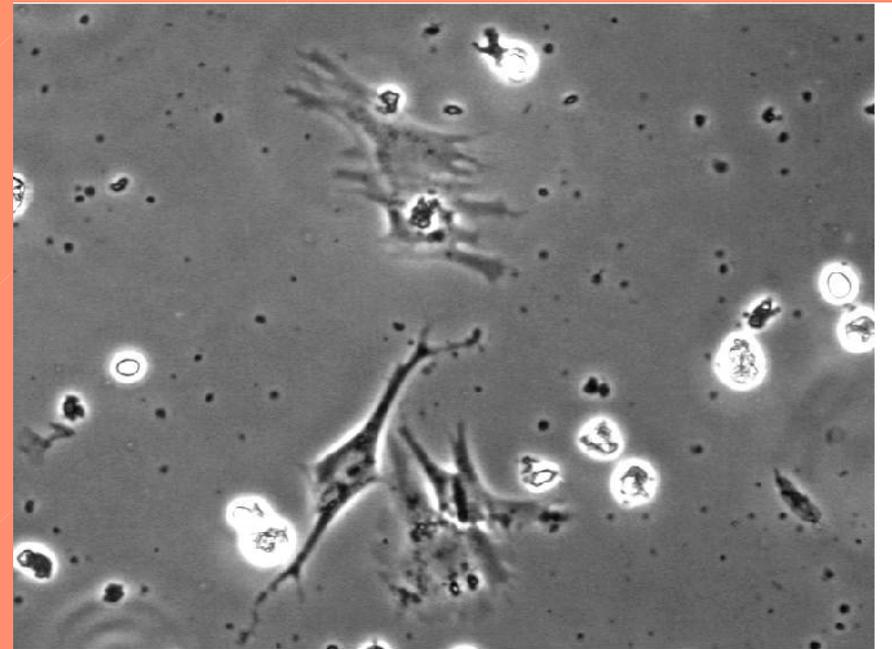
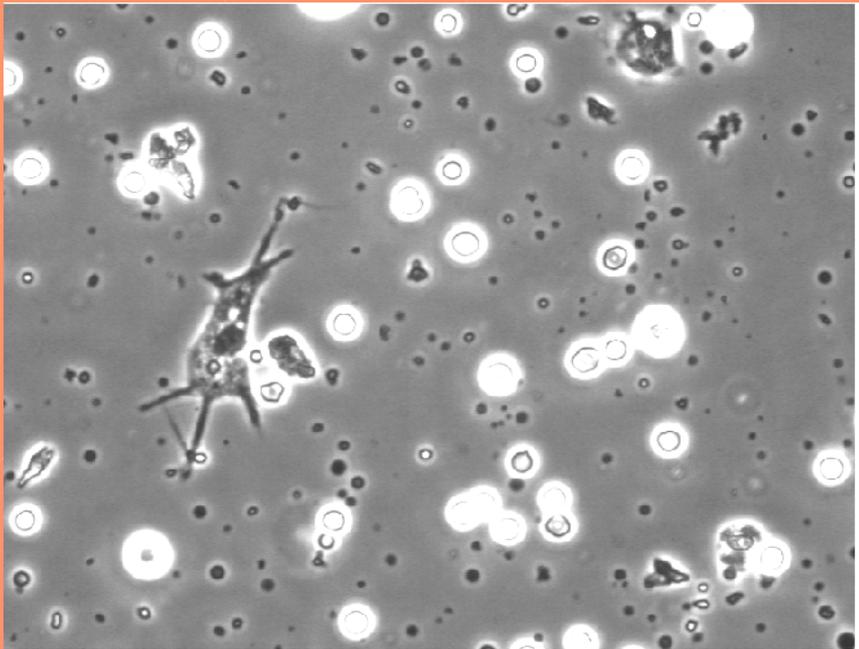


