



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

Centro de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - PBC



VII CURSO DE INVERNO EM BIOLOGIA

CELULAR E MOLECULAR DO PBC

07 A 11 DE AGOSTO DE 2017

Minicurso 05: Cultura de células como ferramenta na elucidação do mecanismo de ação de produtos naturais e sintéticos.



Coordenador: Prof. Dr. Celso Vataru Nakamura

Ministrantes:

Fabianne Martins Ribeiro

Hélito Volpato

Jéssica Carreira de Paula

Raíssa Benan Zara

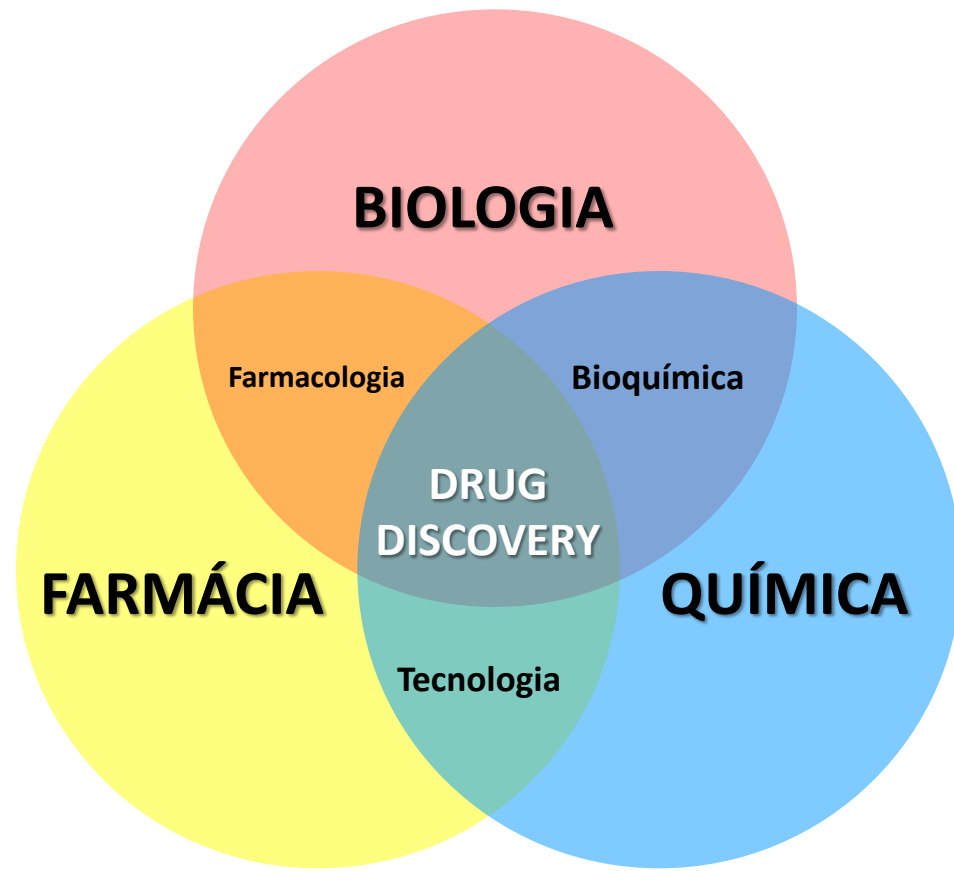
Maringá, 2017

Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos

Prof. Dr. Celso Vataru Nakamura



Área de Pesquisa: DESCOBERTA DE NOVOS FÁRMACOS



ATIVIDADES DESENVOLVIDAS:

- Isolamento e Identificação de produtos naturais;
- Screening *in vitro* de produtos naturais e sintéticos (antimicrobianos, antitumorais e fotoprotetores);
- Análise do mecanismo de ação de fármacos;
- Avaliação *in vivo* de candidatos a fármacos;
- Desenvolvimento de formulações nanonestruturadas;

Manutenção e subcultivo da cultura de células

Meios de Cultura



Meio Basal

Atende as necessidades básicas de Nutrientes
-Sais
-Controle do pH

Suplementos

Induz proliferação celular no meio basal

- Meios de cultura base é nutricionalmente insuficiente para cultura de células e, assim, precisa ser suplementado.

