



PARTE 1

A cultura celular como ferramenta científica

O que é uma cultura celular?

Manutenção de células eucariotas ou procariotas em **condições controladas** (temperatura, umidade e gás carbônico). Para tal é necessário mantê-las em **meio de cultura** adequado composto, basicamente, sais inorgânicos (cálcio, ferro, magnésio, potássio, entre outros), aminoácidos essenciais e não essenciais, vitaminas, antibióticos, uma fonte de energia (p. ex. glicose) e um indicador de pH (p. ex. fenol red)



Tipos de culturas celulares:

1) Culturas primárias:

- Células são retiradas diretamente do tecido e transferidas para o meio de cultura;
- Possuem morfologia idêntica à do tecido das quais se originam.

2) Culturas finitas:

- As culturas finitas são formadas após a primeira passagem, *in vitro*, de uma cultura primária;
- Não proliferam por um número finito de divisões celulares, após as quais irão entrar em processo apoptótico.

3) Culturas contínuas:

- Formadas por células que adquiriram uma mutação (espontânea ou induzida por um agente mutagênico), conhecida como transformação ou imortalização;
- Se proliferam indefinidamente;
- Deve-se lembrar de que podem sofrer alterações genéticas (mesmo que não existam alterações morfológicas visíveis) após várias passagens e que portanto, podem não representar a situação fisiológica real do organismo *in vivo*.

Aplicações da cultura de células animais:

Estudos fisiológicos e bioquímicos de células normais e tumorais;

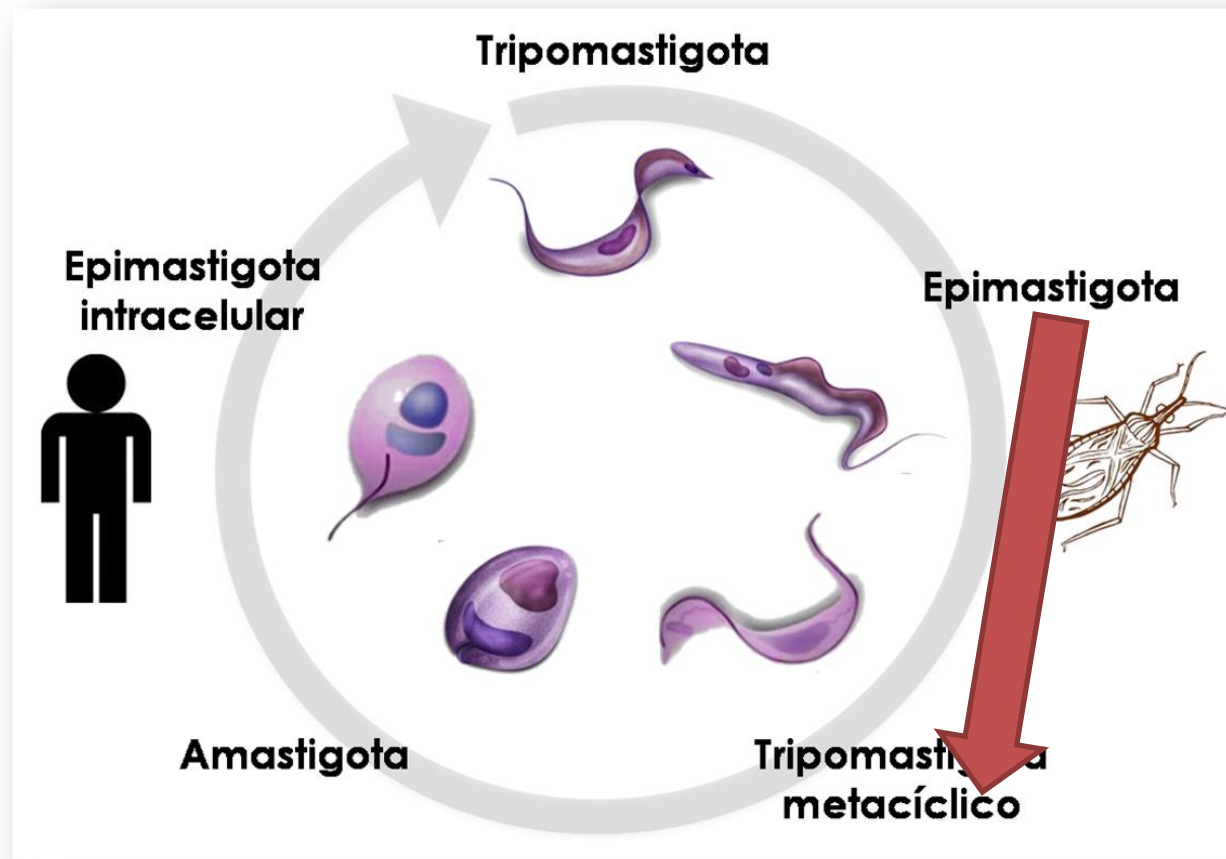
- 2) Estudos dos efeitos de compostos químicos ou drogas variadas sobre tipos específicos de células (epiteliais, sanguíneas, etc.);
- 3) Estudos para a geração de tecidos artificiais (pele artificial, por exemplo);
- 4) Síntese de produtos biológicos a partir de culturas celulares em larga escala;
- 5) Produção de proteínas recombinantes glicosiladas, as quais não podem ser produzidas por bactérias, uma vez que estas não possuem o metabolismo necessário.

