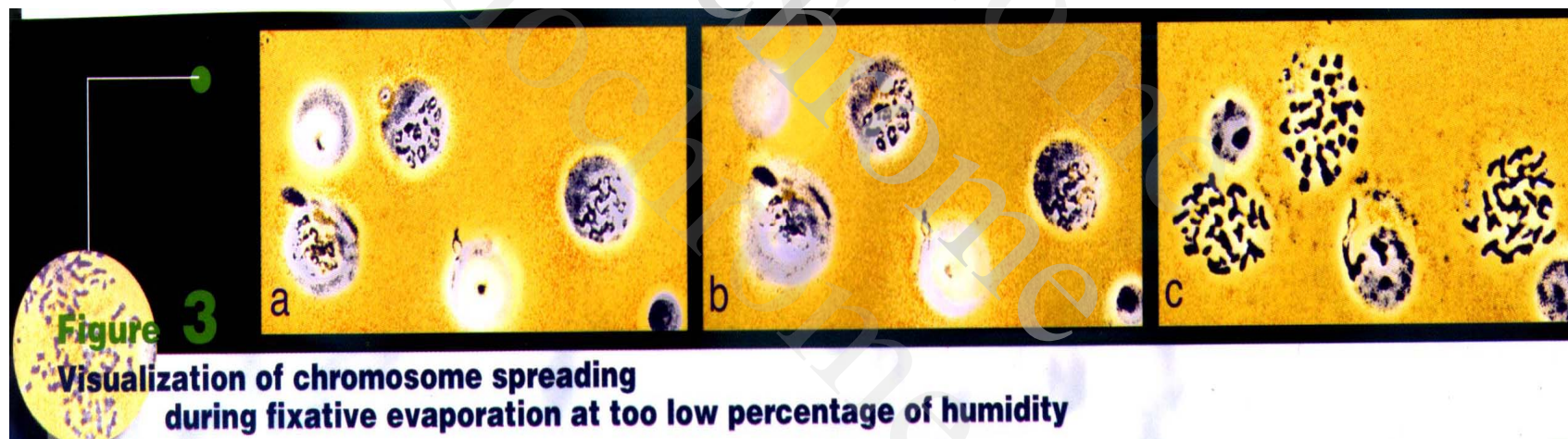
G. Terzoli, A. Molinari, S. Stioui, R. Cartolano

*Laboratorio di Citogenetica, Presidio Ospedaliero Regina Elena, via Manfredo Fanti 6, 20122, Italy*

