

CF_03- CARACTERIZACIÓN Y AISLAMIENTO DE *CANCER STEM CELLS* POR CITOMETRÍA DE FLUJO

Plataformas Científico-Tecnológicas: Laboratorios de Investigación

Plataforma de Citometría de Flujo

Técnico de área: Sara Moreno San Juan

www.ibsgranada.es



ibs.GRANADA
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
BIOSANITARIA

CF_03- Caracterización de Cancer Stem Cells por Citometría de Flujo

1. Fundamentos del método y ventajas.

Se trata de una técnica de caracterización de las *Cancer Stem Cells* (CSCs) mediante inmunoensayos utilizando anticuerpos específicos frente a diversos clusters de diferenciación (CD) expresados de forma diferencial en este tipo de población. Se trata de un método fundamentado en la Citometría de Flujo (puede ser complementado mediante análisis de Microscopía Confocal). Su principal valor radica en la facultad para conjugar la lectura rápida y simultánea de varios y complejos parámetros de una manera objetiva y precisa.

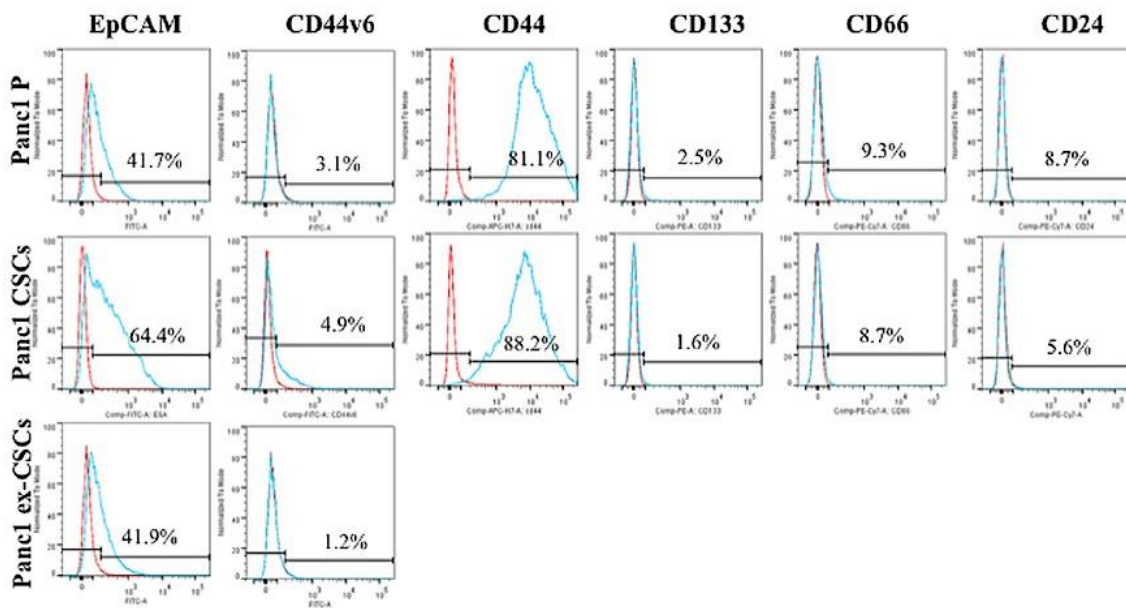


Figura 1. Expresión de diferentes Clusters de Diferenciación (CDs) en La línea celular humana de adenocarcinoma de páncreas Panc1. Panc1 P = línea parenteral; Panc1 CSCs = Células CSCs separadas de las no CSCs; exCSCs = células CSCs seleccionadas que han sido posteriormente transformadas en no CSCs. Figura adaptada de Pozza y colaboradores [2].

Una vez determinada la población de CSCs es posible aislarla del resto de la población gracias al módulo de separación celular con el que cuenta el equipo. Esta separación puede hacerse de manera conjunta, separando en tubos cada una de las poblaciones de interés, o de manera individualizada utilizando el módulo BD FACSAria Automated Cell Deposition Unit, depositando una única célula de la población de interés en cada pocillo. Además, puede complementarse con la CF09.