Soro - aditivo ou suplemento quimicamente indefinido



Hormônios e fatores de crescimento

Induz proliferação celular no meio basal

Proteínas

Auxiliam na adesão celular
Auxiliam no transporte de hormônios, minerais e lipídeos

Concentração recomendada -2 a 20%

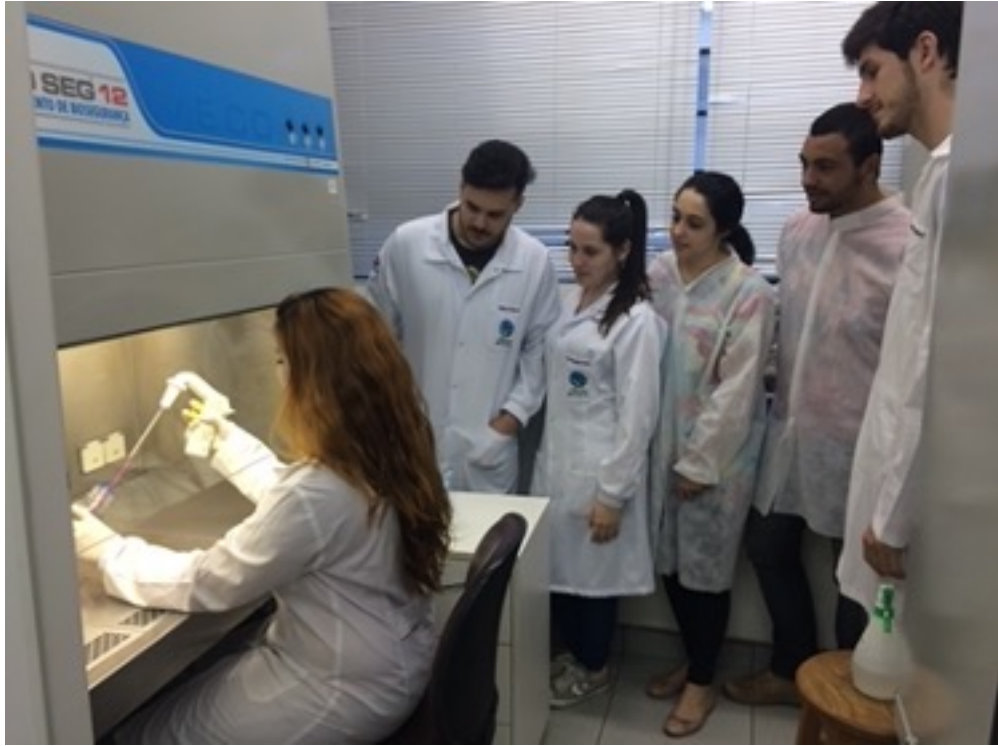
O fetal bovino é o favorito por apresentar menor concentração de Imunoglobulinas e elevada proporção de fatores de crescimento em comparação a bezerros, cavalos e humanos

