

CARACTERIZACIÓN Y AISLAMIENTO DE CANCER STEM CELLS POR CITOMETRÍA DE FLUJO

Unidad Científico-Técnica: Laboratorios de Investigación

Área de Citometría de Flujo

Técnico de área: Dr. José Antonio Muñoz Gámez

www.ibsgranada.es



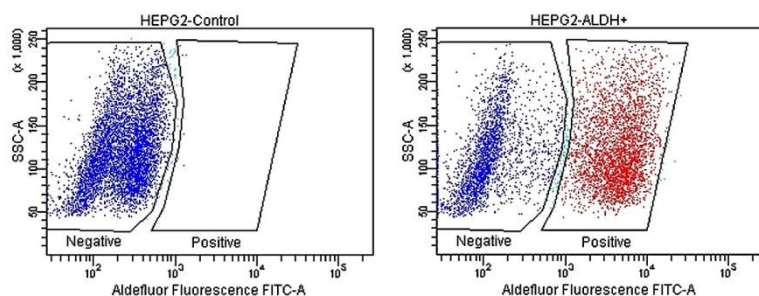
ibs.GRANADA
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
BIOSANITARIA

Caracterización y aislamiento de Cancer Stem Cells 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) mediante inmunoensayos utilizando anticuerpos específicos frente a diversos clusters de diferenciación (CD) expresados de forma diferencial en este tipo de población. Se trata de un método fundamentado en la Citometría de Flujo que además permite realizar ensayos funcionales como los métodos 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. Este método puede ser complementado mediante la caracterización de las CSCs mediante microscopía confocal. 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).

A)



HEPG2
%ALDH positive: 55%

B)

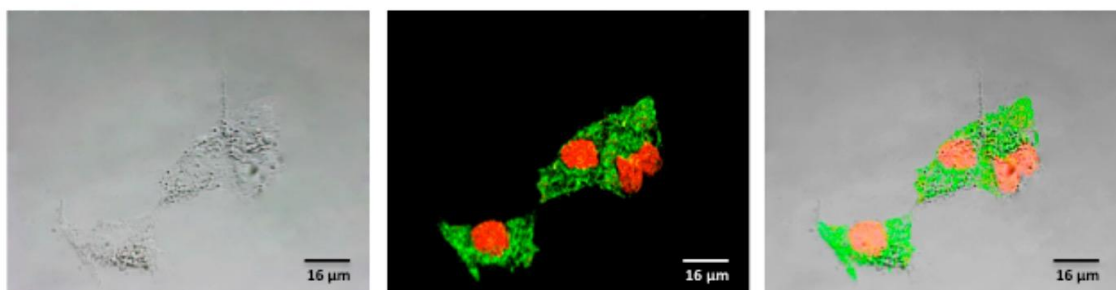


Figura 1. Actividad ALDH en La línea celular humana de hepatocarcinoma HEPG2. A) Análisis mediante citometría de flujo y B) mediante microscopía confocal. Imágenes cedidas por el investigador José Antonio Muñoz Gámez.

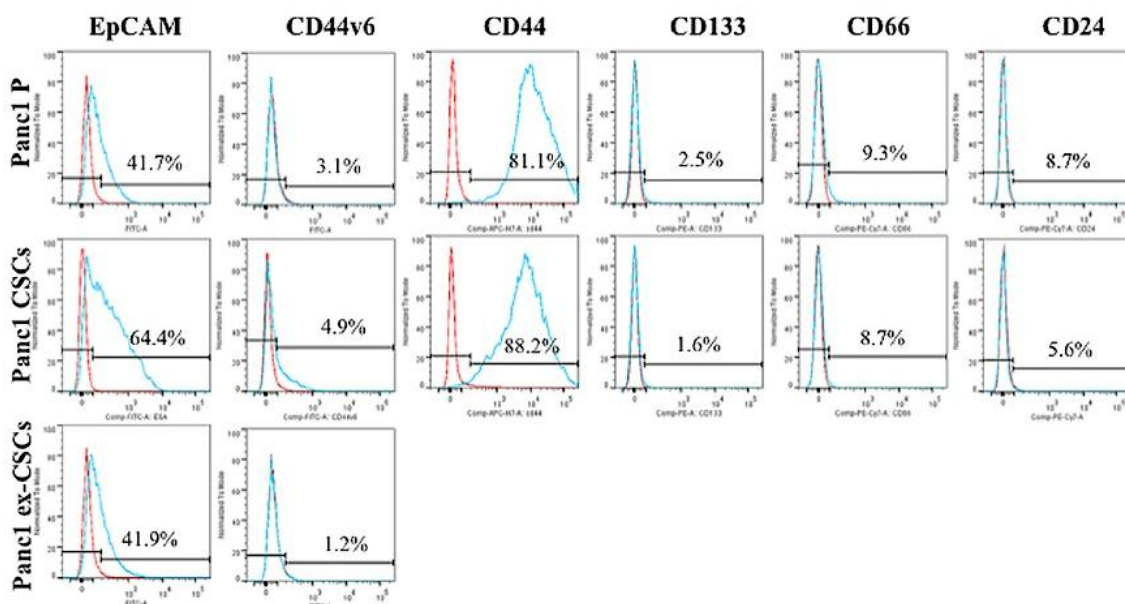


Figura 2. Expresión de diferentes Clusters de Diferenciación (CDs) en La línea celular humana de adenocarcinoma de páncreas Panc1. Panc1 P = línea parenteral; Panc1 CSCs = Células CSCs separadas de las no CSCs; exCSCs = células CSCs seleccionadas que han sido posteriormente transformadas en no CSCs. Figura adaptada de Pozza y colaboradores [2].

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

a) Equipo de Citometría de Flujo y software:

- BD FACS Aria II: 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. Paneles Propuestos.

- **Panel ALDH+:** Aldefluor ó AldeRed.
- **Panel 2:** Aldefluor, CD24-PECY7, CD44-APC, CD326 (EPCAM)-BV421.
- **Panel 3:** AldeRed, CD24-PECY7, CD44-APC, CD326 (EPCAM)-BV421, CD66C-FITC.
- **Panel 4:** CD326 (EPCAM)-BB515; CD133/1-PE, CD24-PECY7, CD44-APC.
- **Panel 5:** CD66C-FITC, E-CADHERIN-PE, CD90-APC.

4. Creación de paneles a la carta.

5. Servicios ofertados:

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

6. Precios a convenir según paneles y anticuerpos seleccionados.

Interesados contactar con:

ibs.GRANADA:

- **Teléfonos:** 958 020 245 / 120 245 (interno).
- **Web:** <http://www.ibsgranada.es/plataformas/plataforma-de-servicios-cientifico-tecnicos/unidad-cientifico-tecnica-laboratorios-investigacion/contacto/>
- **e-mail:** institutoinvestigacion@fibao.es

UCT- Laboratorios Investigación:

- **Teléfonos:** 659 287 334 / 958 023 980
- **e-mail:** jamunozgamez@gmail.com
palomalancha@hotmail.com / paloma.muñoz.exts@juntadeandalucia.es
investigacion.chgra.sspa@juntadeandalucia.es