

CF_06- ESTUDIOS DE APOPTOSIS CELULAR POR CITOMETRÍA DE FLUJO (ANEXINA V)

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_06- Estudios de apoptosis celular por citometría de flujo (Anexina V)

1. Fundamentos del método y ventajas.

Conocer los mecanismos de muerte y supervivencia celular puede representar un aspecto crítico para la descripción de nuevas drogas y su efecto toxicológico. Existen diferentes métodos para el estudio de la muerte celular programada o apoptosis. Uno de ellos es la determinación de la Anexina V.

La traslocación de residuos de fosfatidilserina (PS) desde la cara interna de la membrana plasmática a la superficie celular ocurre en los primeros estadios de la apoptosis, por lo tanto, puede utilizarse para detectar y medir este proceso.

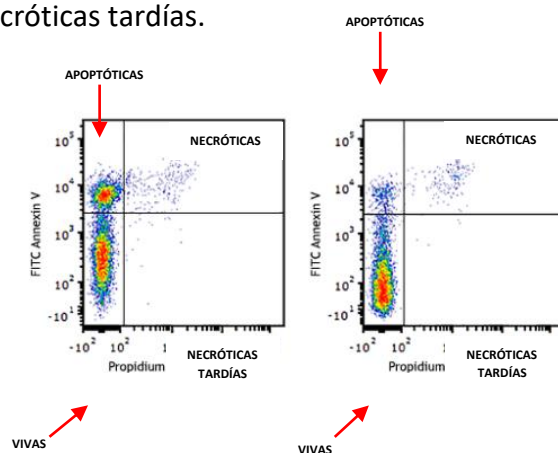
La anexina V tiene una fuerte afinidad por el Ca^{2+} dependiente de los PS, por lo que puede ser utilizado como prueba para la detección de la apoptosis. Al conjugar la Anexina V con un fluorocromo se pueden identificar las células apoptóticas una vez que esta se ha unido a los residuos de PS expuestos en su superficie celular. Además, puede utilizarse combinada con otros fluorocromos lo que permite la diferenciación entre poblaciones apoptóticas y no apoptóticas.

Además, puede complementarse con microscopía confocal (MC02).

2. Procedimiento.

Esta cartera de servicio está orientada a la investigación de la efectividad de nuevos fármacos.

Se realiza el marcaje de las células con Ioduro de propidio, indicador de muerte celular, y Anexina V-FITC lo que permite la diferenciación entre poblaciones vivas, necróticas, apoptóticas y necróticas tardías.



Línea celular Jurkat, tratada (izquierda) y sin tratar (derecha) con anti-human CD95 durante 4 horas a 37°C, después teñidas con Anexina V FITC durante 15 minutos a 37°C. Se añadió Ioduro de propidio 5 minutos antes de comenzar con el análisis.

3. 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). Software de adquisición y análisis: FACSDiva 8.0.1.

- Cytex Northern Lights: citómetro de flujo espectral. Con 3 líneas láseres: violeta, azul y rojo. Cuenta con 38 detectores (16V, 14A y 8R), siendo capaz de determinar más de 30 colores de manera simultánea. El rango de detección oscila entre los 420 y los 829nm. Software de análisis y control del equipo: SpectroFlo

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 anticuerpos).
- Tamaño muestral: 5×10^5 células en medio de cultivo para cada condición a estudiar.

4. Precios a convenir según número de muestras a procesar.

5. Contacto.

- **Técnico Responsable Plataforma de Citometría**
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>