# Colture a lungo termine di villi coriali

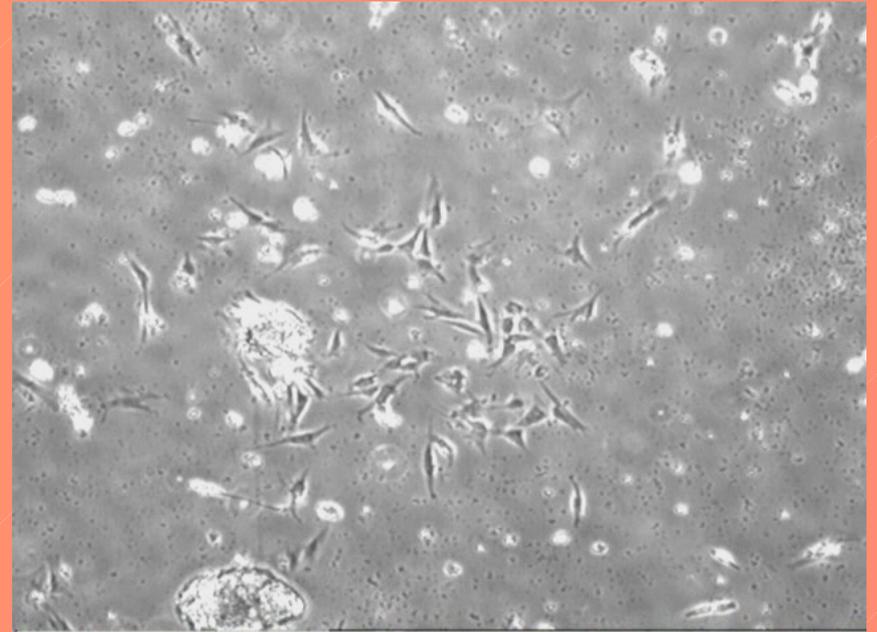
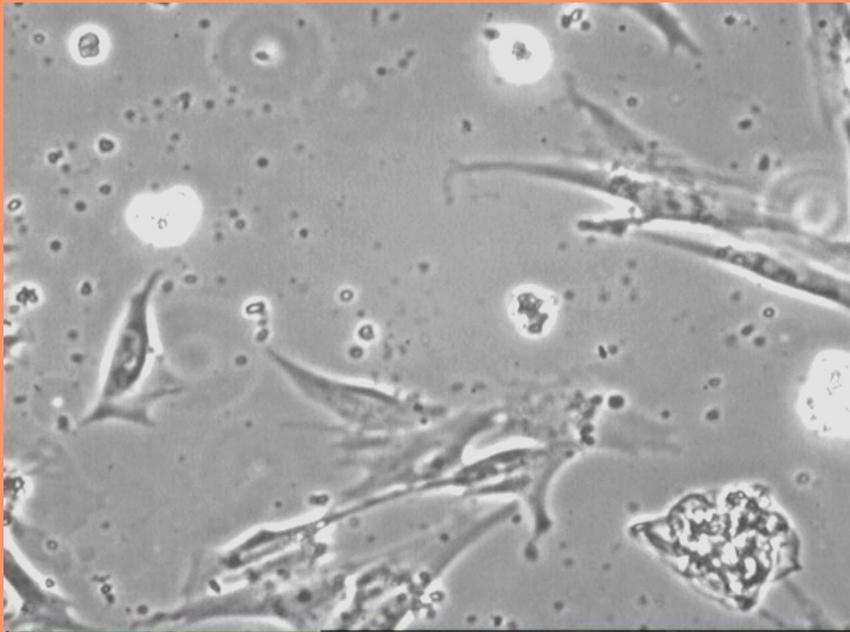
Occorre ottenere cellule singole che aderiscano sul fondo separatamente.

Il protocollo da noi utilizzato prevede l'uso di pronasi e collagenasi.



