

CARACTERIZACION MORFOLÓGICA Y MECANICA DE LÍNEA CELULAR DE CARCINOMA MAMARIO MCF-7 POR AFM

Melina Tapia-Tapia*1, Carlos Lara-Cruz 1,2, Leticia González-Núñez2, Nikola Batina1,
Pablo Damián-Matsumura2

1 Laboratorio de Nanotecnología e Ingeniería Molecular, DCBI; 2 Laboratorio de Endocrinología Molecular,
Departamento de Biología de la Reproducción, DCBS, Universidad Autónoma Metropolitana (UAM).
Col. San
Rafael Atlixco No.186, Col. Vicentina Del. Iztapalapa C.P. 09340 México D.F., México.

* m.tapia@ymail.com

RESUMEN

El cáncer de mama constituye la primera causa de muerte en México por causas oncológicas [1]. Es estudio de esta enfermedad se ha facilitado por el empleo de líneas celulares, donde la línea MCF-7 es el modelo de estudio más utilizado [2] [3]. Como parte de los esfuerzos por comprender mejor la ultraestructura de esta línea celular, en relación con los procesos fisiológicos por los que cursa, en el presente trabajo se aplica la microscopía de fuerza atómica (AFM) para obtener imágenes tridimensionales de alta resolución de la ultraestructura de la membrana plasmática de la línea celular MCF-7, al mismo tiempo que se realizan mediciones de fuerzas de atracción y adhesión, directamente en la superficie de la membrana plasmática en condiciones fisiológicas [4].

Se realizó el cultivo de la línea celular MCF-7 según protocolo previamente reportado [5] en medio esencial modificado por Dulbelco (DMEM) complementado con suero fetal de bovino al 7%, antibiótico-antimicótico al 1%, piruvato de sodio al 1% y L-Glutamina al 1%. Se incubaron en presencia de CO₂ hasta obtener una confluencia del 100 %. A partir de la monocapa, se obtuvo una suspensión celular, de la cual se tomó una alícuota de 1 mL de suspensión celular (3x10⁶ células/ml) y se depositaron en las placas de Au (111) empleadas como sustrato para AFM, durante 37°C. Las placas se observaron por AFM en modo oscilatorio, para determinar sus rasgos topográficos y se empleó el modo contacto para determinar las propiedades mecánicas, tales como fuerzas de adhesión y atracción [6].

Se realizaron análisis de imágenes de la membrana plasmática de la línea celular MCF-7 mediante AFM en barridos de baja [90 μm²; Figura 1-A] y alta resolución (< 2.5 μm²; Figura 1-B), a partir de los cuales se

realizaron perspectivas tridimensionales para destacar los rasgos topográficos de la membrana, así como la identificación de invaginaciones o posibles poros en la misma [Figura 2]. Se aplicó el análisis de perfil topográfico, donde se midió la altura de las células MCF-7 con respecto al sustrato, obteniendo un valor promedio de $3.5\mu\text{m}$. Posteriormente se midió la rugosidad de la membrana en un área de $1.5\mu\text{m}^2$, dando como resultado 117.5 nm . Finalmente, se midió la interacción punta-membrana plasmática, obteniendo curvas de fuerzas a partir de esta interacción, las cuales se tomaron en 17 puntos durante la misma línea de barrido, en la región perinuclear de la célula, cuyos valores se observan en la figura 3. La evaluación de las curvas de fuerzas muestra que hay una fuerza de adhesión (0.311 nN) es once veces mayor que las fuerzas de atracción (0.028 nN), por lo consideramos a la membrana de las células MCF-7 como una superficie de alta adherencia.

2.5 μm

Figura 1. Imágenes por AFM de topografía de la membrana plasmática de una célula MCF-7. A)

Imagen

de baja resolución empleada para ubicar la región de estudio (7.5 μm^2). B) Imagen de alta resolución (1.52 μm^2).

