



**INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE
ÎN DOMENIUL PATOLOGIEI ȘI ȘTIINȚELOR BIOMEDICALE
"VICTOR BABEȘ"**

Splaiul Independenței 99-101, Sector 5, București

Telefon: 021 3192732, Website: <https://www.ivb.ro>

**FISA METODA OPTIMIZATA PENTRU EVALUAREA CITOTOXICITATII NANOPARTICULELOR
UTILIZAND CULTURI DE CELULE ADERENTE**

Denumire metoda: Metoda adaptata/optimizata pentru evaluarea citotoxicitatii nanoparticulelor utilizand culturi de celule aderente

Scurta descriere: Metoda colorimetrica ce permite evaluarea viabilitatii celulare prin dozarea cantitativa a formazanului produs prin reducerea MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium) de catre enzime oxidoreductaze NADPH-dependente in celule viabile. Dupa eliminarea mediului de cultura, se adauga solutia de MTT in PBS si celulele sunt incubate pentru 4 ore 37°C. Ulterior solutia de MTT este eliminata, iar cristalele de formazan sunt solubilizate cu DMSO (dimetil sulfoxid). Absorbanta solutiei obtinute este direct proportionala cu cantitatea de formazan din proba, respectiv cu numarul de celule viabile. Metoda a fost optimizata pentru evaluarea citotoxicitatii nanoparticulelor ca atare sau functionalizate.

Echipamente si materiale utilizate: unitate pentru culturi celulare, linii celulare aderente (SHSY5Y – neuroblastom uman, CaCo2 – adenocarcinom de colon uman), reactivi specifici si consumabile necesare intretinerii liniilor celulare si efectuarii determinarii propriu-zise, baie de ultrasonicare termostata, spectrofotometru Varioskan Flash (Thermo Scientific)

Principale caracteristici:

- Metoda presupune testarea nanoparticulelor in sistem celular si in sistem acelular; in cazul unor variatii semnificative ale absorbantei in functie de concentratia de nanoparticule, se fac corectii ale citirilor corespunzatoare in sistem celular, astfel incat sa fie evitate erorile de interpretare a rezultatelor.
- Suspensiile de nanoparticule se omogenizeaza inainte de utilizare (sonicare); pot fi testate numai probe sterile de.

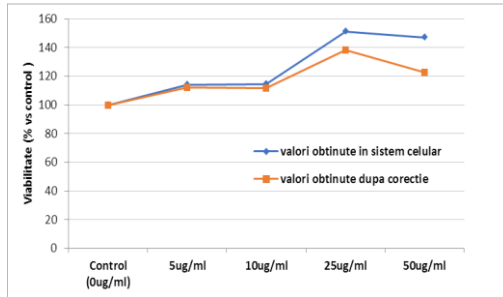
Informatia dobandita: Metoda permite evaluarea modificarilor de viabilitate celulara in functie de: a) caracteristicile nanoparticulelor: dimensiune, forma, material, functionalizare (dopaj, coating), mediul in care sunt suspendate nanoparticulele b) concentratiile de nanoparticule c) tipul celular testat d) timpul de expunere

Echipamente disponibile: unitate pentru culturi celulare, linii celulare aderente (SHSY5Y – neuroblastom uman, CaCo2 – adenocarcinom de colon uman), reactivi si consumabile specifice, necesare atat pentru intretinerea liniilor celulare, cat si pentru testarea propriu-zisa, baie ultrasonare, spectrofotometru Varioskan Flash (Thermo Scientific).



INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE ÎN DOMENIUL PATOLOGIEI ȘI ȘTIINȚELOR BIOMEDICALE "VICTOR BABEȘ"

Splaiul Independenței 99-101, Sector 5, București



Exemple: Curbe de viabilitate obtinute dupa 24 ore de expunere a celulelor SHSY5Y la diferite concentratii de nanoparticule. Au fost reprezentate atat rezultatele obtinute strict in sistem celular (albastru), cat si cele obtinute dupa eliminarea variatiilor de absorbanta datorate interactiilor dintre nanoparticule si reactivii utilizati