

MC_06-ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA MITOCONDRIAL MEDIANTE MICROSCOPIA CONFOCAL DE ALTA-RESOLUCIÓN (Fast Airyscan2)

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_06- Estudio de la morfología mitocondrial mediante microscopía confocal de alta-resolución (Fast Airyscan2)

1. Fundamentos del método y ventajas.

La mitocondria fundamentalmente se ha considerado como el orgánulo responsable de la generación de la energía celular cuya distribución en el citoplasma celular es aleatoria. Pero en los últimos años, se está incrementando el estudio de este orgánulo, lo que ha permitido describir otras funciones en las que también se encuentran implicados.

Las mitocondrias presentan la capacidad de adaptación a los diferentes cambios y requerimientos celulares, lo cual implica modificaciones en su forma y posición a través de procesos de fusión y fisión mitocondrial.

El conocimiento de estos procesos de fusión y fisión no se han visto cubiertos por la falta de resolución óptica en los sistemas de imagen celular en vivo. Pero en los últimos años y debido al gran desarrollo de estas técnicas es posible incrementar estos conocimientos. En el caso concreto del ibs.GRANADA es posible llevarlo a cabo gracias al módulo de alta resolución Airyscan acoplado al microscopio confocal ZEISS LSM 900. Este módulo proporciona una elevada velocidad de escaneo disminuyendo el fotoblanqueamiento de la muestra, permite la obtención de imágenes de super-resolución y presenta una buena ratio señal-ruido y todo ello puede hacerlo no solo en estudios de 2D (X,Y) sino también en análisis 4D (X, Y, Z, tiempo en célula viva). La imagen de alta resolución permite cuantificar el diámetro mitocondrial con una alta precisión de manera que es posible detectar diferencias morfológicas, con lo que podría obtenerse un análisis tanto a nivel cualitativo como cuantitativo.

Tanto para los ensayos en célula viva como de célula fija es necesario el marcaje fluorescente de una proteína que se localice en la mitocondria. Este marcaje puede hacerse mediante una transfección transitoria o marcaje con un MitoTracker, o haciendo una línea estable utilizando partículas lentivirales para ello. En ambos casos, es posible llevar a cabo un proceso previo de enriquecimiento de la población que presente las mitocondrias marcadas mediante un sorteo celular (disponible en la plataforma de Citometría de flujo del ibs.GRANADA). Una vez que las células tienen marcadas las mitocondrias ya es posible tratarlas con distintos fármacos o someterlas a diferentes condiciones de crecimiento y/o estrés con lo que estudiar su efecto.

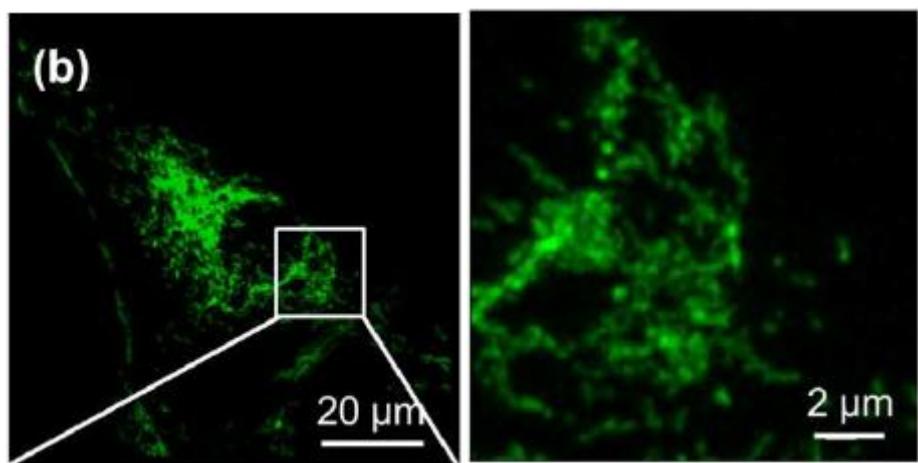


Figura 1. Imagen de Airyscan super-resolution microscopy of mitochondrial morphology and dynamics in living tumor cells (Kolossov V. et al. 2017)

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.

El equipo cuenta con un sistema de incubación celular con el que mantener dichas células en condiciones óptimas de temperatura, humedad y CO₂.

- b) Tipo de Muestra:** Cultivos celulares que expresen fluorescencia de manera endógena, o que el marcaje de estas no implique la muerte celular.

3. Servicios ofertados.

- a) Adquisición de imágenes por Microscopía Confocal.**
- b) Análisis de imágenes**
- c) Preparación de imágenes para mostrarlas**

4. 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/TARIFAS-2024_v03.pdf