



PARÁMETROS IMPLICADOS EN LA TRANSFECCIÓN CELULAR POR TRATAMIENTOS DE ONDAS DE CHOQUE.

Giselle Suzane Camacho Banda¹, Luz María López Marín¹, Alfredo Varela Echavarría² y Achim Max Loske Mehling¹.
(1) Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, (2) Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla, Qro. C.P. 76230. gisblack@hotmail.com

Transfección, Ondas de Choque, Permeabilidad celular.

Introducción. La transfección se refiere a la introducción de DNA no nativo en células eucariotas (1). Su uso tiene un gran potencial para el tratamiento de algunas enfermedades heredadas y adquiridas. Sin embargo, los métodos para lograr la transfección *in vivo* son de alto riesgo por estar basados en el uso de virus. Una alternativa distinta son las ondas de choque, que consisten en un pulso de compresión seguido de un pulso de rarefacción, con cambios de presión del orden de los MPa (Fig. 1) (2). La cavitación acústica producida por ondas de choque es reconocida como un método poco invasivo, y aplicable *in vivo*, capaz de permeabilizar la membrana celular. Sin embargo, los estudios para insertar material genético mediante cavitación acústica han mostrado poca eficacia, lo cual es atribuido, al menos en parte, a la degradación del material desnudo en fluidos biológicos, así como a la repulsión de cargas electrostáticas entre el material ácido y las células (3).

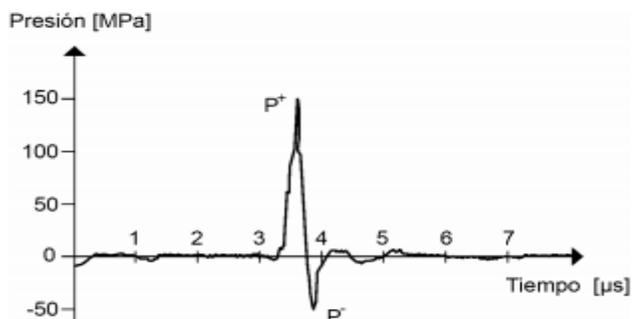


Fig 1. Variación de presión producida por un generador de ondas de choque electrohidráulico.

El objetivo de este trabajo es evaluar parámetros involucrados en la transfección celular, al utilizar ondas de choque, a fin de obtener datos que permitan el desarrollo de métodos más eficientes con el uso de esta técnica.

Metodología. Se utilizaron células HEK-293. El plásmido pCX::GFP-GPI2, que codifica para la proteína verde fluorescente, fue propagado en cultivos de *E. coli* y purificado por cromatografía de intercambio iónico utilizando un kit comercial (QIAGEN). Se evaluaron los efectos de ondas de choque sobre la estabilidad del plásmido, así como sobre la viabilidad y permeabilidad celular. Las ondas de choque fueron producidas por un

generador piezoeléctrico (Piezason) a 10kVolts y 1Hz, utilizando dosis crecientes (0, 60, 120, 240, 360 y 480 ondas de choque). Las técnicas empleadas incluyeron electroforesis horizontal en geles de agarosa, conteo y cultivo de células, y análisis de permeabilidad por integración del plásmido o de un fluorocromo modelo.

Resultados. La viabilidad celular disminuyó de manera inversamente proporcional al número de ondas de choque aplicadas. Los análisis del plásmido sometido a los tratamientos mostró una degradación proporcional al aumento de ondas de choque.

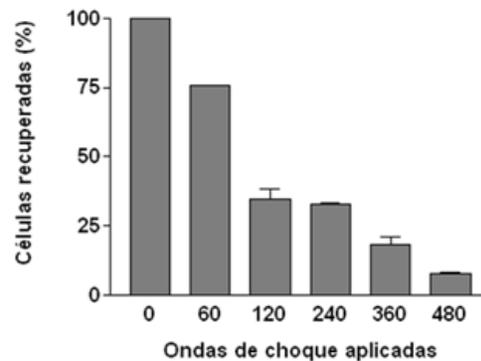


Fig. 2. Efecto de la dosis aplicada de ondas de choque sobre la viabilidad celular.

Por último, nuestros datos mostraron que la permeabilidad celular aumentó de manera proporcional al número de ondas de choque aplicadas.

Conclusiones. Los resultados obtenidos muestran que la transfección por ondas de choque es un método factible. Sin embargo, nuestros datos sugieren la conveniencia de considerar la inserción del material genético encapsulado en nanopartículas, a fin de favorecer la integración y evitar su degradación.

Agradecimiento. Proyecto PAPIIT IN108410.

Bibliografía.

1. Madigan M. T., Martinko J. M., Parker J. 2004. Ingeniería Genética y Biotecnología. Brock, *Biología de los Microorganismos*. Capella I. PEARSON Prentice Hall, España. 990.
2. E. Annerita, A. Varela, G. Martínez, A.M. Loske. 2006. *Revista Mexicana de Física*. 52 (4): 352-358.
3. P. S. Kuhn, M. C. Barbosa, Y. Levin. 2000. *Physica A*. 283 (1-2): 113-118.