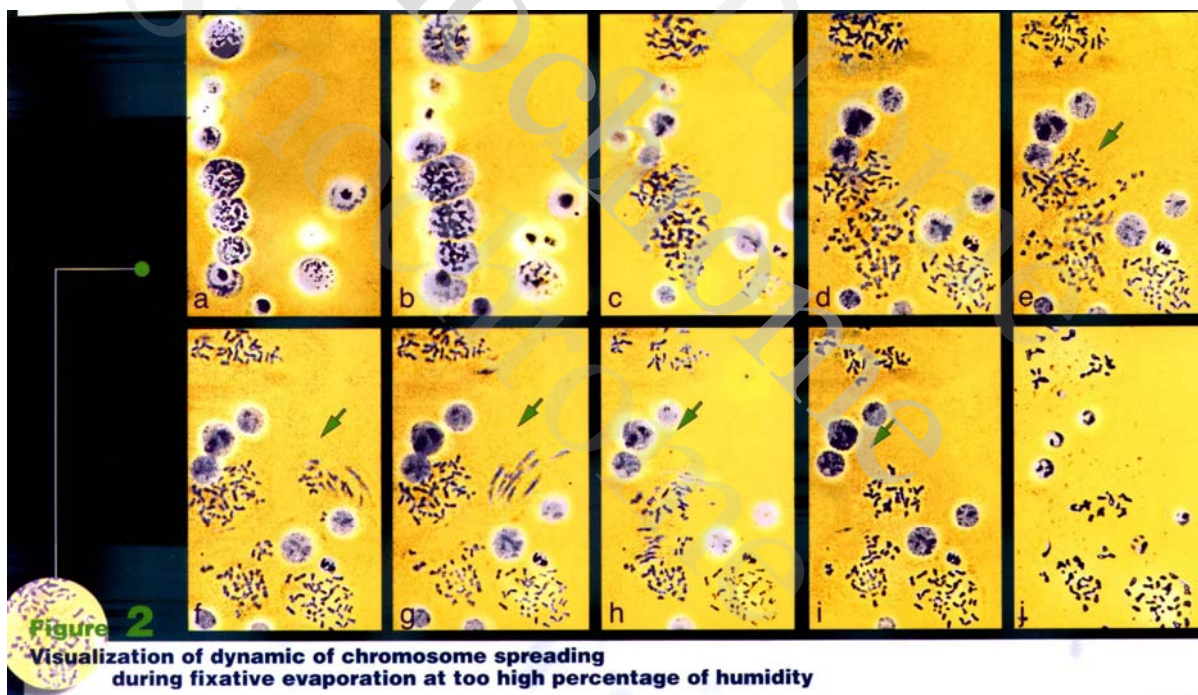
## 挥发速度过快时的结果



**EVAPORATION**

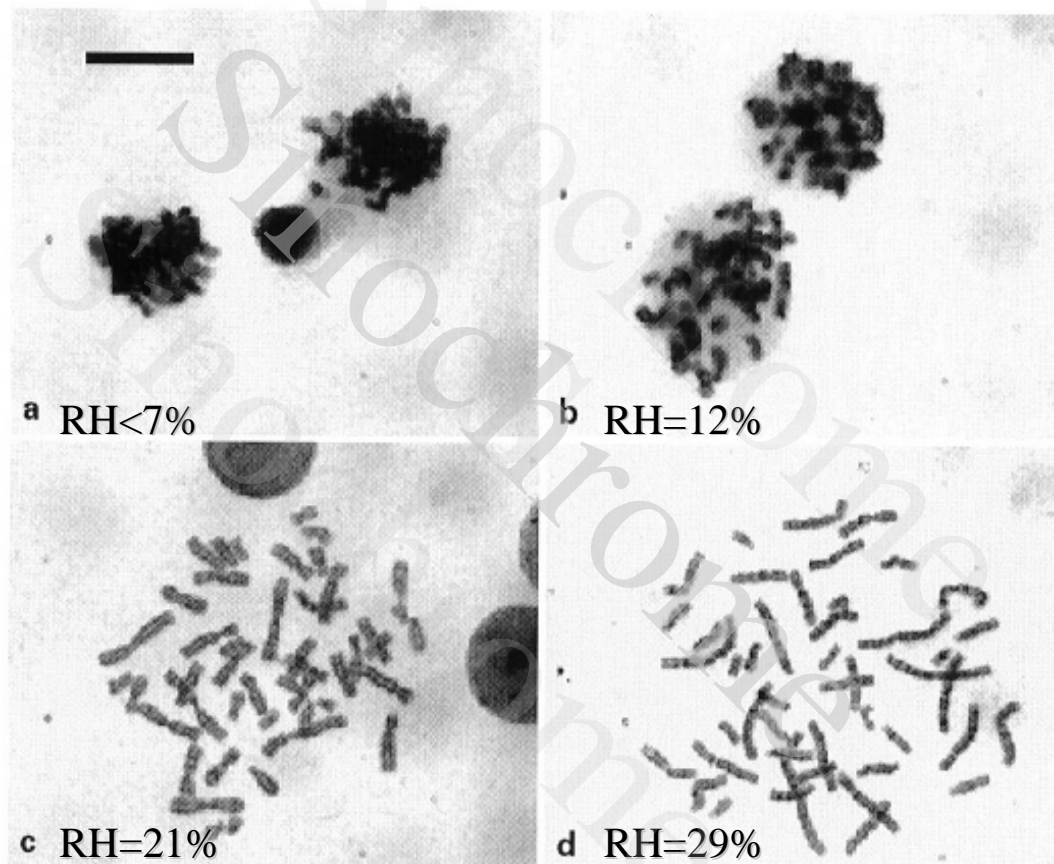


## 挥发时间太长时的结果



## 不同相对湿度条件下的染色体分散程度

(淋巴细胞)



