Ensayo de proliferación

Erika Wissinger, Imperial College London, Reino Unido
Traducción: Jesús Gil, Würzburg, DE (SEI)

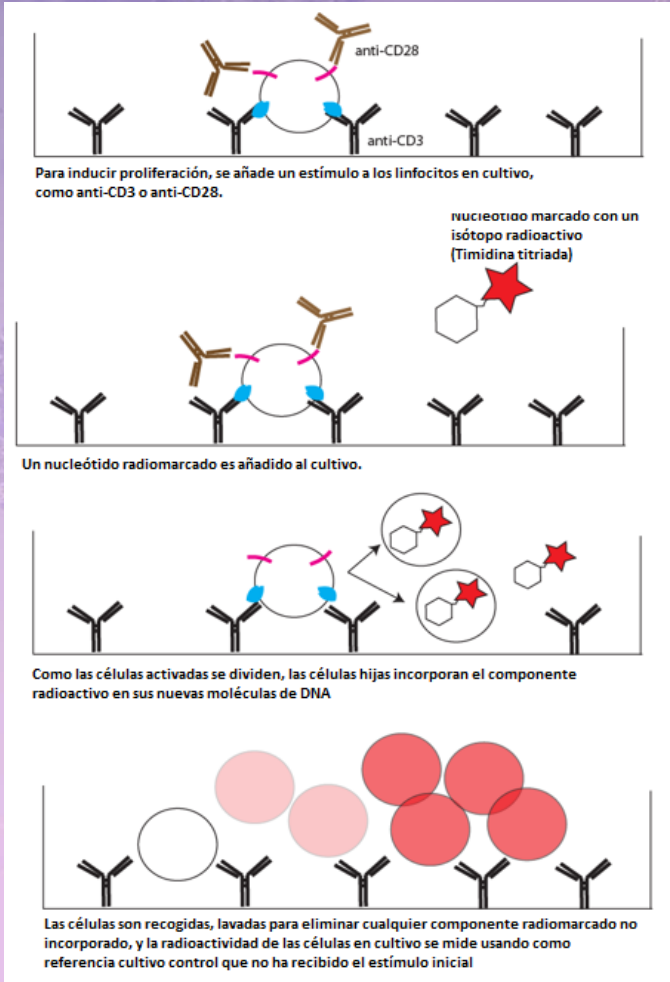
Objetivos de la prueba

La prueba de proliferación *in vitro* se utiliza para determinar si las células pueden dividirse tras la exposición a un estímulo adecuado o no, así como para comparar la habilidad de varias poblaciones celulares de dividirse en respuesta al mismo estímulo

Procedimiento

1) Se añade un estímulo específico a las células en cultivo. Para las **células T** suele ser el **anticuerpo anti-CD3**, previamente unido a la placa, en combinación con otro anticuerpo **anti-CD28** (ver figura). Otros compuestos utilizados con frecuencia para estimular la proliferación de células T son **Con A, PHA** y **PMA** e **ionomicina.**

2) Posteriormente se añade un nucleótido marcado radioactivamente al cultivo. El más usado es la timidina titriada (3H-timidina). Como las células han sido estimuladas para dividirse, utilizarán el nucleótido marcado radiactivamente del cultivo y lo incorporarán a sus nuevas moléculas de DNA. Cada nueva generación de células incorporará más cantidad de este compuesto en su DNA.



3) Después de la incubación (generalmente 24-48 horas), se extraen las células del cultivo mediante centrifugación y se lavan para eliminar cualquier radionucleótido libre que no haya sido incorporado al DNA de las células. Se mide la radioactividad total y se compara con el grupo control que no había recibido ningún estímulo de proliferación.

Limitaciones y estrategias alternativas

La prueba de proliferación descrita anteriormente proporciona información sobre la proliferación de una población de células, más que de células individuales. Se trata de un método relativamente rápido y barato de llevar a cabo, pero implica el uso de radioisótopos y de equipos especiales para medir los niveles de radioactividad presentes en las muestras.
Una alternativa a este método que proporciona más información sobre células individuales es con un marcador fluorescente, como **CFSE**, que se diluye en cada ciclo de división celular, y que puede medirse mediante **citometría de flujo**.

© Los derechos de este documento corresponden a su autor.

Revisión: Virginia Mas Bosch, Barcelona, ES (SEI)