



XXVII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CM-019 (ID: 2246)

Autor: Galarza, Laura

Título: Análisis preliminar del cariotipo de células tumorales de la línea LM3

Director: Bustillo, Soledad

Co-Director: Lucero, Raul Horacio

Palabras clave: citogenética, cultivo celular, cromosomas, cariotipo

Área de Beca: Cs. De La Salud

Tipo Beca: Beca De Otro Organismo Cyt Desarrollados En La Unne

Periodo: 23/09/2021 al 23/08/2022

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Exactas Y Naturales Y Agrimensura

Proyecto: (17F009) Potencial efecto antitumoral de Fosfolipasas A2 (PLA2s) de venenos ofídicos del Nordeste Argentino.

Resumen:

El cáncer comprende un grupo de enfermedades neoplásicas cuya característica definitoria es la multiplicación celular acelerada, invadiendo órganos y tejidos en un proceso denominado metástasis.

Las células tumorales se diferencian al sufrir la modificación de su genotipo, consecuencia de una importante inestabilidad genómica adquirida en etapas tempranas de la transformación maligna, que le confiere ventaja para su proliferación descontrolada. Comprender estos eventos es fundamental para el desarrollo de nuevas terapias diseñadas para tratar una etapa crítica de este proceso. Por ello, el objetivo de este trabajo es el análisis preliminar del cariotipo de las células tumorales provenientes de la línea LM3 (tumor mamario murino) con el fin de investigar posibles anomalías cromosómicas y potenciales mecanismos responsables de la transformación celular tumoral.

La línea celular LM3 se mantuvo en Dulbecco's minimum essential medium (DMEM) (GIBCO-Invitrogen) con el agregado de 5% de suero fetal bovino (SFB) inactivado por calor (Natocor), L-Glutamina (29,2 mg/mL), Penicilina y Estreptomicina (10,000 µg/mL) (GIBCO-Invitrogen) como antibióticos, a 37°C en atmósfera húmeda con 5% de CO₂. Las células tumorales en su fase de crecimiento exponencial y con una confluencia del 85-90%, se trataron con 250 µL de solución de colchicina (10 µg/mL) para detener el ciclo celular en metafase. Se cultivaron durante 2 h y se recolectaron y suspendieron en medio de cultivo por tratamiento enzimático con Tripsina-EDTA 0.25% (GIBCO-Invitrogen). La actividad enzimática se detuvo con el mismo volumen de SFB. La suspensión celular se centrifugó a 800 rpm durante 10 min para obtener un pellet celular. Se lo trató con 9 mL de solución hipotónica de KCl (0,075 M) y se incubó en la misma solución durante 15 min a 37°C. Luego, se adicionó 1 mL de fijador de Carnoy (solución 3:1 metanol-ácido acético) y se centrifugó nuevamente. Se agregaron 5 mL de fijador para efectuar dos lavados al pellet celular. Las células se extendieron, colocando dos gotas de suspensión celular en el centro de un portaobjetos limpio y se dejaron envejecer por 5 días a 37°C. Se colorearon los vidrios con solución de Giemsa diluida al 4% durante 15 min.

Mediante este protocolo propuesto se logró visualizar los cromosomas de las células tumorales de la línea LM3. El preparado estándar obtenido tras la coloración se observó al microscopio con aumento 10x para corroborar la presencia de metafases. En aumento 100x, se contaron los cromosomas observados y se determinó su morfología. Al comparar los resultados con el cariotipo de células de ratón normales (2n=40 cromosomas), se reveló en las metafases de la línea LM3 un promedio de 70 ± 4 cromosomas, representando una ganancia cromosómica, poniéndose en evidencia una anomalía genética asociada a la transformación tumoral sufrida. Estos resultados preliminares obtenidos nos permitirán continuar con el estudio de las anomalías cromosómicas presentes en esta línea tumoral.