



## Entrega de l'Abstract

Nom: Laia

Cognoms: Martínez Carreres

Universitat on estudies: Universitat de Barcelona

Títol de la recerca: Estudi de l'expressió de proteïnes de filaments intermedis en cèl·lules de múscul llis en cultiu.

Autor/s: Laia Martínez Carreres

Departament: Department of Physiology and Pharmacology

Universitat: Karolinska Institutet

País: Sweden

**Introducció:** Les miopaties relacionades amb la desmina (DRM) són un grup de malalties rares neuromusculars que tenen en comú mutacions del gen que codifica la proteïna desmina. La desmina, juntament amb la vimentina, són les dues proteïnes de filaments intermedis més expressades en tot tipus de múscul. En el teixit que ens centrem, múscul llis, la seva expressió varia en funció de l'òrgan.

**Objectius:** Principalment es pretén conèixer si les cèl·lules de múscul llis en cultiu de ratolí són un bon mètode per estudiar malalties musculars com les DRM. Per saber-ho, primer s'ha d'identificar si les cèl·lules de múscul llis en cultiu expressen els dos filaments intermedis principals, desmina i vimentina, i si ho fan, les quantitats de cadascun, ja que les cèl·lules en cultiu poden canviar el seu fenotip. El següent pas seria aconseguir la transfecció d'aquest tipus muscular, ja que es creu que, si s'aconseguís transfectar desmina en cèl·lules que tinguessin el gen propi mutat, s'aconseguiria trobar una solució per les DRM.

**Metodologia:** Primer s'ha fet l'extracció i el cultiu de cèl·lules de múscul llis procedent de dos òrgans diferents de ratolí: bufeta urinària, que se sap que conté grans quantitats de desmina i molt poca vimentina; i aorta, en el qual s'expressa principalment vimentina, i conté poca quantitat de desmina. A partir d'aquestes cèl·lules en cultiu, mitjançant immunohistoquímica amb anticossos fluorescents específics i microscopia confocal, es pot detectar l'expressió de desmina i vimentina. Posteriorment, mitjançant tècniques de Western-blotting, es quantifica l'expressió de proteïnes en cèl·lules de múscul llis en cultiu. Finalment, s'utilitza el mètode de lipofecció per transfectar aquestes cèl·lules cultivades i un plàsmid que conté el promotor de desmina i RFP (red fluorescent protein) com a "reporter gene" per comprovar l'èxit de la transfecció.



## Premi de recerca per a estudiants Gemma Rosell i Romero

**Resultats:** Amb el test d'immunohistoquímica es pot observar que desmina i vimentina són expressades en cèl·lules en cultiu de múscul llis, tant en cultius procedents de bufeta urinària com d'aorta. Amb Western-blotting s'obté que, tot i que en cultiu les quantitats proteïnes expressades són menors que en teixit fresc, les relacions entre ambdós filaments intermedis es manté: cèl·lules cultivades procedents de bufeta urinària tenen més quantitat de desmina que de vimentina, i succeeix a l'inrevés en cèl·lules cultivades procedents d'aorta. Aquestes cèl·lules de múscul llis en cultiu són difícils de transfectar, però és possible mitjançant un reactiu específic anomenat "Cytofect™", amb el qual es pot observar la fluorescència procedent de la RFP amb microscopia confocal.

**Conclusions:** Les cèl·lules de múscul llis en cultiu són un bon mètode per estudiar malalties musculars com les DRM; les cèl·lules mantenen el seu fenotip tot i que redueixen l'expressió de les proteïnes estudiades, i és possible la seva transfecció. Aquesta és una petita part d'un extens projecte, que podria continuar per transfectar plàsmids amb desmina mutada i crear models de la malaltia, i després aconseguir la transfecció en teixit fresc.

**Aportació personal:** Buscar referències sobre el tema, realitzar el plantejament i els experiments corresponents i redactar un informe, sempre sota la supervisió del grup de recerca.