



PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES CONTRA CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENO DE MONOS *Aotus* spp.

**JULIAN MAURICIO CRUZ CASTRO
MARÍA JOSÉ DÍAZ BARRERA**

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
NOVIEMBRE 2019
BOGOTÁ, COLOMBIA



PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES CONTRA CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENO DE MONOS *Aotus* spp.

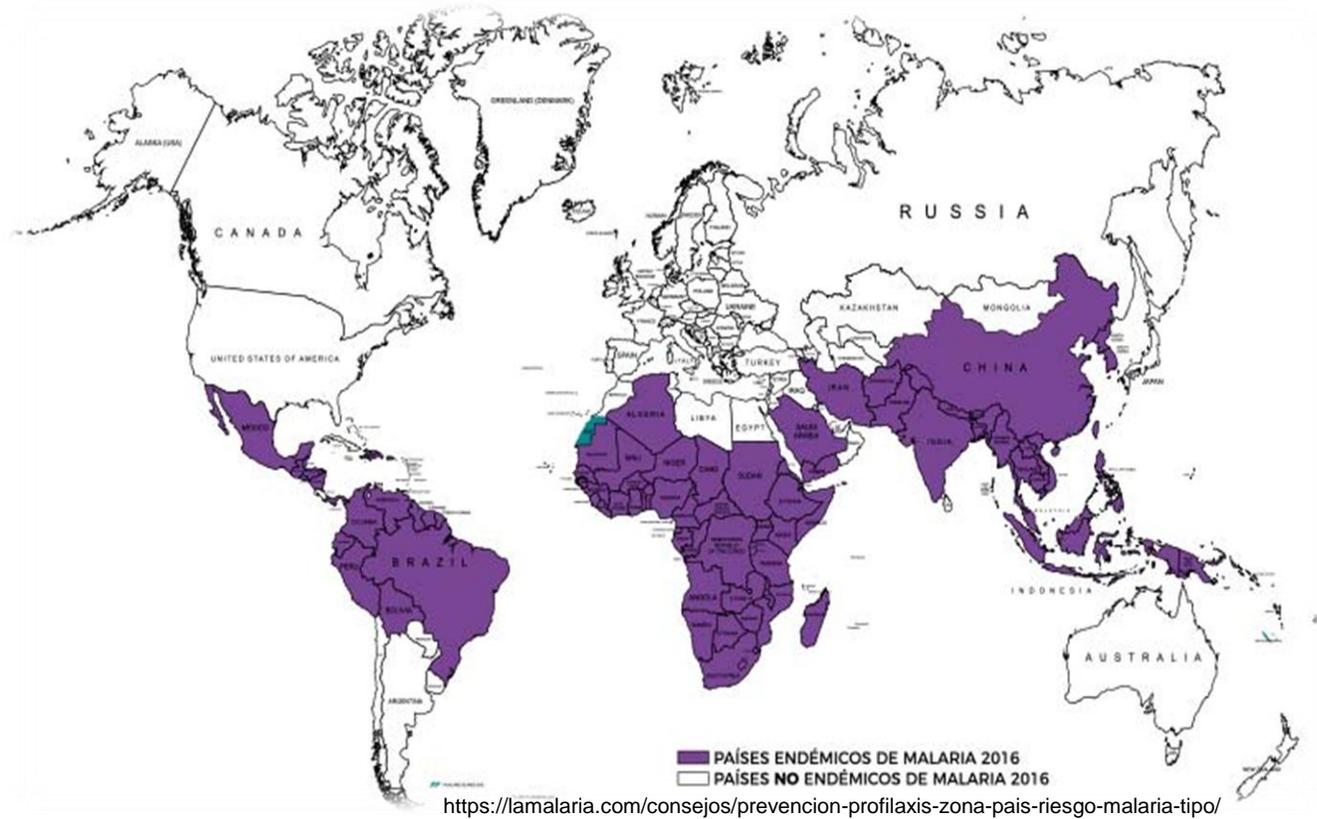
EDITH DEL CARMEN HERNÁNDEZ ROJAS MSc.
ASESORA INTERNA

DIANA DIAZ AREVALO PhD.
ASESORA EXTERNA

NOVIEMBRE 2019
BOGOTÁ, COLOMBIA

INTRODUCCIÓN

Impacto de la malaria



<https://www.shutterstock.com/es/search/ni%C3%B1os+de+africa>

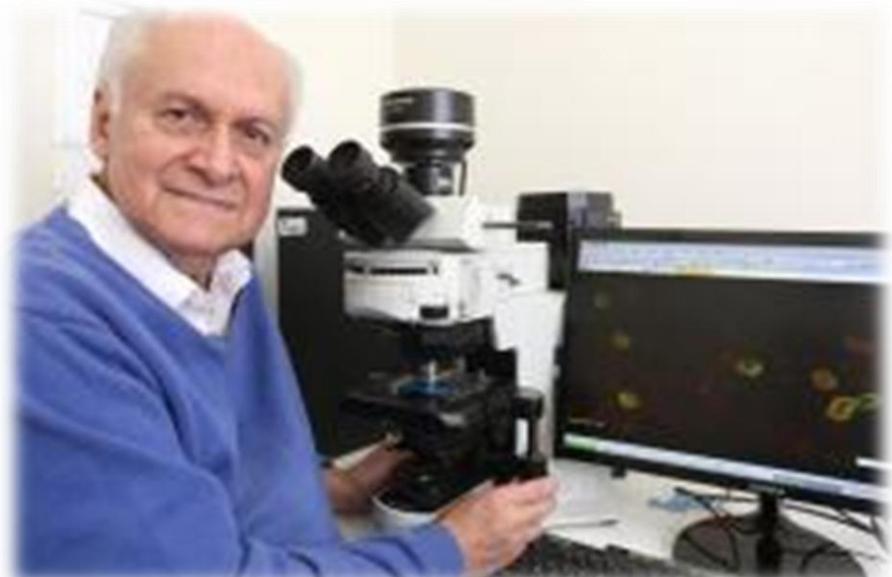
2018 - 219 millones de casos. (OMS)

Vacuna COLFAVAC24 con una protección del 81.7%



<https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/aotus>

ENFRENTADOS A LA CEPA FVO



<https://www.eltiempo.com/salud/entrevista-con-el-cientifico-colombiano-manuel-elkin-patarroyo>



<https://www.info-natura.com/blog/2010/06/16/el-anopheles-mosquito-vector-de-la-malaria-habita-el-delta-del-ebro/8>

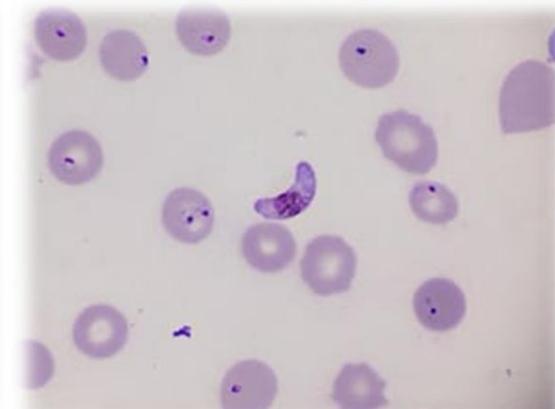


image.shutterstock.com/image-photo/plasmodium-falciparum-gametocyte-blood-smear-260nw-1087816607.jpg

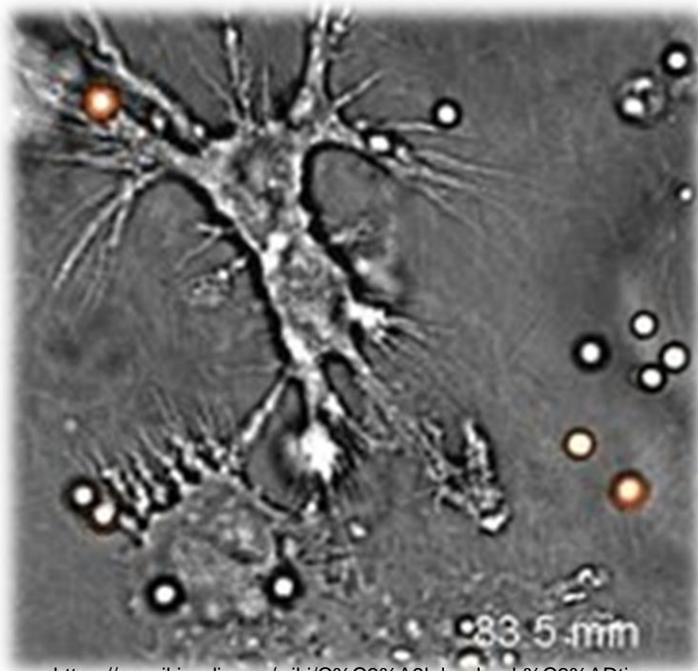
Características células dendríticas

**Células profesionales
presentadoras de
antígeno**

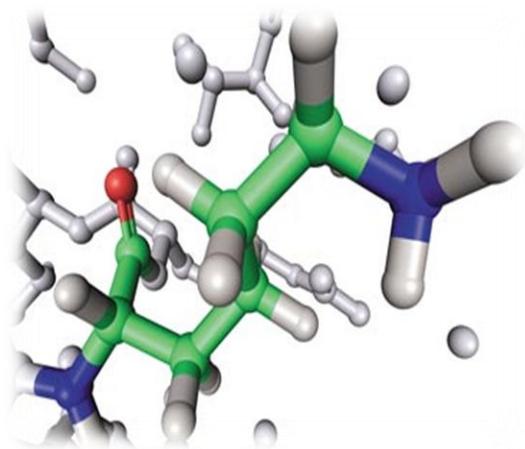
Prolongaciones
ramificadas en forma
de dendritas.

CMH I - II

Receptor para
quimiocinas CCR7



https://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula_dendr%C3%ADtica

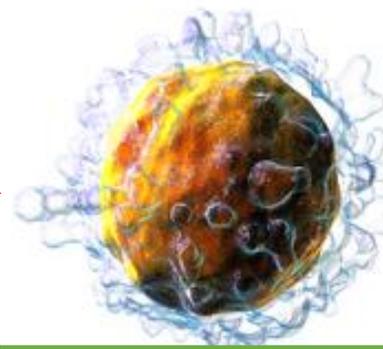


PÉPTIDO VACUNAL

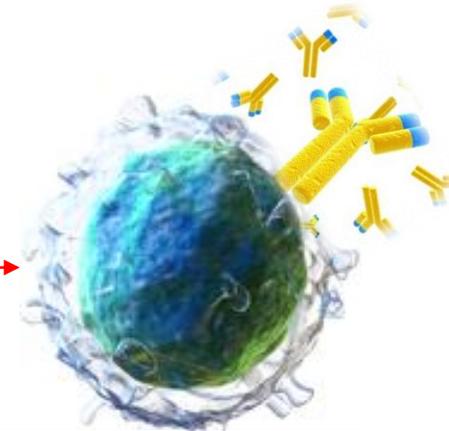


CÉLULA DENDRÍTICA CONVENCIONAL

CITOQUINAS



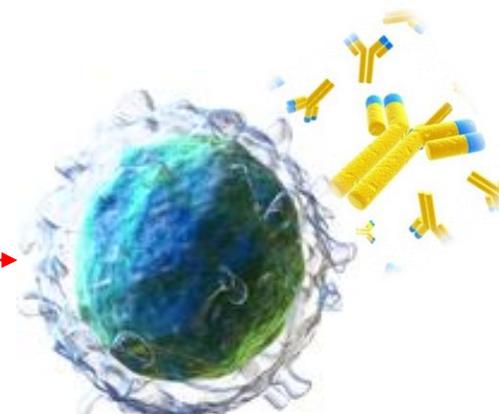
LINFOCITOS T



LINFOCITOS B

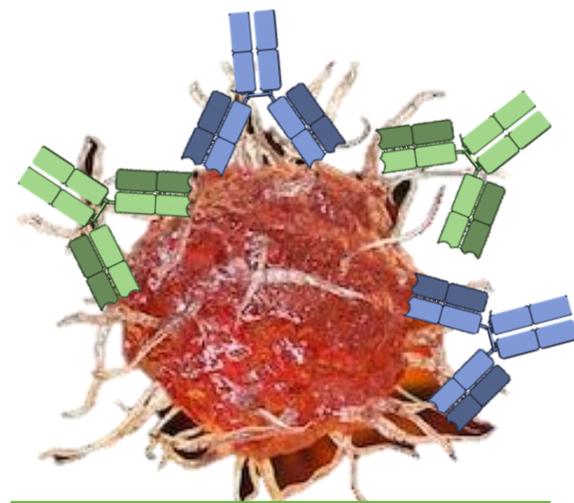


CÉLULA DENDRÍTICA PLASMOCITOIDE

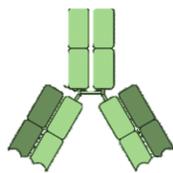


LINFOCITOS B

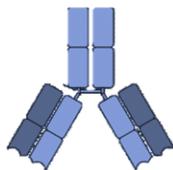
No existen anticuerpos monoclonales comerciales que reconozcan las células dendríticas del modelo animal *Aotus* spp.



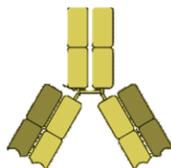
CÉLULA DENDRÍTICA CONVENCIONAL TIPO 1



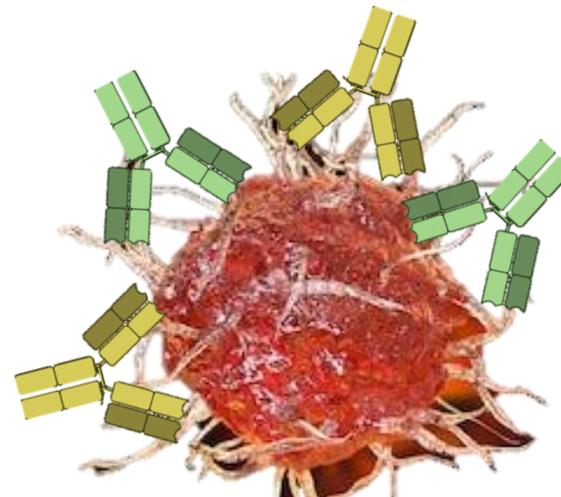
CD11c



CD103



BDCA-1



CÉLULA DENDRÍTICA CONVENCIONAL TIPO 2

OBJETIVOS

GENERAL

Producir anticuerpos monoclonales que reconozcan marcadores de membrana BDCA1, CD11c, CD103 y CD14 sobre células presentadoras de antígeno de *Aotus* spp.

ESPECIFICOS

- Seleccionar mediante herramientas bioinformáticas las secuencias de los marcadores de membrana de células presentadoras de antígeno de *Aotus* spp. a sintetizar.
- Desarrollar el hibridoma a partir del bazo de ratones cepa BALB/c inmunizados, para producir los anticuerpos monoclonales contra marcadores de superficie de membrana de células presentadoras de antígeno.
- Evaluar la afinidad de los anticuerpos monoclonales producidos, frente a las células presentadoras de antígeno de *Aotus* spp.

METODOLOGÍA

PROCEDIMIENTOS

Predicción "*in silico*" de secuencias peptídicas

Síntesis de las secuencias peptídicas

Inmunización de ratones

Valoración de la inmunogenicidad por ELISA

Obtención de esplenocitos

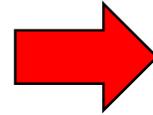
Producción de hibridoma

Obtención de células dendríticas humanas

Reconocimiento de células diana por los anticuerpos obtenidos - IFI

1. Predicción “*in silico*” de secuencias peptídicas

Secuencias **BDCA-1, CD103, CD11c y CD14** de *Aotus spp.*



Predicción fragmento extracelular

NCBI Protein

TMHMM Server

BLAST® » blastp suite

Standard Protein BLAST

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s)

Or, upload file

Choose Search Set

Database: Non-redundant protein sequences (nr)

Organism

Exclude

Program Selection

Algorithm

BLAST results will be displayed in a new format by default. You can always switch back to the Traditional Results page.

DTU Bioinformatics

Department of Bio and Health Informatics

TMHMM Server v. 2.0

Prediction of transmembrane helices in proteins

SUBMISSION

Submission of a local file in FASTA format (HTML 3.0 or higher)

OR by pasting sequence(s) in FASTA format:

Output format:

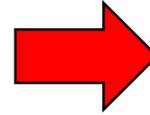
Other options:

Submit Clear

Restrictions:

Confidentiality:

Determinación de péptido señal.



Identificación de epítopes de células B y T.

SignalP 4.0 Server

Bioinformatics >> Prediction Servers >> SignalP-5.0

SignalP-5.0 Server

Version history Click here to learn what is new and access previous versions.

History paper Click here to read "A Brief History of Protein Sorting Prediction", The Protein Journal, 2019

Behind the paper Check out the blog post about the SignalP 5.0 publication.

Predict Instructions/Help Data Abstract/Cite FAQ Portable version

Submit data

The SignalP 5.0 server predicts the presence of signal peptides and the location of their cleavage sites in proteins from Archaea, Gram-positive Bacteria, Gram-negative Bacteria and Eukarya. In Bacteria and Archaea, SignalP 5.0 can discriminate between three types of signal peptides:

- Sec/SPI: "standard" secretory signal peptides transported by the Sec translocon and cleaved by Signal Peptidase I (*Lep*)
- Sec/SPII: lipoprotein signal peptides transported by the Sec translocon and cleaved by Signal Peptidase II (*Lsp*)
- Tat/SPI: Tat signal peptides transported by the Tat translocon and cleaved by Signal Peptidase I (*Lep*)

SignalP 5.0 is based on a deep convolutional and recurrent neural network architecture including a conditional random field.

ⓘ Protein sequences should be not less than 10 amino acids. The maximum number of proteins is 5000.

Enter protein sequence(s) in fasta format...

BIOINFORMATICS | TECHNICAL UNIVERSITY OF DENMARK DTU

IEDB Analysis Resource

IEDB Analysis Resource

Overview T Cell Tools B Cell Tools Analysis Tools Tools-API Usage Download Datasets Contribute Tools References

Epitope Prediction and Analysis Tools

Welcome to the Immune Epitope Database Analysis Resource. This site provides a collection of tools for the prediction and analysis of immune epitopes. It serves as a companion site to the Immune Epitope Database (IEDB), a manually curated database of experimentally characterized immune epitopes.

The tools contained fall into the following categories:

- T Cell Epitope Prediction Tools**
This set of tools includes MHC class I & II binding predictions, as well as peptide processing predictions and immunogenicity predictions.
- B Cell Epitope Prediction Tools**
The tools here are intended to predict regions of proteins that are likely to be recognized as epitopes in the context of a B cell response.
- Analysis Tools**
The epitope analysis tools are intended for the detailed analysis of a known epitope sequence or group of sequences.

IEDB-AR Release Notes

- IEDB Analysis Resource v2.22 release notes (4 Sep 2019) 2019-09-06
NEW: Docktope is incorporated as a new tool Class II binding predictor now allows predicting for various lengths (11-30) NetMHC...
- IEDB Analysis Resource v2.21 release notes (26 Mar 2019)
- IEDB Analysis Resource v2.20 release notes (14 Aug 2018)
- IEDB Analysis Resource v2.19 release notes (25 Apr 2018)
- IEDB Analysis Resource v2.18.1 release notes (7 Dec 2017)

IEDB Help Contact

This site is best viewed with current versions of Mozilla Firefox or Google Chrome.

© 2005-2019 | IEDB Home
Supported by a contract from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, a component of the National Institutes of Health in the Department of Health and Human Services.

