



DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO PARA ESTUDIOS DE DINÁMICA DE CALCIO EN CÉLULAS ÚNICAS

ALAN MAURICIO GONZÁLEZ SUÁREZ ¹, JOHANNA GUADALUPE PEÑA DEL CASTILLO ², ROCÍO JIMENA JIMÉNEZ VALDÉS ¹,
ARTURO HERNÁNDEZ CRUZ ², JOSÉ LUIS GARCÍA CORDERO ¹

1. CINVESTAV, NUEVO LEÓN.

2. UNAM, CIUDAD DE MÉXICO.

EL CALCIO REGULA UNA GRAN CANTIDAD DE MECANISMOS CELULARES, COMO SECRECIÓN, EXPRESIÓN GÉNICA E INCLUSO MUERTE CELULAR. SU DINÁMICA DEPENDE DE LA ACTIVACIÓN DE DIFERENTES VÍAS DE SEÑALIZACIÓN QUE OPERAN A DIFERENTES FRECUENCIAS Y ESCALAS DE TIEMPO. POR ENDE, EXISTE UN ESPECIAL INTERÉS EN DESCUBRIR CÓMO ESTAS DIFERENTES VÍAS TRABAJAN EN CONJUNTO PARA MANTENER LA HOMEOSTASIS CELULAR. ACTUALMENTE, SE ESTUDIAN CÉLULAS ÚNICAS PARA ANALIZAR LA HETEROGENEIDAD EN SU RESPUESTA, COMPARARLA CONTRA EL PROMEDIO DE LA POBLACIÓN Y REVELAR DIFERENTES FENOTIPOS DENTRO DE UNA POBLACIÓN CON UN MISMO GENOTIPO. SE HAN REPORTADO DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS PARA ESTUDIOS DE DINÁMICA DE CALCIO EN RESPUESTA A ESTÍMULOS VARIABLES EN TIEMPO Y CONCENTRACIÓN, DONDE SE UTILIZA UN DISPOSITIVO PARA CADA CONDICIÓN, ADEMÁS DE EXPONER LAS CÉLULAS A UN ALTO ESTRÉS DE CORTE. PARA EVITAR LO ANTERIOR, HEMOS DISEÑADO, FABRICADO Y PROBADO UN DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO PARA ESTIMULAR DECENAS DE CÉLULAS INDIVIDUALES CON ESTÍMULOS VARIABLES EN EL TIEMPO A DIFERENTES CONCENTRACIONES, EXPONRIENDO LAS CÉLULAS A UN ESTRÉS DE CORTE DESPRECIABLE.

EL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO ESTÁ CONFORMADO POR TRES CAPAS Y FUE FABRICADO POR LITOGRAFÍA SUAVE MULTICAPA. CONSISTE EN DOS ENTRADAS QUE ALIMENTAN UN GENERADOR DE GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN LINEAL QUE TERMINA EN NUEVE CÁMARAS, CADA UNA CON 492 MICROPOZOS (20X20 μM , DIÁMETRO X ALTURA) PARA ATRAPAR CÉLULAS ÚNICAS. LA EFICIENCIA DEL DISPOSITIVO SE CARACTERIZÓ UTILIZANDO DEXTRAN-RODAMINA Y FITC PARA LA GENERACIÓN DEL GRADIENTE Y PULSOS A DIFERENTES FRECUENCIAS DENTRO DE LAS CÁMARAS. PARA ESTUDIOS DE DINÁMICA DE CALCIO, CÉLULAS HEK293 WILD TYPE FUERON CARGADAS CON FLU-8 AM, ATRAPADAS EN EL DISPOSITIVO Y ESTIMULADAS CON CARBACOL A FRECUENCIAS Y CONCENTRACIONES DISTINTAS. SE MIDió EL CAMBIO DE INTENSIDAD DE FLUORESCENCIA EN EL TIEMPO EN CADA CÉLULA. EL ANÁLISIS MOSTRó QUE LAS CÉLULAS RESPONDEN DE MANERA SIMILAR A LOS PULSOS, PERO LA RESPUESTA INDIVIDUAL ES HETEROGÉNEA, DEMOSTRANDO LA CAPACIDAD DE DISPOSITIVO.