

Técnicas de cultura celular e teste de citotoxicidade

Livia de Araujo Lima e Olga Zazuco Higa
Instituto De Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN

INTRODUÇÃO

As culturas celulares consistem em manter células isoladas de seu local de origem sem que suas características próprias sejam alteradas. A esterilização e assepsia dos materiais utilizados também são importantes a fim de se evitar contaminações e causar interferência ou perda dos experimentos [1].

A partir de técnicas de cultura celular é possível realizar testes de citotoxicidade in vitro, pois permitem a determinação da biocompatibilidade de um biomaterial a partir dos resultados obtidos pela interação de uma cultura celular e do material. Esta interação ocorre ao substituir um tecido vivo por um biomaterial com o objetivo de crescimento, regeneração e reparo celular e pode ser tóxica, não tóxica, bioativa ou biodegradável [2].

- Estudo teórico dos tipos de cultura celular;
- Aprendizado sobre organização laboratorial.;
- Treinamento em técnicas de cultura celular;
- Testes de citotoxicidade.

O meio de cultura utilizado nas culturas celulares foi o RPMI 1640 Gibco®, enriquecido com L-glutamina, soro fetal bovino e antibiótico/antimicótico.

A luz Ultravioleta foi utilizada para a esterilização do campo de manipulação no interior do fluxo e a autoclave para esterilizar utensílios laboratoriais como vidrarias, materiais metálicos, água destilada e ultra-pura e PBS.

Foram descongelados vials com células para iniciar uma cultura celular. A quantidade de células cultivadas nas garrafas de cultura foi determinada de acordo com o tamanho da garrafa de cultura e após contagem no

microscópio óptico com uso de Trypan Blue.

O método utilizado no teste de citotoxicidade baseia-se na avaliação quantitativa de células viáveis, após a exposição das células à uma substância, medido pela incubação com o corante supravital do composto tetrazólio MTS e um agente acoplador de elétrons PMS [3]. A quantidade de MTS, o marcador de viabilidade celular, incorporada pela população de células, é diretamente proporcional ao número células viáveis na cultura.. É utilizado no ensaio uma cultura de células de ovário de hamster chinês CHO K1, da American Type Culture Collection .

A curva de crescimento celular é obtida para refletir as fases de adaptação das células perante as condições ambientais, a disponibilidade de nutrientes e ao suporte necessário para que novas células sejam produzidas. Portanto, sua importância é caracterizar uma determinada linhagem de cultura celular para posterior padronização do teste de citotoxicidade [4].

CONCLUSÃO

Após a realização das principais técnicas de cultura celular, conclui-se que a precisão das pipetagens, a assepsia e a limpeza dos materiais utilizados durante o manejo da cultura e a atenção aos procedimentos são fatores que estão extremamente ligados ao sucesso de experimentos que envolvam cultura celular. A manutenção constante e bem executada de uma cultura celular durante um experimento é de suma importância, já que além de haver competição natural entre as células pelo espaço e pelos nutrientes do meio de cultura, o fator contaminação, seja por agentes físicos, químicos ou biológicos, também podem interferir no crescimento e

desenvolvimento celular.

Dessa maneira, os processos periódicos de tripsinização e substituição do meio de cultura são fundamentais para manter o número ideal de células nas garrafas de cultivo, possibilitando um viável crescimento celular. Assim podemos identificar o valor da correta manutenção do cultivo celular para ter as condições favoráveis para a realização do teste de citotoxicidade de substâncias e de biomateriais.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNPq - PIBIC

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1]BARKER, K. **Na Bancada**. New York: Artmed Editora,2002

[2]ORÉFICE, R.L.; PEREIRA, M.M.; MANSUR H.S. **Biomateriais Fundamentos e Aplicações**. [Ed]. Rio de Janeiro,RJ.: Cultura Médica p. 285-286, 2006.

[3]CORY, A.H., OWEN, T.C.; CORY, J.G. Use of an aqueous soluble tetrazolium formazan assay for cell growth assay in culture. **Cancer Comm**:207-12, 1991.

[4]MOLINARO E.; CAPUTO L.; AMENDOEIRA R. **Conceitos e Métodos para Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. Instituto Oswaldo Cruz. v.2, p. 225-243, 2010.