

Iniciación a la experimentación en el ámbito de la Biología Celular, Molecular, Genética y Evolutiva

Actividad 2. Biología Celular: Resultados experimentales y su interpretación



OCW
OpenCourseWare



ZTF-FCT
Zientzia eta Teknologia Fakultatea
Facultad de Ciencia y Tecnología

eman ta zabal zazu



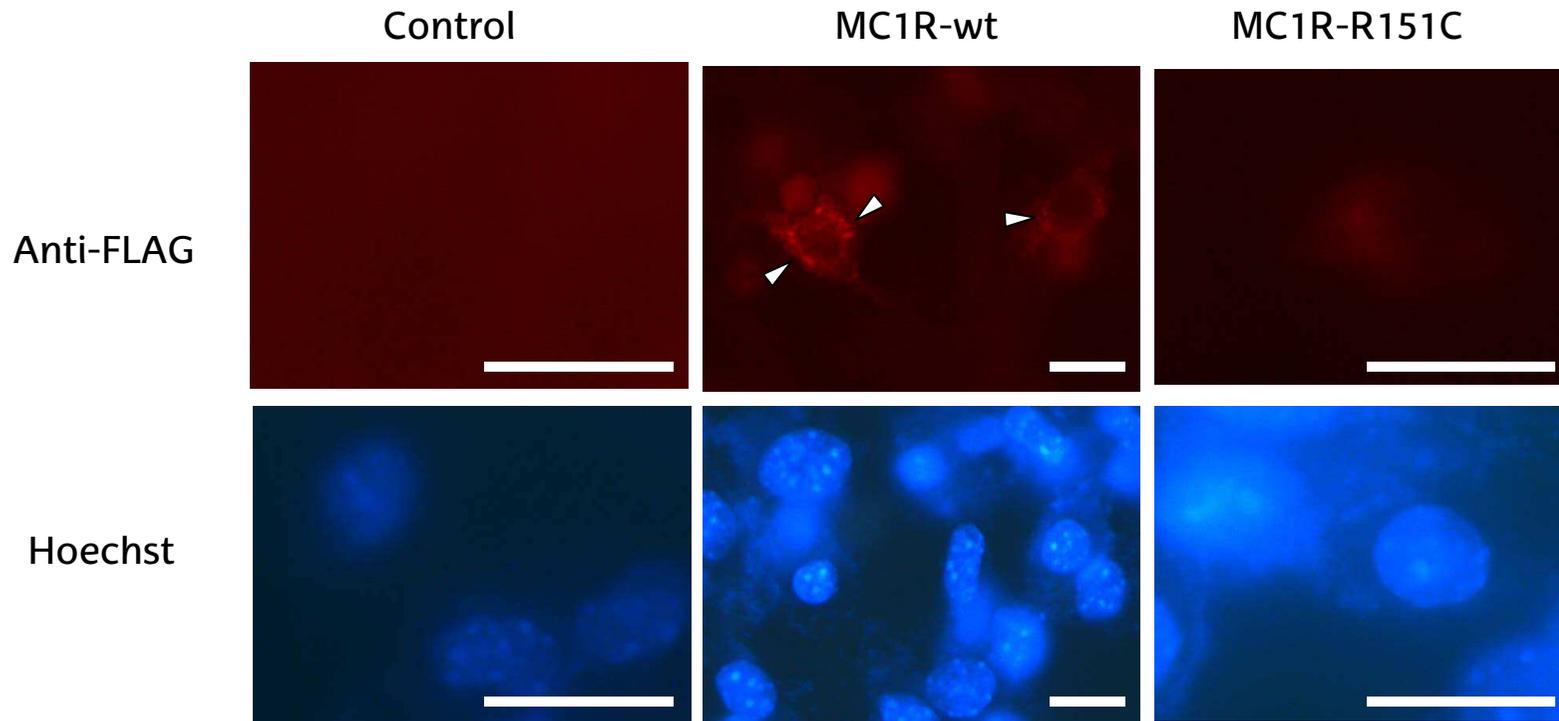
Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

NAZIOARTEKO
BIKAINASUN
CAMPUSA
CAMPUS DE
EXCELENCIA
INTERNACIONAL

Biología Celular

En la figura se muestra los resultados de la detección inmunohistoquímica de MC1R. Evaluar cómo afectan mutaciones en MC1R (en concreto la mutación R151C) a la localización de la proteína en la célula. **Interpreta los resultados.**