Cuidados e esterilidade:

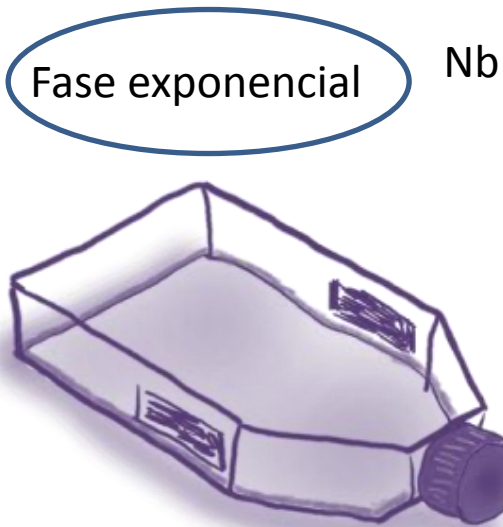
Uma cultura celular precisa, fundamentalmente, estar **livre de contaminações**. Para evitar a introdução de microorganismos na cultura, vários cuidados básicos de manipulação e prevenção devem ser tomados:

- Todo o trabalho da cultura de células deve ser realizado em um **fluxo laminar** inspecionado e em bom estado de funcionamento;
- Antes do início dos procedimentos, a **luz ultravioleta** deve ser ligada e mantida por, no mínimo, 30 minutos e de preferência, com os materiais a serem utilizados expostos a ela;
- O pesquisador deve utilizar boas técnicas de **asepsia** e **evitar a formação de aerossóis** durante a manipulação dos materiais;
- Todo o material utilizado deve ser **desinfetado** com agentes próprios e **autoclavado** antes do uso;
- Todos os equipamentos e materiais utilizados na cultura celular devem ser **esterilizados**;
- **Jalecos e luvas** devem ser obrigatoriamente vestidos e a cada retirada das mãos do espaço interno do fluxo, deve-se **lavar as luvas com álcool 70%**;
- O uso do fogo dentro do fluxo também pode minimizar as chances de contaminação.

