

**CC_03-MELN REPORTER GENE ASSAY:
CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ESTROGÉNICA Y/O ANTI-ESTROGENICA EN
CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA MEDIANTE
TÉCNICAS “IN VITRO” DE EXPRESIÓN GÉNICA**

Plataformas Científico-Tecnológicas: Laboratorios de Investigación

Plataforma de Cultivos Celulares

Técnico de área: José Manuel Molina Molina

www.ibsgranada.es



ibs.GRANADA
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
BIOSANITARIA

CC_03-MELN reporter gene assay: cuantificación de la actividad estrogénica y/o anti-estrogenica en células de cáncer de mama mediante técnicas “in vitro” de expresión génica

1. Propósito del ensayo biológico.

Determinar cualitativa y cuantitativamente la actividad hormonal de carácter (anti-)estrogenica de un compuesto o mezcla de compuestos, mediante la evaluación de su capacidad para unirse al receptor de los estrógenos humano alfa (hER α) y activar la transcripción de determinados genes específicos, tras 16 horas de incubación, en ausencia (control negativo) o presencia (control positivo) del estrógeno natural 17 β -estradiol (E2), mediante un bioensayo “in vitro” que utiliza una línea celular de cáncer de mama transfectada (células MELN).

2. Fundamentos del ensayo.

Estos bioensayos de modulación de la expresión génica, utilizan una metodología desarrollada durante los últimos años en modelos “in vitro” basada en el empleo de líneas celulares establemente transfectadas con diversos receptores hormonales, ya sean nativos o modificados, y analizan la expresión de genes específicos. En concreto, hemos utilizado una línea celular (MCF-7) de cáncer de mama humano, co-transfectada con un elemento de respuesta a estrógenos y el gen de la luciferasa.

Los ensayos basados en la luciferasa usan el gen luc de la luciferasa de luciérnaga (firefly), que es uno de los genes reporteros usados con más frecuencia y que permite monitorizar la actividad promotora en el control de la expresión génica. Los genes reporteros se usan ampliamente para estudiar los mecanismos de expresión y regulación génica. Puesto que la mayoría de genes expresados no son fácilmente detectables, los genes reporteros se introducen en el DNA celular para investigar la función del gen mediante una propiedad fácil de medir: la luminiscencia.

3. Ventajas del bioensayo y tipo de muestras analizadas.

En lo que concierne al caso particular del empleo de biomarcadores de exposición a disruptores endocrinos con actividad (anti-)estrogénica, el uso del bioensayo con células MELN, basado en el gen reportero de la luciferasa, es una herramienta muy útil para el estudio de expresión génica a nivel transcripcional. Su rapidez, simplicidad, relativo bajo costo y alta sensibilidad entre otras cosas son las características que hacen de este bioensayo una herramienta de las preferidas para la investigación de la actividad hormonal biológica de carácter (anti-)estrogénica tanto de compuestos puros como de extractos de tejidos o fluidos de origen natural, humano ó animal de composición conocida y/o desconocida. Este biomarcador, está siendo aplicado con éxito en estudios de muy diferente índole, en los que la exposición a disruptores endocrinos estrogénicos se cuantifica doblemente, por un lado mediante un bioensayo “in vitro” de proliferación celular (E-Screen) y por otro lado mediante la aplicación de este bioensayo de expresión génica (MELN reporter gene assay).

4. Precios a convenir según número y tipo de muestras.

5. Contacto:

- **Técnico Responsable Plataforma Cultivos Celulares**
Dr. José Manuel Molina Molina
Mail: molinajm@ibsgranada.es
Teléfono: 9580242864
- **Coordinadora Laboratorios de Investigación**
Dra. Paloma Muñoz de Rueda
Mail: palomalancha@ibsgranada.es
Teléfono: 958023980
- **Web:** <https://www.ibsgranada.es/plataformas/plataforma-de-cultivos-celulares/>
- **Solicitud de recurso:** <https://www.ibsgranada.es/solicitud-de-recursos-de-launidad-cientifico-tecnica-de-laboratorios-de-investigacion/>
- **Tarifas:** <https://www.ibsgranada.es/wp-content/uploads/2020/11/Lista-deTarifas-UCT-Lab-Investigacion-2022-v02.pdf>