Alineamiento entre las secuencias de *Mus musculus*, *Homo sapiens*, y *Aotus spp.*

BLAST

Basic Local Alignment Search Tool

BLAST finds regions of similarity between biological sequences. The program compares nucleotide or protein sequences to sequence databases and calculates the statistical significance. [Learn more](#)

NEWS

End of updates for BLAST+ version 4 databases (dbv4)
Start moving to the new version 5 databases!
Fri, 27 Sep 2019 16:00:00 EST [More BLAST news...](#)

Web BLAST

- Nucleotide BLAST**
nucleotide ► nucleotide
- blastx**
translated nucleotide ► protein
- tblastn**
protein ► translated nucleotide
- Protein BLAST**
protein ► protein

BLAST Genomes

Enter organism common name, scientific name, or tax id

[Human](#) [Mouse](#) [Rat](#) [Microbes](#)

2. Síntesis de secuencias peptídicas



Las secuencias proteicas seleccionadas se sintetizaron químicamente por el grupo funcional de síntesis química **FIDIC**.



Sistema de fase sólida múltiple por aproximación.



Hidrolizados por TFA/TIS/H₂O, purificados mediante RP-HPLC, liofilización y análisis mediante espectrometría de masas (Maldi-TOF).



Dicroísmo circular.

3. Inmunización de ratones



<https://www.taconic.com/images/balb-c-inbred-mouse-model.jpg>

Grupo 1



BDCA-1 (ratón 0, 1 y 2)



Grupo 2



CD11C (ratón 3, 4 y 5)



Grupo 3



CD14 (ratón 6, 7 y 8)

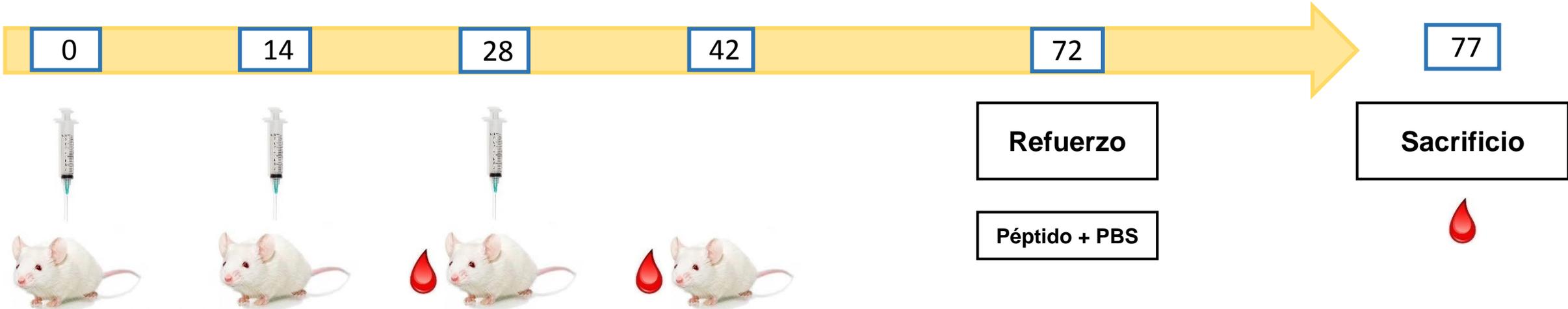


Grupo 4



CD103 (ratón 9, 10 y 11)

DÍA



<https://www.taconic.com/images/balb-c-inbred-mouse-model.jpg>



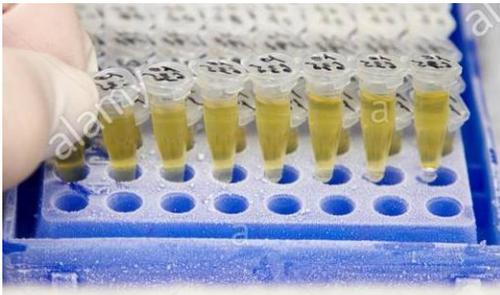
Imunización con péptido (30 $\mu\text{g/ml}$) y adyuvante incompleto de Freund. Vía subcutánea – intraperitoneal.



Sangría pre y post inmunizaciones.

4. Valoración de la inmunogenicidad por ELISA

Reactividad frente al péptido de sueros obtenidos



<https://c8.alamy.com/compes/xebne5/alicuotas-de-suero-congelado-muestras-almacenadas-en-la-nevera-a-80-c-el-adn.jpg>



ELISA



http://dynamimed.com/shop/wp-content/uploads/2018/01/ELISA_plates.jpg



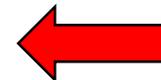
Placas con péptidos sintetizados



Suero de los ratones



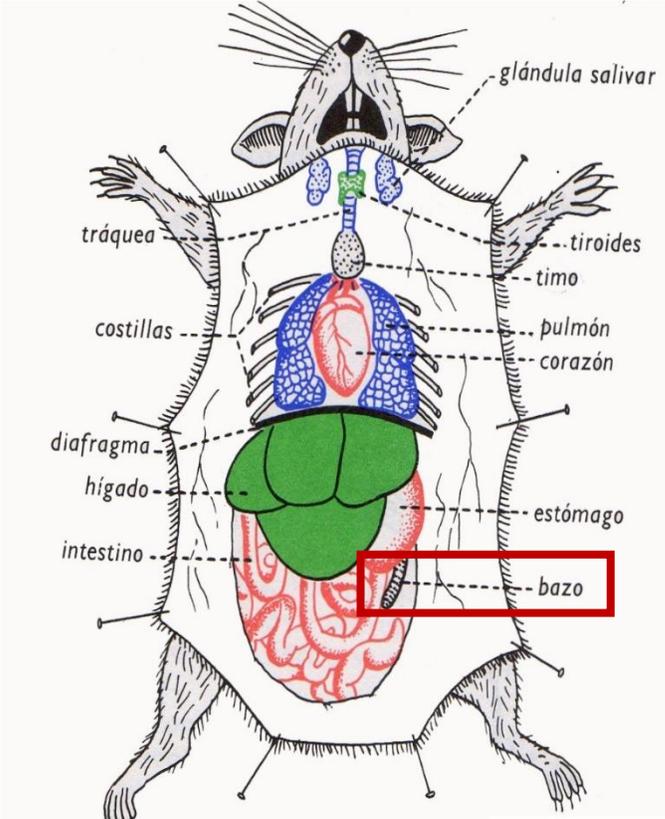
Ac anti-ratón IgG (FAL)



P-nitrofenil fosfato
Revelada con sustrato FAL

5. Obtención de esplenocitos

Esplenectomía

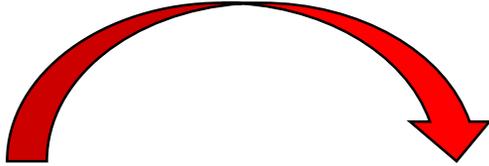


<https://medium.com/@manuelvega11/disecci%C3%B3n-a-un-rat%C3%B3n-f937d005c8f8>

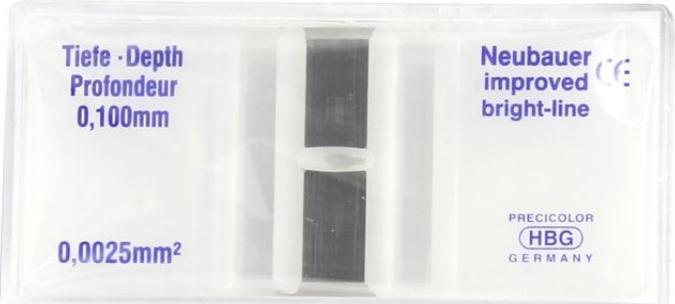
Obtención de células mediante perfusión



<https://encryptedn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcTto1KYN3yfSasBDw3btIsXJBNVzN708XkktWtjRDg4jP5bT9US&s>



Recuento celular en Neubauer®



https://www.globaltradebr.com.br/pub/media/catalog/product/cachemaras_de_neubauer_1.jpg

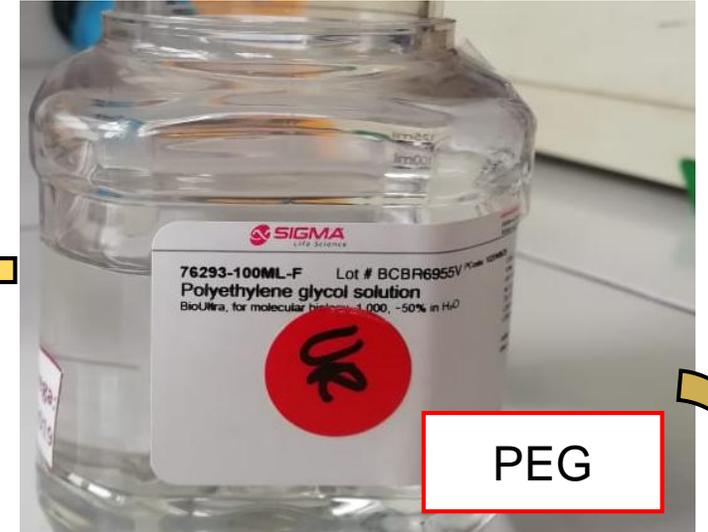
6. Producción de hibridoma



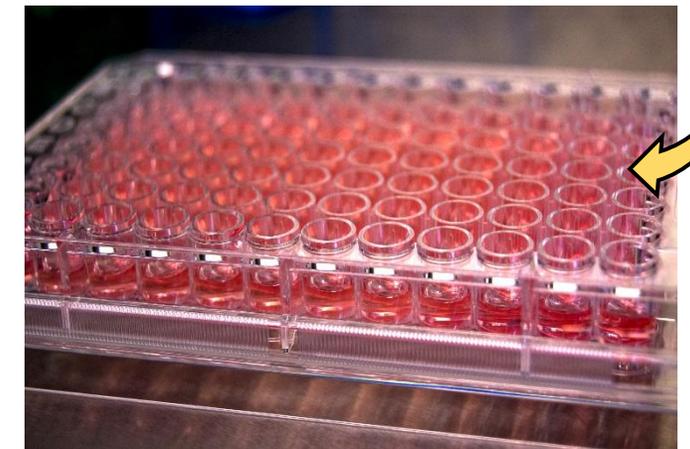
<https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/CCG/product-images/F32786~p.eps-650.jpg>



<https://c8.alamy.com/compes/hn2kx1/el-pipeteado-de-muestras-en-tubos-eppendorf-hn2kx1.jpg>



Incubación ~16 d, 37°C - 5% CO₂ en medio HAT.

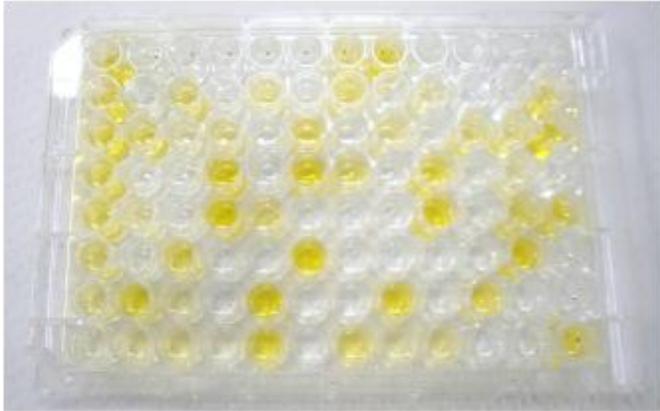


http://shop.llg.de/static01/Img/4009096_1.JPG

Polietilenglicol (PEG)
Hipoxantina, aminoptericina y timidina (HAT)

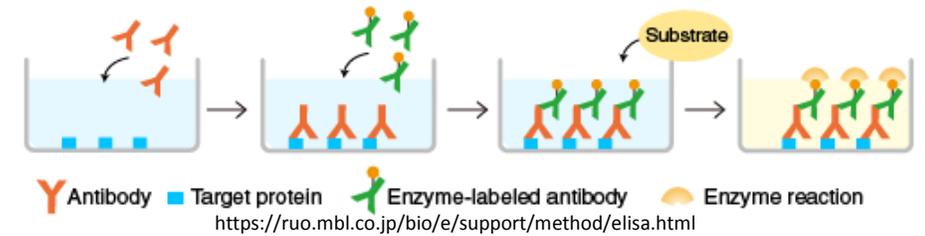
Selección de clones

A partir del día 12 de incubación



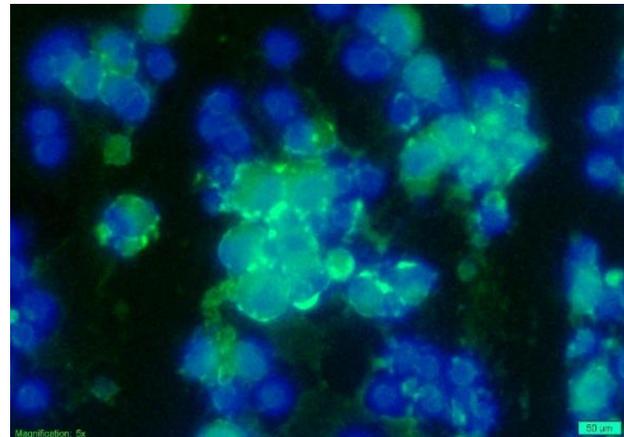
<https://encrypted-bn0tbn:ANd9GcSgykwjUonsWQNKY7RJ-8YzVUyeArdpUfqAUO7iltHEN5-AmM7Z&s>

Presencia/Ausencia clones

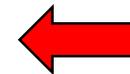


<https://thumbs.dreamstime.com/z/placa-de-cultura-del-tejido-64238858.jpg>

Crecimiento clonal

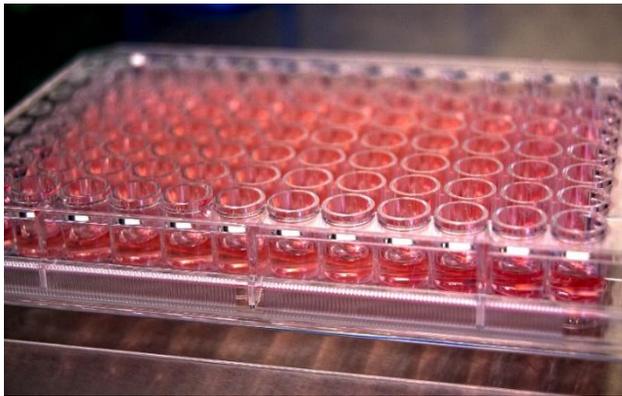
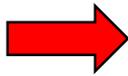


IFI células humanas



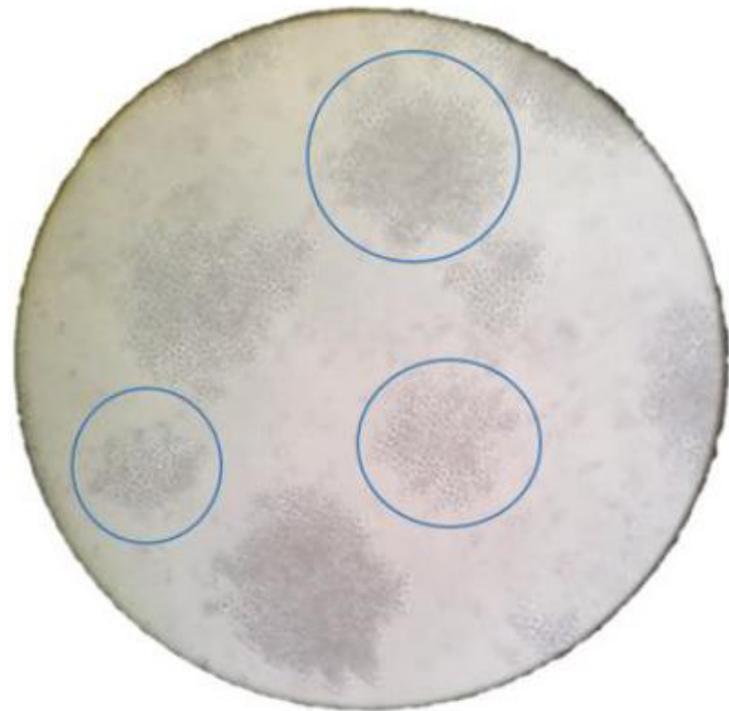
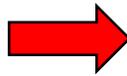
Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Reactividad frente a células humanas



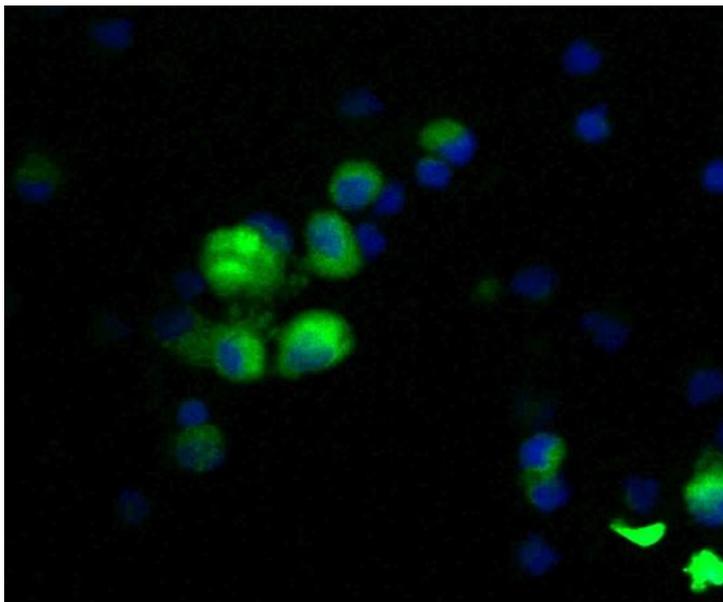
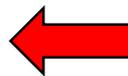
http://shop.lig.de/static01/Img/4009096_1.JPG

Dilución límite



Pasados 12 -15 días

Crecimiento clonal



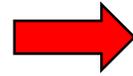
IFI células *Aotus* spp.

7. Obtención de células dendríticas humanas

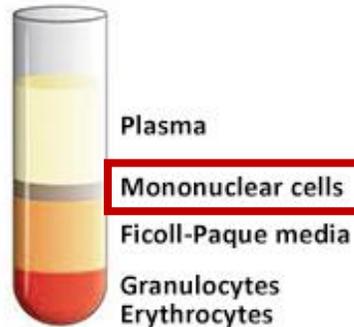
Sangre periférica



<https://thumbs.dreamstime.com/z/tubo-de-ensayo-la-heparina-del-litio-en-laboratorio-121837030.jpg>



Ficoll-Hypaque®



<https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/l.jpg>



Recuento celular en Neubauer®



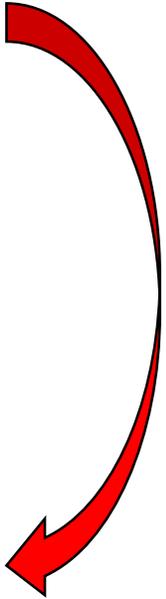
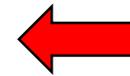
https://www.globaltradebr.com.br/pub/media/catalog/product/cachemaras_de_neubauer_1.jpg

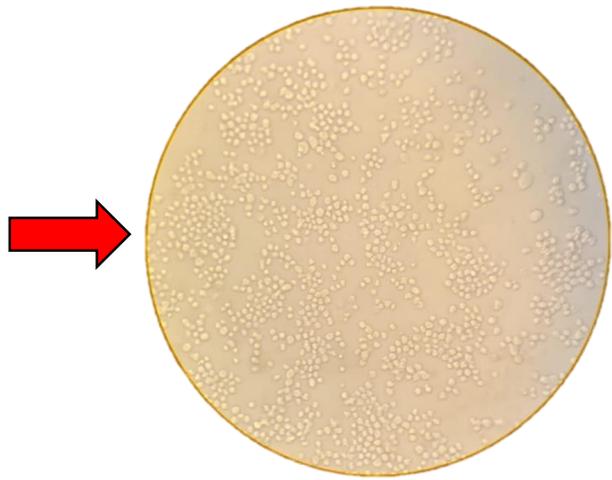
Cultivo



http://4.bp.blogspot.com/-SDrcdSD0N_/s1600/descarga.jpg

Incubación 3h 37°C - 5% CO₂





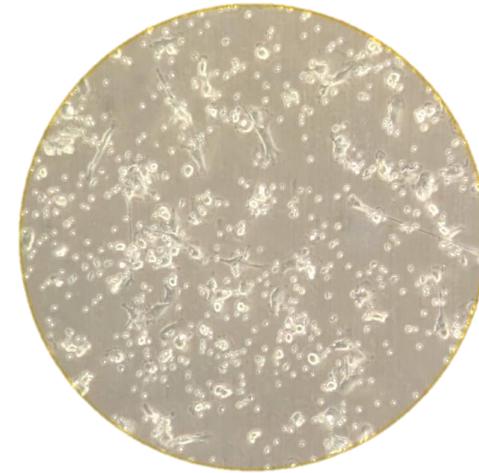
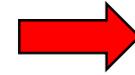
Adherencia por microscopia



<http://4.bp.blogspot.com/-SDrVjuhFjY1f3IM/s1600/descarga.jpg>

Estimulo día 0 y 3

IL4 y GM-CSF

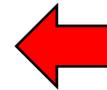


Diferenciación



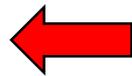
Estimulo día 6.

