

Optogenética en cultivo celular al alcance de cualquier laboratorio

Eduardo Brito-Alarcón, Alejandro Linares-Castañeda, Haydee Olinca Hernandez-Avina, Chris Wood & Adán Guerrero
Laboratorio Nacional de Microscopía Avanzada, Instituto de Biotecnología, UNAM
Cuernavaca C.P. 62210
adanog@ibt.unam.mx

Palabras clave: tres optogenética, Impresión 3D, regulación transcripcional

Introducción.

En 2015, se reportó un sistema de regulación de la expresión de genes basado en CRISPR/dCas9. En dicho sistema, no se profundiza en la iluminación de los cultivos, es por eso que diseñamos un modelo imprimible en 3D para la iluminación de cultivos celulares eucariontes que es accesible, portátil y puede ser introducido a la incubadora.

Este trabajo tiene como objetivo generar un aparato para el uso de optogenética en cultivo celular.

Metodología.

Se construyeron distintos aparatos de optogenética. La diferencia entre estos es el LED usado. Para evaluarlos, se transfectaron células AD293 con el sistema optogenético [1] y un gen reportero inducible por tetraciclina. El cultivo fue iluminado durante 24 h en ausencia del inductor y luego fue llevado a un microscopio confocal para evaluar la ausencia o presencia de la fluorescencia del reportero y así determinar el mejor dispositivo para los experimentos de optogenética.

Resultados.

A partir de un cultivo transfectado con los plásmidos que contienen el sistema optogenético y **mCherry** inducible en ausencia del inductor, fueron llevados a iluminación con luz azul. Como control negativo, se utilizó una versión diferente del iluminador que no permite el paso de ningún tipo de luz al cultivo, sin embargo, sí permite el intercambio de aire entre el cultivo y el ambiente. Las células fueron visualizadas en el microscopio y se observa una robusta expresión de mCherry cuando fueron iluminadas con luz azul, mientras que el control negativo que no fue iluminado, pero sí fue transfectado con los mismos plásmidos no presenta una expresión de **mCherry** (Fig.1). Se utilizó GFP como marcador de transfección.

Conclusiones.

Nuestro aparato de iluminación, en conjunto con los plásmidos de optgenética, constituyen una herramienta para la regulación de genes mediante el uso de luz.

Agradecimientos. Se agradece a los fondos donador por PAPIIT para financiar este proyecto.

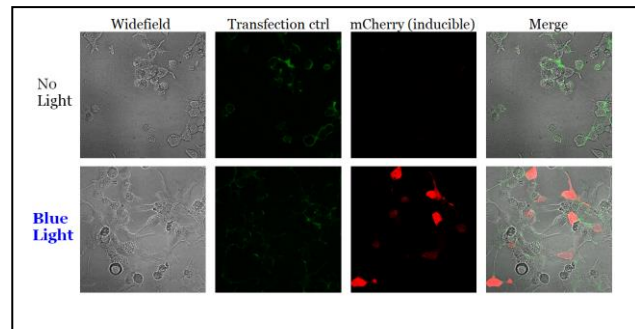


Fig. 1. Cultivo de células AD293 después de ser iluminados en nuestro aparato de optogenética. Las células que expresan transitoriamente el sistema optogenético fueron iluminadas en nuestro aparato durante 24 hrs y se observa expresión de mCherry y la ausencia del reportero en el control negativo.

Bibliografía.

1. Nihongaki, Y., Yamamoto, S., Kawano, F., Suzuki, H. and Sato, M. (2015). CRISPR-Cas9-based Photoactivatable Transcription System. *Chemistry & Biology*, 22(2), pp.169-174.