Se observan subestructuras, (delineadas por puntos) dispuestas de forma homogénea en la superficie de la

membrana, las cuales miden 75 nm en promedio. También se observan algunas invaginaciones (flechas) con

profundidad de 80nm y poros (cabeza de flecha).

Figura 2. Perspectiva tridimensional de la topografía de la membrana plasmática de una célula MCF-7.

Se

observan las irregularidades topográficas de la membrana como depresiones (flechas), la presencia de poros

(cabeza de flecha), además de la rugosidad superficial, derivada de las subestructuras que aparecen en la

superficie.

300 nm

A B

substrato

MCF-7

El análisis de las curvas de fuerzas, así como la obtención del valor de la rugosidad en la membrana plasmática de la línea celular MCF-7 y su comparación con una línea celular no cancerosa, permitirán establecer la magnitud de los cambios en las propiedades mecánicas de las células de carcinoma mamario metastático en este modelo celular.

Fuerzas de adhesión y atracción en la membrana plasmática de células MCF-7

Propiedad	Valor (nN)
Atracción MCF-7	0.028
Adhesión MCF-7	0.311

0.45
0.4
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05

Figura 3. Valores de interacción entre sonda y superficie de membrana plasmática de MCF-7. Muestra que las fuerzas de adhesión (0.311 nN) son notoriamente mayores que las fuerzas de atracción (0.028 nN).

REFERENCIAS

- [1] Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), (2006) www.inegi.gob.
- [2] Michelin S.C. y Mayo J., Revista Latinoamericana de Mastología, 2:3, (1997) 181-190.
- [3] San Miguel A., Gonzales Blanco I., García Iglesias R., Alonso N., Rodríguez Bujez A.B., Martín Medrano E.M., Martín Gil F.J., Rev. Electrón J Biomed, 2 (2006) 72-88.
- [4] Sokolov Igor, Cancer Nanotechnology, (2007) 1-17.
- [5] Pérez-Palacios G, Santillán R, García-Becerra R, Borja-Cacho E, Larrea F, Damián-Matsumura P, González L, Lemus AE, Journal of Endocrinology, 190 (2006) 805-18.
- [6] Berdyeva T., Woodworth C.D., y Sokolov I., Ultramicroscopy, 102, (2005) 189-198.

Curvas de Fuerzas

a) Tema: CIENCIAS BIOLÓGICAS, MEDICINA Y FORENSE (Biología Celular)

b) Coautores:

M. en C. Melina Tapia Tapia. Estudiante del Doctorado en Biología Experimental. Laboratorio de Nanotecnología e Ingeniería Molecular, División de Básicas e Ingeniería (DCBI). Universidad Autónoma

Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I). Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, Del. Iztapalapa,

C.P. 09340. México D.F., MÉXICO Tel. +52 (55) 8502 4568. m.tapia@ymail.com

Carlos Lara Cruz. Estudiante de la licenciatura en biología experimental. DCBS. UAM-I. Tel. +52 (55) 8502

4568, carritro@gmail.com

M. en C. Leticia González Núñez. Estudiante del Doctorado en Biología Experimental. Laboratorio de Endocrinología Molecular, DCBS-UAM-I. gnleti@yahoo.com

Dr. Nikola Batina. Profesor-Investigador, titular C. Laboratorio de Nanotecnología e Ingeniería Molecular,

Depto. de Química, UAM-I. Tel. +52 (55) 8502 4568, Fax: +52 (55) 5804-4666. bani@xanum.uam.mx

Dr. Pablo Damián-Matsumura. Profesor-Investigador, titular C. Laboratorio de Endocrinología Molecular,

Departamento de Biología de la Reproducción, DCBS, UAM-I. Tel. +52 (55) 5804-4700 ext 2722. Fax: +52 (55)

5804-4930. pgdm@xanum.uam.mx

c) Preferencia entre presentación oral o cartel: CARTEL