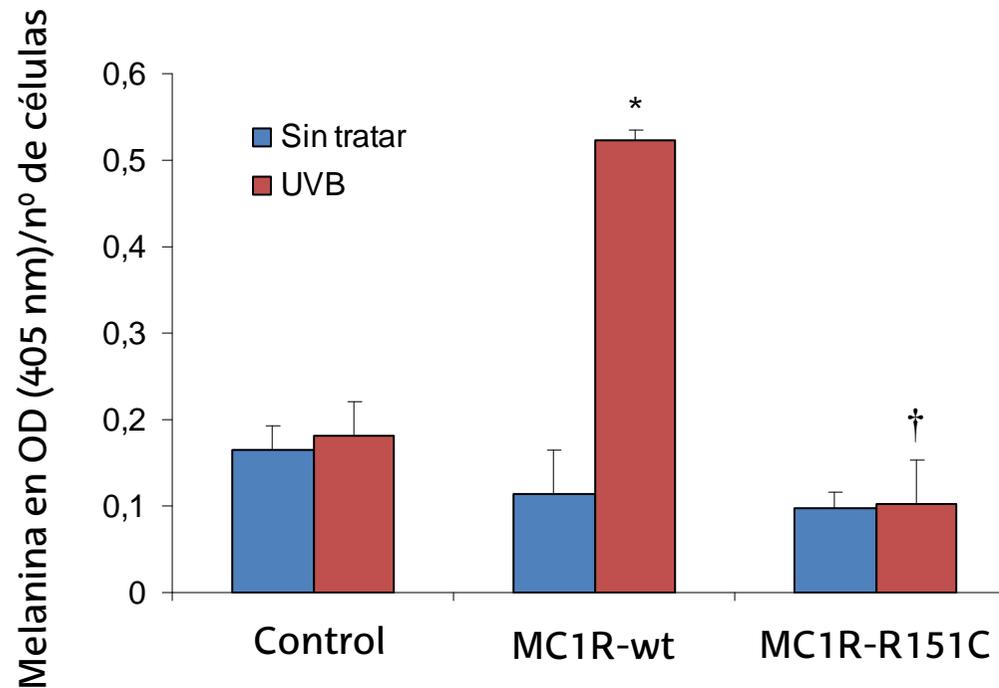


Microfotografías de la inmunohistoquímica de MC1R (fila superior) y tinción Hoechst para DNA (fila inferior) en células B16-F10 transfectadas los vectores indicados). Los triángulos blancos representan la presencia de MC1R en la membrana plasmática. Barra de escala = 25 μ m.



Biología Celular

En la figura se muestran los resultados de la cuantificación de melanina en células expuestas a radiación UVB. Testar si la mutación R151C de MC1R resulta en alteraciones en la síntesis de melanina. **Interpreta los resultados**