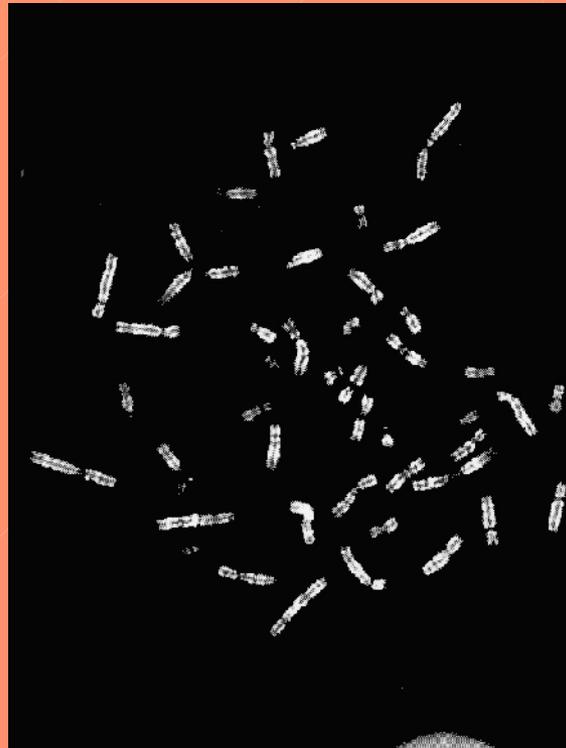
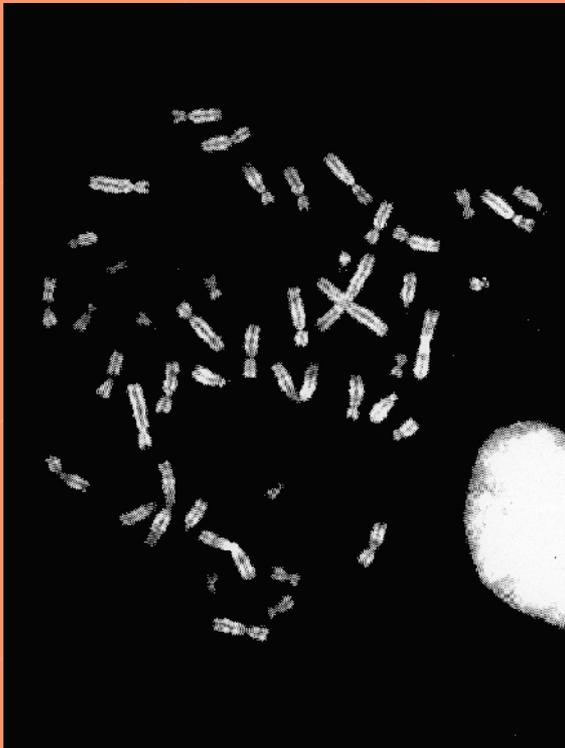
Fibroblasti dopo un giorno di coltura

# Fibroblasti dopo 4 giorni di coltura visualizzati a differente ingrandimento



Dopo altri 2 o 3 giorni, le colture sono pronte per la preparazione cromosomica.

Dopo trattamento con ipotonica ( $\text{Na}_3\text{Cit}$  e  $\text{KCl}$ ) ed evaporazione del fissativo metil-acetico (4:1) a temperatura ed umidità controllata ( $28^\circ\text{C}$  e 42% rH), si ottengono cromosomi con spreading e pattern di bande pari a quelli ottenibili da colture di amniociti



Metafasi da CVS ottenute dopo 6 giorni di coltura

# **LA SINCRONIZZAZIONE NELLA PRATICA QUOTIDIANA**

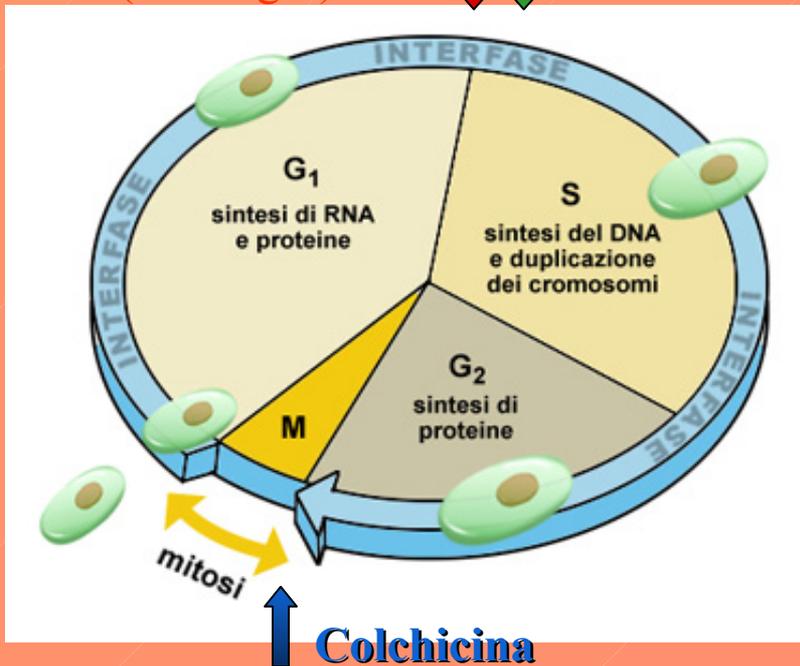
- **Linfociti stimolati con PHA**
- **Cellule del citotrofoblasto (CVS con tecnica diretta)**
- **Cellule del midollo osseo (cfr. Webber e Garson, 1983)**

