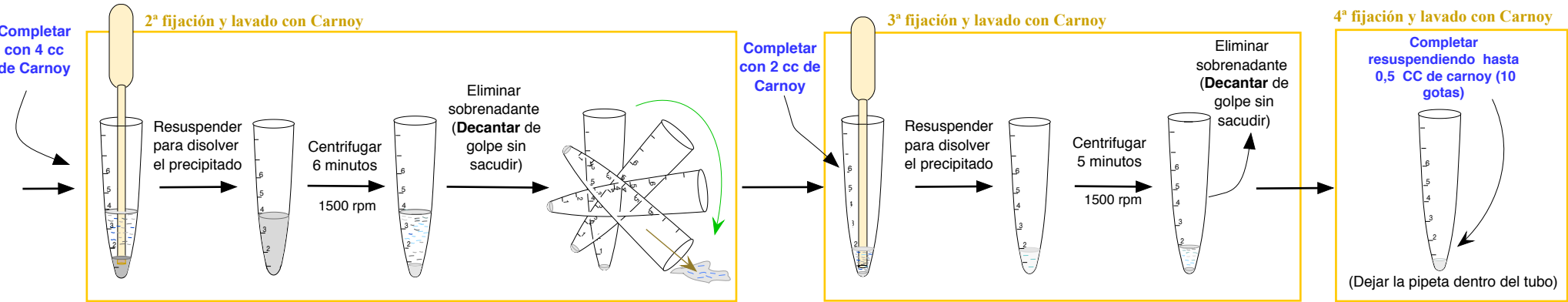
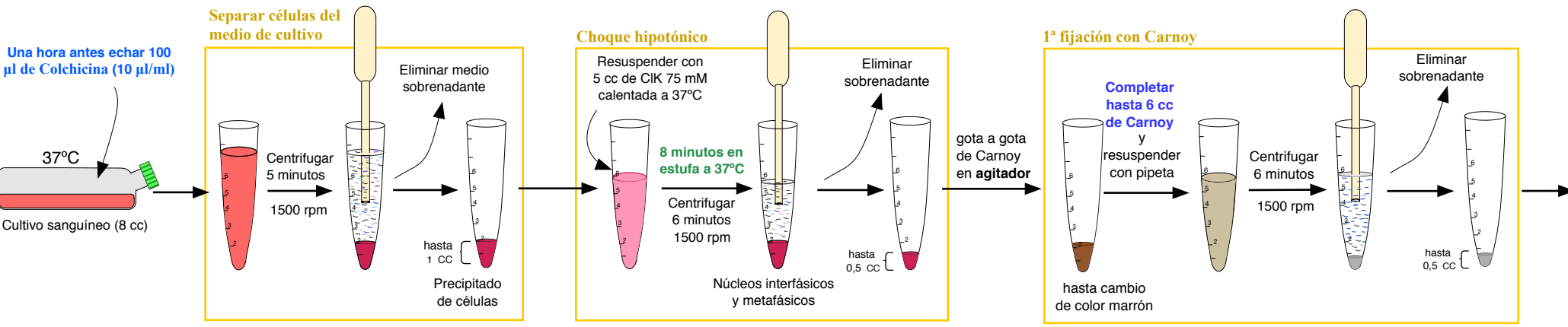


# CARIOTIPO HUMANO

Obtención del botón celular y frotis de los núcleos

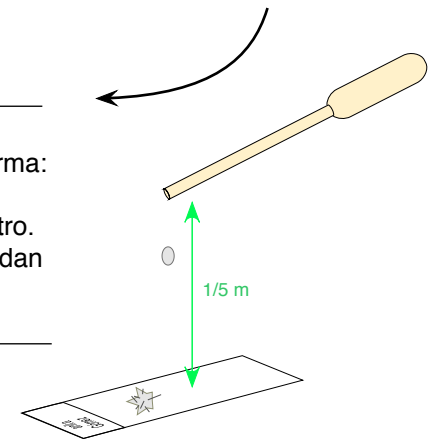


En los tiempos de espera se limpiarán con alcohol (70%) unos 5 portas (se eliminan los restos de grasa). Se anotará con lápiz el nombre del alumno. En la cara escrita del porta será donde coloquemos la muestra, así sabremos la cara del porta que debe tratarse con cuidado, evitando cualquier contacto físico. Dejar envejecer al menos 5 días los frotis antes de proceder a la tinción y montaje definitivo.