Nívea Ferreira



Temperatura 37 °C
CO₂ 5%
Umidade 95%





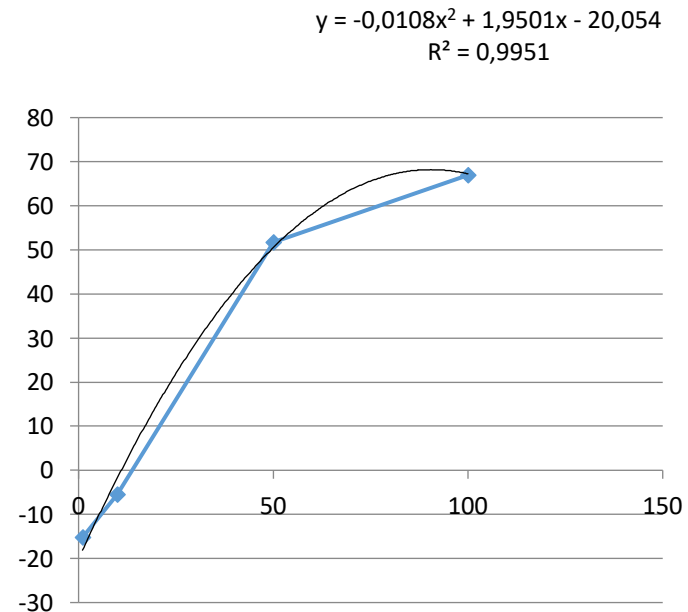
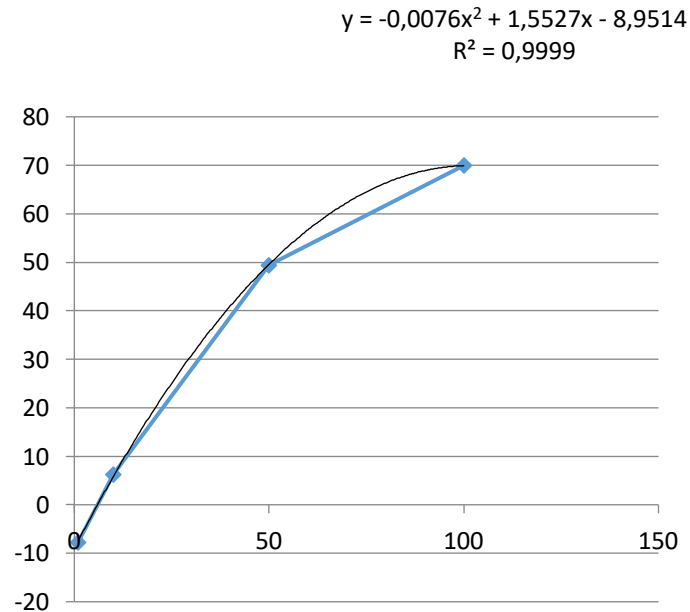
Ensaio de citotoxicidade



Microscopia de fluorescência

Resultados – Avaliação da citotoxicidade

Ensaio de citotoxicidade em células **PC3** (câncer de próstata) por MTT:

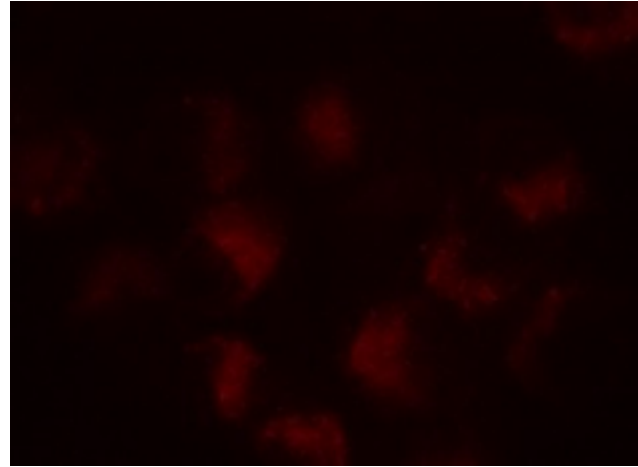
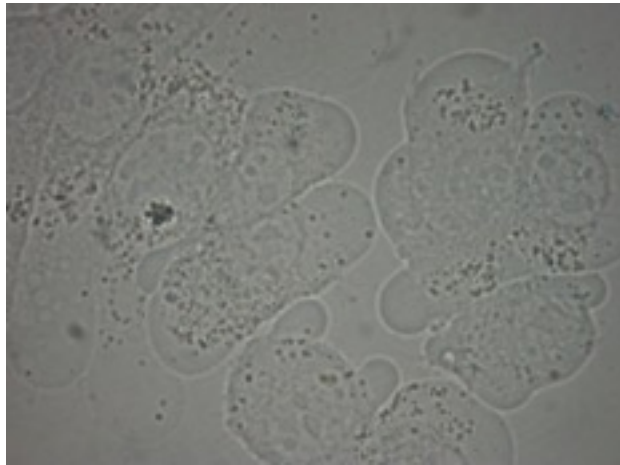


CC50
(µg/mL)