*In fase ancora sperimentale:*

- **Colture di villi a lungo termine**
- **Colture di amniociti**

# LA SINCRONIZZAZIONE del ciclo cellulare

(overnight) FdU ↓↓ Timidina



**FdU**: blocco del ciclo in fase S – **STOP!**

**Timidina**: riattivazione del ciclo cellulare – **START!**

**Colchicina**: blocco del ciclo in fase M – **FINE!**

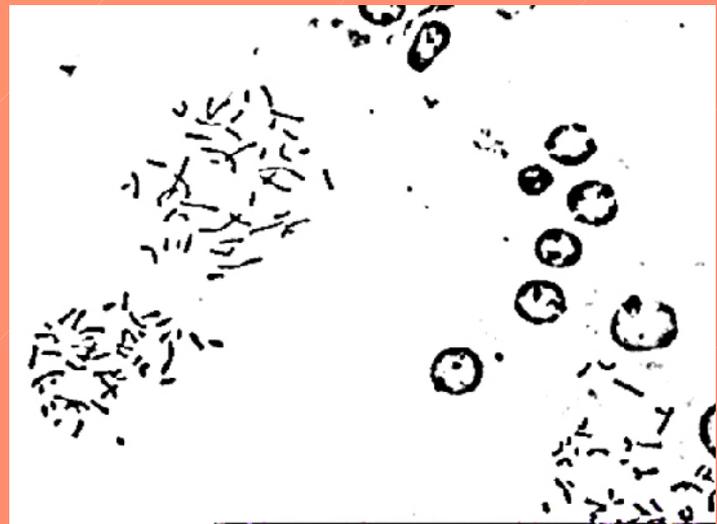
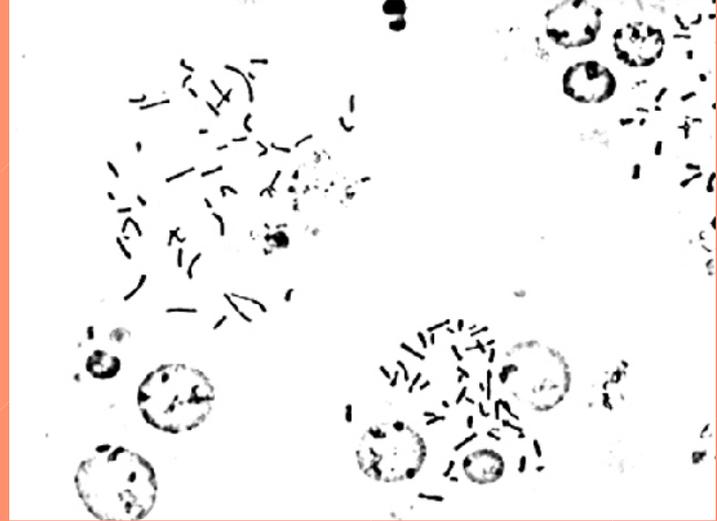
# **Sincronizzazione del ciclo cellulare di linfociti stimolati con PHA**

