

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 linfoblastoide B95-8 derivada del Mono Tití (marmoset, género *Callithrix*), que se estableció mediante la infección de linfocitos B 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 immortalización 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 con un gradiente de densidad 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, suplementado con 20% de FBS, 1% de glutamina, 1% antibiótico-antimicótico y 20 µg/mL de PHA. A partir de entonces, los cultivos se cambian 1-2 veces por semana durante las 3-4 primeras semanas con RPMI-1640, suplementado con 20% de FBS, 1% de glutamina, 1% antibiótico-antimicótico.

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. El grupo investigador (<https://www.ucm.es/ioo/t-cell-physiopathology>), 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 parten 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, etc.)
- Servicio de criopreservación y almacenamiento (cobro anual).
- Fenotipado de EBVs mediante citometría de flujo (CD19, CD21, BCR...).
- Verificación de cultivos libres de *Mycoplasma* spp. en los linajes generados.

Responsable de la investigación



Nombre y apellido: José R. Regueiro González-Barros - regueiro@med.ucm.es
Departamento: Inmunología, Oftalmología y ORL
Facultad: Medicina.





Figuras:

Por favor, las imágenes que quiera incorporar adjúntelas en el email para no perder calidad de imagen. Se pueden incluir 2 ó 3 figuras, las cuales tendrán una función explicativa y servirán también para aligerar el texto y hacer más atractiva la ficha de oferta).

Insertar aquí los pies de figura:

Figura 1. Ejemplo de pie de figura.

Por favor, enviar los modelos de ficha cumplimentados en inglés y en español, junto con las imágenes, al correo comercia@ucm.es.