*From: U. Claussen, Cytogenetic and Genome Research 2002;98:136-146.*

## 结 论 Conclusion

相对湿度和温度的升高可以增加染色体的分散程度，其中相对湿度是染色体分散程度的主要影响因素，但随着相对湿度和温度的升高，染色体断裂的比率增加，染色体的质量降低。因此适当的相对湿度和温度对于高质量的染色体制备非常重要。


## 国内相关医院状况 Conditions of Chinese Related Hospitals

- 湿度对染色体制备影响的考虑不够;
- 不同的实验室方法有差异;
- 不同实验室各有技巧;

# 北京天气 Beijing Weather



最新天气预报

今天夜间	明天白天
 风 向: 南转北 风 力: 1、2级 最低气温: 23℃ 相对湿度: 80%	天气现象: 多云转阴、傍晚有雷阵 雨 风 向: 北转南 风 力: 2、3级 最高气温: 33℃ 相对湿度: 40%

北京市气象台07月02日16时10分发布

# 北京市历史气象信息

## History Record of Beijing Weather

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
平均气温	-3.7	-0.7	5.8	14.2	19.9	24.4	26.2	24.9	20.0	13.1	4.6	-1.5
平均相对湿度	44	44	46	46	53	61	75	77	68	61	57	49
极端最低气温	-18.3	-16.0	-15.0	-3.2	2.6	10.5	16.6	11.4	4.3	-3.5	-1.06	-15.6
极端最高气温	12.9	17.4	26.4	33.0	36.8	39.2	39.5	36.1	32.6	29.2	21.4	19.5

注：数据来自北京气象局网页（2005 年）

## 结 论 Conclusion

需要对染色体制备过程中的温度和相对湿度进行控制!

## 参考文献 References

1. Jack L., Dynamics of chromosome spreading. American Journal of Medical Genetics 1996;61:387-393.
2. AST Lim, The importance of high resolution chromosome analysis in the diagnosis of birth defects: case reports of holoprosencephaly and cystic hygroma. Annals Academy of Medicine 2004;33:537-540.
3. Octavian Henegariu, Improvements in cytogenetic slide preparation: controlled chromosome spreading, chemical aging and gradual denaturing. Cytometry 2001; 43:101-109.
4. U. Claussen, Demystifying chromosome preparation and the implications for the concept of chromosome condensation during mitosis. Cytogenetic and Genome Research 2002;98:136-146.

- 5 **Wen Deng, A new method for improving metaphase chromosome spreading. Cytometry Part A 2003;51A:46-51.**
- 6 **6R. Hliscs, The spreading of metaphases is a slow process which leads to a stretching of chromosomes. Cytogenetics and Cell Genetics 1997;76:167-171.**
- 7 **A. C. Van Prooijen-Knegt, Spreading and staining of human metaphase chromosome on aminoalkylsilane-treated glass slides. Histochemical Journal 1982;14:333-344**

# Chromprep S4 恒温系统



专利产品



国家计量科学院认证

# Chromprep S4

## 恒温系统

- ✓ 染色体分散质量高，重叠数少，一致性和重复性好；
- ✓ 显著增加有效分析的染色体核型数；
- ✓ 效率高，四个抽屉连续操作，30~50个样品/小时；
- ✓ 体积小(60cm×36cm×36cm)，方便实验室布局；
- ✓ 启动速度快，开机平衡时间<8min (同类产品中最快)；
- ✓ 创新设计，控制精度高；
- ✓ 价格优于进口同类产品，维护费用低；
- ✓ 能耗低，最大功率240W (同类产品最低)



VS



## Chromprep S VS CDS-5

技术原理	控制温湿度	控制温湿度
湿度控制	半导体(精度高)	压缩机(精度低,速度慢)
能耗	低(最大功率240W)	>1000W
开机速度	<8min	>20min
环境要求	无	室温低,无法开机
体积	桌上型,安装方便	立式,占用空间大
技术服务	对分散结果负责 维修时间<1周 可以提供备用机器	对仪器负责 维修周期>1月
维护成本	低(半导体控制)	成本高,频率高(压缩机维护)
效率	30~50个样品/小时	?
使用方便	开放式抽屉,使用方便	半封闭式操作台,使用不方便
健康&环保	可以置通风橱中使用 对操作人员健康安全	无法完全消除废气

