

Póster

Elaboración de un kit de separación magnética de células CD3⁺.



María Cristina Viera-Osorio¹, Luis Ignacio Sánchez-Abarca², Jose Antonio Pérez-Simón²,
Alejandro Caro-Pérez¹

¹ Genova Scientific, Johannes Gutenberg, 4F. Polígono Industrial El Cañamo 1-41300. San Jose de la Rinconada (Sevilla) España.

² Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), laboratorio 202, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Avenida de Manuel Siurot s/n 41013, Sevilla. España.

Palabras clave: nanopartículas magnéticas; separación celular; anticuerpos.

RESUMEN

Las técnicas de separación magnética son cada vez más importantes, con un amplio rango de aplicaciones en el campo de la biomedicina. La propiedad más notable y atractiva de los materiales magnéticos es que pueden ser aislados de una solución al aplicar un campo magnético externo.

El principal objetivo de este proyecto es desarrollar un kit de separación celular utilizando nanopartículas magnéticas (NPM) de Genova, conjugadas con el anticuerpo anti-CD3 (marcador específico de linfocitos T). Este proceso se realizará mediante la metodología AUTOMACS de Miltenyi. Tomando como referencia los resultados obtenidos por este método, intentaremos mejorarlo utilizando las NPM de Genova.

La primera tarea realizada en este proyecto es la activación de las NP. Partimos de NPM de 100nm, cubiertas por una matriz de polímeros con grupos terminales hidroxilos. Estas NPM deben ser funcionales y para ello son activadas con un novedoso reactivo de Genova, denominado Smart-Link. Una vez activadas, pueden ser conjugadas con anticuerpos (en nuestro caso anti-CD3). Se utiliza un protocolo de acoplamiento que permite que el anticuerpo se una al reactivo Smart-Link por la región Fc, para que así la región Fab pueda reconocer el marcador celular de interés. A partir de este momento el complejo estará listo para su aplicación.

La suspensión celular se obtiene de una cantidad de sangre concentrada (Buffy Coat). Realizaremos una separación en gradiente de densidad utilizando Ficoll para extraer las células mononucleares (nos interesan los linfocitos T).

Los linfocitos T expresan en su superficie CD3. Al incubar las células con las NPM conjugadas con anticuerpos, se producirá la unión de ambas, ya que el anticuerpo reconocerá al marcador de superficie celular. La separación magnética se realiza utilizando un equipo denominado AUTOMACS. Este dispositivo recoge toda la suspensión celular y separa las células en una fracción positiva (linfocitos T) y una fracción negativa (resto de células), usando un campo magnético. Nos quedaremos con la fracción positiva y realizaremos un recuento celular en la cámara de Neubauer para conocer la cantidad de células separadas.

A día de hoy aún no se han obtenido resultados concluyentes pero en un futuro próximo se espera conseguir una separación eficiente de linfocitos T con el uso de las NPM de Genova y así poder desarrollar el Kit de separación celular correspondiente.

BIBLIOGRAFIA

Manuel Arruebo¹, Mónica Valladares² and África González-Fernández² (2009). Antibody-Conjugated Nanoparticles for Biomedical Applications. Journal of Nanomaterials. Volume 2009, Article ID 439389, 24 pages.

Andreas Grützkau, Andreas Radbruch (2010). Small But Mighty: How the MACS®-Technology Based on Nanosized Superparamagnetic Particles has Helped to Analyze the Immune System Within the Last 20 Years. Journal of the International Society for Advancement of Cytometry. Cytometry Part A. 77A: 643-647.

Ivo Šafařík^{a,b}, Mirka Šafaříková^a. (1999) Use of magnetic techniques for the isolation of cells. Review. Journal of Chromatography B, 722 (1999) 33-53.