## **Risultati:**

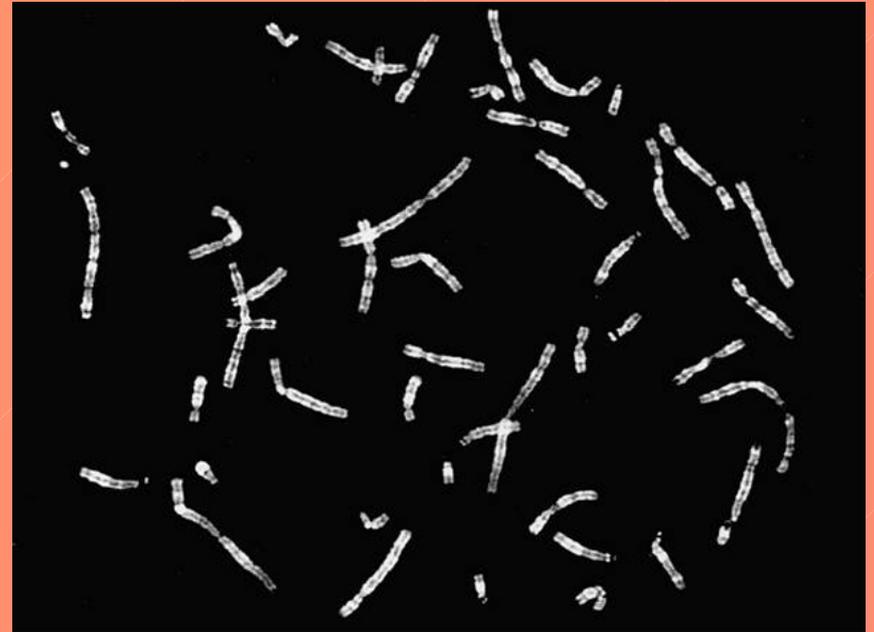
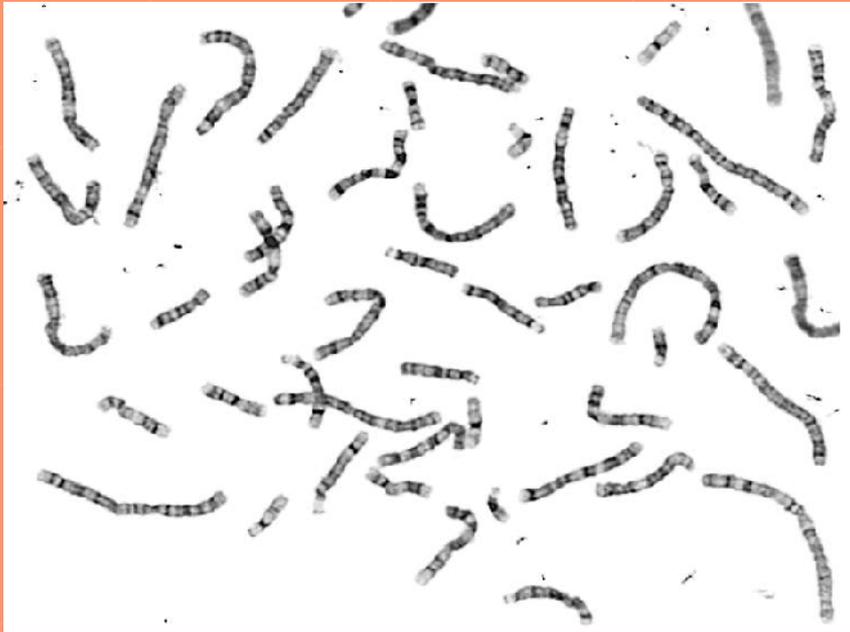
- consistente aumento del pellet cellulare (circa tre volte)
- vistoso aumento dell'indice mitotico
- spreading e qualità dei cromosomi nettamente superiore
- percentuale di mitosi adatte all'analisi (> 400 bande)  
incrementata di almeno 20-50 volte

**Questi risultati riducono drasticamente il tempo che l'operatore impiega nella scelta delle metafasi e nell'analisi del bandeggio, aumentando contemporaneamente l'affidabilità della diagnosi.**

# Sincronizzazione di linfociti: campi mitotici

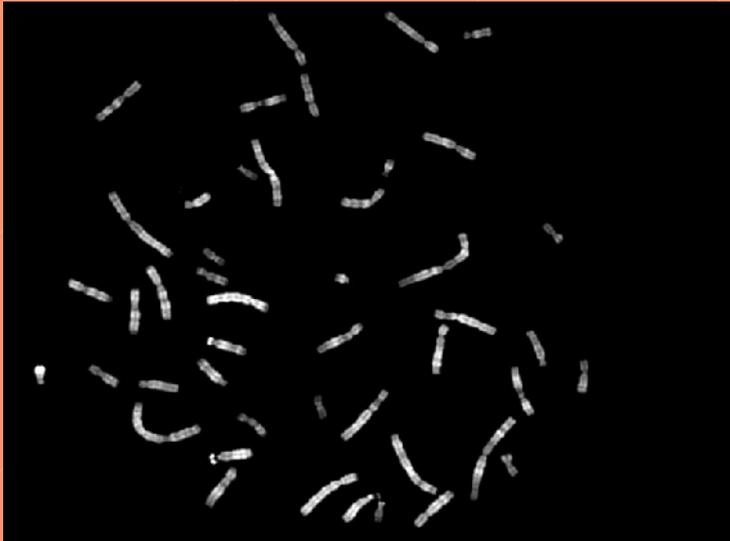
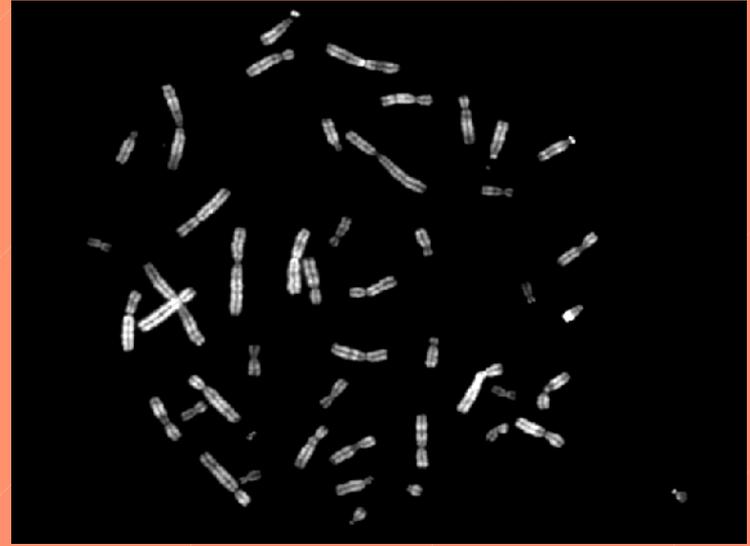