Lipopolisacarido y sobrenadante
de células P388/D1

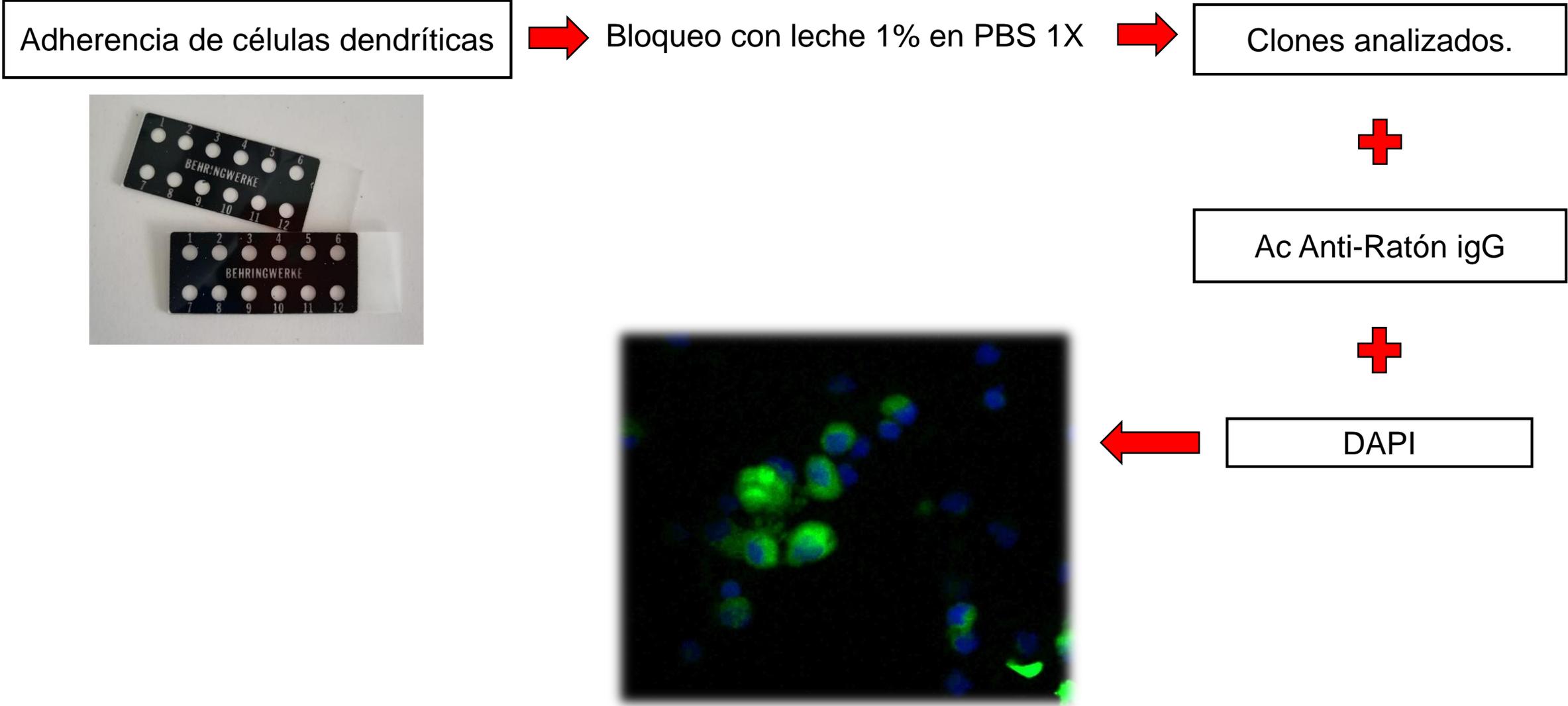


Día 12
Maduración

Desprendimiento y
cuantificación



8. Reconocimiento de anticuerpos obtenidos mediante IFI



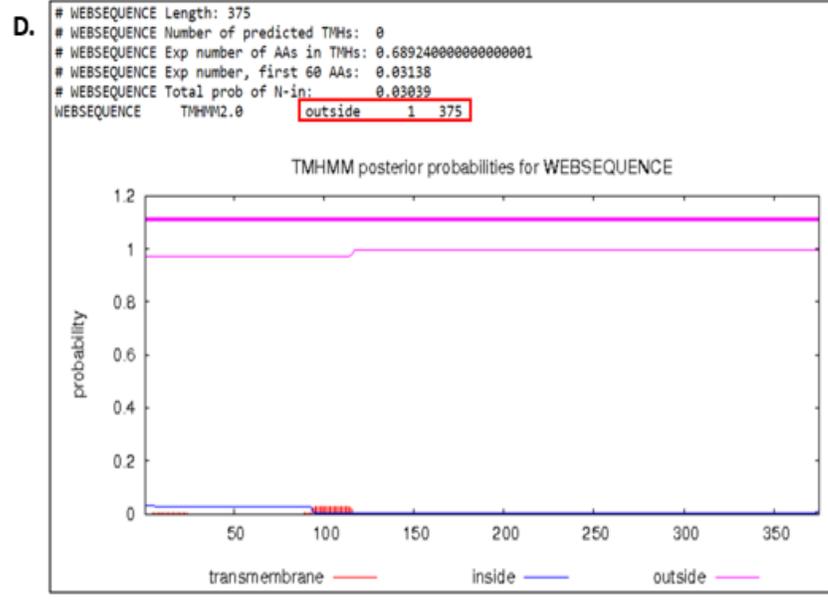
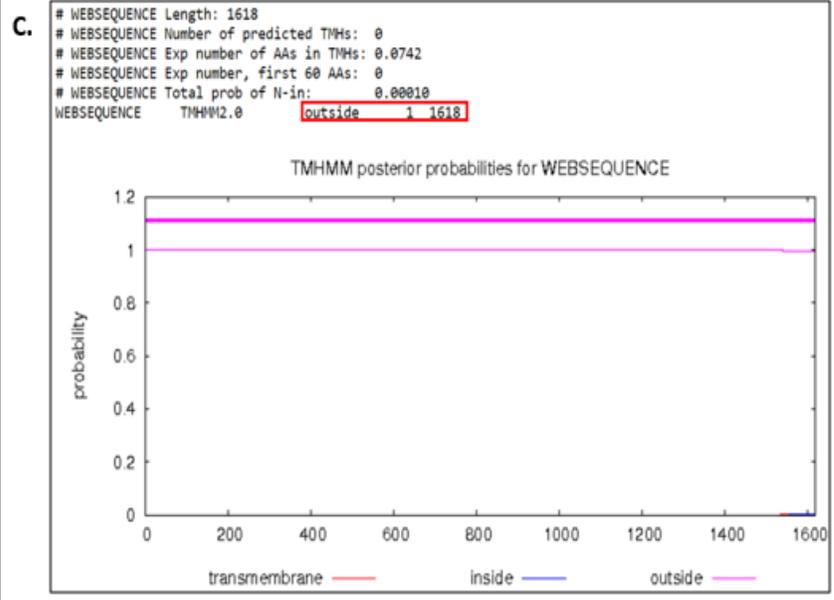
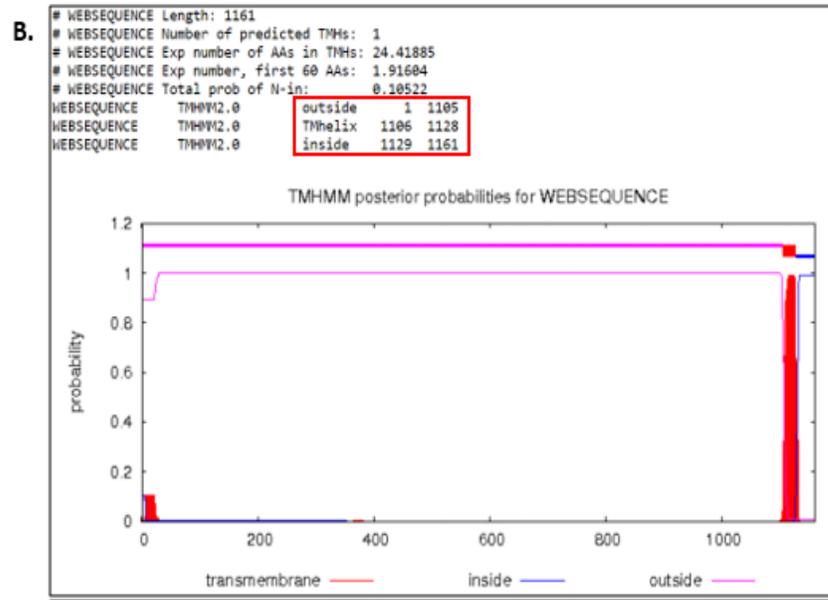
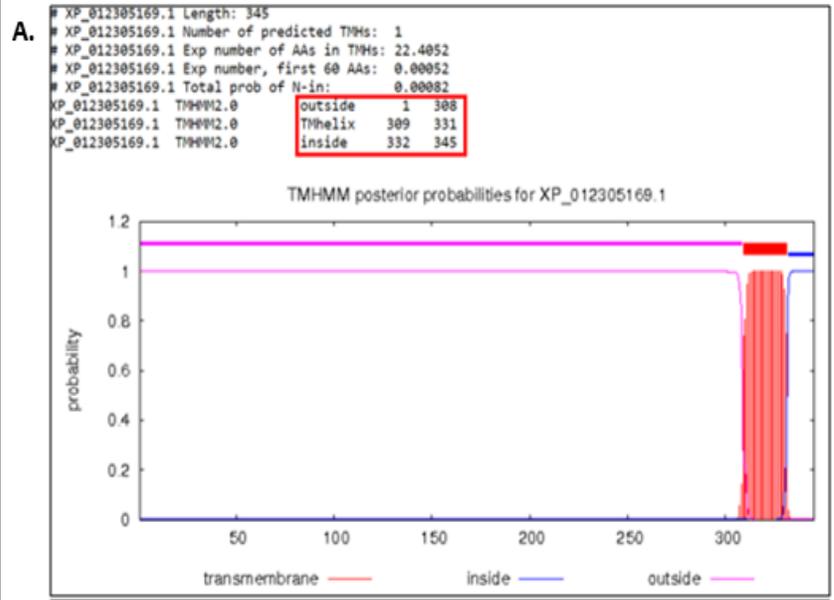
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PREDICCIÓN “*in silico*” DE SECUENCIAS PEPTÍDICAS

CÉLULA DE ORIGEN	RECEPTOR DE MEMBRANA	NÚMERO DE ACCESO (NCBI Protein)	LONGITUD (aa)
CÉLULA DENDRÍTICA	BDCA-1	XP_12305169.1	345
CÉLULA DENDRÍTICA	CD11c	XP_012325376.1	1161
CÉLULA DENDRÍTICA	CD103	XP_021526954.1	1618
MONOCITO	CD14	XP_012324561.1	375

Cabrera - 2018 - México
- Uniprot y Switt-Prot
- Predicción para *T. gondii*.

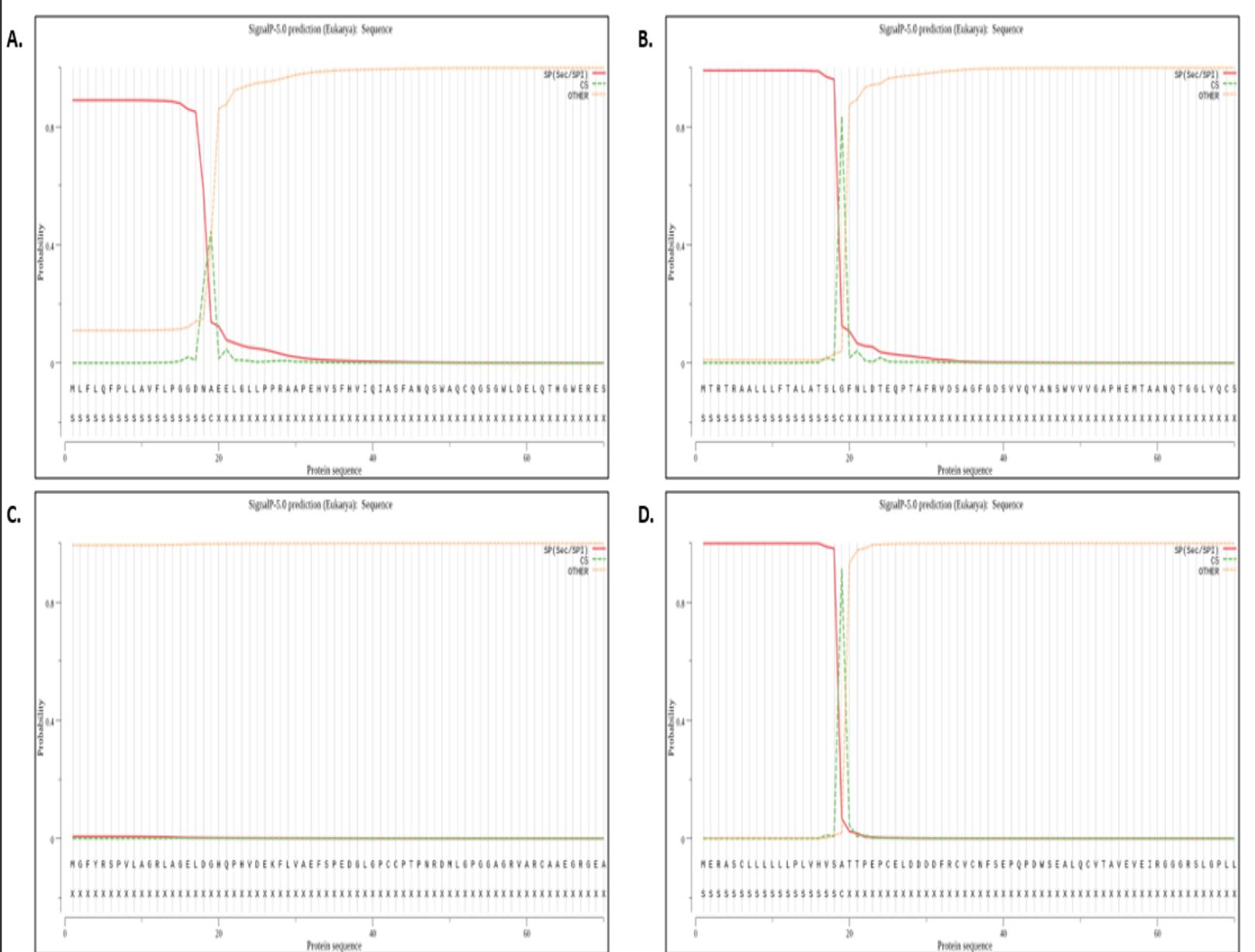
Determinación del fragmento extracelular



RECEPTOR	UBICACIÓN
A. BDCA-1	1 – 308 aa.
B. CD11c	1 - 1105 aa.
C. CD103	1-1618 aa.
D. CD14	1-375 aa.

TMHMM Server

Predicción del péptido señal

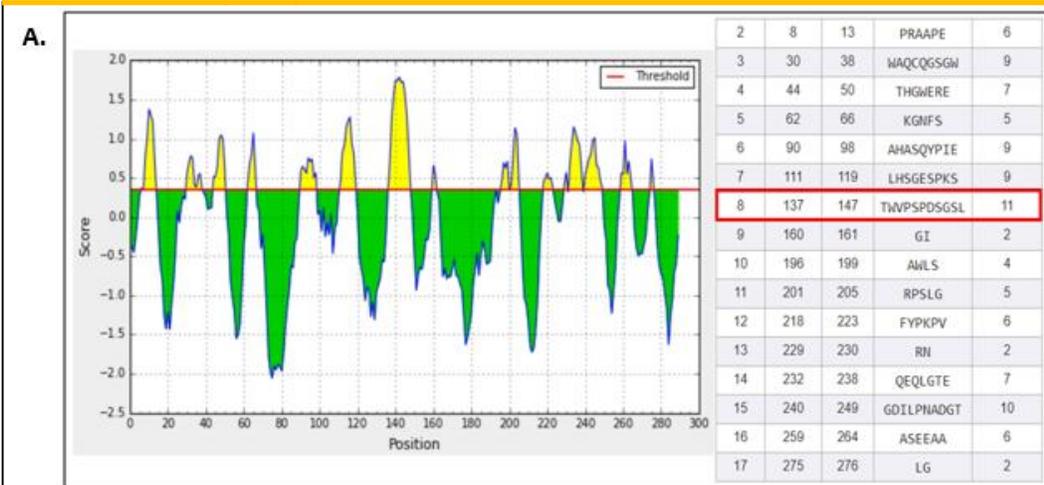


RECEPTOR	UBICACIÓN
A. BDCA-1	1 – 19 (DNA-EE).
B. CD11c	1 – 19 (SLG-FN).
C. CD103	NO POSEE.
D. CD14	1 – 19 (VSA-YY).