2. Descripción de los equipos ofertados y tipo de muestras analizadas.

a) Equipo de Citometría de Flujo y software:

- BD FACS Aria IIIu: citómetro de flujo analizador y separador celular. Número de láseres y detectores: 4 láseres. Láser violeta (405nm) y sus detectores (octágono con filtros 450-40, 510-50, 575-26, 610-20, 660/20, 710-50, 780-50); Láser azul (488nm) y sus detectores (SSC, FITC/Alexa488 y PerCP/PerCP-Cy5.5); Láser amarillo-verde (561nm) y sus detectores (PE, PE-Texas Red/IP/Living Colors/mCherry, PE-Cy7/PE-Cy5,5, PE-Cy7). Láser rojo (633 nm) y sus detectores (APC/Alexa 647, Alexa 700, APC-Cy7/APC-H7).
- Módulo BD FACSAria Automated Cell Deposition Unit (ACDU) Field Upgrade (módulo de célula única), que permite separar poblaciones celulares de forma automática en placas de hasta 96 pocillos y en placas para microscopía de fluorescencia.
- Software de adquisición y análisis: FACSDiva 8.0.1.

b) Tipo de Muestra:

- Células en suspensión procedentes de tejidos y de líneas celulares.
- Especies: Humano, ratón, rata, primate, perro, felinos, equinos, porcinos (Según disponibilidad de los distribuidores de anticuerpos, puede que alguno de los marcadores descritos no esté disponible en todas las especies).
- Tamaño muestral: Por cada panel descrito a continuación, 5×10^5 células en 100 μ L de solución de ensayo o PBS.

3. Paneles Propuestos.

- **Panel 2:** CD24-PECY7, CD44-APC, CD326 (EPCAM)-BV421.
- **Panel 3:** CD24-PECY7, CD44-APC, CD326 (EPCAM)-BV421, CD66C-FITC.
- **Panel 4:** CD326 (EPCAM)-BB515; CD133/1-PE, CD24-PECY7, CD44-APC.
- **Panel 5:** CD66C-FITC, E-CADHERIN-PE, CD90-APC.
- **Creación de paneles a la carta.**

4. Servicios ofertados.

- **Procesado de muestras** (disgregación tejidos, tinciones, fijaciones, permeabilizaciones).
- **Adquisición de datos por el citómetro.**
- **Análisis de resultados y elaboración de un informe con los mismos.**

5. Precios a convenir según paneles y anticuerpos seleccionados.

6. Contacto:

- **Técnico Especialista Responsable Plataforma de Citometría**
Dra. Sara Moreno San Juan
Mail: sara.moreno@ibsgranada.es
Teléfono: 958023494
- **Coordinadora Laboratorios de Investigación**
Dra. Paloma Muñoz de Rueda
Mail: palomalancha@ibsgranada.es
Teléfono: 958023980
- **Web:** <https://www.ibsgranada.es/plataformas/plataforma-de-citometria/>
- **Solicitud de recurso:** <https://www.ibsgranada.es/solicitud-de-recursos-de-la-unidad-cientifico-tecnica-de-laboratorios-de-investigacion/>
- **Tarifas:** <https://www.ibsgranada.es/wp-content/uploads/2020/11/Lista-de-Tarifas-UCT-Lab-Investigacion-2022-v02.pdf>

[1] Raha, D.; Wilson, T.R.; Peng, J.; Peterson, D.; Yue, P.; Evangelista, M.; Wilson, C.; Merchant, M.; Settleman, J., *The cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase is required to maintain a drug-tolerant tumor cell subpopulation. Cancer research*, **2014**, 74, (13), 3579-3590.

[2] Dalla Pozza, E.; Dando, I.; Biondani, G.; Brandi, J.; Costanzo, C.; Zoratti, E.; Fassan, M.; Boschi, F.; Melisi, D.; Cecconi, D.; Scupoli, M.T.; Scarpa, A.; Palmieri, M., *Pancreatic ductal adenocarcinoma cell lines display a plastic ability to bidirectionally convert into cancer stem cells. Int J Oncol*, **2015**, 46, (3), 1099-1108.