

## Implementación del ensayo del cometa en la detección de daño en *Drosophila melanogaster*

Rodríguez, Rubén<sup>1</sup>; Gaivão, Isabel<sup>2</sup>; Sierra, L. María<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Biología Funcional e IUOPA, Universidad de Oviedo; <sup>2</sup>Dpt. de Genética e Biotecnología, e CECAV, Universidad de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal

El ensayo del Cometa es uno de los test más ampliamente utilizados en la detección de daño en el DNA, analizando la generación de roturas de DNA. Recientemente, Gaivão et al. (2009; Cell Biol Toxicol 25, 45-52) han descrito una nueva utilidad de este ensayo: la medida y cuantificación de la reparación de daños en el DNA *in vitro*.

En nuestro laboratorio trabajamos desde hace tiempo en el estudio de distintos genes de reparación de *D. melanogaster*, como *mus308* o *mus201*, utilizando el ensayo del Cometa, y agentes modelo como metilmetanosulfonato (MMS, agente alquilante monofuncional). Para poder realizar comparaciones entre los efectos de estos genes en la reparación de distintos tipos de daño, estamos implementando el ensayo del Cometa en neuroblastos de larvas de *Drosophila* con la técnica de cuantificar reparación *in vitro*. Para ello, hemos obtenido extractos celulares de cada una de las líneas mutantes, y también de la línea *Ok-y*, eficiente en reparación. Estos extractos se utilizan para incubar los neuroblastos de *Drosophila* de la línea *Ok-y*, una vez tratados *in vivo* con MMS y también con juglona (JG, agente inductor de daño oxidativo) y, por supuesto, con el control negativo, durante 12 horas.

La incubación con el extracto de la línea *Ok-y* incrementa los valores de momento de la cola, especialmente en las células tratadas con MMS y JG. Este resultado indica que los daños inducidos por estos compuestos que no generan roturas directamente, y que no se habían reparado, son detectados por los enzimas del extracto generando nuevas roturas. La incubación con extractos de la línea *mus201* también incrementa los valores de momento aunque al tratar con los dos compuestos, los valores de momento no se diferencian de los controles respectivos, indicando que cuando *mus201* no funciona no se detectan mas daños que los espontáneos. En cuanto a *mus308*, al menos para MMS, sí que se encuentran diferencias en los valores del momento entre tratamiento y control, debidas a la detección de los daños inducidos por este compuesto, aunque son menores que las detectados para *OK-y*. Estos resultados demuestran que tanto las células control, como las tratadas, aún siendo eficientes en reparación, presentan numerosos daños que se pueden detectar con la reparación *in vitro*, aumentando así la sensibilidad del ensayo.

Además, estos resultados sugieren que los dos genes analizados participan en la reparación de los daños inducidos por MMS y JG. Por tanto, podemos concluir que este tipo de implementación es útil para analizar el papel de los distintos genes en la reparación y/o procesamiento de daño.