

## “Control de la homeostasis celular del colesterol”. Técnicas empleadas

### Cultivos celulares

Biosíntesis de colesterol: incubación de células con acetato o mevalonato radiactivos y separación de los productos mediante HPLC: ácidos orgánicos (mevalónico, acetoacetato, HMG-CoA, etc.); farnesol y geranylgeraniol y otros alcoholes isoprenoides; y esteroides. Detección de la absorbancia UV (detector de diodos) y de la radiactividad.

Expresión de proteínas: Western blot en lisados celulares; expresión de antígenos intracelulares y de membrana mediante citometría de flujo; detección con anticuerpos marcados y microscopía de fluorescencia y confocal.

Actividad de receptor de LDL: unión e internalización de LDL marcadas con DiI (citometría de flujo); unión de anticuerpo fluorescente anti-receptor LDL (citometría de flujo); Western y northern blots; actividad funcional del receptor LDL en células proliferantes (ensayo de proliferación)

Eflujo de colesterol: marcaje de los esteroides celulares con radioisótopos y análisis de su extracción por receptores extracelulares.

Distribución intracelular de colesterol: separación de fracciones celulares y análisis de su contenido de esteroides; detección de esteroides mediante análisis citoquímicos.

Técnicas básicas de biología molecular: clonación, secuenciación, extracción de RNA, northern blot, transfecciones, RT-PCR a tiempo real, etc.

Ensayo de promotores mediante luciferasa o EGFP y citometría de flujo.

Impresión y análisis de microarrays de DNA.