

**Universidade Federal do Ceará**  
**Unidade Multiusuário NPDM**

**Estudos de mecanismos de lesão celular em bactérias e fungos  
através de citometria de fluxo**

**1. Informações do Projeto**

**Proponente:** DÉBORA CASTELO BRANCO DE SOUZA COLLARES MAIA

**CPF:** 00354100351

**Comitê de Ética:** Não foi submetido a nenhum comitê

**2. Descrição**

A citometria de fluxo tem sido por vários anos um método útil para estudar as características das células eucarióticas. Ao marcar macromoléculas celulares (DNA, RNA ou proteína) com corantes fluorescentes específicos, o conteúdo de uma única célula dessas macromoléculas pode ser medido com precisão e rapidez. As células bacterianas não eram muito utilizadas com frequência em experimentos de citometria de fluxo, principalmente devido ao seu menor tamanho e menor teor de macromoléculas. Porém, este instrumento permite medições precisas de fluorescência específica de DNA e luz espalhada de células bacterianas individuais a uma taxa de 104 células s<sup>-1</sup>. Os dois parâmetros podem ser medidos simultaneamente e exibidos em histogramas de parâmetros duplos. Assim, esse projeto tem como objetivo analisar fatores de lesão celular em células procarióticas e eurióticas de bactérias e fungos expostos a compostos antineoplásicos como 5-fluorouracil e cisplatina. Em cada poço de uma placa de 96 poços, 200 µl de uma suspensão bacteriana e fúngica diluída (10<sup>4</sup> células/ml) serão tratadas com diferentes concentrações de 5-FU (0,25-2048 µM) e cisplatina por 24h na temperatura de incubação de 37°C de crescimento para cada espécie. Após a incubação, o número de células intactas e danificadas será medido por citometria de fluxo conforme descrito por Van Nevel et al. (2013). Para isso, as amostras serão diluídas em solução tampão fosfato estéril filtrante para obter números de células dentro da faixa de detecção (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> células/ml). Em seguida, as amostras serão coradas com iodeto de propídio (concentração final 4 µM; Invitrogen) e incubadas por 20min a 37° C antes da análise. Através do citômetro de fluxo com um laser de estado sólido de 488nm e água Milli-Q será usada como fluido de bainha. Os sinais serão detectados no canal fluorescente de FL3 (vermelho), equipado com filtro passa-banda de 670nm. As contagens de células serão feitas medindo o número de partículas em um volume definido após gating em gráficos de fluorescência vermelho do software utilizado. O controle de qualidade da contagem absoluta de células deverá ser realizado com esferas padronizadas. Cada condição será realizada em triplicada ou quadruplicada.

**3. Justificativa de Uso**

Analisar mecanismos de lesão celular em células procarióticas e eurióticas de bactérias e fungos expostos a compostos antineoplásicos como 5-fluorouracil e cisplatina.

**4. Participantes do Projeto**

**Participante 1**

Nome: Expedito Maia Diógenes

Email: expeditomaia@hotmail.com

**Participante 2**

Nome: Vinícius Carvalho Pereira

Email: viniuscarvalhopereira99@gmail.com

**Participante 3**

Nome: Paulo Roberto Honório de Souza

Email: paulorhs19@hotmail.com

**Participante 4**

Nome: Raquel Carvalho Montenegro

Email: rcm.montenegro@gmail.com

**Participante 5**

Nome: Felipe Pantoja Mesquita (operador)

Email: felipe\_mesquita05@hotmail.com

**Participante 6**

Nome: Laís Lacerda Brasil de Oliveira (operador)

Email: laisbrasil@ufc.br