



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

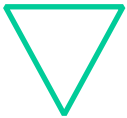
Cultura de Células Animais

Aula 5 - Linhagens Permanentes e Primárias

Prof. Me. Leandro Parussolo

Biologia da Célula em Cultura

- Cultura de Cells



- **Crítica** - Cell faz parte de um microambiente não reproduzido em cultura
- **Vantagem** - Sistema livre de interferências

Aplicações e Áreas de Interesse

- Vários aspectos da fisiologia celular podem ser estudados por cultura de células;
- Caracterizar fenômenos biológicos;
- Testar novos fármacos;

Atualmente:

- Reconstruir órgãos em indivíduos através do transplante de cells provenientes de culturas

Linhagens Celulares

2 tipos:

- **Aderentes** — dependem da fixação à base dos frascos ou placas de cultura para se proliferarem (**grande maioria das linhagens**)
- **Em suspensão (Não aderentes)** — Não dependem da ancorarem e se proliferam em suspensão (restrito as cells hematopoéticas; linhagens celulares transformadas e cells tumorais malignas)

Linhagens Celulares

Linhagens aderentes ou em suspensão — são descritas como **primária** ou **permanente**

- **Culturas Primárias** — oriundas de cells recentemente isoladas de tecidos (tempo limitado em cultura);
- **Culturas Permanentes** — (imortais ou transformadas) — capacidade ilimitada de crescimento em cultura.

Ex: cells tumorais

Manutenção de Células Aderentes

- **Manutenção de cells aderentes** — Troca do meio a cada 48h (Nutrição adequada e eliminação de metabólitos do meio)
- Cells aderidas não apresentam uniformidade quanto à morfologia (devido ao contato umas com as outras e com o frasco)
- Quando cultura apresenta 90% de confluência - é necessário repicar