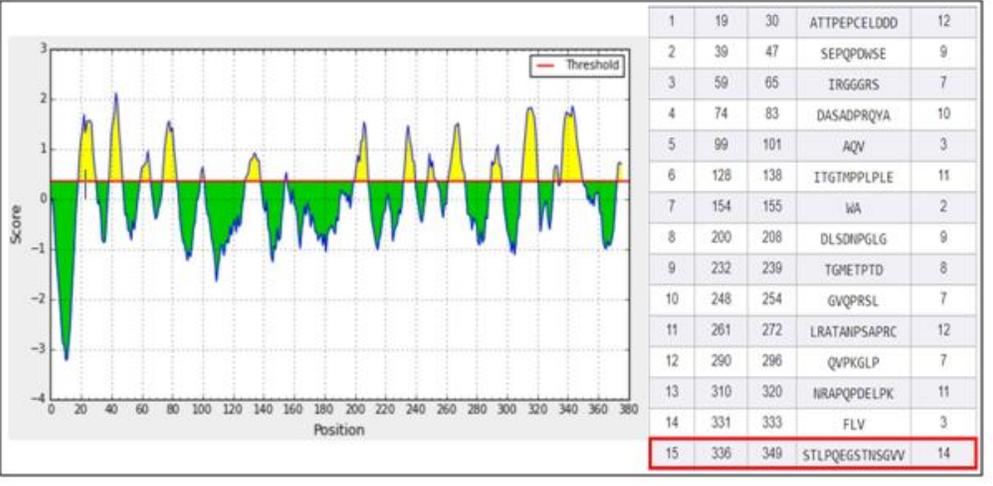
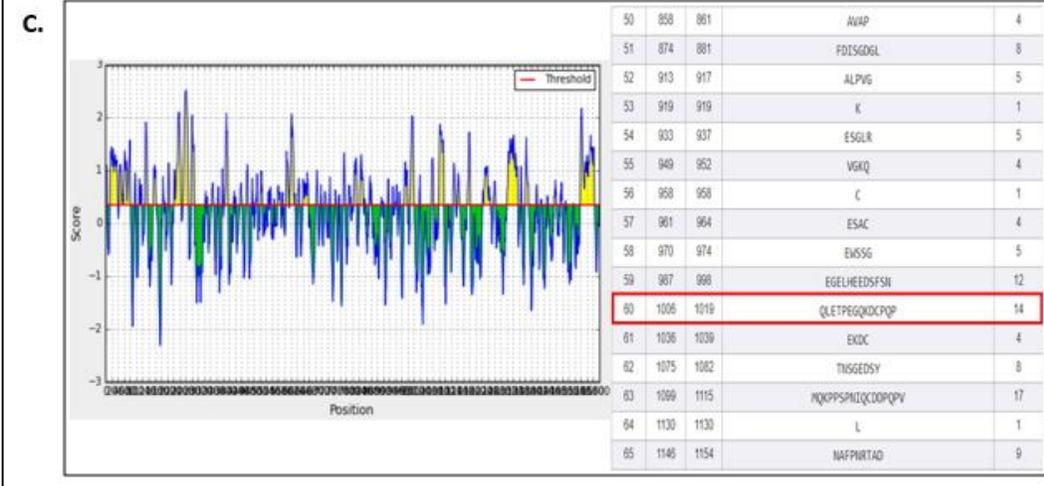
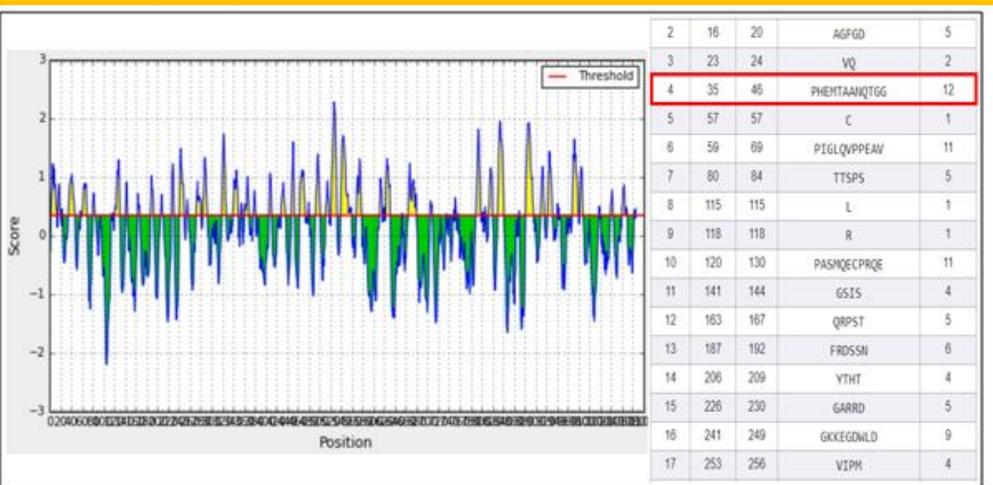
SignalP 4.0 Server

Predicción de epítopes B

BDCA-1 **11** **137 – TWVPSPDSGSL – 147**



CD11c **12** **35 – PHEMTAANQTGG – 46**



CD103 **14** **1006 – QLETPEGQKDCPQP – 1019**

CD14 **14** **336 – STLPQEGSTNSGVV – 349**

Predicción de epítopes T

A.	H2-IEd	1	121	135	FQVAFKGVALLNFQN	smm	58.33
	H2-IEd	1	122	136	QVAFKGVALLNFQNT	smm	60.89
	H2-IEd	1	123	137	VAFKGVALLNFQNTT	smm	70.55
	H2-IEd	1	124	138	AFKGVALLNFQNTTW	smm	70.16

B.	H2-IEd	1	19	33	GDSVQYANSWVVVG	smm	63.03
	H2-IEd	1	20	34	DSVVQYANSWVVVGA	smm	51.59
	H2-IEd	1	21	35	SVVQYANSWVVVGAP	smm	53.19
	H2-IEd	1	22	36	VVQYANSWVVVGAPH	smm	46.10

C.	H2-IEd	1	990	1004	LHEEDSFSNASIKVS	smm	55.38
	H2-IEd	1	991	1005	HEEDSFSNASIKVSY	smm	55.09
	H2-IEd	1	992	1006	EEDSFSNASIKVSYQ	smm	55.62
	H2-IEd	1	993	1007	EDSFSNASIKVSYQL	smm	61.18

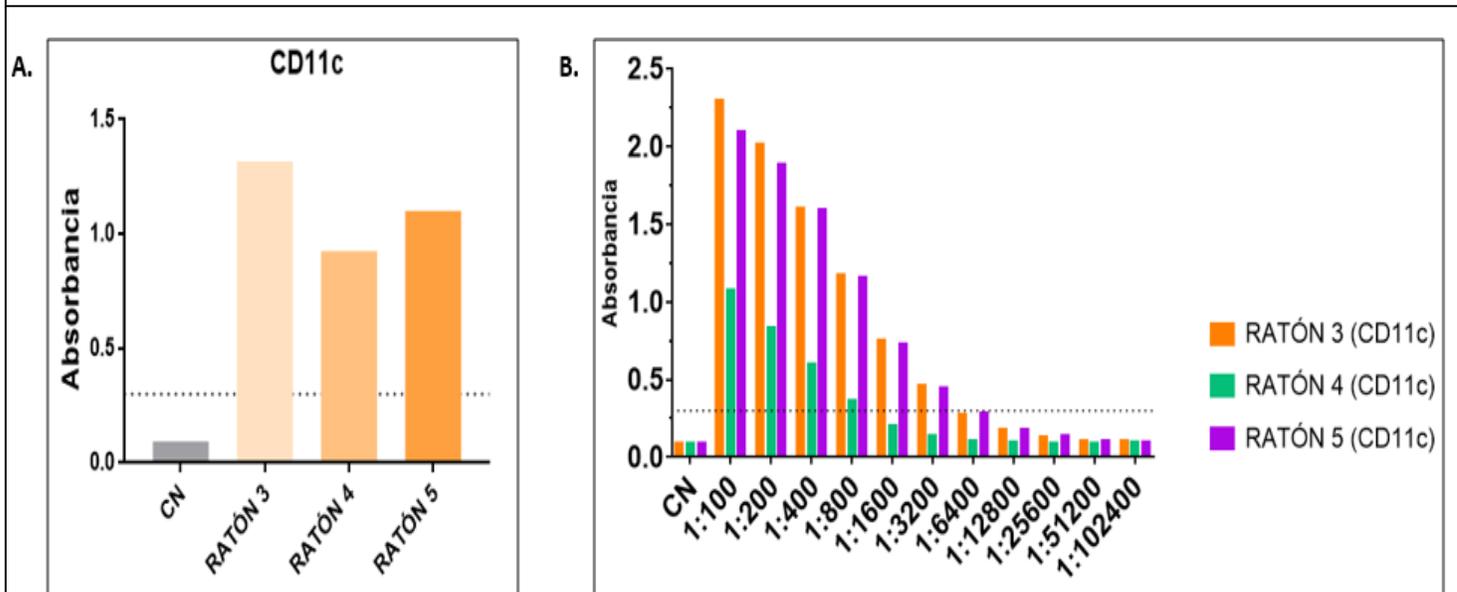
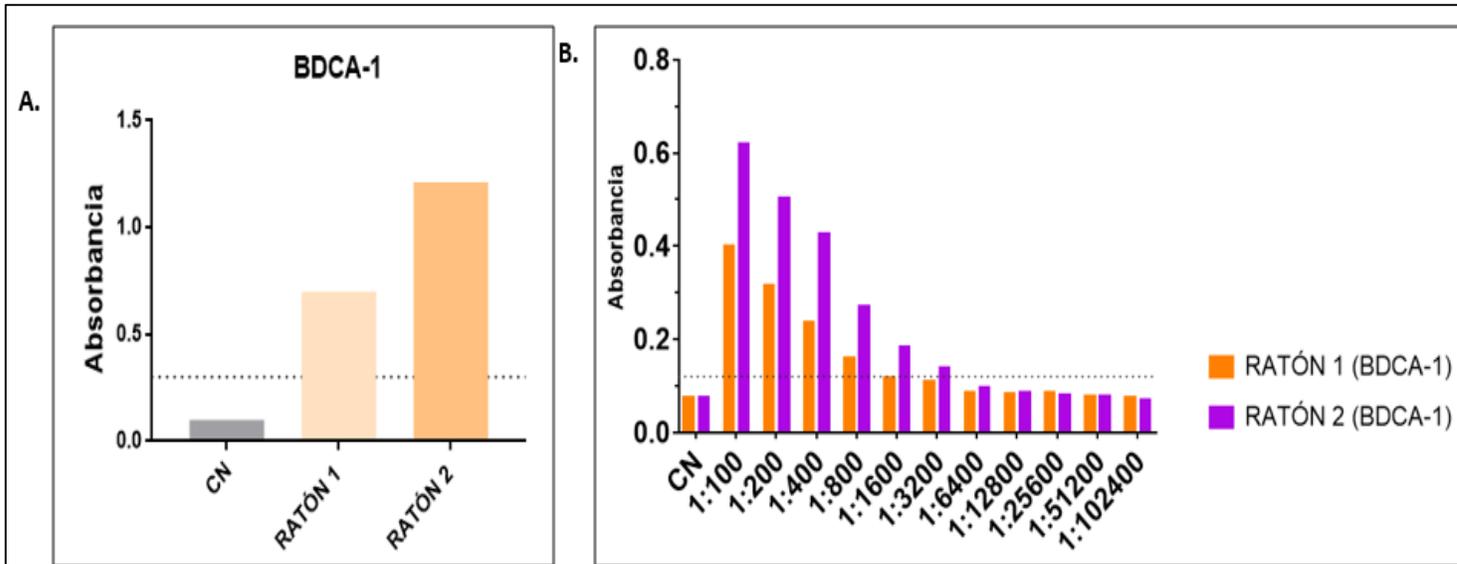
D.	H2-IEd	1	317	331	ELPKVDNLILDGNPF	smm	75.29
	H2-IEd	1	318	332	LPKVDNLILDGNPFL	smm	75.78
	H2-IEd	1	319	333	PKVDNLILDGNPFLV	smm	75.78
	H2-IEd	1	320	334	KVDNLILDGNPFLVP	smm	75.78

PROTEINA	LONGITUD DEL EPÍTOPE T	SECUENCIA
A. BDCA-1	15	122 – QVAFKGVALLNFQNT - 136
B. CD11c	15	20 – DSVVQYANSWVVVGA - 34
C. CD103	15	991 – HEEDSFSNASIKVSY - 1005
D. CD14	15	320 – KVDNLILDGNPFLVP - 334

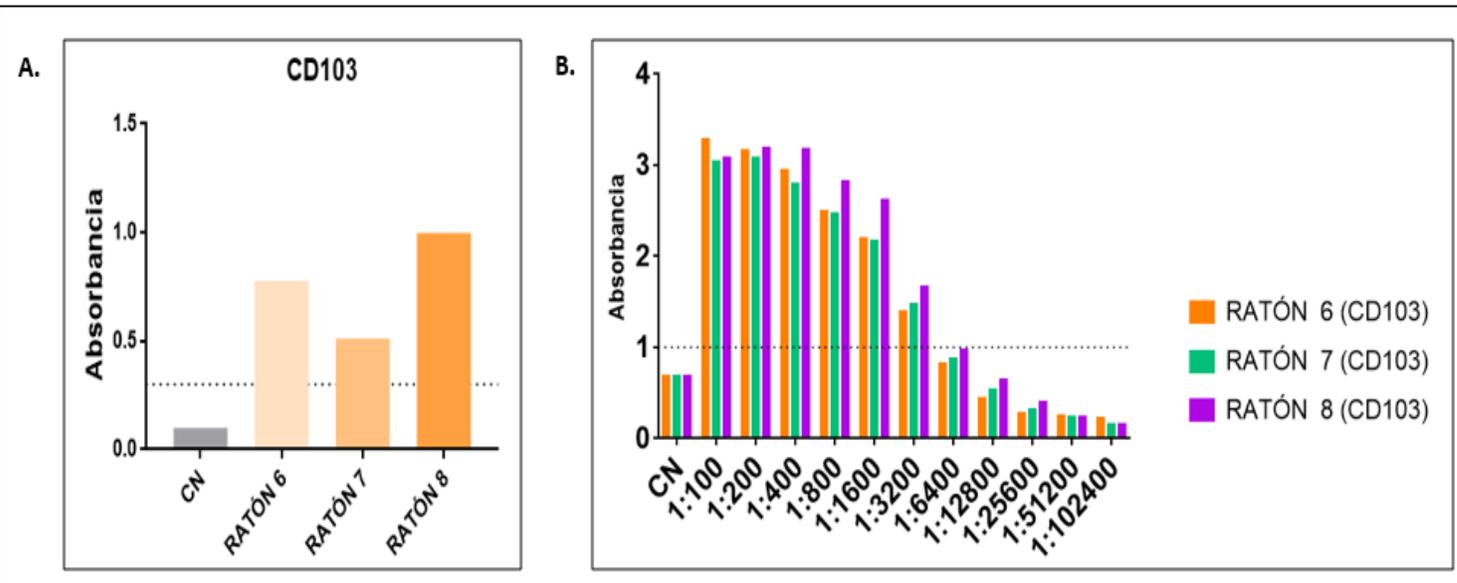
Determinación de secuencias

PROTEINA	LONGITUD TOTAL (aa)	LONGITUD DE LA SECUENCIA SINTETIZADA	SECUENCIA SINTETIZADA
BDCA-1	308	28	122-QVAFKGVALLNFQNTTWVPSDPSGSLAQ-149
CD11c	1105	28	20-DSVVQYANSWVVVGAPHEMTAANQTGGL-47
CD103	1618	29	991-HEEDSFSNASIKVSYQLETPEGQKDCPQP-1010
CD14	375	30	320-KVDNLILDGNPFLVPSTLPQEGSTNGSVVP-350

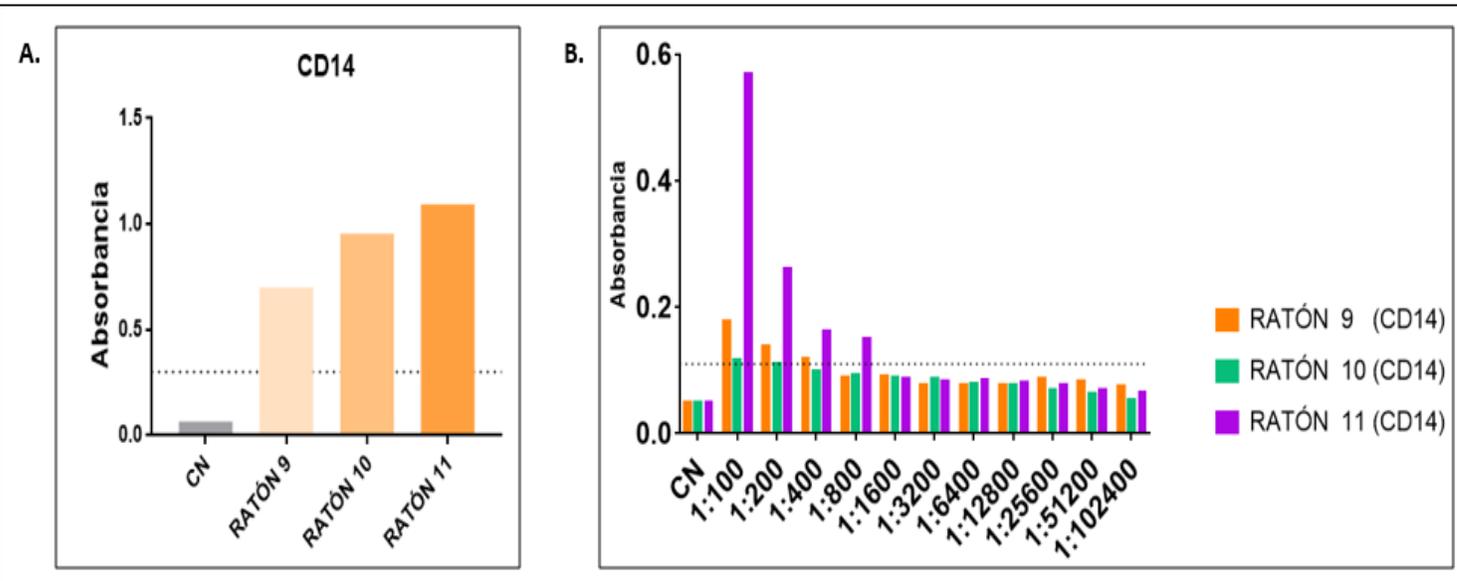
EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LOS RATONES



RECEPTOR DE MEMBRANA	RATÓN ESCOGIDO	TÍTULO ALCANZADO
BDCA-1	N° 2	1:3200
CD11c	N° 3	1:3200



RECEPTOR DE MEMBRANA	RATÓN ESCOGIDO	TÍTULO ALCANZADO
CD103	Nº 8	1:3200
CD14	Nº 11	1:800



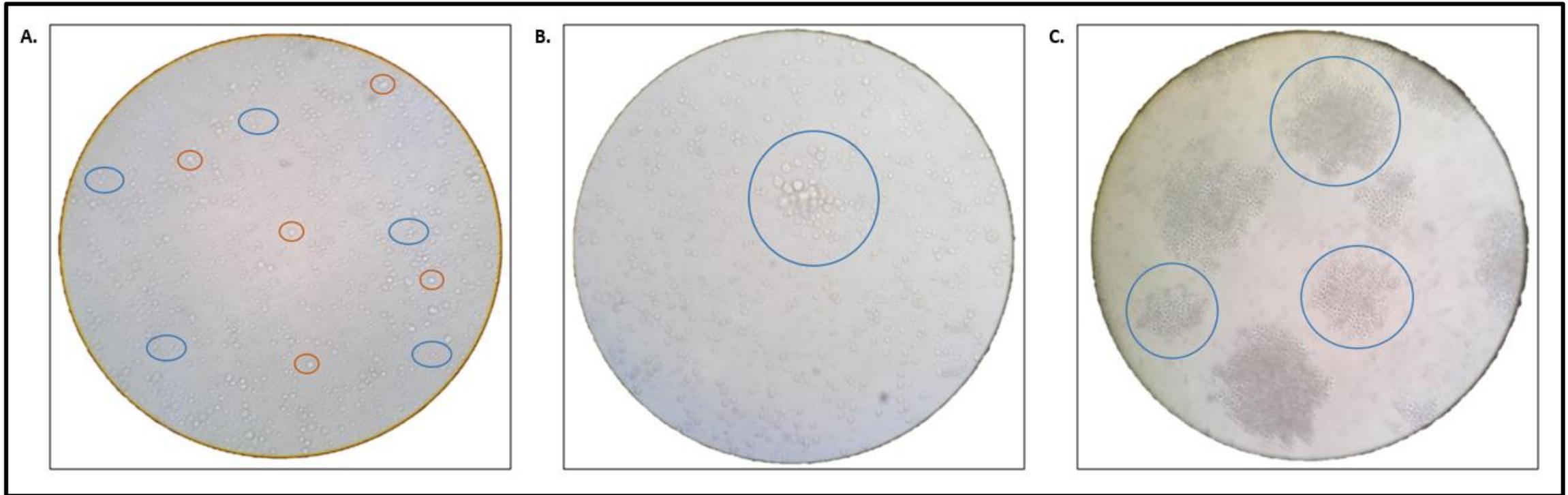
Blanco - 2015 - España

- Usó 4 ratones
- mAbs contra Salmonella

Vanasco - 2001 - EEUU

- Validó ELISA para el seguimiento durante la producción de mAbs.

