

ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS PRIMARIOS Y TRANSFECCIÓN CON EL VECTOR pTG13077EN *Ruditapes philippinarum*

Francisca Robles, Roberto de la Herrán, Alejandra Gutiérrez-Guerrero, Rafael Navajas-Pérez, Alexander García-Zea, José Luis Cortés y Carmelo Ruiz Rejón

Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada.
Avda. Fuentenueva s/n. 18071. Granada (froble@ugr.es)

Palabras claves

Cultivo celular, hemolinfa, branquia, *Ruditapes philippinarum*, transfección

Resumen

En Acuicultura, los cultivos celulares son de gran interés ya que permiten el estudio de procesos relacionados con la actividad celular, la expresión génica y sirven como modelos para análisis en virología, inmunología o patología.

Existen en la actualidad cultivos celulares de diferentes clases de moluscos bivalvos como en mejillones (*Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis*, *Perna viridis* y *Dreissena polymorpha*), la vieira (*Pecten maximus*), la ostra japonesa (*Crassostrea gigas*), o la almeja fina (*Ruditapes decussatus*). Estos cultivos se han llevado a cabo a partir de diferentes tejidos tales como hemolinfa, corazón, manto, branquia y glándula digestiva. Con la idea de establecer futuras líneas celulares, en este trabajo hemos llevado a cabo el desarrollo de cultivos primarios de células de branquia y hemolinfa en la almeja japonesa *R. philippinarum*. Se ha puesto a punto el sistema de obtención de células por disgregación mediante tratamiento enzimático y se ha realizado un estudio de crecimiento celular, durante un periodo de 15 días, mediante el recuento de número de células y la confluencia. Para ello, las células fueron cultivadas a 20°C en el medio DMEN y con un seguimiento periódico desde 24 a 360 horas. Para el análisis del crecimiento se ha realizado recuento celular en cámara de Neubauer y el tratamiento de imágenes mediante un lector de placas. El crecimiento en branquia y hemolinfa fue muy similar, con un incremento de 1,5X en número de células y confluencia en branquia y de 1,8X en el caso de la hemolinfa.

Para futuros estudios de modificación génica, en este trabajo también hemos puesto a punto el proceso de transfección utilizando el kit TransIT-X2 Dynamic Delivery System y el vector pTG13077. Éste lleva integrado un promotor vírico y el gen de la proteína verde fluorescente (GFP), que sirve para comprobar el éxito de la transfección a través de la medida de niveles de fluorescencia de las células transfectadas mediante citometría de flujo. Hemos obtenido un aumento de fluorescencia cercano al 55% en células transfectadas procedentes de branquias y del 30% en las de hemolinfa.