

IV CONGRESO CIENTÍFICO INTERNACIONAL "EUROCIENCIA JOVEN"

ENSAYO DE CITOTOXICIDAD EN UN CULTIVO CELULAR

CYTOTOXICITY ASSAY IN A CELL CULTURE

Sicilia Zafra, Aurora Gema², Arenas Córdoba, Rosario¹, Gutiérrez López,
M^a del Pilar¹, Santos Núñez, Sara¹.

¹Alumnas del **Máster de Especialización en Cultivos Celulares**.

²Profesora Coordinadora del IES La Fuensanta.

Instituto de Educación Secundaria "La Fuensanta".

Departamento de Sanidad.

C/. Calderón de la Barca s/n, 14.010 Córdoba.

Teléfono 957-75 08 88, Fax 957-75 17 53.

gema.sicilia@ieslafuensanta.es

Resumen

Antecedentes: Las técnicas para cuantificar viabilidad, migración e invasión celular presentan el inconveniente de que destruyen las células durante la prueba. El colorante vital *Alamar Blue* (AB) se puede utilizar para cuantificar el número de células y viabilidad, y la citotoxicidad en células eucariotas sin dañarlas. La **Resazurina** (7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-ona 10-óxido), presente en el AB, es un colorante azul no fluorescente que se reduce a **Resorufina** fluorescente de color rosa-rojo por las enzimas deshidrogenasas en células metabólicamente activas.

Métodos: El primer paso es determinar la concentración celular óptima y el tiempo de incubación necesario con el reactivo AB adecuado para obtener resultados óptimos de la medida. Se preparó una batería de concentraciones crecientes de *Saccharomyces cerevisiae* que se incubaron con el reactivo AB midiéndose la reacción redox a 570 nm y 600 nm. Una vez determinada la concentración celular más propicia se realizó otro ensayo para ver el tiempo de incubación óptimo para este tipo de células.

Resultados: La reducción de AB aumentó con la concentración celular y el tiempo de incubación con AB. A mayor tiempo mayor sensibilidad.

Conclusiones: El ensayo AB es un método simple para cuantificar la viabilidad celular y permite recuperar las células tras el ensayo.

La incubación del cultivo con el compuesto a estudiar generará una señal que es proporcional al número de células viables presentes. Cuando las células mueren, pierden rápidamente la capacidad de convertir el sustrato en producto. Esta diferencia nos permite observar el grado de citotoxicidad del compuesto en función de la concentración.

Palabras claves: azul alamar, citotoxicidad, levaduras, viabilidad, actividad metabólica celular.

Abstract

IV CONGRESO CIENTÍFICO INTERNACIONAL "EUROCIENCIA JOVEN"

Background: Techniques for quantifying cell viability, migration, and invasion have the disadvantage that they destroy cells during testing. Alamar Blue® (AB) vital dye can be used to quantify the number, viability, and migration of eukaryotic cells without damaging them. **Resazurin** (7-hydroxy-3H-fenoxazin-3-one 10-oxide), present in AB, is a non-fluorescent blue dye that is reduced to pink-red fluorescent **Resorufin** by dehydrogenase enzymes in metabolically active cells.

Methods: The first step is to determine the optimal cell concentration and incubation time required with the appropriate AB reagent to obtain optimal measurement results. A battery of increasing concentrations of *Saccharomyces cerevisiae* was prepared and incubated with the AB reagent, measuring the redox reaction at 570 nm and 600 nm. Once the most suitable cell concentration was determined, another assay was carried out to see the optimal incubation time for this type of cells.

Conclusions: The AB assay is a simple method to quantify cell viability and allows cells to be recovered after assay. Incubation of the culture with the compound to be studied will generate a signal that is proportional to the number of viable cells present. When cells die, they quickly lose the ability to convert the substrate into product. This difference allows us to observe the degree of cytotoxicity of the compound as a function of concentration.

Key words: Alamar blue, cytotoxicity, yeasts, viability, cellular metabolic activity.