

Zpracování periferní krve

Základní postup zpracování periferní krve

Pro dobrý výsledek cytogenetického vyšetření je nutno zachovat tento postup:

1. **Odběr krve.** Periferní krev odebíráme do heparinizované stříkačky (heparin je účinný antikoagulant – tzn. látka snižující srážlivost krve) v množství asi 3 ml. Jako dezinfekční prostředek, kterým očistíme místo vpichu, použijeme alkohol. Ostatní látky jsou pro buňky toxické a jejich použití by znemožnilo provést vyšetření.
2. **Kultivace.** Krev dále kultivujeme tři dny v médiu s obsahem fytohemaglutininu. Tato silně imunogenní látka aglutinuje krevní buňky a stimuluje lymfocyty k dělení.
3. **Použití kolcemidu.** Zhruba dvě hodiny před ukončením kultivace je nutno přidat do kultury kolcemid. Kolcemid je vřetenkový jed, který poruší dělicí vřeténko a zastaví tak probíhající dělení v metafázi mitózy.
4. **Hypotonizace.** Následně suspenzi buněk slijeme do zkumavky, centrifugujeme a slijeme supernatant. Přidáváme hypotonický roztok chloridu draselného. Voda nám postupně začíná prostupovat do nitra buňky, buňka zvětšuje svůj objem a buněčná membrána se postupně ztenčuje. Chromozomy se od sebe vzájemně rozestupují v důsledku velkého objemu buňky.
5. **Fixace.** Buňky fixujeme směsí methanol – kyselina octová (3:1). Třikrát tento postup opakujeme.
6. **Příprava chromozomových preparátů.** Suspenzi kápneme na vlhké, čisté a vychlazené podložní sklo. Suspenzi nakapeme z dostatečné výšky, aby došlo k rozrušení buněčné membrány a k uvolnění chromozomů. Po adhezi jsou chromozomy schopny barvení.

Lymfocyty periferní krve jsou nejčastěji využívaným materiálem, pokud provádíme postnatální vyšetření. Dalším možným materiálem jsou fibroblasty.

Odkazy

Použitá literatura

- KOČÁREK, Eduard a Martin PÁNEK. *Klinická cytogenetika I : Úvod do klinické cytogenetiky*. 2. vydání. Praha : Karolinum, 2010. 134 s. ISBN 978-80-246-1880-7.