

FISA METODA ADAPTATA PENTRU EVALUAREA CITOTOXICITATII NANOPARTICULELOR

Denumire metoda: Metoda adaptata/optimizata pentru evaluarea citotoxicitatii nanoparticulelor.

Scurta descriere: Metoda permite determinarea viabilitatii celulare prin dozarea cantitativa a formazanului solubil produs de enzimele mitocondriale in celule viabile. Este o metoda colorimetrica, cantitativa. Se realizeaza prin utilizarea unui protocol optimizat utilizand kitul *one-step Cell Proliferation Assay MTS*. Mixul MTS se adauga in mediul de cultura si obliga incubari de 2-4 h la 37°C. Metoda a fost particularizata pentru evaluarea biocompatibilitatii (citotoxicitatii) nanoparticulelor pe baza de ZnO si MgO dopate si nedopate.

Echipe si materiale utilizate: unitate de culturi celulare, linii celulare model tumoral/netumoral, umane/neumane (NIH-3T3 – linie fibroblastica normala de soarece, OK – linie epiteliala normala de tub contort proximal din rinichi de opossum, MCF7 – adenocarcinom malign uman de san, CaCo2 – adenocarcinom malign uman de colon) , medii de cultura adaptate liniei celulare, mediu fara fenol pentru masuratorile colorimetrice, kit *CellTiter 96(R) Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay (MTS)* (Promega G3581), baie de ultrasonicare termostata, cititor de placi in absorbanta (lungimi de unda disponibile 490 sau 540 nm).

Principale caracteristici:

- Metoda se poate aplica pentru variate tipuri de nanoparticule dpdv a naturii chimice, dimensiunilor si dopajului acestora.
- Metoda se poate aplica pentru timpi variati de expunere a celulelor la nanoparticule (masuratori efectuale in interval 6h-72h).
- Metoda se poate aplica pentru variate intervale de concentratii ale nanoparticulelor (de la µg/mL la mg/mL). Etape specifice de spalare a nanoparticulelor sunt necesare pentru indepartarea interferentelor cu semnalul de absorbanta.
- Suspensiile de nanoparticule se omogenizeaza inainte de utilizare (sonicare la cald 37°C sau la 0°C).

Informatia dobandita: Corelarea viabilitatii celulare cu tipul nanoparticulelor, timpul de expunere la nanoparticule, concentratia nanoparticulelor, tipul dopajului nanoparticulelor.

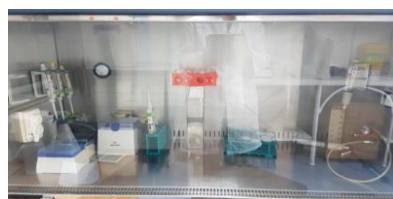
Echipe disponibile:



➤ Autoclav (Raypa) pentru sterilizarea nanoparticulelor



➤ Incubator HeraCell (ThermoScientific)



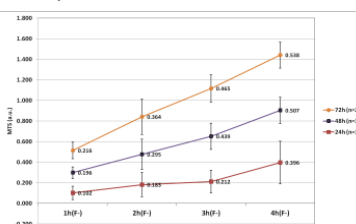
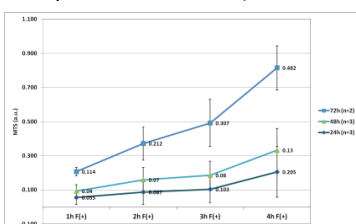
➤ Hota de flux laminar (Labteck)



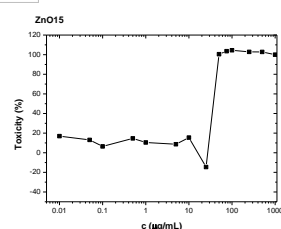
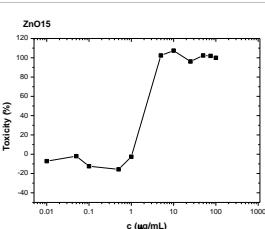
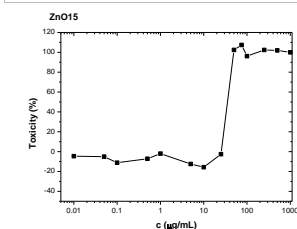
➤ Baie de ultrasonicare termostata



➤ Cititor de placi (Awareness StatFax Reader)



Exemple: Curbe de optimizare a semnalului de absorbanta folosind medii de cultura cu/fara fenol rosu si timpi variabili de incubare cu mixul MTS (1, 2, 3 si 4h), exemplificare pentru linia celulara CaCo2 (adenocarcinom malign uman de colon)



Curbe de toxicitate la 24h/48h/72h (de la stanga la dreapta) asupra celulelor OK (epiteliu renal de opossum) ale nanoparticulelor ZnO15 in domeniul de concentratii 0.01 – 1000 µg/mL