

Protocolo

Salud DIY: Ciencia abierta para detección de daños en el ADN

Figura 1



La Figura 1 muestra un ejemplo de una célula oral que contiene un micronucleo, diseminada, fija y teñida simplemente con azul de metileno

TIP:

Un protocolo de investigación "Do-It-Together (DIT)" que consiste en "hacer juntos" la búsqueda de micronúcleos en sus propias células bucales.

1. Enjuagar la boca con agua.
2. Usa un cepillo de dientes para recoger suavemente las células de la superficie interna de la mejilla
3. Enjuague el cepillo de dientes con aproximadamente **10 ml de solución salina** en un vaso pequeño para recoger las células
4. Vierte el líquido en un tubo de 15 ml para permitir que grupos más grandes de células se asienten y coloca la mejor parte del líquido (evitando los grupos en la parte inferior) en dos tubos de microcentrifugadora
5. Centrifugar suavemente (no más de 5000 rpm / min) durante 3 min.
6. Vierte los sobrenadantes y repite hasta que se recolecten todas las células.
7. recolecta las células de los dos tubos en un solo tubo, en aproximadamente 200 ul de solución salina
8. Obtenga la concentración celular de esta solución (objetivo de alcanzar: 2000-5000 células por diapositiva), utilizando un hemocitómetro.
9. Aplica 10ul para contar las células en el hemocitómetro (el cálculo es el siguiente, si cuentas varias células (X) del tamaño del cuadrado principal = (X * # celdas / X) por cuadrado principal $\times 10^4 / \text{ml}$)
10. Si es necesario, vuelve a centrifugar para concentrar las células en un volumen pequeño, ya que idealmente, los 'frotis' (o 'raspado' de las células) se depositarán en el portaobjetos/hemocitómetro gotas de menos de 50-100 μl , que contienen aproximadamente 2000 células.
11. Asegúrate de que Los portaobjetos estén limpios y rotulados antes de proceder a los frotis o raspaduras de las células
12. Coloca una gota cerca de 3/4 al final de la cuchilla y, con el borde de una segunda cuchilla limpia, mueva la gota hacia atrás, luego extiéndala ("raspandola") por toda la parte frontal de la cuchilla
13. Deja que cada portaobjetos se seque al aire (se puede colocar en una placa caliente).
14. Fije las células a la hoja pasándolas brevemente sobre una llama (quite el hollín de la parte inferior antes de colorear).
15. (Fijación opcional con metanol: ácido acético 3: 1).
16. Colorear las células con azul de metileno (solución acuosa al 0,5%/0,9% y para la fijación opcional - solución preparada en etanol ...) simplemente puede verter una gota en la hoja. Dejar por lo menos 1 minuto, luego enjuagar con gotas de agua y recoger el líquido azul residual (residuos) * en un vaso de precipitados. Permitir que la muestra se seque y examine bajo un microscopio con un aumento de aproximadamente 200x.
17. La cuantificación es crucial: los micronúcleos pueden provenir de procesos normales, pero **un aumento de 2-4 / 1000 a 20 o más por 1000 células procedentes de la mejilla podría significar que se ha tenido exposición ambiental a alguna Fuente causante del daño**



Scan me



Translated by Biook
biook.org | bbkopenscience.com