

ESTABLECIMIENTO DE LA LÍNEA CELULAR WEHI-3GFP MEDIANTE LIPOFECCIÓN

Aide López García, Edgar Ledesma Martínez, Aguiñiga Sánchez Itzen, Guadalupe Gómez García, Edelmiro Santiago Osorio.

Laboratorio de Hematopoyesis y Leucemia, Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer, UMIEZ, FES Zaragoza campus II, Universidad Nacional Autónoma de México, Batalla 5 de mayo s/n, Esquina Fuerte de Loreto. E. de Oriente, Iztapalapa. CP 09230, México D.F. edelmiro@unam.mx

Introducción

La leucemia mieloide aguda (AML) es una enfermedad clonal a consecuencia la acumulación de células blásticas no funcionales (Stone et al., 2004), carentes de diferenciación terminal pero que comparten muchas características morfológicas e inmunofenotípicas con las células hematopoyéticas sanas. La línea de leucemia mielomonocítica de ratón WEHI-3 es uno de los modelos más utilizados en la investigación básica y preclínica sobre AML, desafortunadamente no se ha reportado que exprese un marcador exclusivo que permita su identificación respecto a las células hematopoyéticas normales (Valeri et al., 2010). La transfección es una herramienta molecular que permite la inserción de genes, incluyendo los reporteros que al codificar para proteínas fácilmente distinguibles y cuya actividad endógena en las células blanco es nula o muy baja, es útil para identificar la célula de interés tanto en el tiempo como en el espacio. En éste trabajo se evaluó la lipofección como estrategia de transfección del gen de la proteína verde fluorescente GFP a las células WEHI-3 con fines de identificación mediante la expresión de la proteína.

Metodología

La línea de leucemia mielomonocítica WEHI-3 de ratón, fue transfectada con el plásmido pEGFPC-1 utilizando Lipofectamine® LTX & Plus Reagent (Invitrogen, CA, USA) bajo diferentes regímenes de medio de cultivo y adición de suero fetal bovino (desde 0% hasta 0.3%). En todos los casos, se utilizó Geneticina® (Invitrogen, CA, USA) como antibiótico de selección. La positividad para GFP se evaluó mediante el citómetro de flujo FACS Aria II.

Resultados y discusión

Se ensayaron diferentes protocolos de transfección empleando Lipofectamine® y 72 horas después se determinó la eficiencia de transfección con base en el porcentaje de positividad para GFP. La condición de 0% de SFB al inicio de la transfección resultó en un 32.9% GFP+ similar a lo reportado por Karra y colaboradores (2010) usando liposomas y neuronas. Luego de seleccionar con concentraciones crecientes de Geneticina® (0.25, 0.5 y 1 mg/mL) por seis semanas, se evaluó la expresión de GFP y la eficiencia aumento de 32.9% a 99%. Luego de 9 semanas en cultivo, el 90% de las células fueron GFP positivas y la criopreservación y descongelación no afecta la proliferación ni expresión de GFP. Estos resultados contrastan con reportes en los que se establece que las líneas tumorales son más resistentes a la transformación genética in vitro (Medina-Kauw et al., 2005) pero al mismo tiempo, refuerzan la idea de que el uso de liposomas catiónicos es una alternativa de alta efectividad para la introducción de material genético en células eucariotas, particularmente es una estrategia eficiente para la transgénesis de líneas de AML, en contraste a lo reportado por Karra y colaboradores (2010) donde se obtienen pobres resultados de 1-30% de eficacia después de la selección.

Conclusiones

En este trabajo se consiguió la transgénesis de la línea celular WEHI-3 la cual es importante en estudios de leucemia mieloide aguda como modelo in vitro e in vivo.

Se generó y estableció la línea WEHI-3GFP+.

Palabras clave: WEHI-3, leucemia mieloide aguda, lipofección, plásmido, GFP, transgénesis

Bibliografía

- Karra D, Dahm R (2010). The journal of Neuroscience 30:6171-6177.
- Medina-Kauwe L.K., Xie J. and Hamm-Alvarez S. (2005). Gene Therapy 12, 1734–1751.
- Stone R, O'Donnell M, Sekeres M (2004). Hematology Am Soc Hematol Educ Program 98:117.
- Valeri A, Alonso M, Cerrato L, Martinez S, Bueren J, Albella B (2010). Toxicology Letters 199:317-322.