

CF_05- CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES Y SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO

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_05- Caracterización de poblaciones y subpoblaciones linfocitarias mediante citometría de flujo

1. Fundamentos del método y ventajas.

Se trata de una técnica de caracterización cuantitativa de poblaciones y subpoblaciones linfocitarias con múltiples aplicaciones en el estudio de:

- Inmunodeficiencias congénitas o primarias (artritis reumatoide) y adquiridas o secundarias (HIV, farmacológicas)
- Oncohematología (Leucemias y Linfomas)
- Trasplantes
- Respuesta a tratamientos antitumorales hiperfraccionados (terapia metronómica)
- Inmunoterapia del cáncer.

Se trata de un método fundamentado en la Citometría de Flujo en el cual se estudian las diferentes poblaciones y subpoblaciones linfocitarias (linfocitos T, Linfocitos B y NK):

- **Poblaciones Linfocitarias:**
 - *Linfocitos T*
 - *Linfocitos B*
 - *Linfocitos NK*
- **Subpoblaciones funcionales linfocitos T CD4+:**
 - *Linfocitos T naive*
 - *Linfocitos T central memoria*
 - *Linfocitos T efectores memoria*

- **Subpoblaciones funcionales linfocitos T CD8+:**
 - *Linfocitos T naive*
 - *Linfocitos T central memoria*
 - *Linfocitos T efectores memoria*
- **Subpoblaciones linfocitos T CD4+ efectores:**
 - *Linfocitos Th1*
 - *Linfocitos Th2*
 - *Linfocitos Th17*
 - *Linfocitos Treg*
- **Subpoblaciones linfocitos B:**
 - *Linfocitos T naive*
 - *Linfocitos B zona marginal*
 - *Linfocitos B memoria con cambio de clase*

El empleo de anticuerpos específicos frente a diferentes clústeres de diferenciación (CD), expresados en la superficie de los linfocitos, conjugados con fluorocromos permite la caracterización y cuantificación de las citadas subpoblaciones celulares.

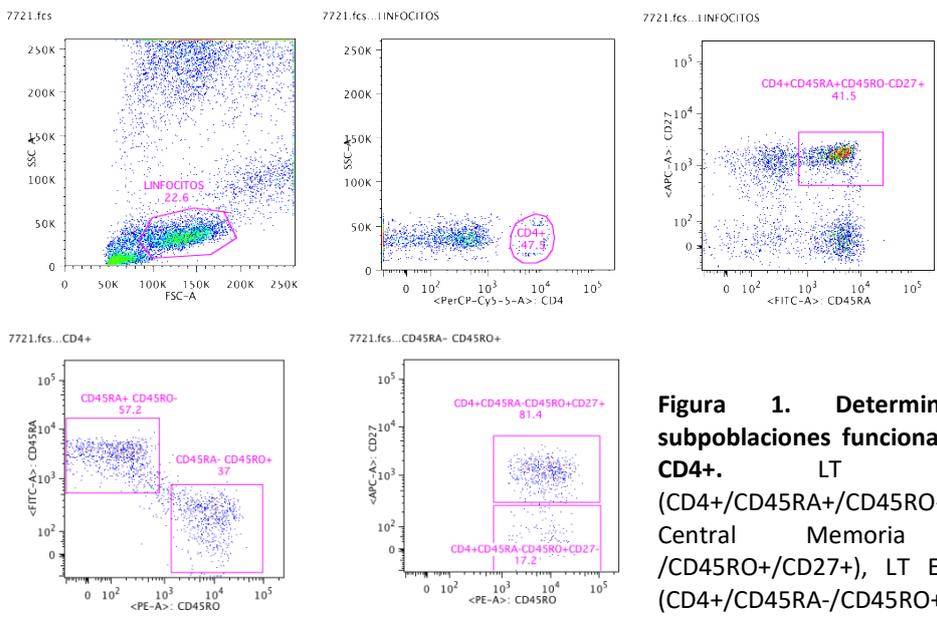


Figura 1. Determinación de las subpoblaciones funcionales de linfocitos T CD4+. LT CD4+ naive (CD4+/CD45RA+/CD45RO-/CD27+), LT Central Memoria (CD4+/CD45RA-/CD45RO+/CD27+), LT Efectores Memoria (CD4+/CD45RA-/CD45RO+/CD27-)

2. 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. Número de láseres y detectores: 4 láseres. Láser violeta (405nm) y sus detectores (octágono con filtros 450-40, 510-50, 575-26, 610-20, 660/20, 710-50, 780-50); Láser azul (488nm) y sus detectores (SSC, FITC/Alexa488 y PerCP/PerCP-Cy5.5); Láser amarillo-verde (561nm) y sus detectores (PE, PE-Texas Red/IP/Living Colors/mCherry, PE-Cy7/PE-Cy5,5, PE-Cy7). Láser rojo (633 nm) y sus detectores (APC/Alexa 647, Alexa 700, APC-Cy7/APC-H7). Software de adquisición y análisis: FACSDiva 8.0.1.
- Cytex Northern Lights: citómetro de flujo espectral. Con 3 líneas láseres: violeta, azul y rojo. Cuenta con 38 detectores (16V, 14A y 8R), siendo capaz de determinar más de 30 colores de manera simultánea. El rango de detección oscila entre los 420 y los 829nm. Software de análisis y control del equipo: SpectroFlo

b) Tipo de Muestra:

- Células en suspensión procedentes de tejidos y de líneas celulares.
- Especies: Humano, ratón, rata, primate, perro, felinos, equinos, porcinos (Según disponibilidad de los distribuidores de anticuerpos, puede que alguno de los marcadores descritos no esté disponible en todas las especies).

3. Servicios ofertados.

- **Procesado de muestras (disgregación tejidos, tinciones, fijaciones, permeabilizaciones)**
- **Adquisición de datos por el citómetro**
- **Análisis de resultados y elaboración de un informe con los mismos**

4. Precios a convenir según paneles y anticuerpos seleccionados.

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>

[1] Kohei Shitara et Al. *Regulatory T cells: a potential target in cancer immunotherapy.* *Ann. N.Y. Acad. Sci* **2018**.

[2] Deanna A Kulpa Et Al. *HIV persistence in the setting of antiretroviral therapy: when, where and how does HIV hide?* *Journal of Virus Eradication*, **2015**;1:59-66.

[3] Victor Appay et Al. *Phenotype and function of human T lymphocyte subset: consensus and issues.* *Cytometry Part A*. 73A, 975-983, **2008**.

[4] Cameron J Turle et Al. *Genetically retargeting CD8+ lymphocyte subset for cancer immunotherapy.* *Current Opinion in Immunology* **2011**, 23, 299-305.