

Inmortalización de linfocitos B

Breve 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 linfoblástide 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 inmortalización de linfocitos B con EBV se lleva a cabo según el procedimiento habitual (Figura 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.

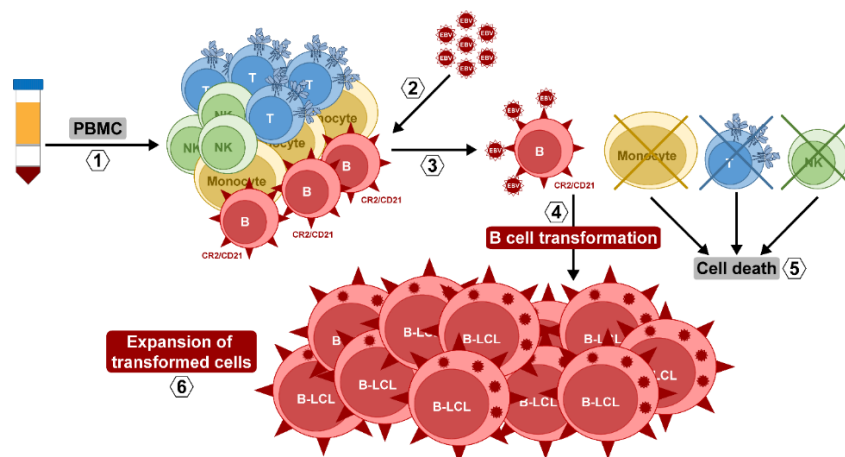


Figura 1: Inmortalización de linfocitos B con virus de Epstein-Barr. (1) Aislamiento mediante gradiente de densidad de las células de sangre periférica (PBMC). (2) Adición de sobrenadante de células B95-8 que contienen el virus EBV. (3)

¿Qué problema resuelve?

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.
- Modelos para el estudio de enfermedades y de la Respuesta Inmune.
- Facilita el estudio de la memoria inmunológica, viendo las respuestas de los linfocitos B contra patógenos o vacunas.

¿Qué productos futuros resultarán?

La **inmortalización de linfocitos B** tiene múltiples aplicaciones en biomedicina, biotecnología e investigación. Producción continua de anticuerpos monoclonales, que nos permite generar anticuerpos específicos tanto para investigación como para diagnósticos y tratamientos, en enfermedades como cáncer, enfermedades autoinmunes e infecciones.



- Almacenamiento de linfocitos B de pacientes con enfermedades raras para poder realizar estudios a largo plazo.
- Inmunoterapias para tratar el cáncer y otras enfermedades.

Ventajas competitivas frente a otras investigaciones

La **inmortalización de linfocitos B** tiene varias ventajas competitivas frente a otras metodologías en investigación biomédica e inmunología. Entre ellas:

- Producción ilimitada de Anticuerpos: los linfocitos B inmortalizados pueden crecer indefinidamente, permitiendo producir de manera continua y estable anticuerpos, frente a otras técnicas como la extracción de sueros en animales o pacientes que son limitadas y presentan variabilidad.
- Biobancos celulares: esto hace posible almacenar las células de los pacientes durante un plazo largo de tiempo, pudiendo realizar tratamientos personalizados, frente a otras técnicas de obtención directa de linfocitos B que no nos permiten mantenerlos en el tiempo.
- Tenemos una mayor reproducibilidad en los estudios: estas células son clones, por lo que los experimentos se pueden realizar obteniendo resultados consistentes, frente a estudios con células primarias o sueros que sí pueden causar variabilidad en los resultados.
- Los costes son menores en la producción de anticuerpos y tiene una mayor eficiencia, frente a la inmunización de animales para la obtención de estos que requiere de un proceso más largo y costoso.

¿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/iao//t-cell-physiopathology>), además de colaborar en la inmortalización 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 inmortalizante equivalente al virus de Epstein-Barr en linfocitos B.

- 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.

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.
- 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

José R. Regueiro González-Barros, regueiro@med.ucm.es

Departamento: **Inmunología, Oftalmología y ORL.**

Facultad: **Medicina**