FUSIÓN CELULAR



DÍA 0

DÍA 12

DÍA 16

Esplenocitos
Células PAI

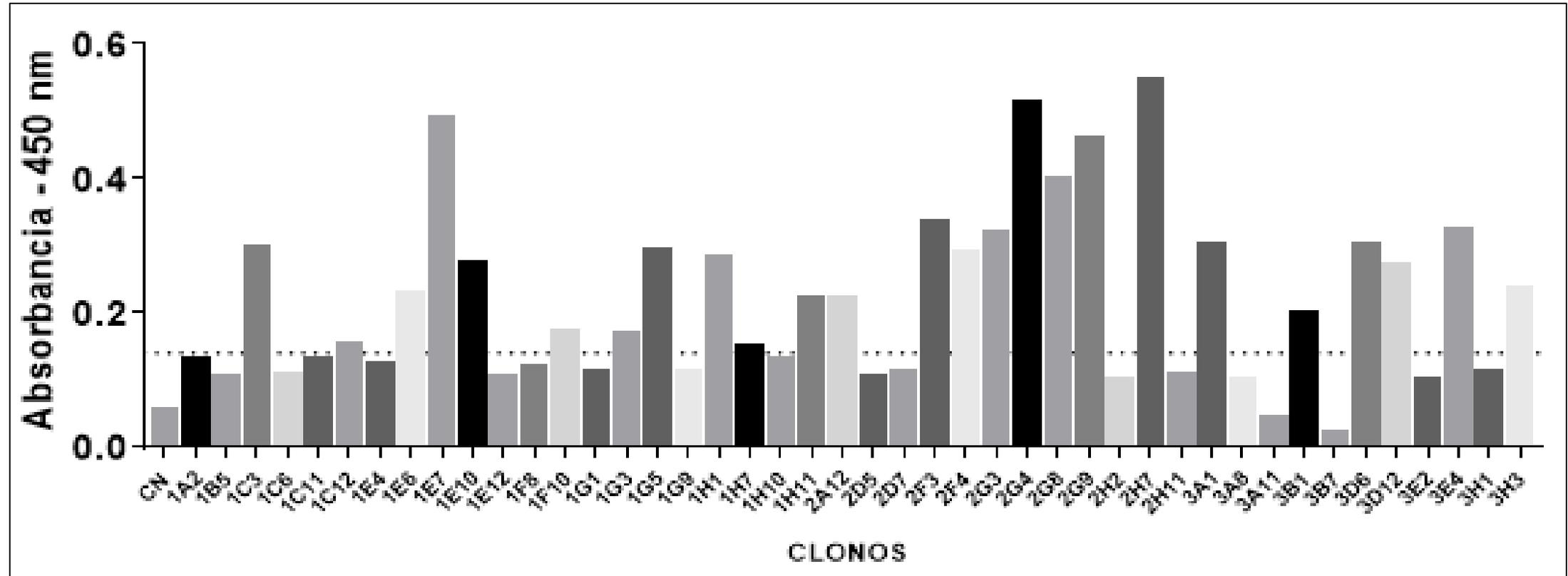
Taylor y col -2015 - UK

- Clonos de manera mas rápida contra Baculovirus
- Cambio de relación PAI:EPT

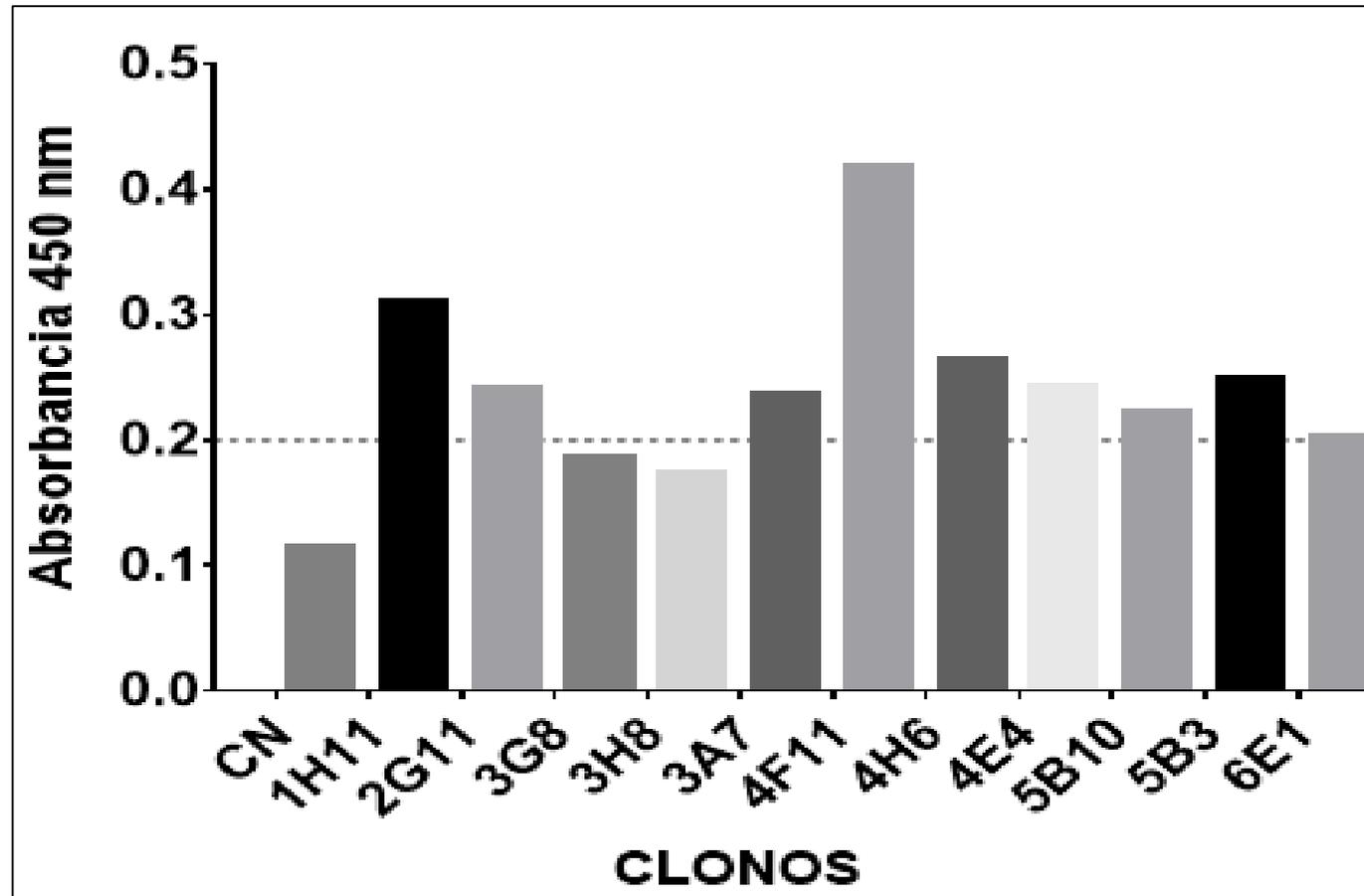
Dreyer - 2010 - EEUU

- Usó células PAI por su estabilidad y homogeneidad

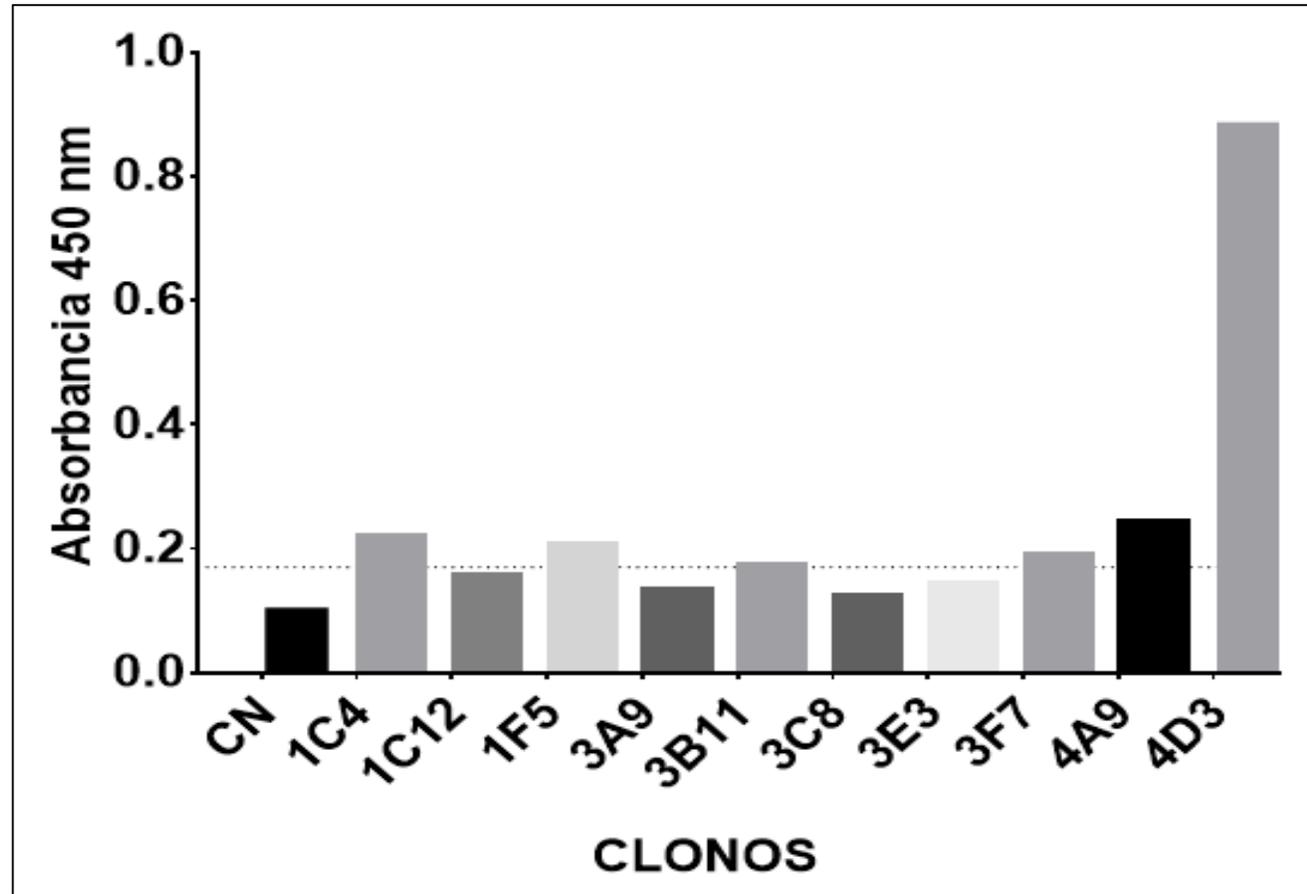
EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LOS CLONOS



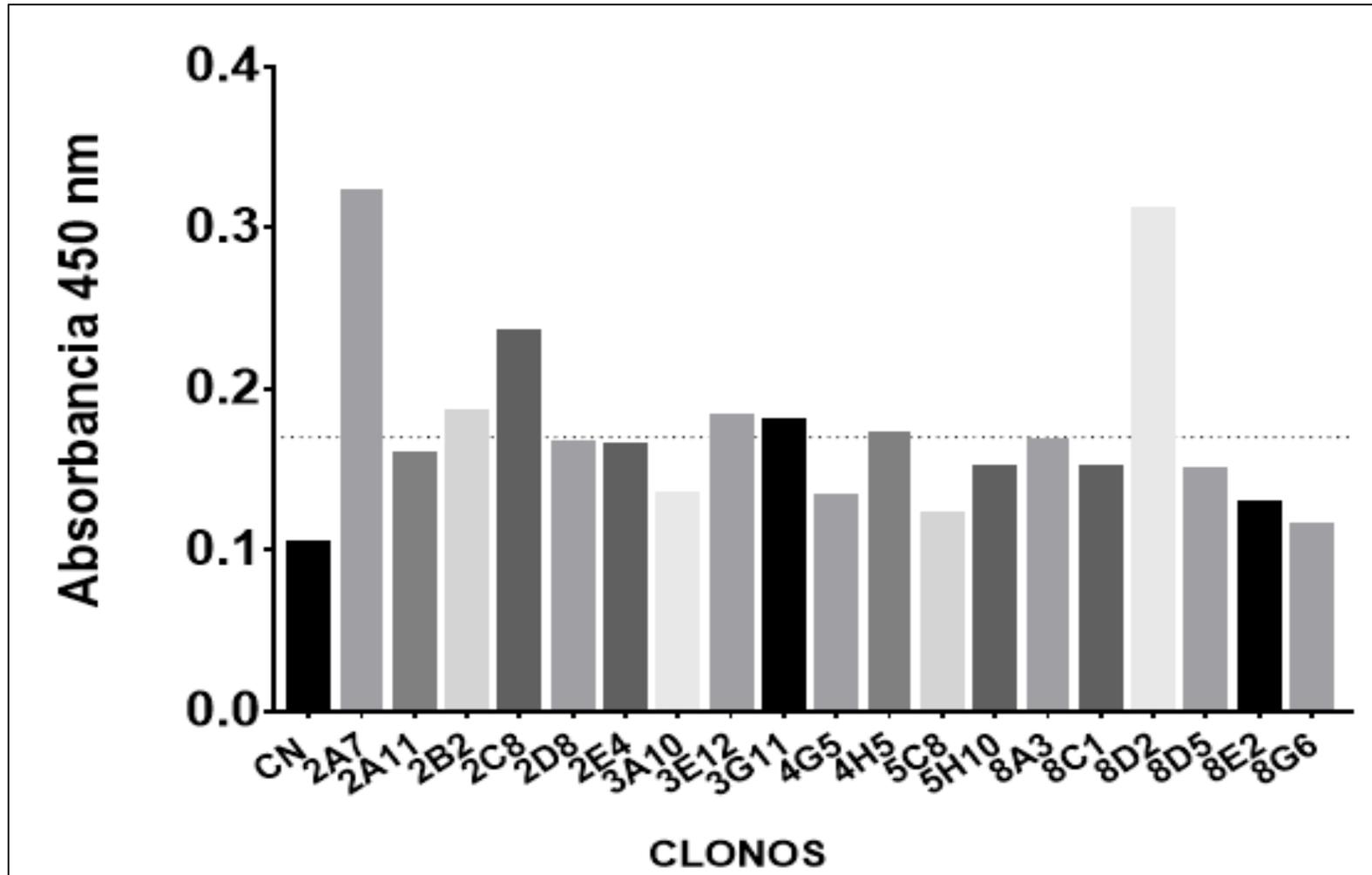
RECEPTOR DE MEMBRANA	NÚMERO DE CLONOS OBTENIDOS	NÚMERO DE CLONOS REACTIVOS
BDCA-1	34	25



