

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



**REDE DE
PLATAFORMAS
TECNOLÓGICAS
FIOCRUZ**

RPT11M - Recomendações para o envio de amostras para análise de atividade anti-tumoral.

Introdução:

A metodologia de recebimento e processamento das amostras enviadas para testes na Plataforma de Atividade Antitumoral do Laboratório de Farmacologia Molecular de FARMANGUINHOS, segue o Guia do NCI (National Cancer Institute dos EUA) disponível em:

https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/handling.htm (último acesso em 17/01/2024).

1.0 – Preparo das amostras para envio:

Solicitamos que seja observada a pureza das amostras enviadas e, no caso de substâncias isoladas, que esta seja determinada.

Para *substâncias puras* deve-se considerar pureza superior a 98%.

As amostras devem ser enviadas em tubos de microcentrífuga, tipo eppendorf, novos. Caso eles não estejam disponíveis em seu laboratório, favor entrar em contato com a Plataforma RPT11M/Laboratório de Farmacologia Molecular-FARMANGUINHOS que fornecemos.

Uma ficha de envio deve ser preenchida para cada amostra enviada. No caso de alíquotas da mesma amostra, evidenciar o fracionamento no campo onde é informada a massa de amostra enviada (ex: 5,35mg + 4,90 mg = 10,25mg).

Durante a pesagem das amostras é fortemente recomendado o uso de balanças com 5 (cinco) casas decimais. No formulário de envio os valores devem ser expressos em *miligramas*, com duas casas decimais. Não é recomendado o “arredondamento” de valores, pois isto leva a erro.

Caso a amostra tenha origem proteica, DNA, RNA ou que não seja compatível com DMSO, procure a equipe da Plataforma RPT11M/Laboratório de Farmacologia Molecular (antitumoral.plat@fiocruz.br) para discussão sobre quantidades e o veículo para diluição.

2.0 - Instruções:

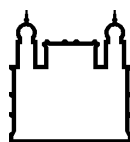
2.1 - Extratos, frações, ativos isolados ou produtos de síntese:

Quantidades para envio:

Amostras de substância pura, sintética ou isolada: quantidade de 5 a 10mg.

Amostras de fração ou extrato: quantidade de 10 a 15mg.

As amostras podem ser fracionadas e encaminhadas em alíquotas de pelo menos 5mg. É aconselhável que seja verificada a solubilidade das amostras em DMSO, antes do envio para testes, observando as seguintes concentrações para o teste:



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



**REDE DE
PLATAFORMAS
TECNOLÓGICAS
FIOCRUZ**

RPT11M - Recomendações para o envio de amostras para análise de atividade anti-tumoral.

Frações e extratos: 80mg/mL

Substâncias puras: 60mM

A partir do observado, relatar no formulário específico de envio o desempenho da amostra no teste de solubilidade.

2.2 - Nanopartículas metálicas:

Recomendamos que sejam realizados testes de estabilidade das nanopartículas nos meios de cultura utilizados nos experimentos de atividade antitumoral. A Plataforma RPT11M fornece os meios de cultura mediante solicitação.

Nanopartículas metálicas devem ser fornecidas preferencialmente em salina (NaCl 0,9%), PBS (tampão salina tamponado com fosfato) ou água. Caso não seja possível utilizar os veículos citados, é necessário o fornecimento do tampão utilizado para a realização dos controles.

As suspensões de nanopartículas metálicas devem ser fornecidas pelo menos 5 vezes mais concentradas do que o primeiro ponto mais alto da curva teste desejado.

Massa:

Ponto mais alto 150µg/ml; 5 diluições.

Densidade:

Ponto mais alto 150ppm; 5 diluições.

Princípio ativo quantificado

Ponto mais alto 100µM; 5 diluições.

2.3 - Nanopartículas poliméricas e lipídicas:

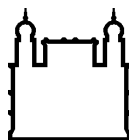
Recomendamos que sejam realizados testes de estabilidade das nanopartículas nos meios de cultura utilizados nos experimentos. A Plataforma RPT11M fornece os meios de cultura mediante solicitação.

Nanopartículas poliméricas e lipídicas devem ser fornecidas preferencialmente em salina (NaCl 0,9%), PBS (tampão salina tamponado com fosfato) ou água. Caso não seja possível utilizar os veículos citados, é necessário o fornecimento do tampão utilizado para a realização dos controles.

É fortemente recomendada a quantificação dos ativos nas nanopartículas para efeito de cálculo do controle (princípio ativo livre).

As suspensões de nanopartículas devem ser fornecidas pelo menos 5 vezes mais concentradas do que o primeiro ponto mais alto da curva teste (considerando o princípio ativo quantificado ou massa fornecida).

Devem ser fornecidos junto com as amostras teste nanopartículas vazias e o princípio ativo para realização dos controles. No caso de nanopartículas funcionalizadas pede-se também o fornecimento delas vazias.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



**REDE DE
PLATAFORMAS
TECNOLÓGICAS
FIOCRUZ**

RPT11M - Recomendações para o envio de amostras para análise de atividade anti-tumoral. Na ausência de alguma evidência de atividade biológica da nanopreparação em teste, utilizamos as concentrações a seguir:

Massa:

Ponto mais alto 150µg/ml; 5 diluições.

Densidade:

Ponto mais alto 150ppm; 5 diluições.

Princípio ativo quantificado

Ponto mais alto 100µM; 5 diluições.

3.0 - Após o recebimento:

Caso não seja especificado veículo preferencial, todas as amostras (extratos, frações, ativos isolados e produtos de síntese) são diluídas em DMSO estéril e conservadas a -20°C ou conforme indicação no formulário “Solicitação de determinação de atividade antitumoral”.

O código de identificação de sua amostra será gerado com base no número da solicitação no Sistema da Rede de Plataformas Tecnológicas FIOCRUZ. Os experimentos são realizados utilizando sistema duplo cego para garantir confidencialidade das amostras.

Para um conjunto de amostras enviadas os resultados serão consolidados em um relatório único.

Contate-nos pelo e-mail:
antitumoral.plat@fiocruz.br