

**Introdução:** Células-tronco são células que possuem a capacidade de se dividir produzindo células idênticas a elas mesmas ou células especializadas, que podem formar diferentes tecidos. Células-tronco de origem mesenquimal podem ser encontradas em diversos locais do corpo humano, dentre eles a polpa dentária. Devido ao seu grande poder de diferenciação, estas células são de grande interesse na medicina regenerativa e engenharia tecidual, pois são capazes de recuperar tecidos injuriados dando origem a células de osso, músculo liso, endotélio, gordura, cartilagem, entre outras. As células-tronco provenientes de polpa dentária de dentes decíduos podem ser obtidas de forma natural, visto que todas as crianças perdem seus dentes decíduos para dar lugar a dentes permanentes. A criopreservação destes dentes se faz de especial interesse, pois possibilita a conservação do material por um longo período de tempo quando não se consegue processá-lo imediatamente. **Objetivo:** Estabelecer um protocolo para congelamento e descongelamento de dentes decíduos demonstrando ser possível o isolamento e estabelecimento de cultura de células pulpares após criopreservação dental. **Materiais e Métodos:** Dentes decíduos em estágio de rizólise foram coletados de pacientes em atendimento na Clínica Odontológica Infanto-Juvenil (Faculdade de Odontologia UFRGS) e encaminhados para o laboratório de Hematologia e Células Tronco da Faculdade de Farmácia (UFRGS), imersos em frasco contendo meio de transporte (DMEM/Hepes, Soro Fetal Bovino, Penicilina, Estreptomicina, e Gentamicina), devidamente refrigerados (4°C). Em capela de fluxo laminar, o dente foi removido do frasco de transporte e imerso diretamente em criotubo (vial) de 1,5 ml contendo solução crioprotetora (SFB e DMSO 9:1). Imediatamente após a colocação da solução crioprotetora, o processo de congelamento foi iniciado colocando o vial na geladeira (4°C/60 min). Posteriormente, o criotubo foi transferido para um freezer -80°C em um dispositivo de criopreservação controlada (-1°C/min) por, no mínimo 24 horas e, no máximo 48 horas, e em seguida, transferido para nitrogênio líquido, onde permaneceram até o descongelamento. Após 7 dias, os criotubos foram retirados do nitrogênio líquido, colocados rapidamente em banho a 37°C. O dente foi então removido do criotubo e transferido do vial para uma placa de Petry onde foi lavado com meio de cultura suplementado gelado (4°C). O tecido pulpar foi então removido com curetas de dentina ou limas endodônticas para o processo de isolamento celular através do método de digestão enzimática (colagenase tipo I). **Conclusão:** É possível estabelecer-se cultura de células a partir da polpa de dentes decíduos congelados inteiros após descongelamento.