RECEPTOR DE MEMBRANA	NÚMERO DE CLONOS OBTENIDOS	NÚMERO DE CLONOS REACTIVOS
CD11c	11	9

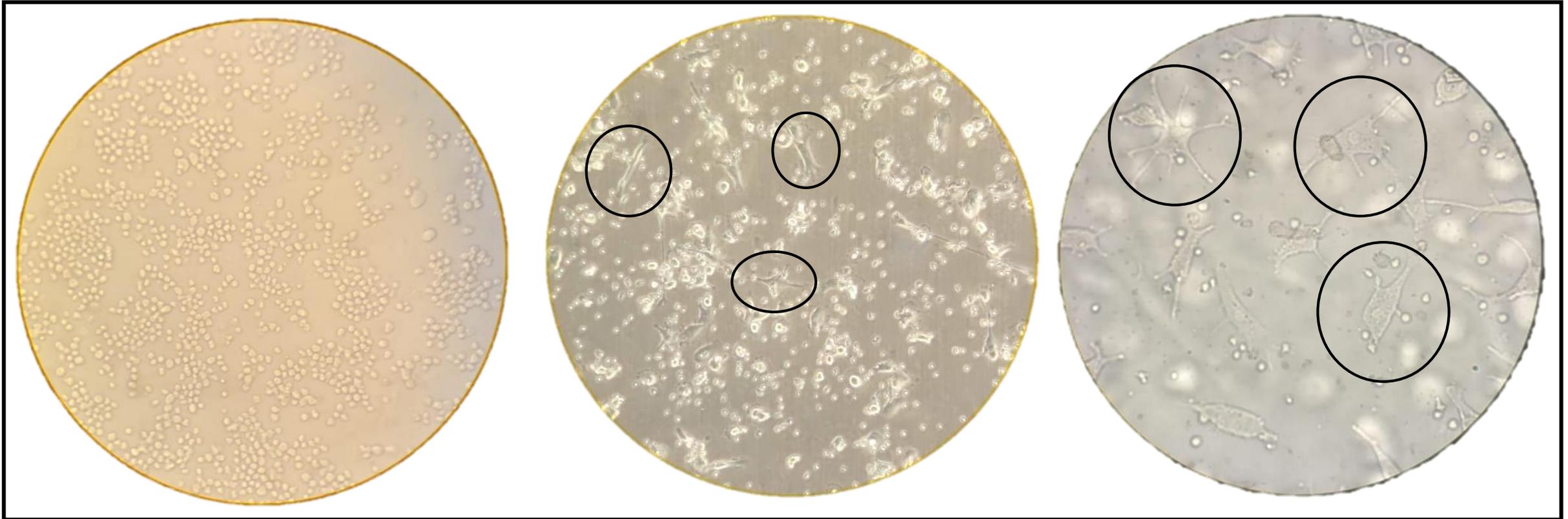


RECEPTOR DE MEMBRANA	NÚMERO DE CLONOS OBTENIDOS	NÚMERO DE CLONOS REACTIVOS
CD103	10	6



RECEPTOR DE MEMBRANA	NÚMERO DE CLONOS OBTENIDOS	NÚMERO DE CLONOS REACTIVOS
CD14	19	7

CULTIVO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS HUMANAS



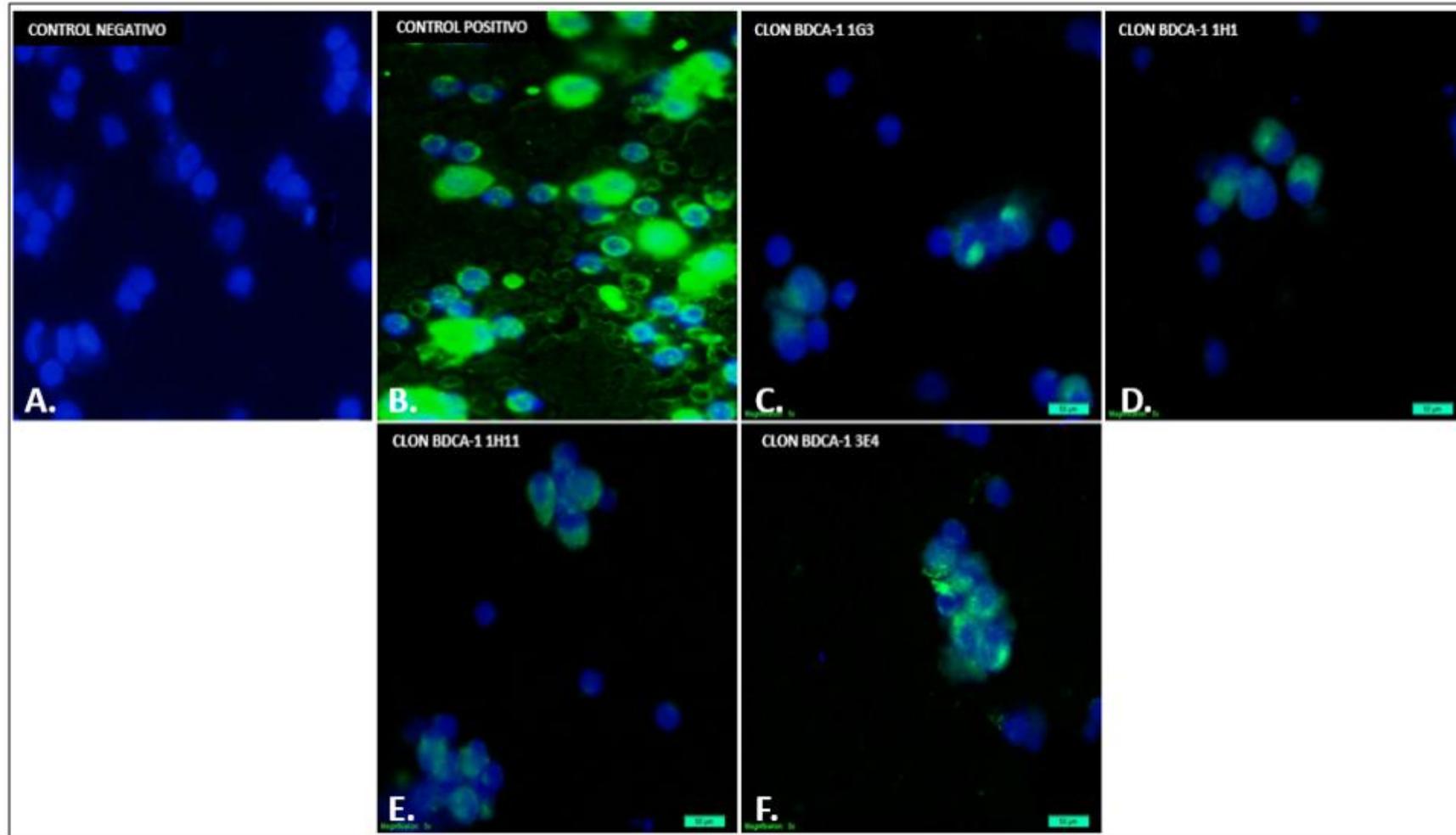
DÍA 0

DÍA 5

DÍA 12

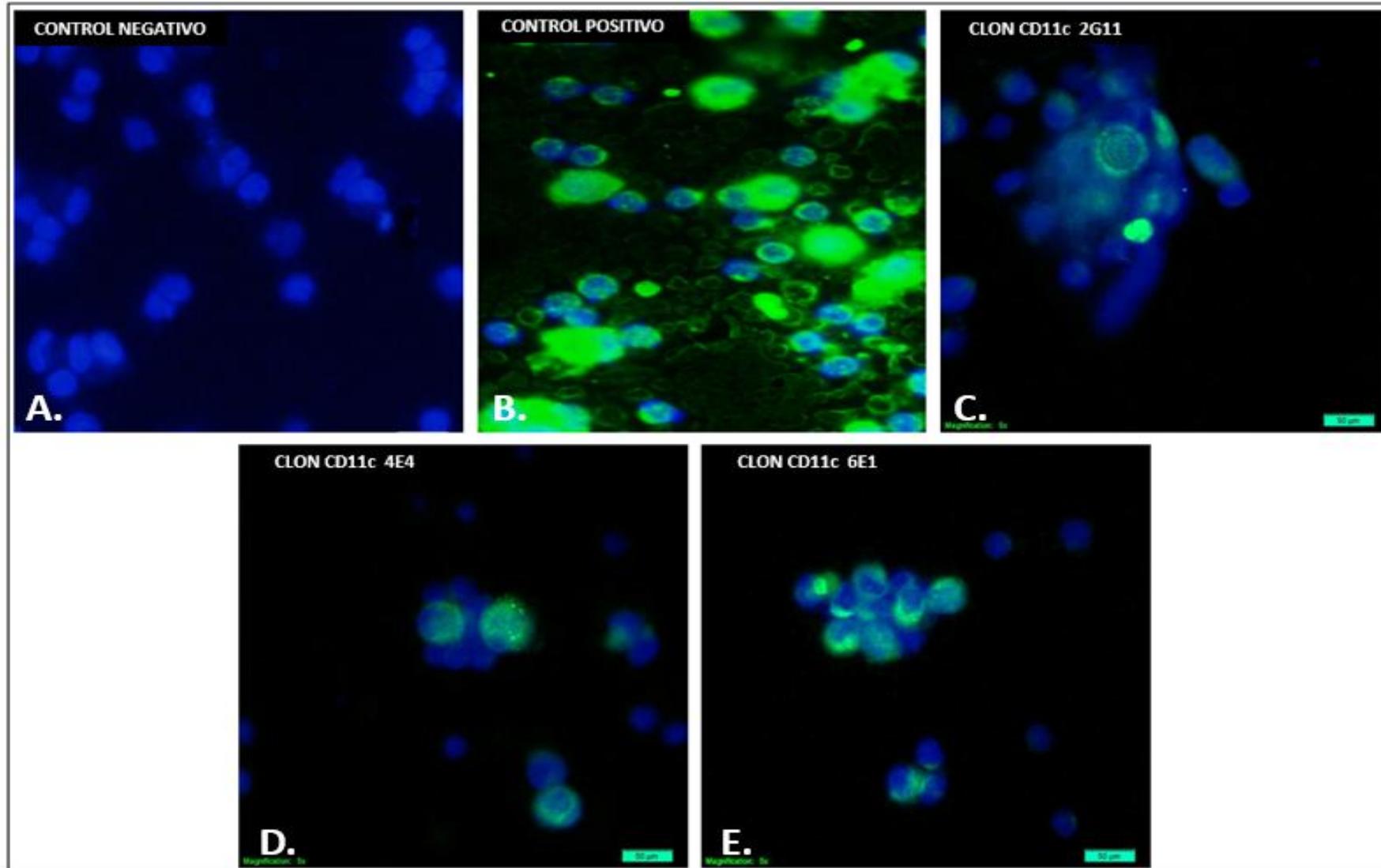
EVALUACIÓN DE CLONES SOBRE CÉLULAS BLANCO DE HUMANO

Clones para BDCA-1



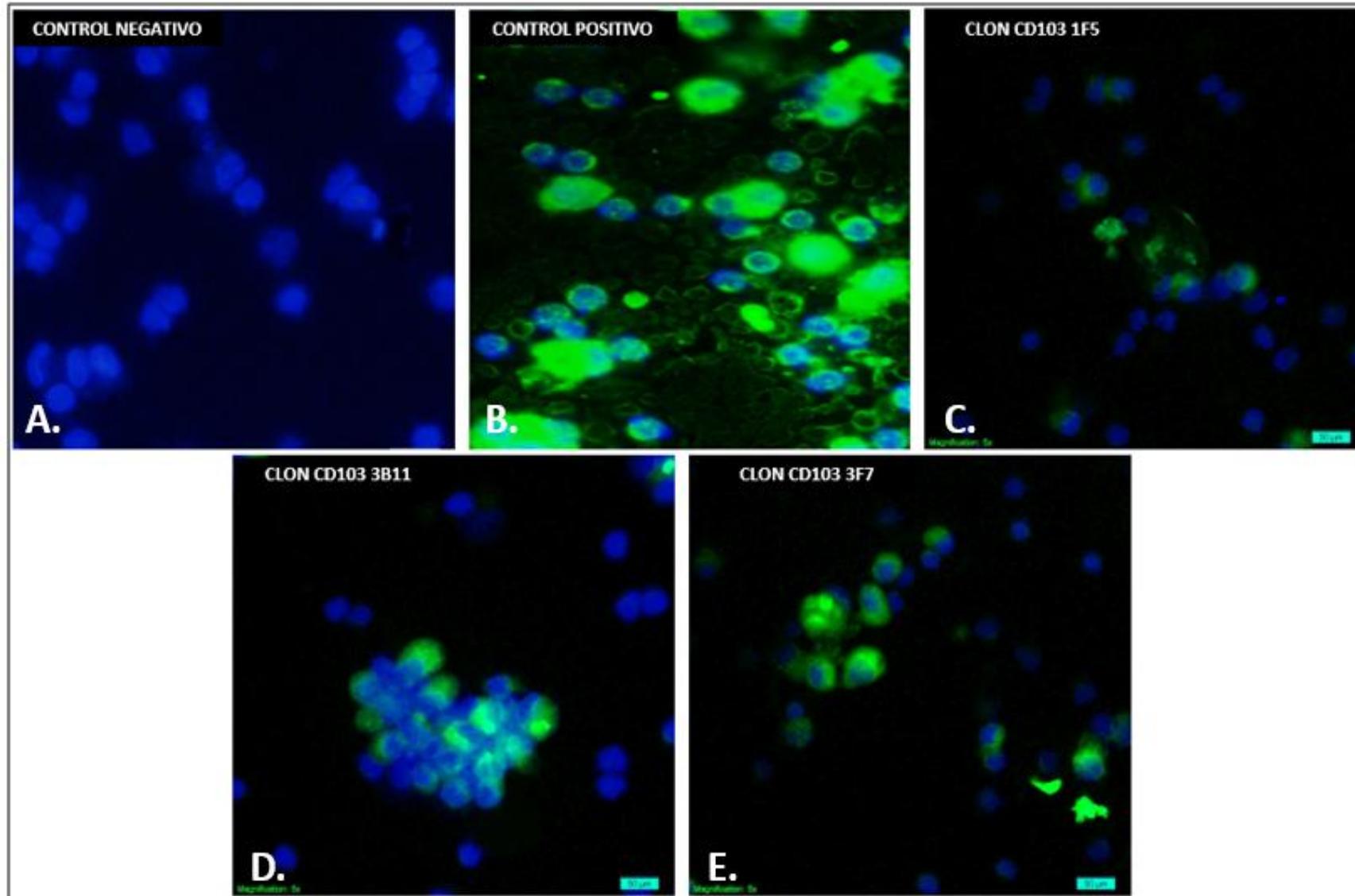
A: Control negativo. **B:** Control positivo. **C:** Clon 1G3. **D:** Clon 1H1. **E:** Clon 1H11. **F:** Clon 3E4.

Clones para CD11c



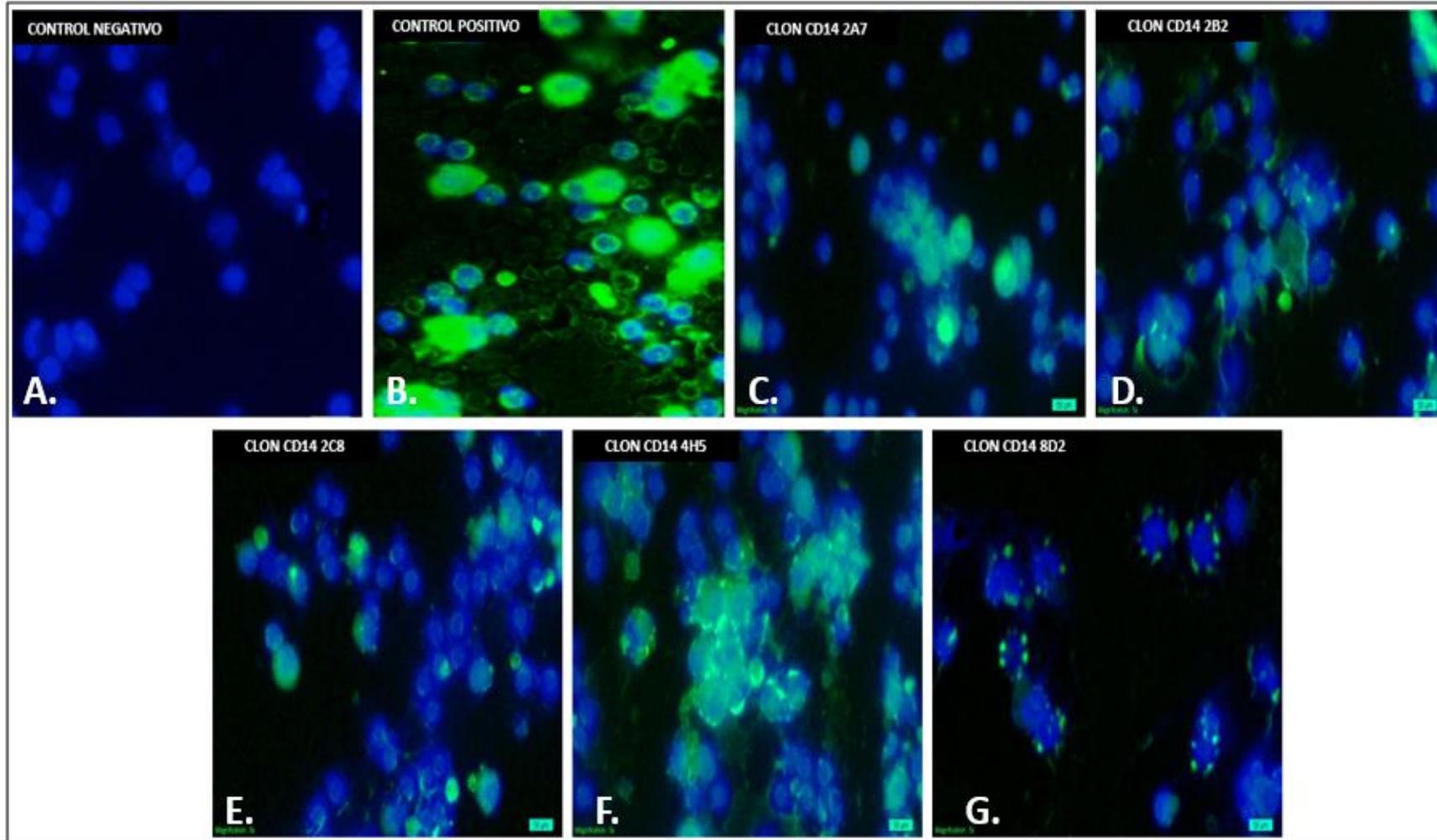
A: Control negativo. **B:** Control positivo. **C:** Clon 2G11. **D:** Clon 4E4. **E:** Clon 6E1.

Clones para CD103



A: Control negativo. **B:** Control positivo. **C:** Clon 1F5. **D:** Clon 3B11. **E:** Clon 3F7.

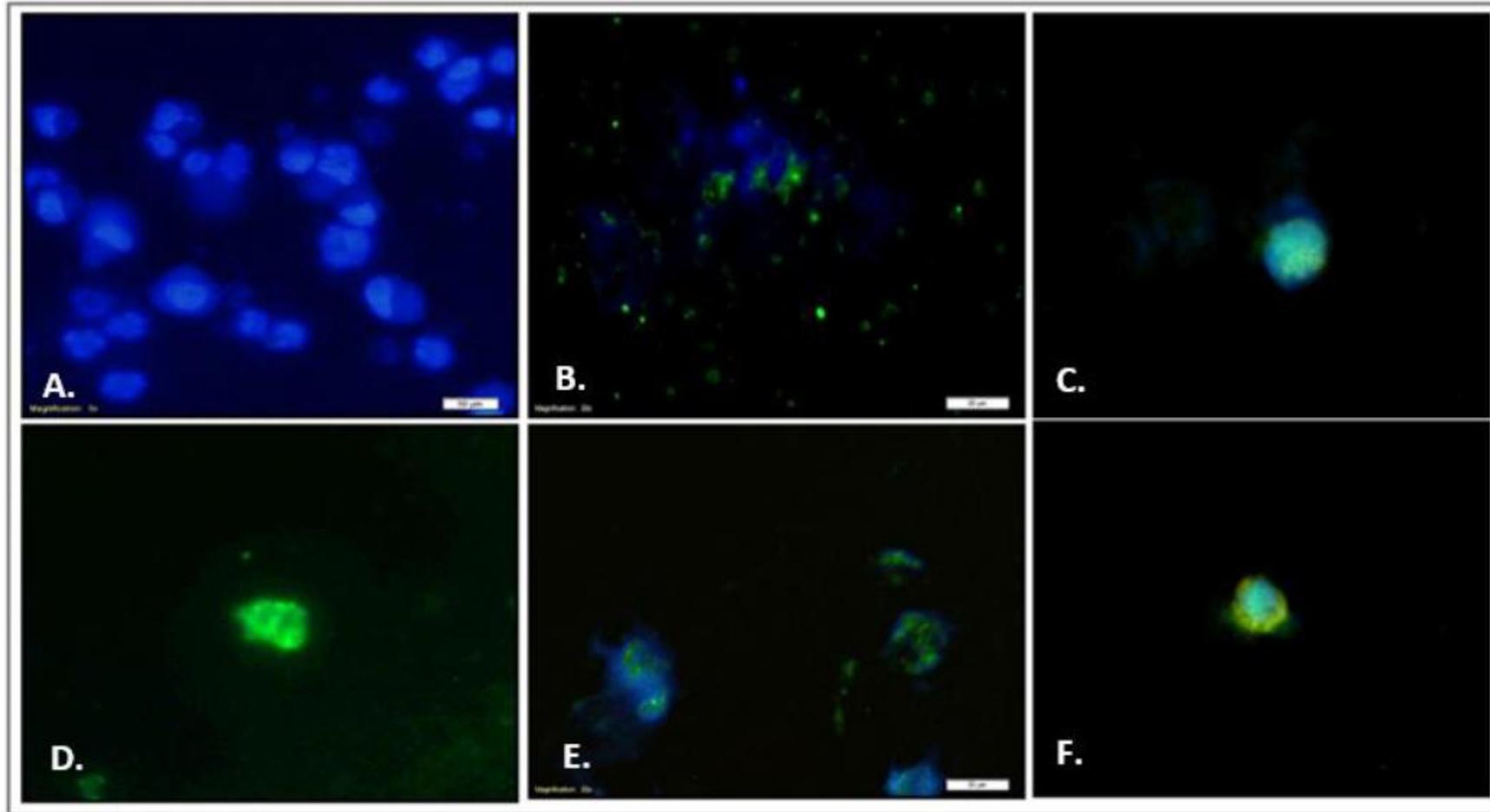
Clones para CD14



A: Control negativo. **B:** Control positivo. **C:** Clon 2A7 **D:** Clon 2B2. **E:** Clon 2C8. **F:** Clon 4H5. **G:** 8D2.

