

CF_01- CUANTIFICACIÓN DE CITOQUINAS, PROTEÍNAS DE SEÑALIZACIÓN CELULAR, SOLUBLES E INMUNOGLOBULINAS MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO.

Método CBA

Plataformas Científico-Tecnológicas: Laboratorios de Investigación

Plataforma de Citometría de Flujo

Técnico de área: Sara Moreno San Juan

www.ibsgranada.es



ibs.GRANADA
INSTITUTO DE
INVESTIGACIÓN
BIOSANITARIA

CF_01 - Cuantificación de citoquinas, proteínas de señalización celular, solubles e inmunoglobulinas mediante Citometría de Flujo. Método CBA

1. Fundamentos del método y ventajas.

Técnica multiplex basada en inmunoensayos utilizando bolitas conjugadas con anticuerpos específicos frente a diversos analitos que permite la cuantificación simultánea de un alto número de proteínas (hasta 30 proteínas) en una única muestra de suero, plasma, sobrenadantes de cultivos tisulares o lisados celulares. Dicha cuantificación es llevada a cabo utilizando la Citometría de Flujo. Su principal valor radica en la facultad para conjugar la lectura rápida y simultánea de varios y complejos parámetros de una manera objetiva y precisa.

2. Ventajas frente al tradicional ELISA y Western blot.

- a) Determinación de múltiples analitos (hasta 30 proteínas) con un volumen muy reducido de muestra (entre 25-50 μ L en función de la expresión de la proteína a determinar).
- b) Tiempos de procesado y análisis inferiores en comparación el protocolo de ELISA tradicional.
- c) Mayor sensibilidad que la mayoría de los ELISAs (CBA Human Enhanced Sensitivity Flex Set Assays).
- d) Resultados con mayor relevancia estadística (la lectura de 300 bolitas equivale a 300 pocillos de ELISA).

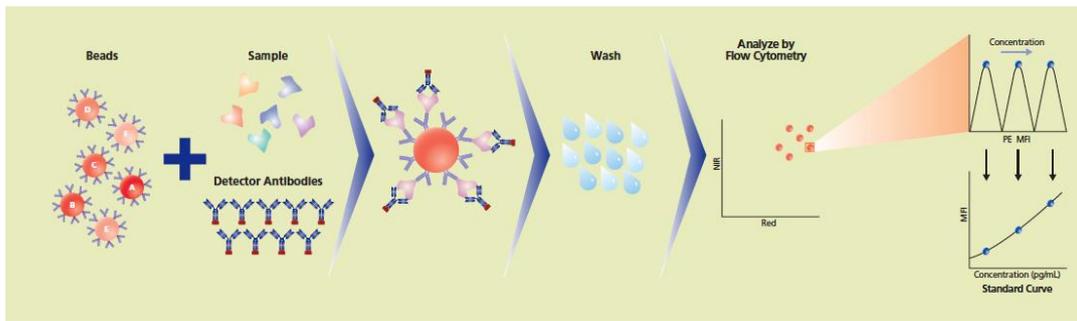


Figura 1. Esquema explicativo del procedimiento seguido para el análisis de la muestra

3. Descripción de los equipos ofertados y tipo de muestras analizadas.

a) Equipo de Citometría de Flujo y software:

- BD FACS Aria IIIu: citómetro de flujo analizador y separador celular.
- Software de análisis multiparamétrico BD FCAP Array v3.0.1.

b) Tipo de Muestra:

- Suero, Plasma, sobrenadantes de cultivos de tejidos y de líneas celulares, así como lisados celulares.
- Especies: Humanos, ratón y rata.
- Volumen: 25-50 μ L.

4. Menú de ensayos.

a) CBA Kits:

- i. **Human Chemokine Kit** (IL-8, CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1, CXCL10/IP-10).
- ii. **Human Inflammatory Cytokines Kit** (IL-8, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF, IL-12p70).
- iii. **Human Th1/Th2 Cytokine Kit** (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, TNF, IFN- γ).
- iv. **Human Th1/Th2 Cytokine Kit II** (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ).
- v. **Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit** (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ , IL-17A).
- vi. **Human Anaphylatoxin Kit** (C3a, C4a y C5a).
- vii. **Mouse Immunoglobulin Isotyping Kit** (IgA, IgE, IgG₁, IgG_{2a}, IgG_{2b}, IgG₃, IgM).
- viii. **Mouse Inflammation Kit** (IL-6, IL-10, MCP-1, IFN- γ , TNF, IL-12p70).
- ix. **Mouse Th1/Th2 Cytokine Kit** (IL-2, IL-4, IL-5, TNF, IFN- γ).
- x. **Mouse Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit** (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ , IL-17A).

b) Configuración a la carta (especies: Humanos, ratón y rata):

- i. **Señalización Celular** (GAPDH, phospho-BLNK, phospho-Btk, phospho-c-Jun, phospho-eNos, phospho-ERK1/2, phospho-Itk, phospho-JNK1/2, phospho-MEK 1/2, phospho-p38, phospho-PLC- γ , phospho-Rsk, phospho-SLP-76, phospho-Stat1, phospho-Stat3, phospho-Syk, phospho-ZAP-70, Total Jnk, Total p38- α , Total Stat1, Total Syk, Total ZAP-70).

- ii. **Proteínas Solubles** (Angiogenina, FGF, CD14 soluble, CD54 (ICAM-1), CD62E (E-Selectina), CD62P (P-Selectina), CD62E (E-Selectina), CD106 (VCAM-1), CD121a (IL-1 RI), CD121b (IL-1 RII), Scd154 (sCD40 Ligand), CD178 (FAS Ligand), Eotaxina, Fractalkina, G-CSF, GM-CSF, Grancyma A, Grancyma B, IFN- α , IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12/IL-23p40, IL-12p70, IL-13, IL-17A, IL-17F, IL-21, IP-10, I-TAC, LT- α , MCP-1, MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, TGF β 1, TNF, TNFRI, TNFRII, VEGF).
- iii. **Medida de Citoquinas de alta sensibilidad** (desde 0,2pg/mL hasta 200pg/mL).
- iv. **Inmunoglobulinas** (IgA, IgG2, Ig3, IgG4, IgE, IgM, Total IgG).

5. Contacto:

- **Técnico Especialista Responsable Plataforma de Citometría**
Dra. Sara Moreno San Juan
Mail: sara.moreno@ibsgranada.es
Teléfono: 958023494
- **Coordinadora Laboratorios de Investigación**
Dra. Paloma Muñoz de Rueda
Mail: palomalancha@ibsgranada.es
Teléfono: 958023980
- **Web:** <https://www.ibsgranada.es/plataformas/plataforma-de-citometria/>
- **Solicitud de recurso:** <https://www.ibsgranada.es/solicitud-de-recursos-de-la-unidad-cientifico-tecnica-de-laboratorios-de-investigacion/>
- **Tarifas:** <https://www.ibsgranada.es/wp-content/uploads/2020/11/Lista-de-Tarifas-UCT-Lab-Investigacion-2022-v02.pdf>