

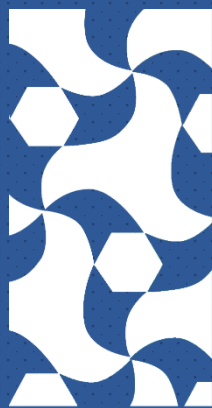
**MC_07- Evaluación del proceso de autofagia a
partir del estudio de la
distribución de LC3B mediante microscopía
confocal de alta-resolución
(Fast Airyscan2)**

Plataformas Científico-Tecnológicas: Laboratorios de Investigación

Plataforma de Microscopía Óptica e Imagen Celular

Técnico Especialista de área: Sara Moreno San Juan

www.ibsgranada.es



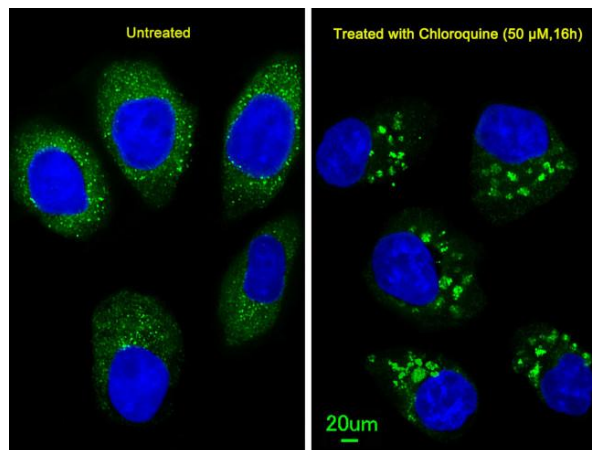
ibs.GRANADA
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
BIOSANITARIA

MC_07-Evaluación del proceso de autofagia a partir del estudio de la distribución de LC3B mediante microscopía confocal de alta-resolución (Fast Aircan2)

1. Propósito del ensayo biológico.

La autofagia es un proceso de degradación y reciclaje celular a nivel citoplasmático. Constituye un proceso fundamental para la viabilidad y homeostasis celular representando una importante diana terapéutica emergente en múltiples enfermedades humanas como en oncología, donde presenta un papel dual, ya que puede actuar como supresor tumoral o favorecer el desarrollo, al incrementar la supervivencia de células cancerosas, esto depende del estadio tumoral. En neurociencias, su disfunción se asocia a enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson y Huntington. En el estudio del metabolismo, la autofagia contribuye a la adaptación al ayuno, al control de la calidad mitocondrial (mitofagia) y a la longevidad celular.

Puede desencadenarse por distintos mecanismos, aunque el más estudiado es la macroautofagia, lo que implica la formación de vesículas de doble membrana, los autofagosomas, que encapsulan el material a degradar. Estas estructuras se fusionan con los lisosomas, momento en el que tiene lugar la degradación gracias a las hidrolasas lisosomales. Una de las principales proteínas implicadas en el proceso de autofagia es LC3B, perteneciente a la familia de proteínas ATG8, desarrolla una función directa en la biogénesis y en la dinámica del autofagosoma. Por ello es uno de los marcadores más utilizados para la monitorización de la autofagia en células y tejidos. La determinación de la autofagia a partir de LC3B es posible a partir del estudio de su distribución celular, ya que pasa de una distribución difusa citoplasmática a un patrón punteado.



Inmunofluorescencia en células U251. Marcaje con el anticuerpo policlonal frente a LC3B junto con un anticuerpo secundario Alexa Fluor-488. Se utilizó DAPI para la tinción nuclear. Imagen de *thermofisher.com*

Aunque LC3B es una proteína esencial en el desarrollo de la autofagia, podría ser de gran interés incluir otros marcadores como p62 con el fin de obtener un análisis mucho más completo.

En esta cartera de servicio se plantea el uso de la microscopía confocal de alta resolución para estudiar la variación de la distribución celular de LC3B, lo que podría combinarse con un análisis cuantitativo de la expresión de dicha proteína mediante citometría de flujo (también disponible en las Plataformas Científico tecnológicas del ibs.GRANADA).

2. Descripción del equipamiento disponible 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. Cuenta con el módulo Fast AiryScan con el que obtener imágenes de alta resolución.

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.

3. Servicios ofertados:

- a. Tinción de las muestras.
- b. Adquisición de imágenes por Microscopía Confocal.
- c. Análisis de imágenes.
- d. Preparación de imágenes para mostrarlas.

4. Contacto:

- **Técnico Especialista 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-eimagen-celular/>
- **Solicitud de recurso:** <https://www.ibsgranada.es/solicitud-de-recursos-de-launidad-cientifico-tecnica-de-laboratorios-de-investigacion/>
- **Tarifas:** https://www.ibsgranada.es/wp-content/uploads/2020/11/TARIFAS-2025_v04.pdf