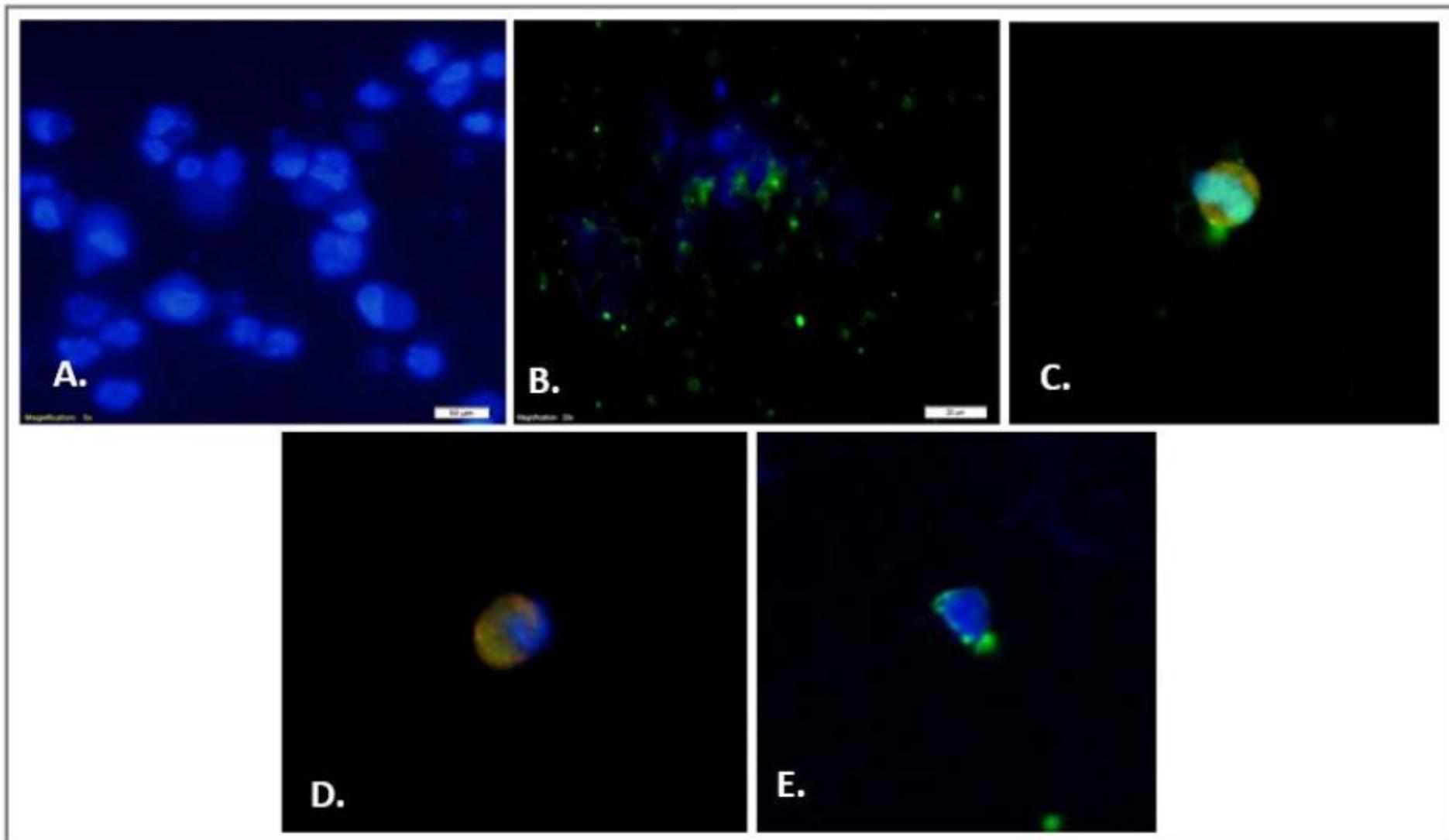
CLONES PROBADOS EN SANGRE PERIFÉRICA DE *Aotus* spp

Clones para BDCA-1



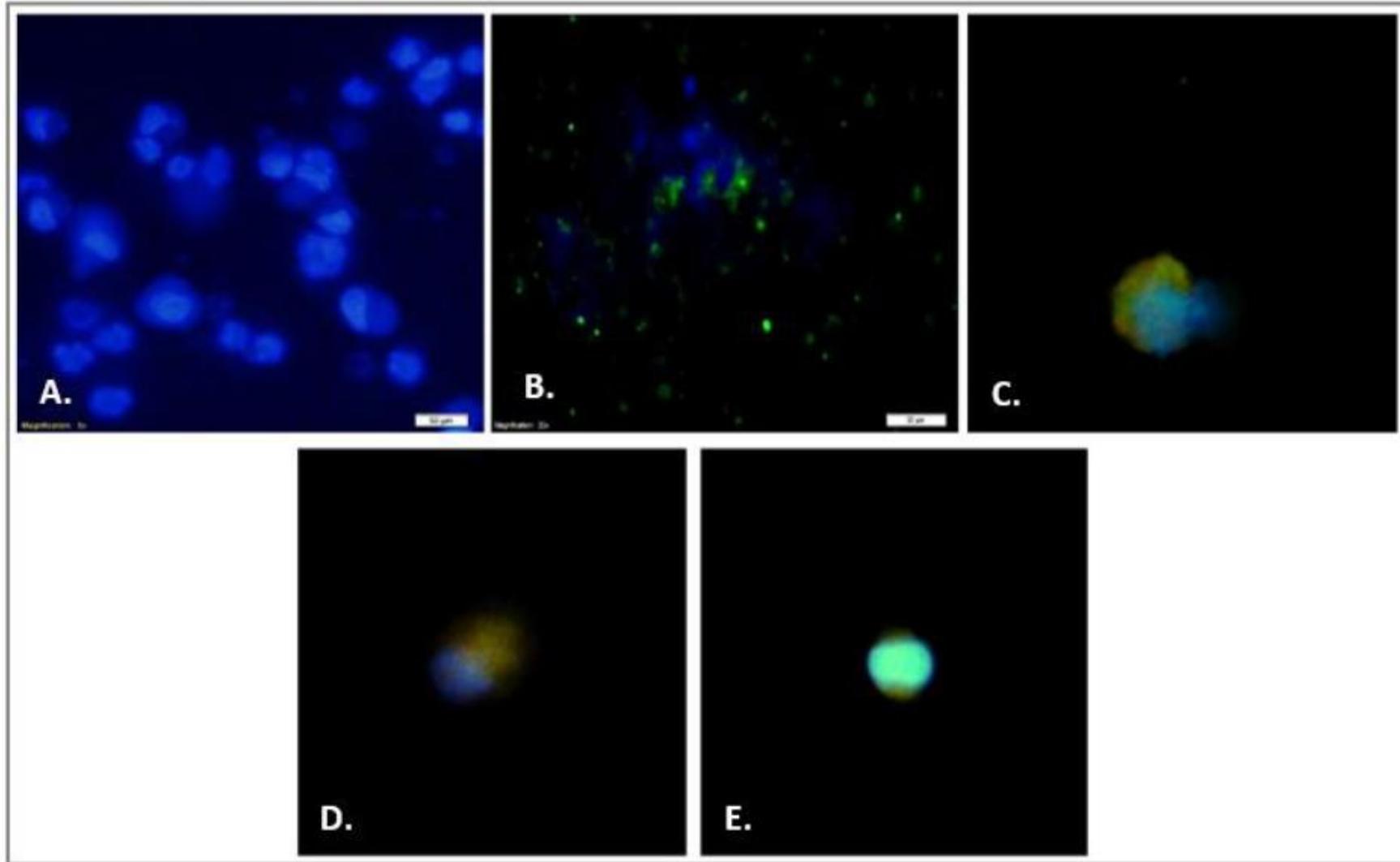
A: Control negativo. **B:** Control positivo. **C:** Clon 1H11. **D:** Clon 1G3. **E:** Clon 3E4. **F:** Clon 1H1₁₇

Clones para CD11c



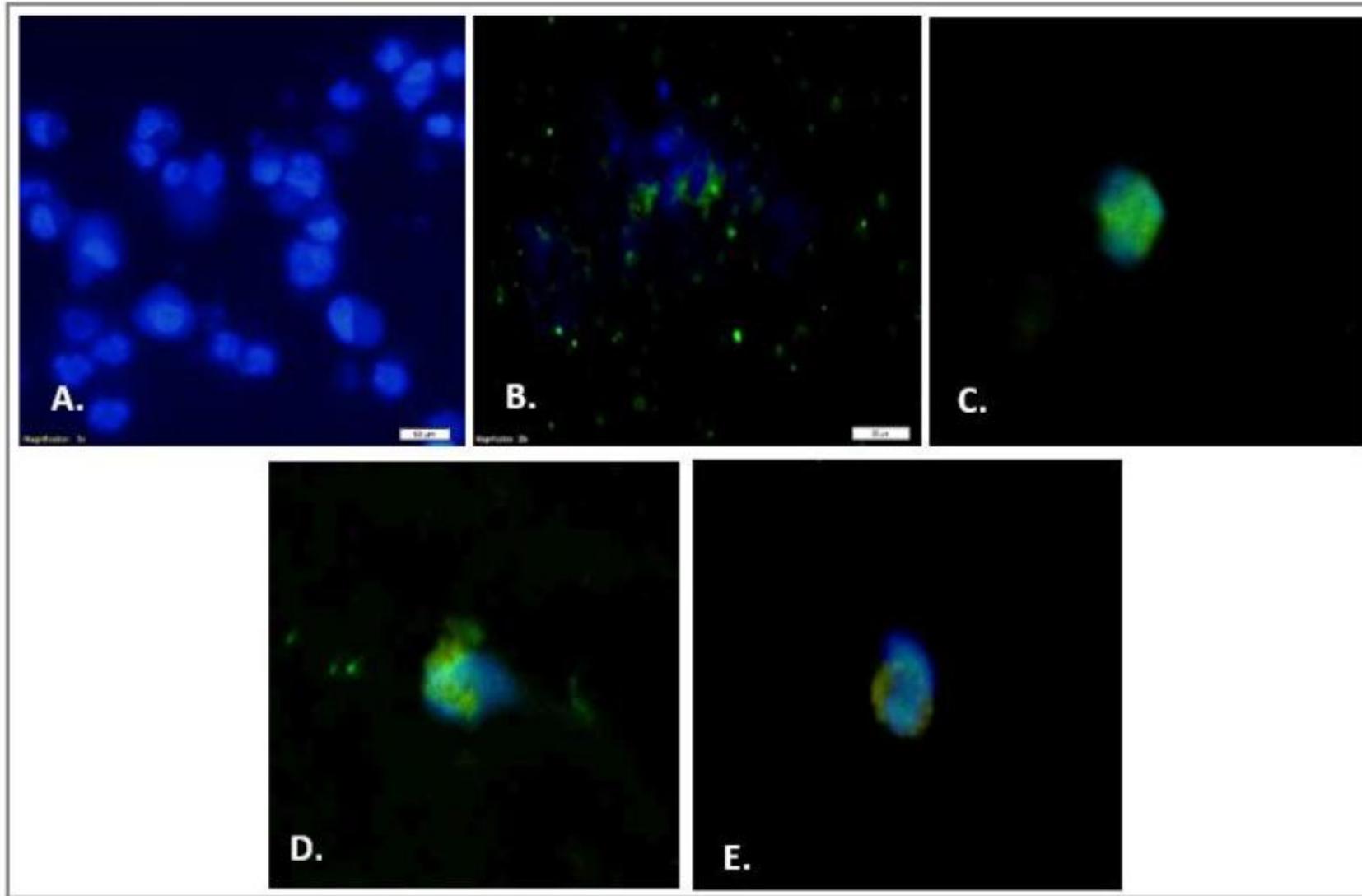
A: Control negativo. **B:** Control positivo. **C:** Clon 2G11. **D:** Clon 6E1. **E:** Clon 4E4.

Clones para CD103



A: Control negativo. **B:** Control positivo. **C:** Clon 3F7. **D:** Clon 1F5. **E:** Clon 3B11.

Clones para CD14



A: Control negativo. **B:** Control positivo. **C:** Clon 8D2. **D:** Clon 2C8. **E:** Clon 2A7.

CONCLUSIONES

- El análisis “*in silico*” de los marcadores de membrana de células presentadoras de antígeno de monos *Aotus* spp., de las proteínas BDCA-1, CD11c, CD103 y CD14, permitió predecir las regiones más inmunogénicas (Epítopes B).
- Una vez generados los hibridomas se obtuvieron clones positivos frente a los péptidos sintéticos y las células diana probados mediante ELISA e inmunofluorescencia.
- Se logró obtener células dendríticas humanas a partir de monocitos de sangre periférica tras la estimulación con IL-4, GMCS-F y sobrenadante de células P388/D1 productoras de IL-6 e IL - 1 β .
- Los anticuerpos monoclonales obtenidos reconocieron el péptido sintético y las células presentadoras de antígeno tanto de humano como de primates no humanos (*Aotus* spp.).

- Los anticuerpos monoclonales obtenidos podrán ser utilizados en ensayos funcionales para evaluar la cinética de la degradación de las microesferas con péptidos sintéticos dentro de las células dendríticas de *Aotus* spp.
- Por primera vez se obtuvieron anticuerpos monoclonales contra células presentadoras de antígeno de *Aotus* spp. con reactividad cruzada en humanos.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por darnos la oportunidad de finalizar este ciclo con éxito, a mi abuelita Ana que desde el cielo sigue siendo guía del camino, a nuestras madres por todos sus esfuerzos para brindarnos lo mejor, a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por formarnos de una manera integra y valiosa, a la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia por darnos el conocimiento y todas las herramientas para llevar a cabo el trabajo hoy sustentado, a la doctora Diana Diaz por su apoyo, acompañamiento y paciencia a lo largo de este proceso y finalmente, a la doctora Edith Hernández por su asesoría y dedicación a lo largo del proyecto.

¡GRACIAS!

SÍNTESIS DE PÉPTIDOS

ACCIÓN MEDIO HAT

CLON IDEAL

mAbs NO REACTIVOS

FUNCIÓN DE MARCADORES

CEPA BALB/c

ADYUVANTE

CÉLULAS PAI

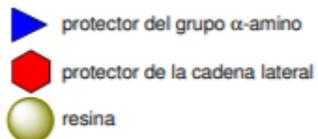
FUNDAMENTOS BIO/TICA

CONCENTRACIONES CD

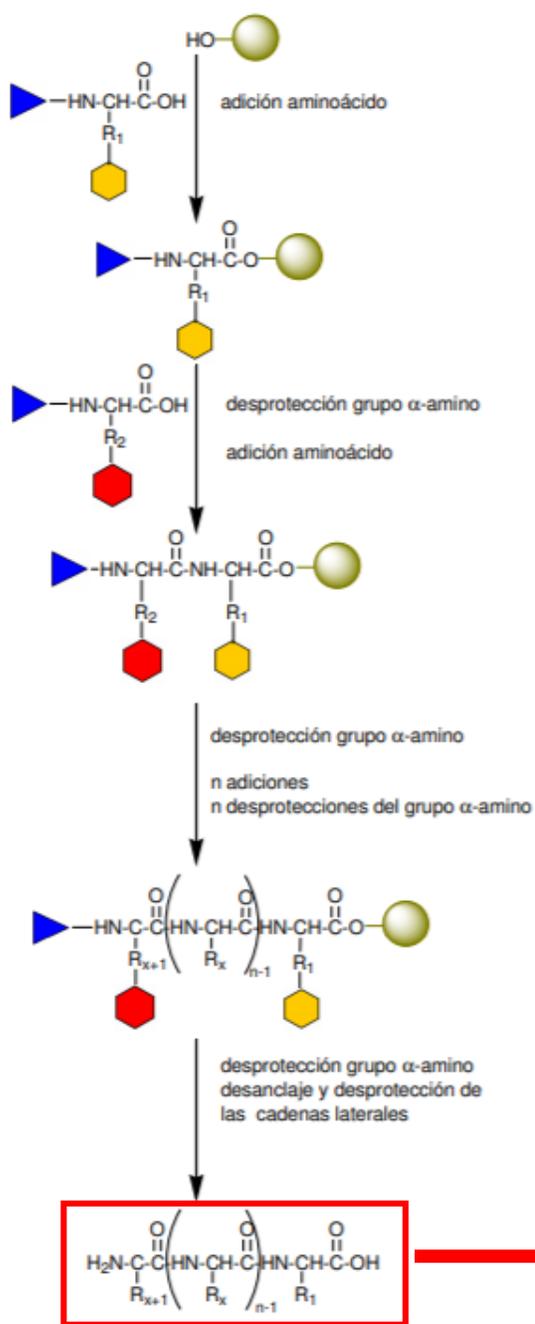
COMITÉ ÉTICO

CICLO DE VIDA *Plasmodium*

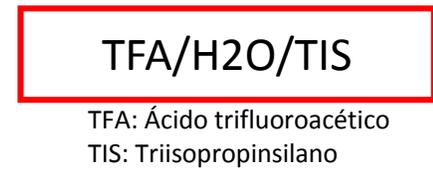
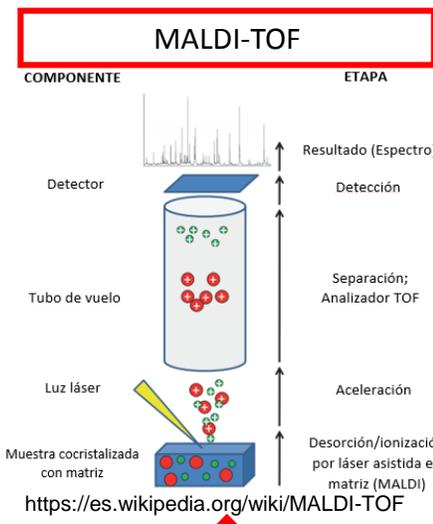
DIFERENCIACIÓN CD



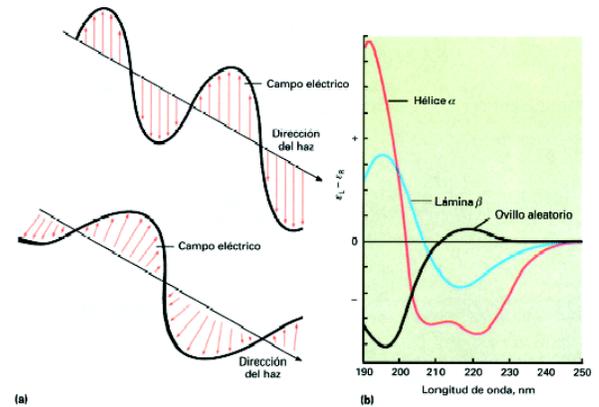
Método de Merrifield - 1969



https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/1807/01.TPE_Capitulo_1.pdf?sequence=2&isAllowed=y

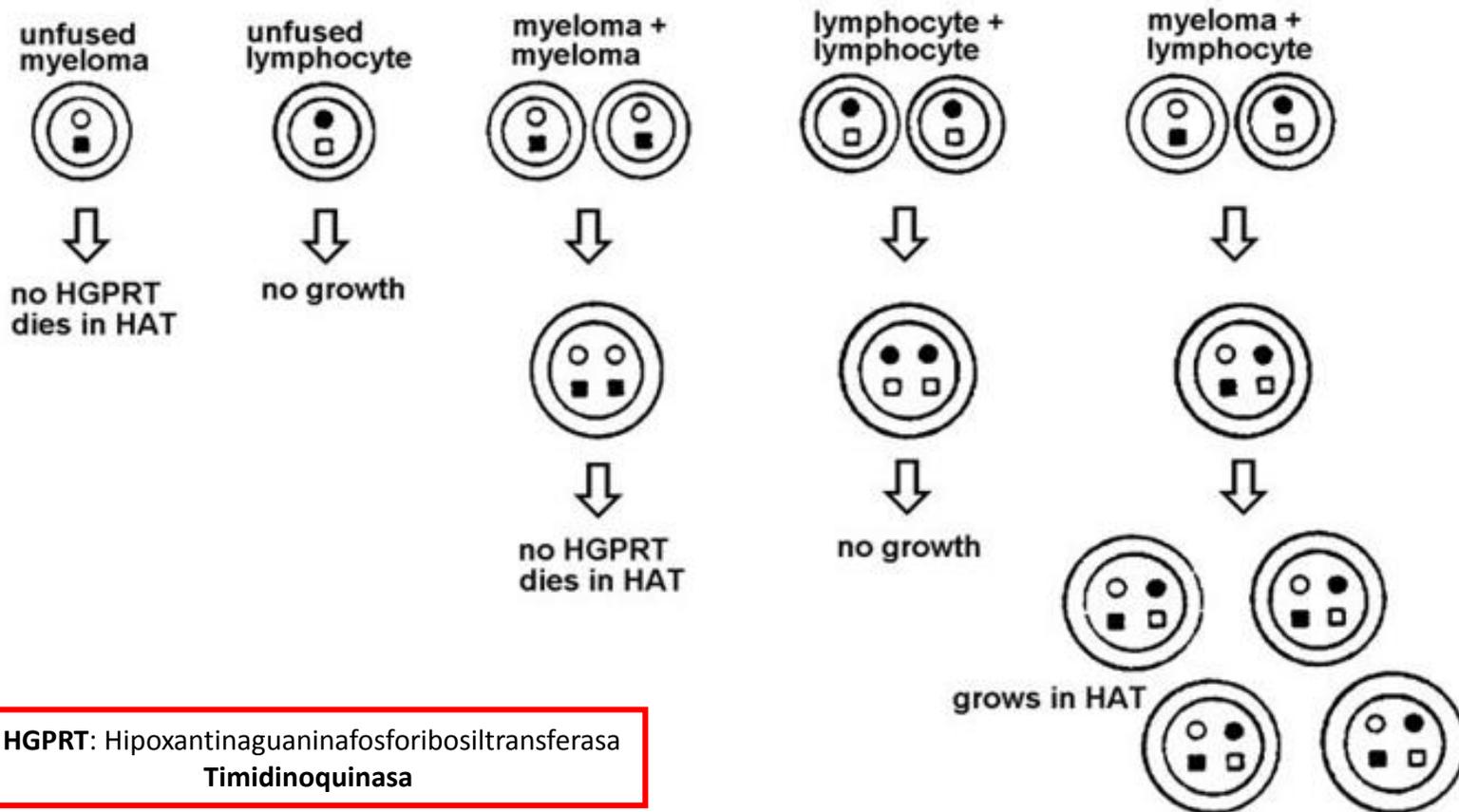
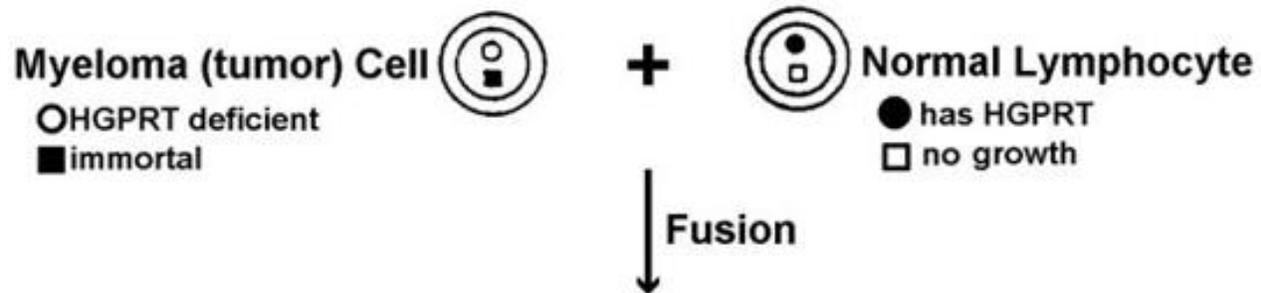


