

CC_08- DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD/CITOTOXICIDAD EN CÉLULAS EUCARIOTAS A PARTIR DE CULTIVOS EN MONOCAPA

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_08- Determinación de la viabilidad/citotoxicidad en células eucariotas a partir de cultivos en monocapa

1. Propósito de la cartera.

El concepto de viabilidad celular hace referencia a la cantidad de células vivas/sanas en una población y puede evaluarse utilizando ensayos que permitan determinar la actividad enzimática, la integridad de la membrana celular y/o la producción de ATP, entre otros indicadores. Estos métodos pueden utilizar lecturas de luminiscencia, fluorescencia o colorimetría como indicadores de la viabilidad celular. A menudo se utilizan ensayos de citotoxicidad y viabilidad celular para evaluar el efecto de un fármaco u otro tratamiento, y son herramientas valiosas para la búsqueda de nuevos tratamientos, así como para avanzar en nuestro conocimiento de la función celular. En este sentido, existen una gran variedad de ensayos de viabilidad celular, cada uno de los cuales aporta una información diferente según su fundamento biológico. Entre ellos se encuentran aquellos que pueden detectar cambios estructurales como la pérdida de integridad de la membrana. El principal objetivo de esta técnica, es la cuantificación de la viabilidad/citotoxicidad de células eucariotas a partir de cultivos en monocapa, mediante la evaluación de la integridad de la membrana celular usando un ensayo de exclusión con el colorante azul de tripán.

2. Fundamentos del ensayo.

La membrana celular realiza innumerables reacciones químicas e interacciones moleculares, al estar en un proceso de muerte celular, esta integridad celular se altera y se modifican sus funciones. Los ensayos de citotoxicidad que miden parámetros asociados a la pérdida de integridad de la membrana tras la muerte celular, también llamados, ensayos de tinción por exclusión, detectan la capacidad de penetración de colorantes impermeables en las células tras la pérdida de actividad de su membrana.

El azul de tripán, es un colorante azoico que permite diferenciar células vivas de células muertas. Las células vivas con la membrana celular intacta no se colorean debido a que la membrana celular es selectiva respecto a qué compuestos pueden atravesarla. Por tanto, en las células viables, con membrana intacta, no se incorpora el azul de tripano; por el contrario, sí atraviesa la membrana de las células muertas. Así, las células muertas se muestran de un distintivo color azul bajo el microscopio.

3. Ventajas del ensayo.

- La tinción con azul tripán, nos permite distinguir fácilmente las células no viables de las viables, en función de la integridad de su membrana.
- Es un ensayo de viabilidad celular rápido y sencillo.
- El uso de un contador automatizado:
 - ❖ Compatible con una amplia gama de tamaños y tipos de células: cuenta líneas celulares, células primarias y células madre.
 - ❖ Tecnología innovadora de autoenfoco: elimina la variación asociada con el enfoque manual y conduce a recuentos de células precisos en 30 segundos.
 - ❖ Puertas de tamaño de célula: el usuario puede seleccionar una población de interés en muestras complejas, como células primarias.
 - ❖ Viabilidad celular: analiza las células con precisión mediante el análisis del plano multifocal.
 - ❖ Fácil de archivar y analizar: almacena hasta 100 recuentos en la memoria integrada para acceder en cualquier momento.

4. 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>