# Sincronizzazione di linfociti: bandeggio GTG e QFQ



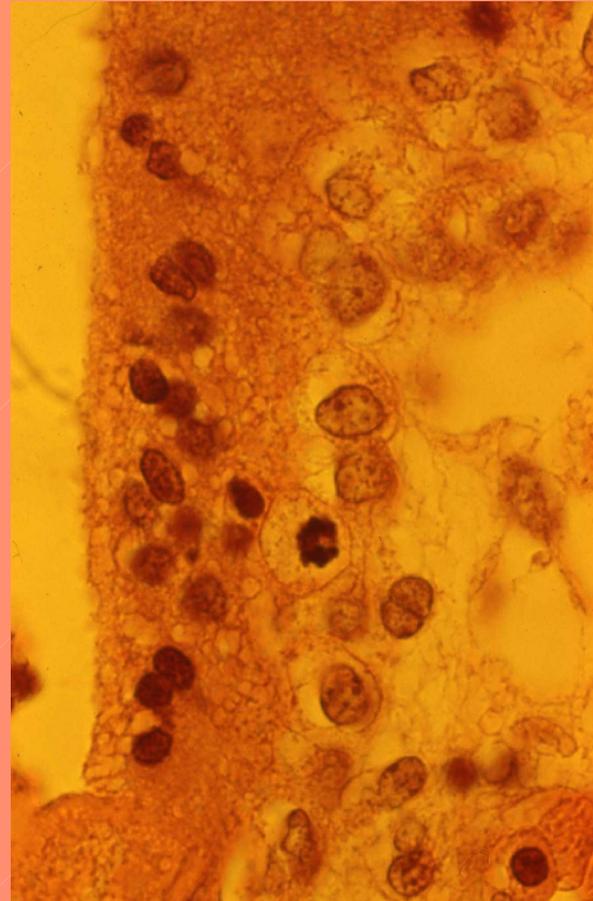
Metafasi a 550 bande

# Metafasi di linfociti utilizzate nella pratica quotidiana

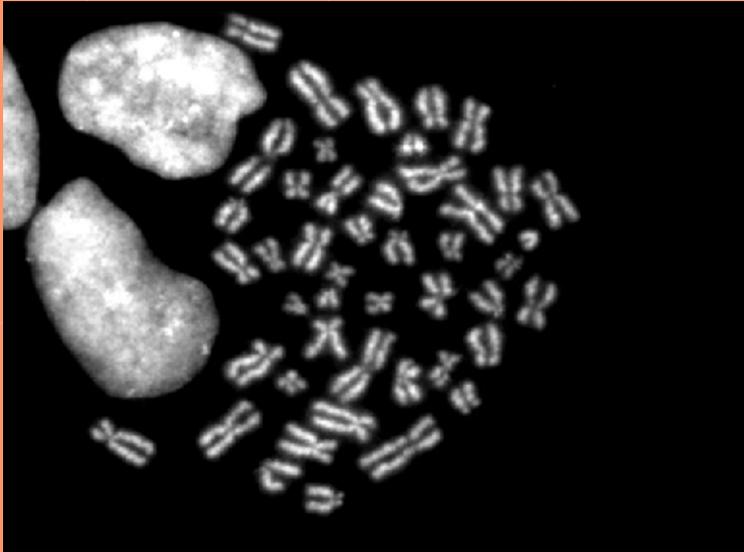


Metafasi a 400 bande

# Sincronizzazione di cellule del citotrofoblasto di CVS



# Metafasi del citotrofoblasto ottenute con la tradizionale tecnica diretta



# Metafasi del citotrofoblasto ottenute con sincronizzazione del ciclo cellulare

