



Arte y ciencia

Macrófagos



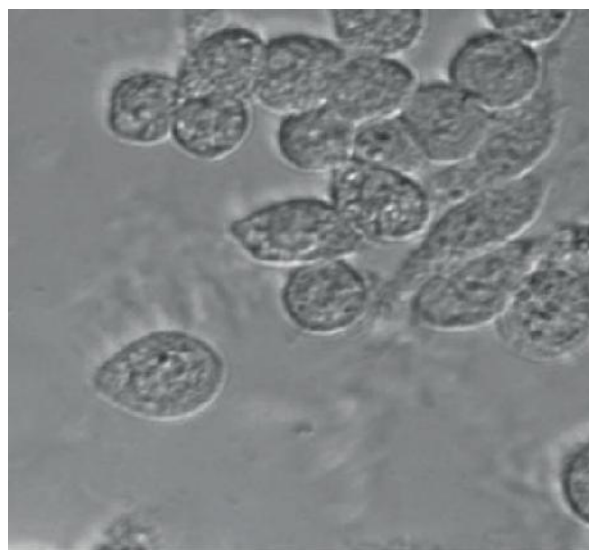
María Elisa Forero

Docente Universidad Antonio Nariño
Facultad de Ciencias
mariaeforero@uan.edu.co

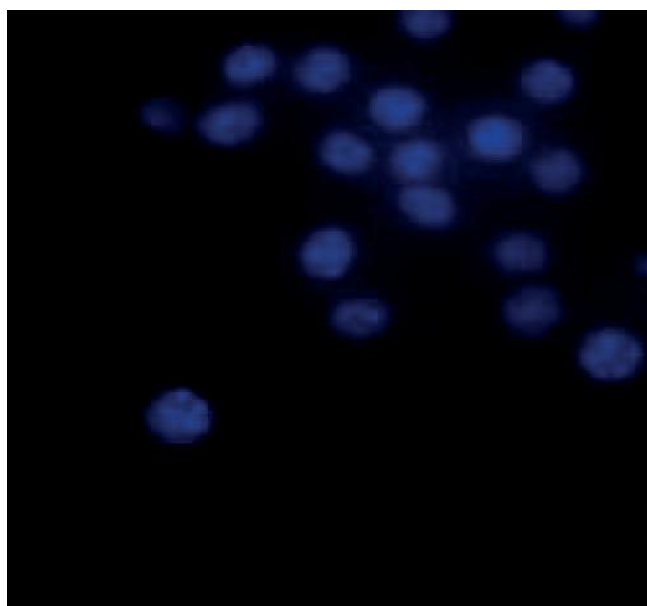
Ensayo de internalización de OMVs (Outer Membrane Vesicles) de *E. coli* JC 8031 por Macrófagos J774A.1, aplicando la metodología descrita por Parker et al., 2010. Brevemente, $2,5 \times 10^4$ cel/mL fueron sembradas en microplacas de 96 pozos (Costar™) 24 horas antes de los ensayos con el fin de favorecer su adherencia a la matriz provista. Transcurrido el tiempo de incubación, el medio de cultivo fue retirado y $0,1 \mu\text{g/mL}$ de OMVs-DiO (Ex/Em: 484/501 nm) diluidas en medio suplementado fueron adicionados a las células previamente servidas y posteriormente se realizaron incubaciones durante 3, 6, 12 o 24 horas. Para la visualización, el medio con OMVs no internalizadas

se retiró y dos lavados con PBS 1X frío estéril fueron realizados durante 5 minutos. Luego, 40 μ L de Hoechst 33342 (Exi/Emi: 350/461 nm; 10 μ g/mL; Invitrogen) disueltos en buffer Hank's fueron adicionados para marcar

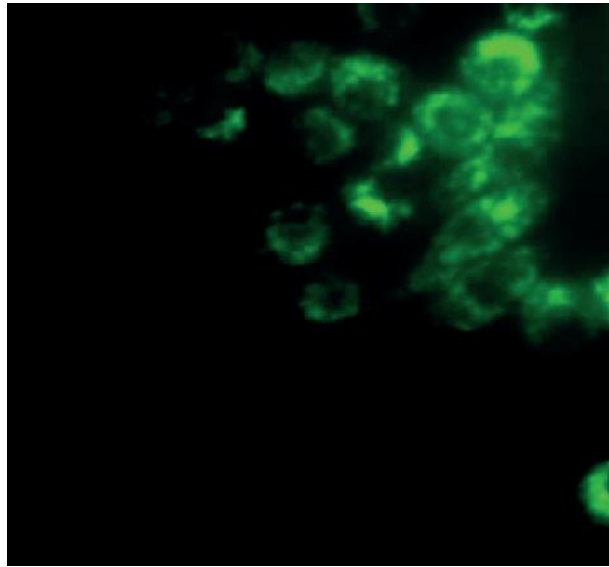
núcleo y como referente de localización durante la evaluación de internalización de las OMVs mediante microscopía de epifluorescencia, haciendo uso de un microscopio Zeiss Axio Observer.A1® (Zeiss, Alemania).



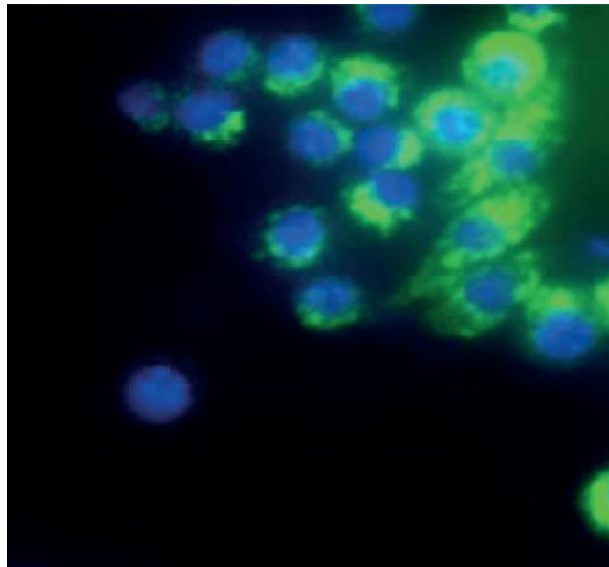
1. Foto luz visible de macrófagos J774A.1 con OMVs de *E. coli* JC8031 internalizadas durante 12h mediante microscopía de epifluorescencia (Zeiss Axio Observer.A1®, Zeiss, Alemania).



2. Foto de macrófagos J774A.1 con OMVs de *E. coli* JC8031 internalizadas durante 12h con núcleos marcados con Hoechst (Azul) mediante microscopía de epifluorescencia (Zeiss Axio Observer.A1®, Zeiss, Alemania).



3. Foto de macrófagos J774A.1 con OMVs de E. coli JC8031 internalizadas durante 12h con OMV marcadas con sonda DiO Verde mediante microscopía de epifluorescencia (Zeiss Axio Observer.A1®, Zeiss, Alemania).



4. Foto de macrófagos J774A.1 con OMVs de E. coli JC8031 internalizadas durante 12h con núcleos marcadas con Hoechst (Azul) y OMV marcados con sonda DiO Verde OMV (MERGE) mediante microscopía de epifluorescencia (Zeiss Axio Observer.A1®, Zeiss, Alemania).