
REVISTA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE E
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DO RIO GRANDE DO SUL

REVISTA HCPA 2005; 25 (Supl 1) :1-251



^a
Semana Científica
do Hospital de Clínicas de Porto Alegre
12º Congresso de Pesquisa e Desenvolvimento em Saúde do Mercosul

Anais

REVISTA HCPA - Volume 25 (Supl 1) - Setembro 2005
International Standard Serial Numbering (ISSN) 0101-5575
Registrada no Cartório do Registro Especial de Porto Alegre sob nº 195 no livro B, n.2
Indexada no LILACS

A Correspondência deve ser encaminhada para: Editor da Revista HCPA - Largo Eduardo Zaccaro Faraco - Rua Ramiro Barcelos, 2350
90035-903 - Porto Alegre, RS - Tel: +55-51-2101.8304 - www.hcpa.ufrgs.br

OBTENÇÃO DE FIBROBLASTOS EMBRIONÁRIOS DE CAMUNDONGOS ATRAVÉS DA TÉCNICA DE DIGESTÃO ENZIMÁTICA

CRISTINA BOTELHO MESSIAS; A PAZ; A AYALA; A TAFFAREL; L BAPTISTA; L MIQUELITO; M FRITSCH; P B TERRACIANO; E P PASSOS; E O CIRNE-LIMA

Fibroblastos embrionários secretam citocinas que agem sobre o sinal de transdução GP130 e permitem que células embrionárias pluripotentes se mantenham em estado indiferenciado por longos períodos de tempo. Desta forma, o cultivo de células tronco embrionárias sobre uma camada de fibroblastos torna-se uma ferramenta amplamente utilizada no campo da terapia celular para promover a expansão de células tronco embrionárias em estado sem a promoção da diferenciação celular. Assim, técnicas que otimizem a extração de fibroblastos são de grande interesse neste campo de pesquisa. Nosso experimento consistiu-se na extração de fibroblastos de fetos de camundongos fêmeas prenhes, com 15 dias de gestação, a partir de digestão com a enzima Tripsina/EDTA 0,5%. Dos fetos foram retiradas as membranas fetais, a cabeça, o coração, o fígado. Nos tecidos resultantes foi

realizada uma desagregação mecânica e com tripsina/EDTA e incubado por 15 minutos a 37°C. Esta suspensão celular foi mantida em estufa com 5% CO₂ e 37°C por 24 horas. As células aderentes resultantes do processamento dos fetos são compostas majoritariamente por fibroblastos constituindo a linhagem de células de fibroblastos embrionários (EMFI). A manutenção dos fibroblastos embrionários foi feita em estufa com 5 %CO₂, em meio de cultura DMEM (Gibco) enriquecido com 10% de Soro Fetal Bovino inativado e contendo antibiótico (Penicilina/Estreptomicina). As passagens foram realizadas com tripsina, sempre que a cultura atingia uma confluência de 85%, e cada placa era dividida em 4 novas placas. A técnica mostrou-se bastante satisfatória, uma vez que grandes quantidades de EMFI foram obtidas e a viabilidade celular foi comprovada através da técnica de exclusão com azul de tripan.