

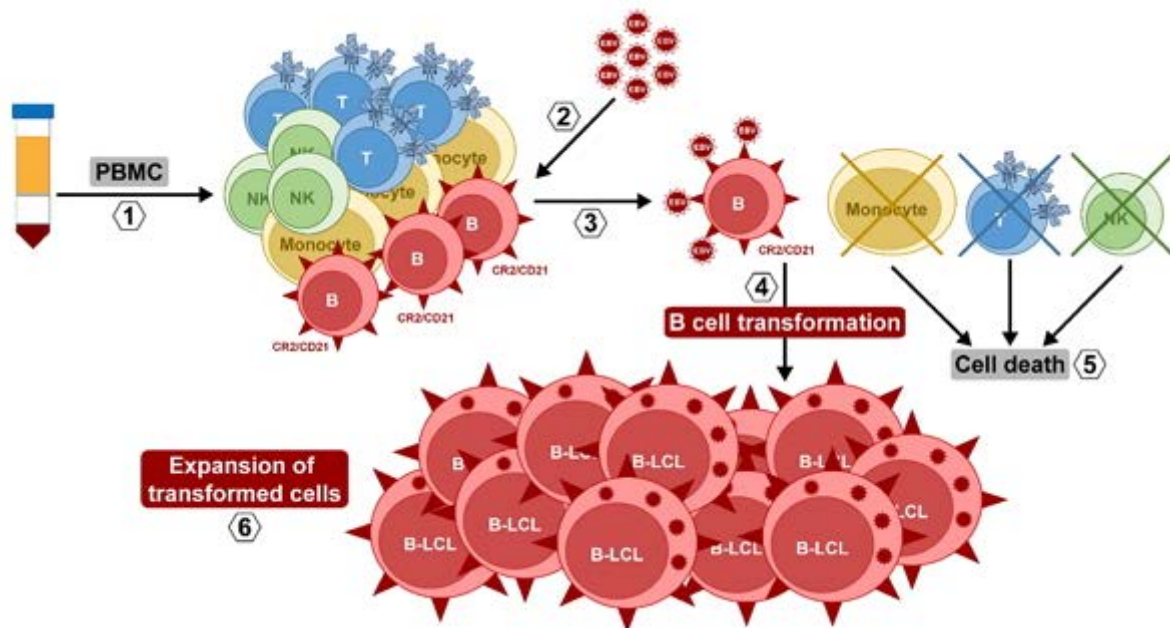
## INMORTALIZACIÓN DE LINFOCITOS B

### Descripción

El virus de Epstein-Barr (EBV) pertenece a la familia de los herpes virus y es el principal causante de la mononucleosis en humanos. Aproximadamente el 95% de los adultos son portadores de este virus con una alta persistencia de los títulos positivos para este virus en el huésped a lo largo del tiempo. La línea celular linfoblástoide B95-8 de tití (marmoset, género *Callithrix*), que se estableció mediante la infección de linfocitos B de tití con EBV aislado de un paciente con mononucleosis infecciosa, es una fuente constante de producción de este virus transformante. Hoy día se sabe por el perfil de DNA que realmente la línea procede de un mono tamarino de cabeza blanca (*Saguinus oedipus*). El virus es capaz de infectar selectivamente a los linfocitos B entre una mezcla de linfocitos T, B y NK presentes en linfocitos de sangre periférica (PBL), a través del receptor de complemento tipo 2, CR2 (ó CD21).

### Cómo funciona

La inmortalización de linfocitos B con EBV se lleva a cabo según el procedimiento habitual (Fig. 1). Brevemente, las células se purifican (día 0) de sangre periférica en un gradiente de Ficoll (GE Healthcare), de los donantes sanos o de los pacientes. Las células aisladas se resuspenden en sobrenadante de cultivo de B95-8 (que contiene el virus EBV) en proporción 1:1 con RPMI-1640 (Lonza), suplementado con 20% de FBS, 1% de glutamina (Gibco), 1% antibiótico-antimicótico (Gibco), y 20 µg/mL de PHA (Sigma-Aldrich). A partir de entonces los cultivos se cambian 1-2 veces por semana durante las 2 primeras semanas con RPMI-1640, suplementado con 20% de FBS, 1% de glutamina, 1% antibiótico-antimicótico. Una vez se empiecen a formar clones linfoblásticos, se fenotipan para comprobar que son CD19 positivas, y se pueden seguir sub-cultivando en medio completo con 10% de FBS.



**Inmortalización de linfocitos B con virus de Epstein-Barr.** (1) Aislamiento mediante gradiente de densidad de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC). (2) Adición de sobrenadante de cultivo de células B95-8 que contienen el virus EBV. (3) El virus EBV infecta específicamente a los linfocitos B a través del receptor CR2/CD21. (4) Una vez dentro, el EBV transforma los linfocitos B en líneas celulares linfoblásticas B (B-LCL), mientras que el resto de PBMC que no han sido infectadas mueren (5). (6) Una vez transformadas, las B-LCL proliferan y se expanden.



## Universidad Complutense de Madrid

Vicerrectorado de Transferencia del Conocimiento y Emprendimiento  
Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI)

### Ventajas

Esta técnica preserva genomas funcionales de linaje B y sirve para:

- **Ensayo preclínico de fármacos específicos de linfocitos B.**
- **Preservar defectos intrínsecos B.**
- **Repositorio de DNA genómico y de RNA específico del linaje B.**

### ¿Dónde se ha desarrollado?

Esta técnica ha sido desarrollada en el Dpto. de Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense (Marín AM, Popova O). El grupo investigador, además de colaborar en la immortalización de linfocitos B, ha consolidado una línea de investigación sobre fisiopatología del linfocito T humano, realizándose aportaciones significativas en la generación y caracterización de modelos in vitro del desarrollo y la patología del linfocito T utilizando HTLV-1, un agente immortalizante equivalente al virus de Epstein-Barr en linfocitos B. Las células B generadas pueden ayudar a:

- Disponer de material genético para detección de mutaciones cuando se parte de muestras escasas de sangre de pacientes con inmunodeficiencias.
- Base celular y molecular de la Inmunodeficiencia Común Variable.

### Y además

Este grupo de investigación puede ofrecer los siguientes servicios adicionales:

- **Generación de líneas de linfocitos T**
- **Se resuelven problemas de viabilidad**
- **Evaluación funcional in vitro del material generado.** Ensayos farmacológicos comparando con otros linajes (linfocitos B, epiteliales,...)
- **Servicio de criopreservación.**

### Investigador responsable

José R. Regueiro González-Barros: [regueiro@med.ucm.es](mailto:regueiro@med.ucm.es)

Departamento: **Inmunología, Oftalmología y ORL**

Facultad: **Medicina**

Enlace: <https://www.ucm.es/iao//t-cell-physiopathology>