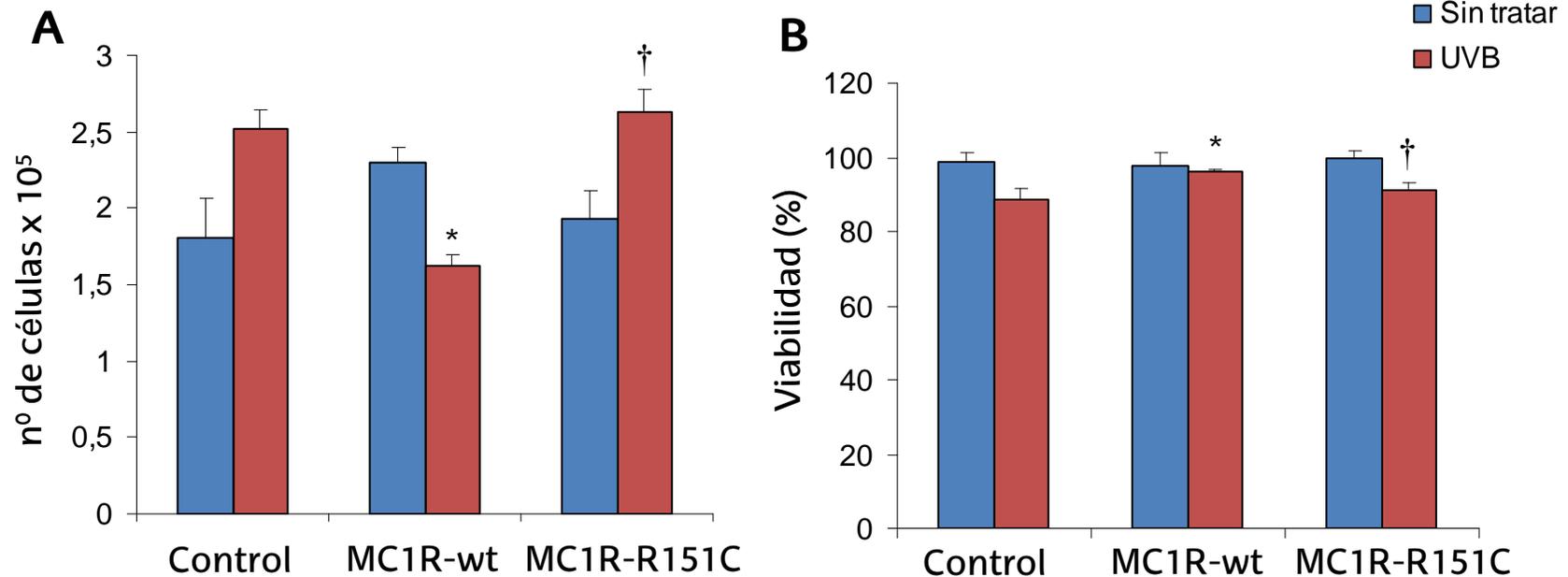


La figura muestra la cantidad de melanina, medida en absorbancias de células B16-F10 transfectadas con los vectores indicados a radiación UVB. Las células sin tratar son células transfectadas pero que no fueron expuestas a la radiación UVB. Los resultados muestran la media de las absorbancias obtenidas en un total de 3 experimentos. Las barras de error representan la desviación estándar. * $p < 0.002$ vs control UVB; † $p < 0.002$ vs MC1R-wt UVB.



Biología Celular

La figura muestra los resultados de la proliferación y viabilidad celular. Testar si mutaciones en MC1R tienen efecto en la proliferación y viabilidad celular. Interpreta los resultados



Resultados de proliferación celular (figura A) y viabilidad celular (figura B) de las células B16-F10 transfectadas con los vectores indicados y posteriormente expuestas a radiación UVB. Las células sin tratar son células transfectadas pero que no fueron expuestas a la radiación UVB. * $p < 0.002$ vs control UVB; † $p < 0.002$ vs MC1R-wt UVB.



Biología Celular

La detección **inmunohistoquímica** de MC1R en las células que tienen la versión ancestral (wt) del gen MC1R, muestra la localización de la proteína en la membrana plasmática (triángulos blancos). La transfección con la versión mutada del gen (R151C) implica una localización anómala de la proteína la cual se observa distribuida de forma difusa por todo el citoplasma indicando su limitación para acceder a la membrana plasmática.

La cuantificación de **melanina** en condiciones basales, en células no sometidas a radiación UVB, demuestra que la síntesis de melanina, es similar en todos los casos. La exposición a la radiación UVB induce un incremento de la síntesis de melanina muy significativo en las células transfectadas con el gen ancestral (wt) y prácticamente no se modifica en las células no transfectadas (plásmido vacío) ni en las células portadoras del gen mutado (R151C).



Biología Celular

La **proliferación celular** en condiciones basales, sin exposición a radiación UVB, es ligeramente superior en las células transfectadas con el gen ancestral, no apreciándose diferencias significativas entre las células transfectadas con el plásmido vacío y aquellas con el gen mutado. La radiación UVB, induce una respuesta antiproliferativa muy evidente en las células portadoras de la versión ancestral de MC1R (wt) y no así en las células control no en las que expresan la versión mutada de MC1R. Estas últimas incluso proliferan en presencia de UVB. Además, las células portadoras de la versión ancestral de MC1R (wt) estas células presentan resistencia a la radiación UVB, como queda patente en los datos de viabilidad celular, manteniéndose en los límites normales (97-100%). Por el contrario, en las células que no tienen hMC1R ancestral (las transfectadas con el plásmido vacío o el mutado), la viabilidad desciende, demostrando mayor sensibilidad a UVB.

