

CF_10 - ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS EN LEUCOCITOS POR CITOMETRÍA DE FLUJO

Plataformas Científico-Tecnológicas: Laboratorios de Investigación

Plataforma de Citometría de Flujo

Técnico Especialista Responsable: Sara Moreno San Juan

www.ibsgranada.es



ibs.GRANADA
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
BIOSANITARIA

CF_10 - Estudio de la producción de especies reactivas en leucocitos por citometría de flujo

1. Fundamentos del método

Las especies reactivas de oxígeno o ROS son moléculas muy pequeñas y altamente reactivas. Se forman de manera natural como subproducto del metabolismo del oxígeno, actuando como mensajero secundario de las células. En función de su concentración pueden ejercer un papel beneficioso o perjudicial para las células, ya que están implicadas en procesos de gran importancia como la señalización celular, la homeostasis o la apoptosis.

Los efectos perjudiciales de estas moléculas pueden ser a nivel de daño en el ADN o ARN, en la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados en lípidos, en la oxidación de aminoácidos en proteínas o en el desarrollo de células tumorales, las cuales presentan niveles más elevados.

Se propone el uso de la hidroetidina (HE), como sonda para la detección de ROS, cuya diana es el anión superóxido (O_2^-). La HE se oxida a etidio por acción del O_2^- producido en las células, ya que éste no puede atravesar fácilmente la membrana, siendo la intensidad de fluorescencia del interior de la célula directamente proporcional a la producción total de O_2^- .

2. Procedimiento

Esta cartera de servicios está orientada a la monitorización de procesos a nivel intracelular en leucocitos a partir de muestras de sangre periférica completa o a partir de leucocitos aislados directamente.

a) Tipo de Muestra:

- Sangre periférica con células viables.

b) Cantidad de muestra:

- Sangre Periférica: $\geq 500 \mu\text{l}$.

c) Procesamiento: hasta 48h después de la extracción siempre que hayan sido tratadas con anticoagulante.

3. Equipos disponibles

❖ **BD FACS Aria IIIu:** citómetro de flujo analizador y separador celular.

- **4 líneas láser:** violeta (405nm), azul (488nm), amarilla-verde (561nm) y rojo (633 nm)
- **16 detectores** de fluorescencia: violeta (7 detectores), azul (2 detectores), amarilla-verde (4 detectores) y rojo (3 detectores).
- Software de adquisición y análisis: **FACSDiva 8.0.1.**

❖ **Cytek Northern Lights:** citómetro de flujo espectral.

- **3 líneas láseres:** violeta (405nm), azul (488nm) y rojo (637nm).
- **38 detectores** (16V, 14A y 8R). Capacidad para determinar hasta 38 fluorocromos de manera simultánea.
- Rango de detección oscila entre los 420 y los 829nm.
- Software de análisis y control del equipo: **SpectroFlo**

4. 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>