**Avaliação Cultura de Células – Biotecnologia IV. 10/10/2017.**

Orientações: Assinale a alternativa que achar correta e justifique a sua resposta, tanto para a alternativa assinaladas como para as alternativas não assinaladas.

A avaliação pode ser realizada com consulta e deverá ser entregue no dia 24/10/17.

A respeito do processo de criopreservação celular, assinale a opção correspondente a fator favorável à sobrevivência celular, após congelamento e descongelamento.

1. baixa densidade de células no congelamento.
2. presença de um conservante, como o glicerol ou dimetil sulfóxido (DMSO) 5-10%.
3. resfriamento rápido, 1 °C /seg, até -70 °C, realizado por transferência para nitrogênio líquido.
4. degelo lento.
5. substituição do conservante após um mês.

Se um técnico de laboratório trabalha com um tipo específico de célula, a observação superficial das características da linhagem pode ser insuficiente para assegurar a identidade de cada linhagem de cultura. Dessa maneira, devem ser tomadas precauções para evitar a contaminação cruzada. Assinale a opção correta no que diz respeito a uma dessas precauções.

1. Não tratar mais de uma linhagem de célula de cada vez, ou, se tal for impraticável, não manter garrafas de meio de cultura para mais de uma linha celular aberta ao mesmo tempo.
2. Garantir o controle de qualidade dos reagentes, compartilhando-os com grupos de pesquisa para garantir que esses sejam devidamente testados.
3. Manusear linhagens contínuas antes do manuseio de outras linhagens de crescimento lento.
4. Compartilhar meios entre diferentes linhagens celulares para garantir seu controle de qualidade.
5. Assegurar que qualquer derramamento é eliminado imediatamente e limpar a área com álcool absoluto.

Com relação às cabines de segurança biológica (CSB) e aos equipamentos de fluxo laminar, assinale a opção correta.

1. A CSB classe I é uma cabine ventilada, de pressão negativa, e todo ar da cabine é liberado através de um filtro HEPA para dentro ou fora do laboratório.
2. As CSBs classe II são projetadas com fluxos de ar internos para proteger as amostras; são utilizados filtros HEPA para proteção dos empregados.
3. A CSB classe III é uma cabine totalmente fechada e ventilada, porém não oferece proteção ao pessoal e ao meio ambiente contra aerossóis infecciosos.
4. As bancadas de fluxo laminar horizontais são usadas em instalações clínicas, farmacêuticas e laboratoriais para garantir a proteção dos profissionais e do meio ambiente.
5. As CSBs classes I e II são as mais adequadas para trabalhar com agentes que requerem contenção de biossegurança níveis 3 e 4

Parte inferior do formulário

Após considerar as afirmativas abaixo como verdadeiras ou falsas, justifique a sua decisão para cada alternativa.

1. As estufas rotineiramente utilizadas para esterilização de material não podem ser empregadas para o cultivo de células humanas, mesmo que a temperatura esteja devidamente ajustada.
2. O cultivo de células de mamíferos deve ser feito em uma incubadora, em que os níveis de oxigênio são controlados para permitir a respiração celular.
3. Uma vez que o pH é um dos parâmetros cruciais para cultivo celular, a adição de fenol vermelho ao meio de cultivo torna-se indispensável.
4. Visto que os antibióticos podem afetar a taxa de crescimento da cultura celular em geral, sua adição ao meio de cultivo de células de mamíferos é dispensável, sendo eles utilizados somente como prevenção a contaminações da cultura.
5. Até o momento, não se desenvolveram meios de cultura para linhagens celulares de mamíferos que dispensem o uso de soro, seja humano, fetal, bovino ou equino.
6. As células utilizadas em cultura primária, obtidas diretamente de tecidos, órgãos ou tumores de organismos, possuem capacidade finita de replicação, fato que impede seu congelamento e sua criopreservação.
7. Os fibroblastos murinos primários, quando cultivados, dividem-se algumas vezes, contudo, depois, entram em quiescência.
8. A imortalização de células em cultivo pode ser realizada por transdução com um gene viral.
9. A imortalização de células em cultivo requer, necessariamente, a introdução, nessas células, de um gene exógeno.
10. Até o presente, o estabelecimento de culturas celulares primárias foi feito apenas a partir de mamíferos, como o homem e o camundongo, sendo que outras espécies não foram utilizadas.

Com as restrições à utilização de animais de laboratório em pesquisas de toxicidade, os testes de citotoxicidade in vitro constituem opção para se testar a possibilidade de reações adversas ou lesões em humanos induzidas por determinada substância. Vários métodos in vitro, tanto qualitativos como quantitativos, foram padronizados, utilizando-se culturas celulares para avaliar a toxicidade de diferentes substâncias.

 Cite-os e explique-os.

Para evitar os danos celulares causados pelo processo de criopreservação e descongelamento, é necessária a utilização de meios crioprotetores de alta osmolaridade. Quais as opções de substâncias para esta situação e como elas agem?