Medio de cultivo sanguíneo		Medios											
Síntesis química	Medio RPMI 1640 100 cc	<table border="0"> <tr> <td><b>Solución Carnoy</b></td> <td><b>Solución CIK</b></td> </tr> <tr> <td>Metanol 75 cc</td> <td>CIK 5,59 gr</td> </tr> <tr> <td>Ac. acético 25 cc</td> <td>Agua 1000 cc</td> </tr> <tr> <td>Total 100 cc</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Recién preparada y fría.</td> <td>En la estufa a 37°C.</td> </tr> </table>		<b>Solución Carnoy</b>	<b>Solución CIK</b>	Metanol 75 cc	CIK 5,59 gr	Ac. acético 25 cc	Agua 1000 cc	Total 100 cc		Recién preparada y fría.	En la estufa a 37°C.
<b>Solución Carnoy</b>	<b>Solución CIK</b>												
Metanol 75 cc	CIK 5,59 gr												
Ac. acético 25 cc	Agua 1000 cc												
Total 100 cc													
Recién preparada y fría.	En la estufa a 37°C.												
Medio natural	Suero fetal de ternera 15 cc												
Síntesis química (200 mM)	L-glutamina 200 mM 0,5 cc												
Antibiótico (10.000 U/ml)	Penicilina-Streptomicina 2 cc												
Agente mitótico	Phytohemagglutina 0,7 cc												
Tampón (1M)	Hepes buffer 1,5 cc												
Anticoagulante (1%)	Heparina sódica 0,3 cc												
	Total 120 cc												
Los 120 cc se reparten en 15 frascos con 8 cc cada uno.													

**Preparación del frotis sanguíneo**

Tomar con la pipeta sólo un par de gotas.  
Dejar caer sobre el porta de la siguiente forma:  
1º Inclinarse el portaobjetos 45°  
2º La distancia de caída de la gota: 1/5 metro.  
De esa forma se rompen los núcleos y quedan sueltos y separados los cromosomas metafásicos

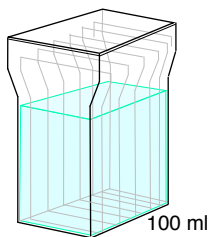
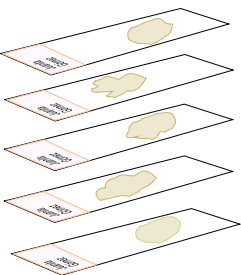


**IMPORTANTE:** el porta bien humedecido con vaho

Digestión enzimática

Tripsina

(0,1 g / 100ml de PBS)

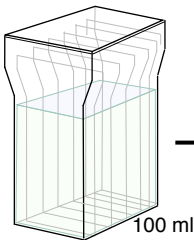


10 segundos

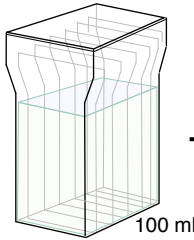
Lavado

PBS

PBS



Agitar el porta

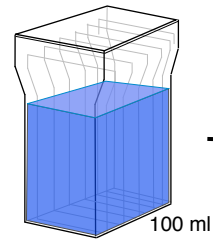


2 minutos

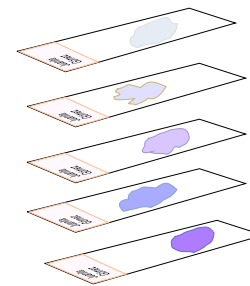
Tinción

Giemsa (Merk)

(3 ml /100ml de PHOS)



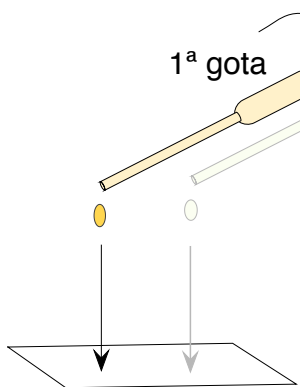
10 minutos



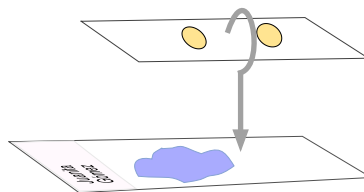
Lavar MUY BIEN con agua FRÍA del grifo y dejar secar.

Montaje de preparaciones

1ª gota 2ª gota



Dejar caer dos gotas bien separadas de Entellán en el cubre



Voltear el cubre con las gotas de Entellán y colocarlo sobre el portaobjeto. No presionar luego con los dedos. Después de dos días se puede mirar al microscopio.

Medios

Tampón PBS

ClNa	16 g
ClK	0,4 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,4 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,3 g
Agua	1600 cc

Tampón PHOS

PHOS 1	43 cc
PHOS 2	57 cc
Total	100 cc

Mezclar en el momento de usar para conseguir un pH = 6.7

PHOS 1

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	9,46 g
Agua	1000 cc

PHOS 2

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	9,07 g
Agua	1000 cc