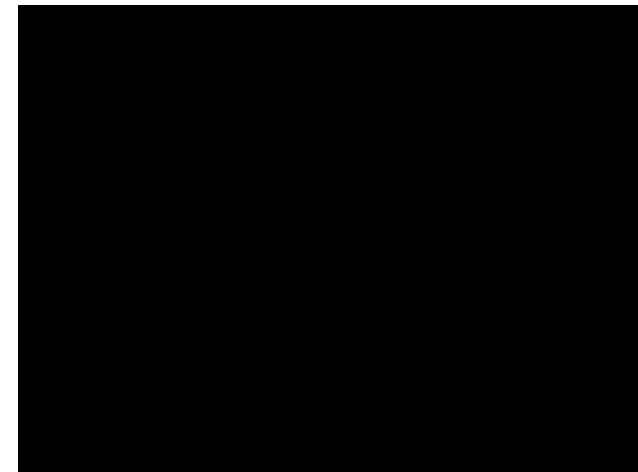
1	50,40
2	7,11
3	49,48
4	44,17
5	>100
6	>100

Resultados – Análise do mecanismo de ação de drogas por microscopia de fluorescência:

- **TMRE: potencial de membrana mitocondrial;**



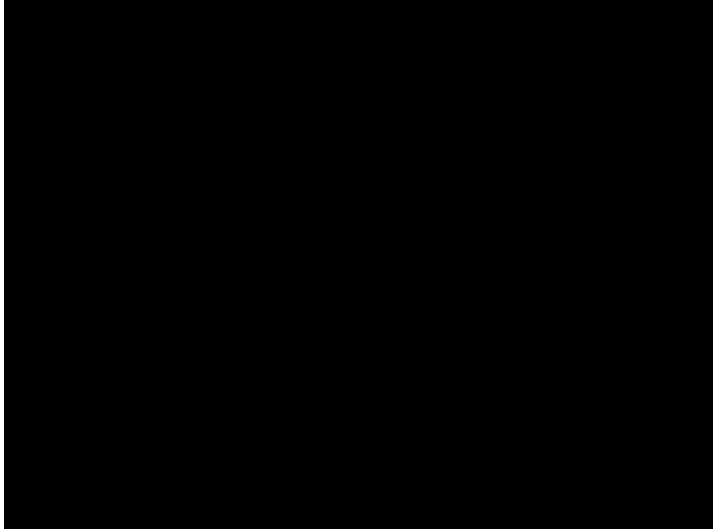
Controle negativo



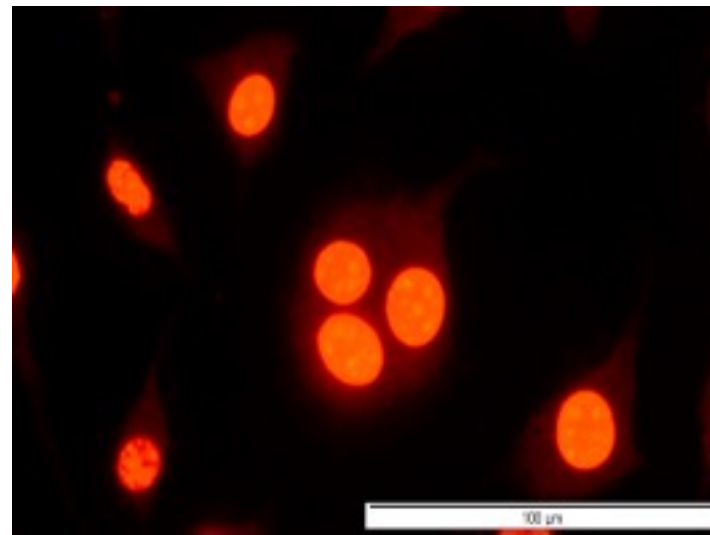
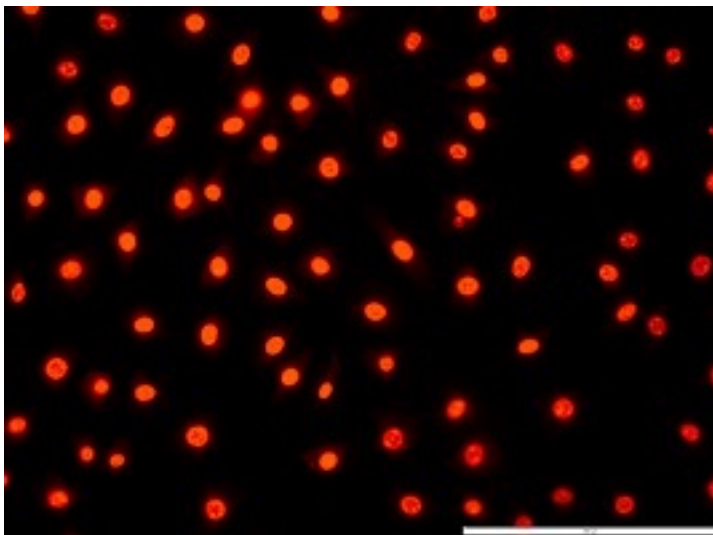
**Controle positivo
(CCCP)**

