

CITOGENÉTICA HUMANA – CULTURA DE LINFÓCITOS DE SANGUE PERIFÉRICO

Autores: Prof. Dr. Alexandre Torchio Dias, Profa. Dra. Cintia Milani e Profa. Dra. Dulci do Nascimento Fonseca Vagenas

Os cromossomos humanos para estudos de cariótipo podem ser obtidos por meio do cultivo de linfócitos em sangue periférico; são coletados 5 mL de sangue periférico em tubo heparinizado. O início da cultura é realizado em ambiente estéril (fluxo laminar); o material deve ser semeado em frascos contendo meio de cultura, soro fetal bovino e fitohemaglutinina para estímulo de mitose celular. Os frascos deverão permanecer em estufa a 37°C, por 72 horas; retiram-se os frascos da estufa e adiciona-se colchicina para interromper a divisão celular. As culturas devem voltar novamente para a estufa a 37°C por 1 hora; os tubos são submetidos à centrifugação. O sobrenadante é então desprezado, e ao *pellet* restante acrescenta-se solução hipotônica (KCl 0,075M). O material deve ser ressuscitado com uma pipeta Pasteur e colocado na estufa a 37°C por 25 minutos; acrescenta-se ao material solução fixadora (3 mL de metanol para 1 mL de ácido acético). Homogeneizar com auxílio de pipeta Pasteur o material; ao *pellet* restante acrescenta-se novamente solução fixadora por mais três vezes. O material é ressuscitado com auxílio de um pipetador automático ou com uma pipeta Pasteur e pingado aos poucos em cada lâmina, a uma distância de aproximadamente 90 cm (a critério do operador). Quando as lâminas estiverem bem secas podem ser observadas em contraste de fase para verificação da qualidade das culturas e crescimento celular. As lâminas são então destinadas a diferentes técnicas de coloração e marcação cromossômica. A coloração convencional é realizada com corante Giemsa, imediatamente após a confecção das lâminas. Esta é utilizada para o estudo da morfologia cromossômica, permitindo sua classificação em grupos de acordo com a posição centromérica e tamanho cromossômico.