

VALIDAÇÃO DO TESTE COMETA EM CÉLULAS DA MUCOSA BUCAL

SILVA, P, M, L. [1]; BARCELOS, P, R. [2]; BARONI, S. [3]

O dano ao DNA está intimamente associado ao surgimento de cânceres e doenças crônicas, sendo que as formas de observar essas alterações são a análise da presença de micronúcleos nas células e as alterações no conteúdo de DNA no núcleo. Dessa forma, este projeto propõe utilizar o teste cometa em células da mucosa bucal de agricultores para identificar os níveis de genotoxicidade dos agrotóxicos. A mucosa bucal é o local em que acontece o primeiro contato com agentes externos, incluindo agentes tóxicos, que podem causar danos no DNA. Esses danos geram os micronúcleos, os quais são detectados pelo teste cometa. Dessa forma, torna-se favorável o uso das células da mucosa bucal para o teste. Porém, para utilizá-lo em células da mucosa, é necessária a adaptação de um protocolo de análise já existente, que utiliza células sanguíneas. A proposta tem por objetivo Implementar e otimizar o protocolo Single Cell Gel/Comet Assay em mucosa bucal no laboratório de Genética da UFFS-Cerro Largo a fim de desenvolvimento de biomarcadores para testes de genotoxicidade, além de facilitar a coleta de material para a análise, levando em consideração que o protocolo com células sanguíneas necessita que o indivíduo se dirija até um laboratório para a coleta, enquanto a coleta de células da mucosa bucal pode ser feita diretamente pelo pesquisador utilizando uma escova estéril. Entretanto, a adaptação desse protocolo enfrenta alguns desafios, pois as características biológicas das células da mucosa bucal e das células sanguíneas são diferentes. Naturalmente, as células sanguíneas tendem a manter-se separadas e as células da mucosa bucal têm alto nível de adesão celular, o que dificulta a separação das células durante o processo de confecção das lâminas. Outra característica é que, no protocolo com células sanguíneas, o número de células para análise é baixo, já que são utilizados apenas os glóbulos brancos. No entanto, todas as células coletadas da mucosa bucal são usadas e viáveis, sendo necessárias diluições para estabelecer um padrão de volume de células por μL de amostra, de forma que cada lâmina apresente em torno de 50 células, pois um número maior acarreta a sobreposição de células, inviabilizando a contagem. Para a preparação das lâminas, é necessária a coleta das células e o armazenamento em um fixador. Posteriormente, as células passam por um processo de centrifugação e lavagem para a retirada de impurezas presentes na amostra. Logo em seguida, as células passam pela lise, processo que lisa as membranas celulares, permanecendo apenas o DNA que estava no núcleo. Após isso, as células são submetidas à eletroforese, que permite a criação do “rastro do cometa” pela diferença de massa entre o núcleo intacto e os núcleos danificados. Ao final, as lâminas são coradas e analisadas em microscópio de fluorescência. Entretanto, este projeto ainda está em andamento e passa por aprimoramentos, como a padronização no momento da coleta da amostra de células e a implementação de diluição da amostra para garantir um número adequado de células para a realização do teste.

Palavras-chave: Micronúcleo; Comet Assay; adaptação de protocolo; genotoxicidade.

[1] Patrick Magdhel Lima da Silva. Ciências Biológicas - Licenciatura. Universidade Federal da Fronteira Sul. patrikmagdhell@gmail.com.

[2] Rodrigo Barcelos. Ciências Biológicas. Universidade Federal da Fronteira Sul. Endereço eletrônico.

[3] Suzymeire Baroni. Ciências Biológicas. Universidade Federal da Fronteira Sul. Suzymeire.baroni@uffs.edu.br.



XIV SEPE

Seminário de Ensino,
Pesquisa e Extensão

20 a 24/10

INTEGRIDADE CIENTÍFICA E COMBATE À DESINFORMAÇÃO

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Origem: Pesquisa

Aspectos Éticos: Esse projeto foi submetido e aprovado pelo CEP sob o CAAE:
86636025.1.0000.5564 em 26/02/2025.

[1] Patrick Magdhel Lima da Silva. Ciências Biológicas - Licenciatura. Universidade Federal da Fronteira Sul. patrikmagdhell@gmail.com.

[2] Rodrigo Barcelos. Ciências Biológicas. Universidade Federal da Fronteira Sul. Endereço eletrônico.

[3] Suzymeire Baroni. Ciências Biológicas. Universidade Federal da Fronteira Sul. Suzymeire.baroni@uffs.edu.br.