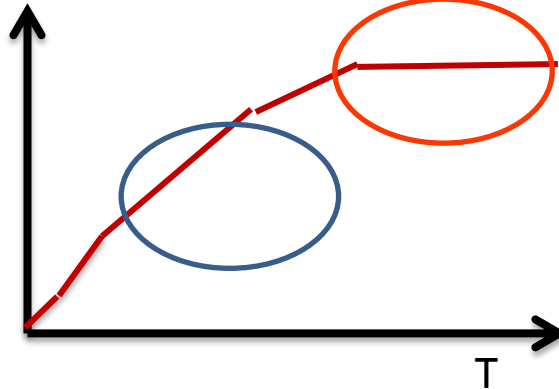
Ciclo de vida de *T. cruzi*



Ensaio com *Trypanosoma cruzi*



Nb



Epimastigota

$5 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7$



Tripomastigota metacíclico

-



Epimastigota

$1 \cdot 10^8$

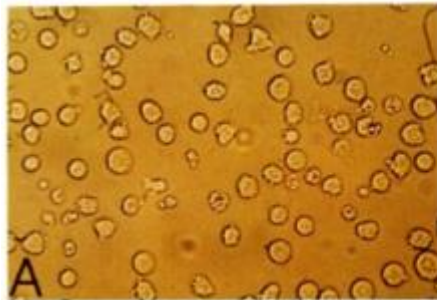


Tripomastigota metacíclico

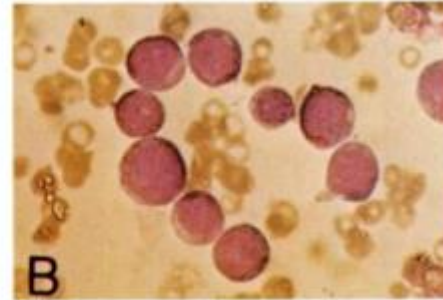
++

HL-60 = células leucêmicas promielocíticas humanas

- A linhagem foi obtida de uma mulher de 36 anos, com leucemia promielocítica aguda internada no Instituto Nacional do Câncer (EUA)
- Tempo de duplicação: 36-48 horas
- Requer adição de dimetilsulfóxido para diferenciação em neutrófilos



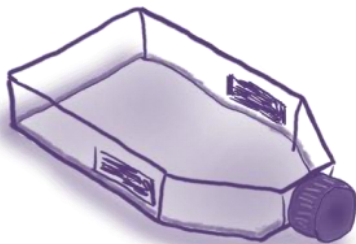
A
HL-60 frescas



B
HL-60 coradas com Giemsa

Cultura de células e diferenciação & Contagem de células com azul de tripan

HL-60



RPMI 1640, 20% soro fetal bovino, penicilina/estreptomicina, atmosfera umidificada a 37°C e 5% CO₂

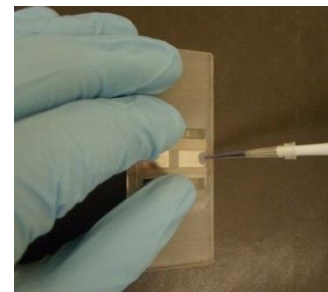
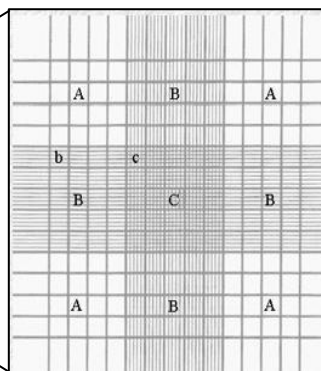
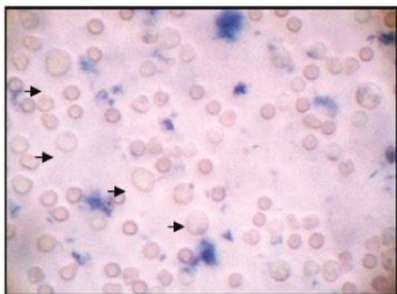
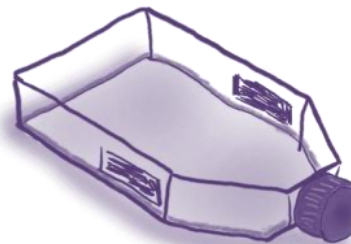
3 dias



1,3% de dimetilsulfóxido (DMSO)

DIFERENCIAÇÃO

Neutrófilos



Contagem de células em câmara de Neubauer com azul de tripan