# 性能测试



证书编号 XDdj2007-6220

## 校准结果

1. 测试条件: 测试是在空载条件下进行的
2. 校准结果:

设定值	偏差		均匀度	波动度 (30min)	
	上偏差	下偏差			
1	25°C	0.3°C	-0.4°C	0.6°C	±0.1°C
	50%RH	0.1%RH	-0.1%RH	0.7%RH	±0.4%RH

说明:

上下偏差是指实测最高值和最低值分别与箱体显示值的偏差值。

中国计量科学研究院性能测试报告

# Chromprep S4

Chromprep S可以提供最佳的条件染色体分散条件:

- ◆ 最佳中期染色体的分散质量
- ◆ 染色体制备一致性
- ◆ 染色体制备的重复性
- ◆ 消除染色体分散不佳的情况

## Chromprep S4

应用染色体分散仪可以:

不同的实验室

可以采用完全相同的方法

从每一个染色体样品

制备出高质量的染色体

提高染色体分析结果的准确性

减小误判的可能性, 避免纠纷

# Chromprep S4 性能

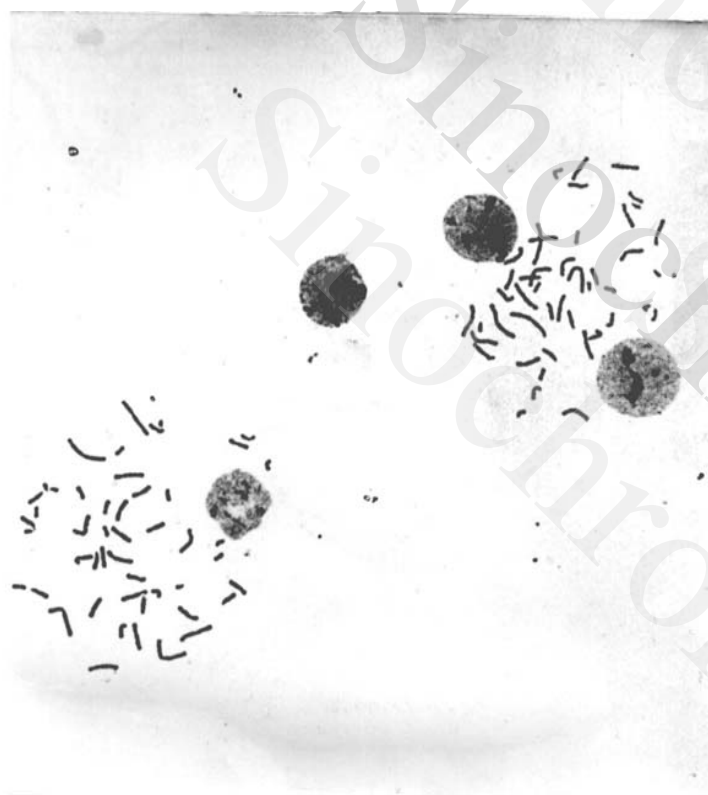
实例 . . .



应用**Chromprep S**制备  
的染色体样本

**25° C = T**

**50% = H**



应用**Chromprep S**制备  
的染色体样本

**T: 25° C**

**RH: 50%**

# Chromprep S

重复性 & 一致性问题的完美解决方案



## Chromprep S 的开发的意义

- ✓ 为染色体**标准化制备**提供技术保证;
- ✓ 为原位羊水细胞培染色体分析提供支持;
- ✓ 简化技术人员的培训过程(1天完成染色体制备的培训);
- ✓ 拥有自主知识产权, 价格优于进口产品;
- ✓ 低成本, 符合中国目前产前诊断检测的收费标准。

符合中国国情

## 总 结



▶ 产前诊断工作需要染色体分散动力学的相关技术

▶ Chromprep S是中国细胞遗传学家的最佳选择!

***Any questions?  
Any comments?***

***Thanks!***

**Http : [//www.sinochrome.net](http://www.sinochrome.net)**

**E-mail: [tech@sinochrome.net](mailto:tech@sinochrome.net)**

**Tel: 400-0021-908**