

MC_02- DETECCIÓN Y ANÁLISIS DE CÉLULAS EN APOPTOSIS MEDIANTE MICROSCOPIA CONFOCAL Y ENSAYO TUNEL

Plataformas Científico-Tecnológicas: Laboratorios de Investigación

Plataforma de Microscopía Óptica e Imagen Celular

Técnico de área: Sara Moreno San Juan

www.ibsgranada.es



ibs.GRANADA
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
BIOSANITARIA

MC_02- Detección y análisis de células en apoptosis mediante Microscopía Confocal y ensayo TUNEL

1. Fundamentos del método y ventajas.

El ensayo TUNEL es una técnica ampliamente usada para la determinación y cuantificación de la apoptosis en ensayos “in situ”, muy utilizada en estudios de investigación oncológica básica. Se trata de un método fundamentado en la Microscopía Confocal, que puede complementarse con la Citometría de Flujo (consultar cartera de servicio CF06), en el cual se estudian las modificaciones que se producen a nivel nuclear durante las últimas fases de la muerte celular programada o apoptosis. En estas últimas fases el ADN comienza a fraccionarse, lo que permite la unión de dUTP en el extremo 3'-OH del ADN dañado utilizando la enzima “*terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling*” (TUNEL). Los dUTP modificados como el BrUTP o edUTP, pueden detectarse utilizando distintas estrategias, ya sean indirectas como el uso de anticuerpos frente a BrUTP o de manera directa, mediante la incorporación de biotina o nucleótidos modificados de manera fluorescente.

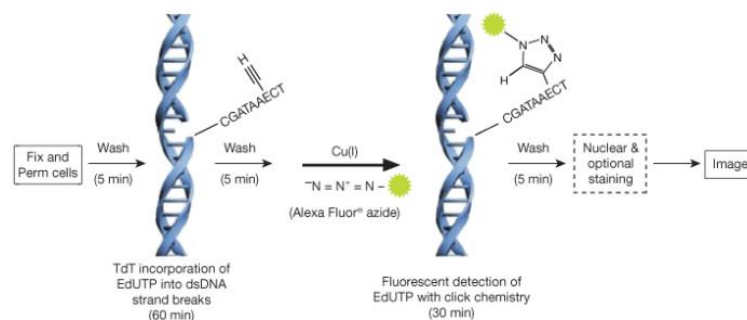


Figura 1. Proceso que tiene lugar durante el ensayo de TUNEL (Imagen de *ThermoFisher Scientific*)

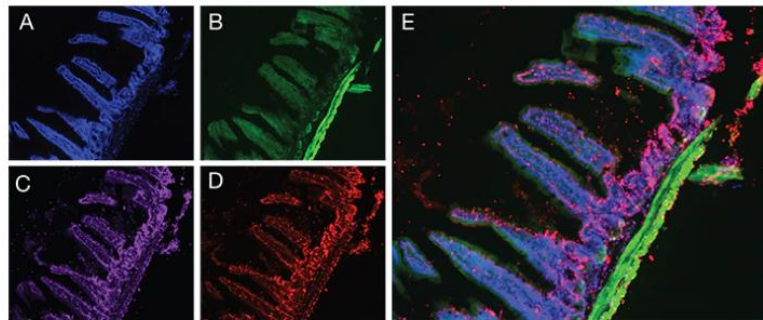


Figura 2. Imágenes de Microscopía Confocal de ensayo TUNEL en tejido (A) Núcleo celular teñido con Hoesch (B) Marcador muscular GFP (C) Filamentos de actina teñidos con Alexa-647 (D) señal positiva de TUNEL marcada con Alexa Fluor 594 (E) Imagen compuesta por superposición de las 4 imágenes anteriores (Fuente: *ThermoFisher Scientific*)

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

- a) **Equipamiento:** microscopio láser confocal ZEISS LSM 900 con capacidad de alta resolución y 4 líneas láser (405, 488, 594, 633nm), que permite la detección simultánea de hasta 4 fluorocromos. Software de análisis y captura de imagen ZEN Blue.
- b) **Tipo de Muestra:**
- Cultivos celulares adheridas a Cubres o chamber Slides.
 - Secciones de tejido.

3. Tinción para Microscopía Confocal propuesto.

- a) Ensayo click-iT Plus TUNEL para detección de apoptosis in situ, colorante AF488, AF594 o AF647.

4. Servicios ofertados.

- a) **Procesado de muestras** (tinciones, fijaciones, permeabilizaciones).
- b) **Adquisición de imágenes por Microscopía Confocal.**
- c) **Análisis de imágenes y preparación de estas para ser mostradas (artículos, pósteres, presentaciones, ...)** Cuantificación del número de células con marcaje de apoptosis.

5. Contacto.

- **Técnico Especialista Responsable Plataforma de Microscopía Óptica e Imagen Celular**
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-microscopia-e-imagen-celular/>
- **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>