

CF_09- CARACTERIZACIÓN Y AISLAMIENTO DE CANCER STEM CELLS EN FUNCIÓN DE SU ACTIVIDAD ALDH-1 Y ALDERED 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

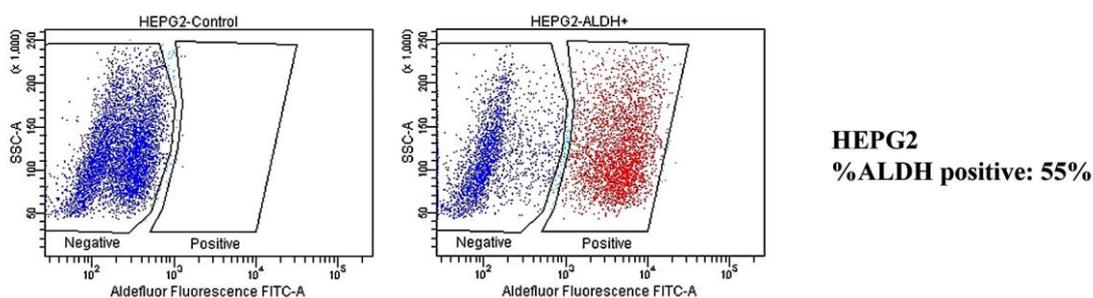
CF_09- Caracterización y aislamiento de Cancer Stem Cells en función de su actividad Aldh-1 y AldeRed por Citometría de Flujo

1. Fundamentos del método y ventajas.

Se trata de una técnica de caracterización y aislamiento de las *Cancer Stem Cells* (CSCs) que permite realizar ensayos funcionales basados en la actividad ALDH, actividad que se encuentra elevada en las CSCs [1]. 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.

Además, con el módulo de Cell Sorting incorporado en nuestro equipo de citometría, podemos separar poblaciones altamente puras y viables para su posterior cultivo celular, lo que permite estudios posteriores con las poblaciones seleccionadas de CSCs y compararlas con las no CSCs (capacidad de formación de esferas, estudios de toxicidad a fármacos, radioresistencias, formación de xenógrafos tumorales, estudios de expresión genética, etc).

Figura 1. Expresión del porcentaje de actividad Aldefluor deshidrogenasa 1 en células HEPG2.



Esta cartera de servicio puede complementarse con la CF03, de manera que se obtiene una determinación más completa.

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. Servicios ofertados.

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

4. Equipamiento disponible

- **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.

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.; Ceconi, 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.