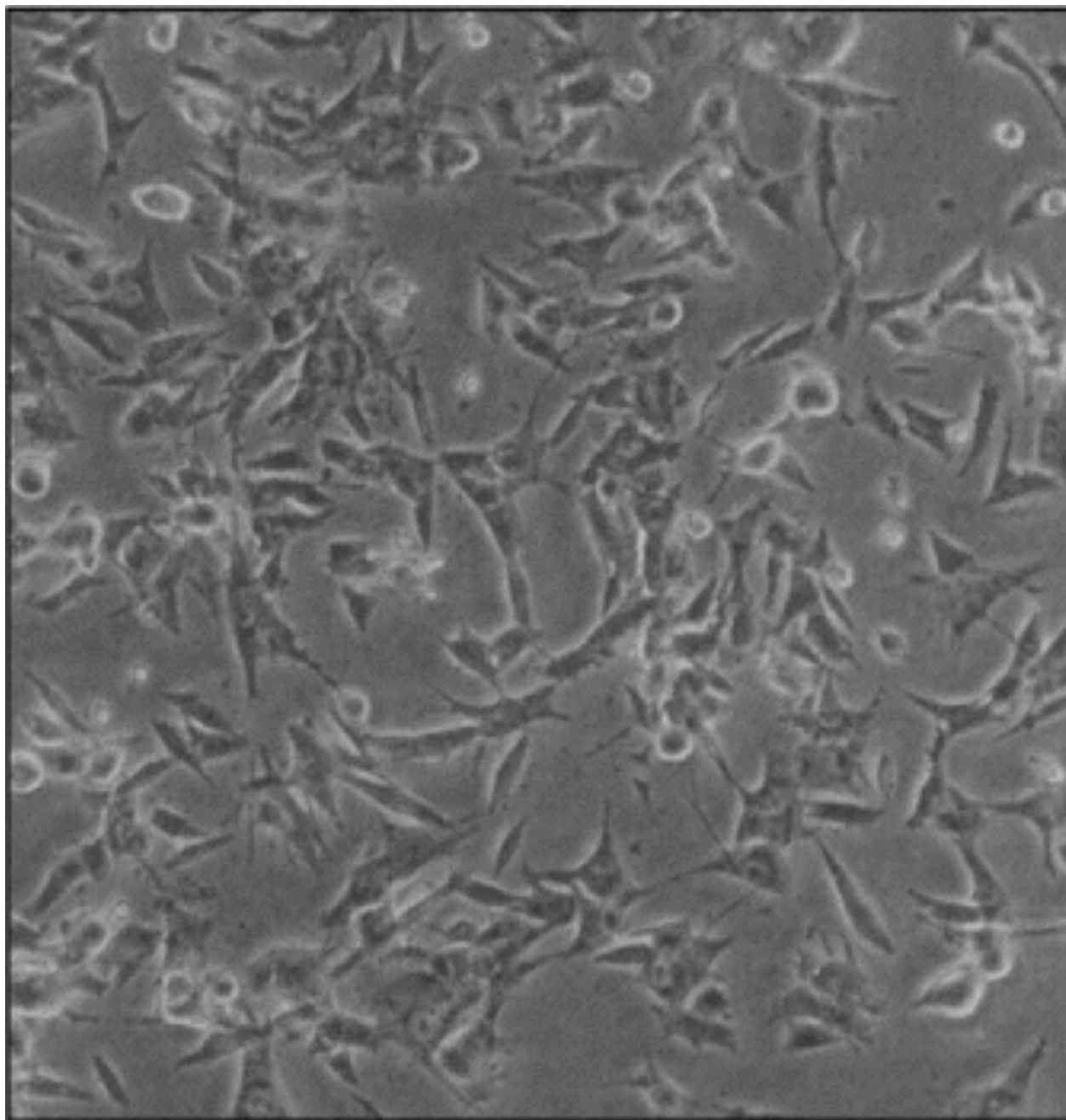


FIGURA 1 - Células de melanoma aderidas na garrafa de cultura apresentando 80% de confluência.

Subcultivo

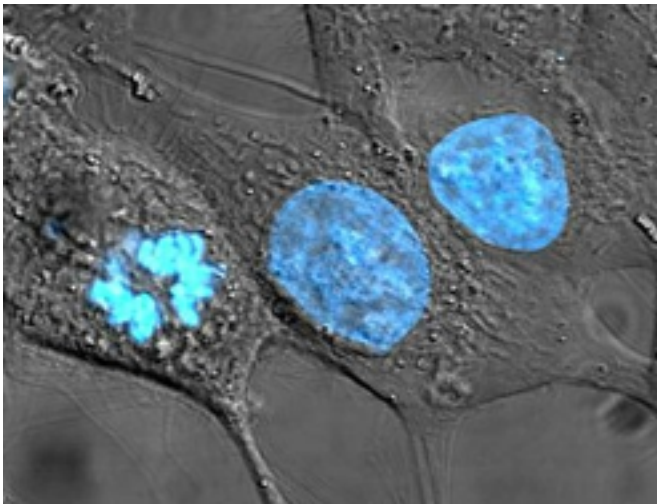
- Cultura de cells pode ser transferida para outro frasco e diluída com tripsina ou tripsina e EDTA;
- Procedimento simples (exige apenas cuidado para manter o material estéril);
- O intervalo de cada subcultivo dependerá do n. de cells semeadas e da taxa de duplicação da linhagem;
- Linhagem de crescimento rápido — subcultivo 2x semana.

Linhagens Aderidas

IEC-6 — Linhagem celular normal - epitélio intestinal de *Rattus Norvegicus*



HeLa - cell tumoral epitélio uterino humano



Ambas podem ser adquiridas pela ATCC
(*American Type Cultures Collection*)

Linhagens Aderidas

- Embora todas as cells tenham requerimentos básicos similares para o crescimento — podem diferir no tipo de meio que oferece os nutrientes apropriados;
- Normalmente o meio DMEM é utilizado para cells aderentes.

Cultura de Células em Suspensão

- Cells em suspensão devem ser cuidadosamente agitadas com a pipeta ou agitando o frasco;
- Isso para desagrupar as cells em grumos;
- Remover uma alíquota para contagem, calcular a concentração celular e proceder (ou não) a manutenção do meio;

Cultura de Células em Suspensão

Manutenção do Meio — realizada com cells em alta densidade através de meio e diluição do n. de cells;

— Quando a cultura está em baixa densidade e em crescimento lento - **NÃO** deve ser adicionado meio de cultura

CELLS ESTÃO EM FASE LAG

Linhagens celulares de crescimento lento — diluição de cells 1:2

Linhagens com crescimento rápido — diluição 1:8 ou 1:16

Cultura de Células em Suspensão

- Manutenção de rotina - essencial para o crescimento de linhagens celulares;
- Cultivo inadequado das cells em suspensão pode ocorrer devido a superpopulação — o que inibe a proliferação celular

Cultura de Células em Suspensão

Facilidades:

- concentração celular constante;
- diluição das cells é simples (meio adequado ao frasco);
- Cultura homogênea;
- Agitação não causa danos as cells;
- podem ser produzidas em grande escala;
- amostras fáceis de coletar

Cultura de Células em Suspensão

Dificuldades:

- crescimento lento de cells (também acontece com cells aderidas)
- Verificar todas variáveis (equipamento, meio adequado, frequência de repique correta, pH; concentração das cells, temperatura, umidade, etc)

Cultura Primária

- cells obtidas diretamente de um organismo;
- crescem durante tempo variável, porém finito, em cultura (mesmo oferecendo nutrientes necessários para sobrevivência);
- Cells de cultura primária podem ser obtidas de:
 - sangue
 - órgãos (rins, coração, fígado, linfonodos, baço, timo, pâncreas)
 - organismos (embriões)