Resultados – Análise do mecanismo de ação de drogas por microscopia de fluorescência

- **PI: integridade de membrana plasmática;**



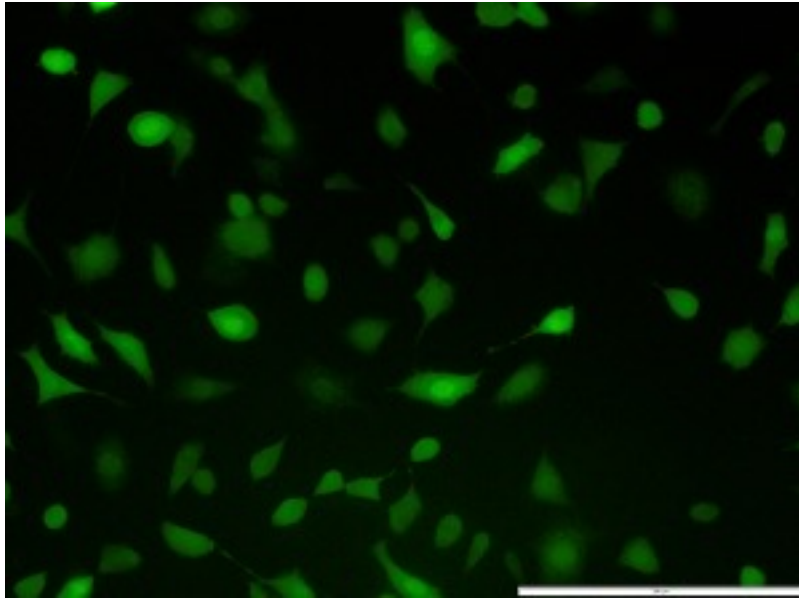
Controle negativo



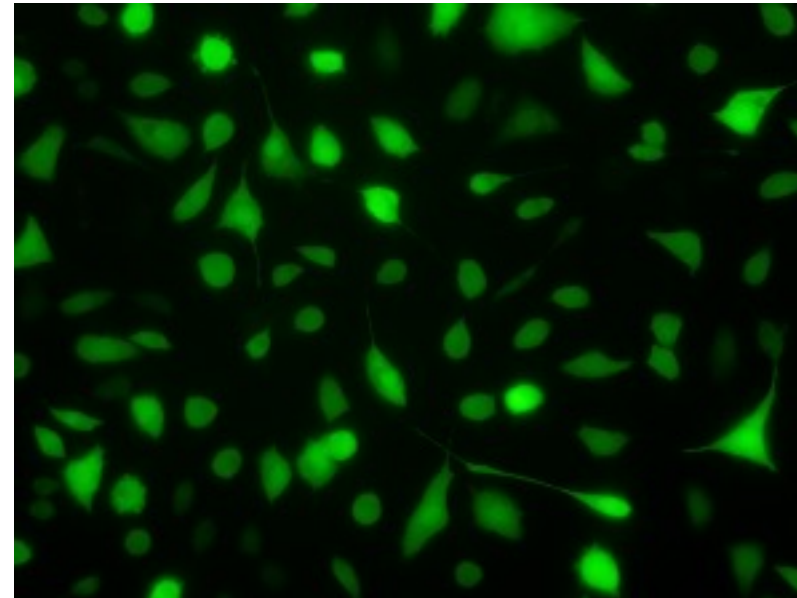
**Controle positivo
(Digitonina)**

Resultados – Análise do mecanismo de ação de drogas por microscopia de fluorescência

- **H2DCF-DA: ROS total;**



Controle negativo



Controle positivo (H₂O₂)

Obrigado!