DICROISMO CIRCULAR



<http://www3.uah.es/jcdiez/b-fbma/tema8/tema8.html>

VOLVER



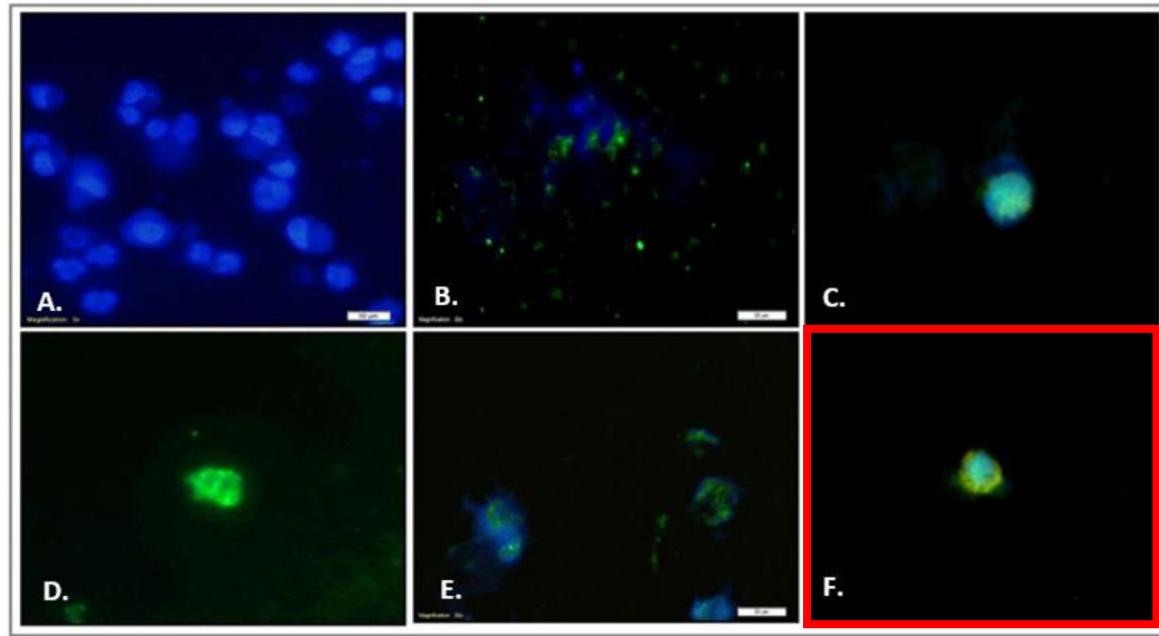
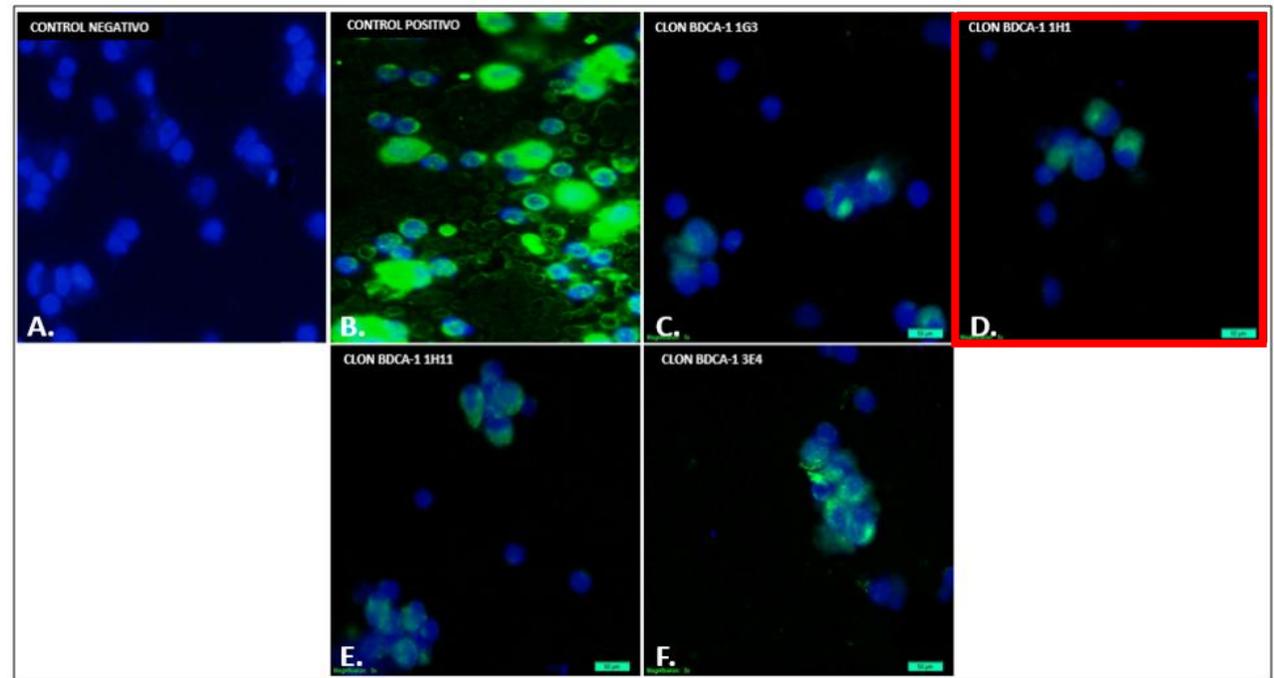
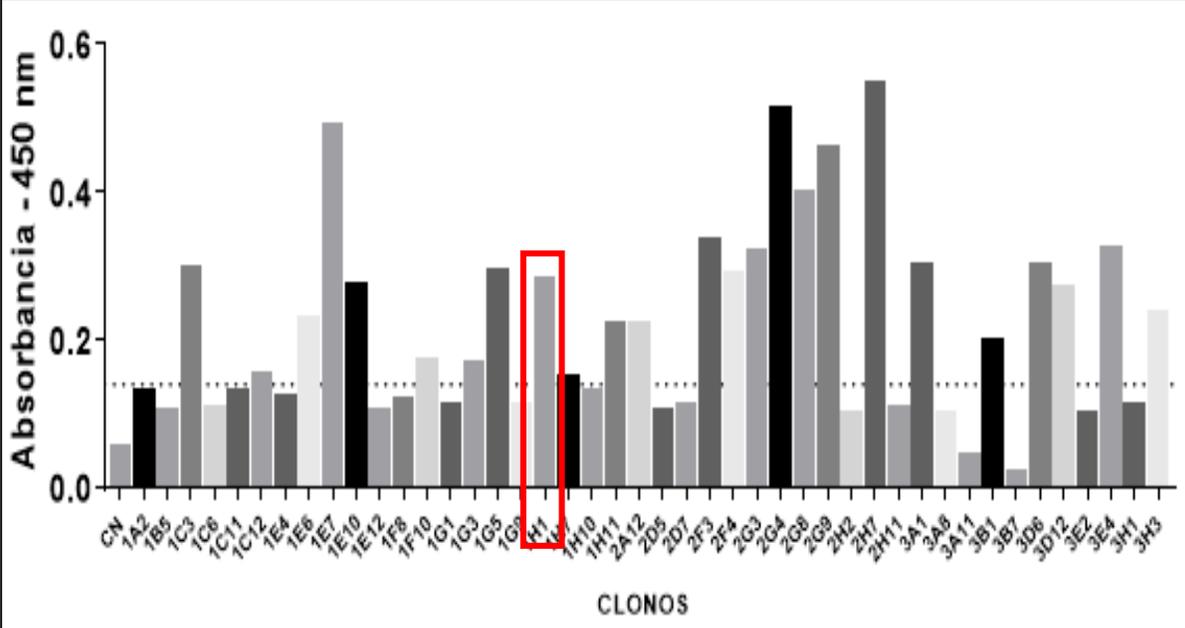
HGPRT: Hipoxantinoguaninafosforibosiltransferasa
Timidinoquinasa

<https://slideplayer.com/slide/759746/>

AMINOPTERINA
Antagonista del ácido dihidrofólico.
Bloquea uso de BN endógenas.



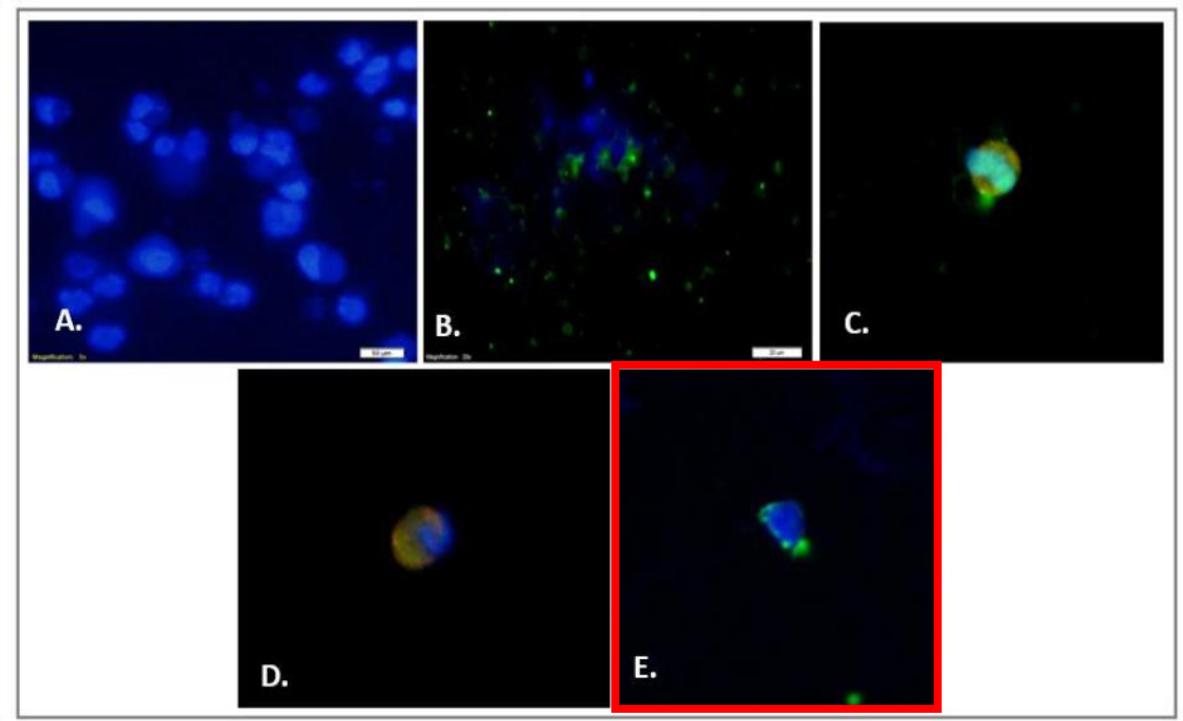
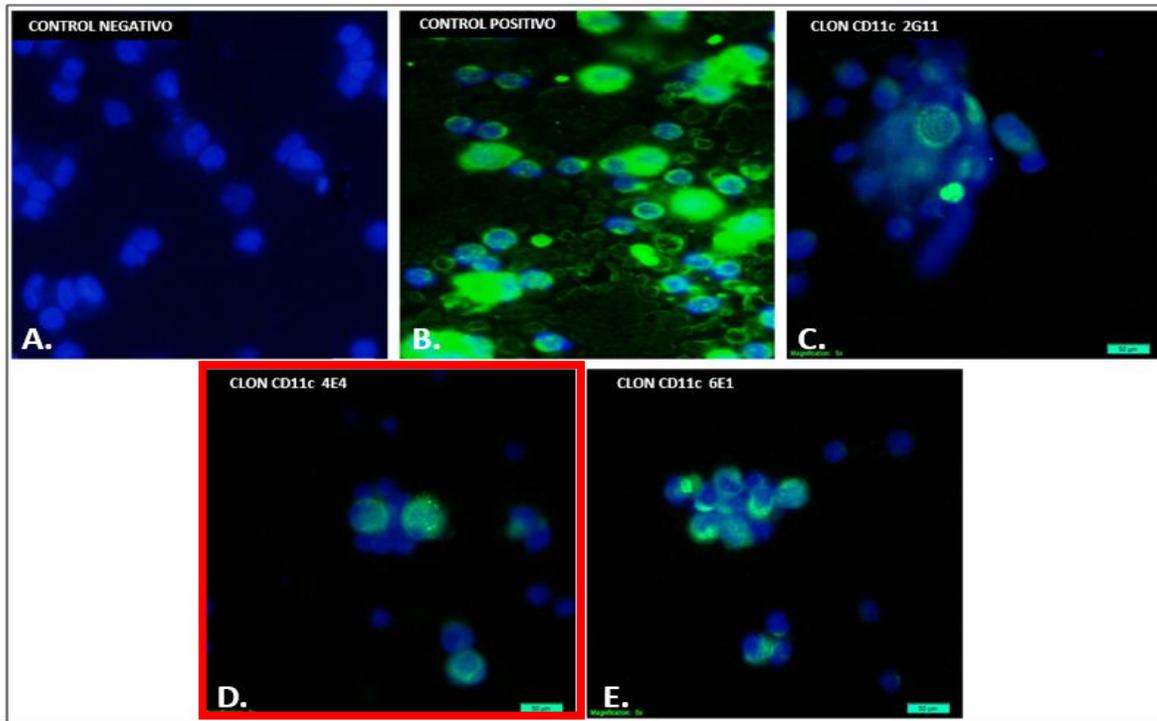
VOLVER



BDCA-1

1H1

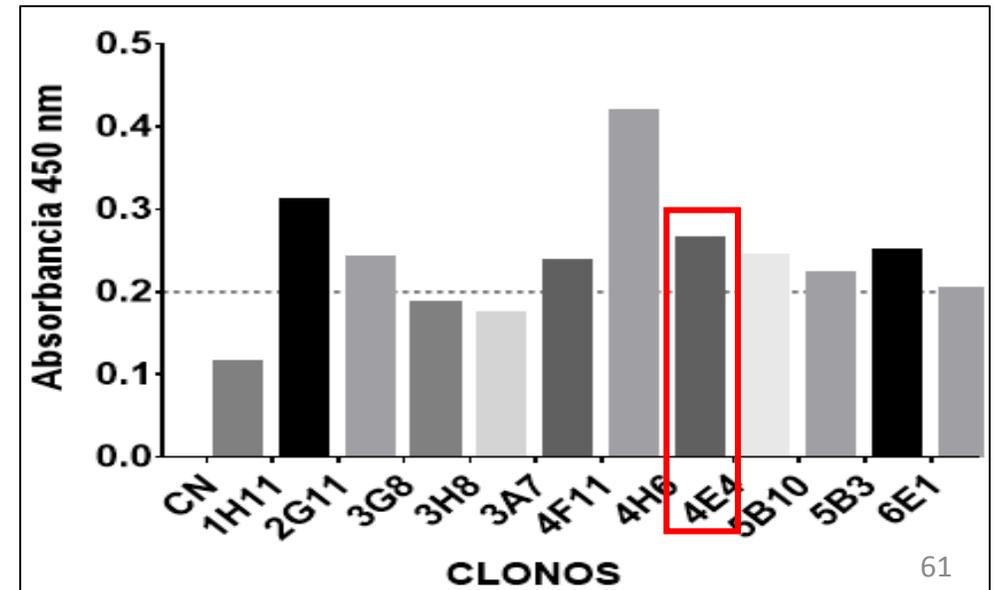
VOLVER

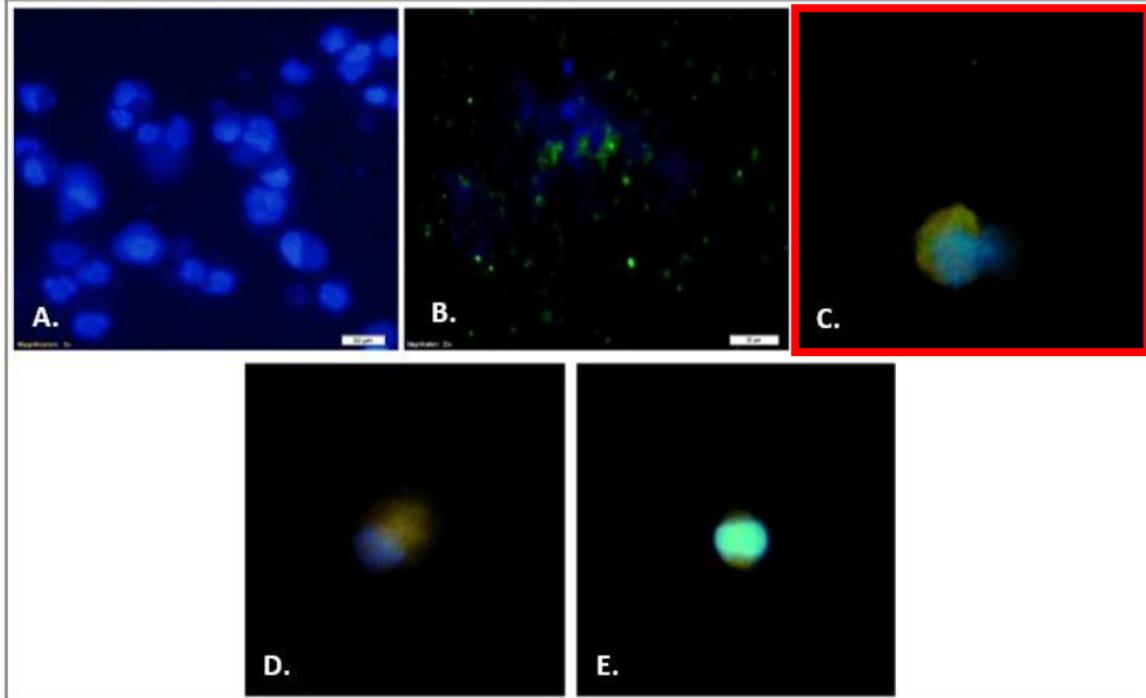
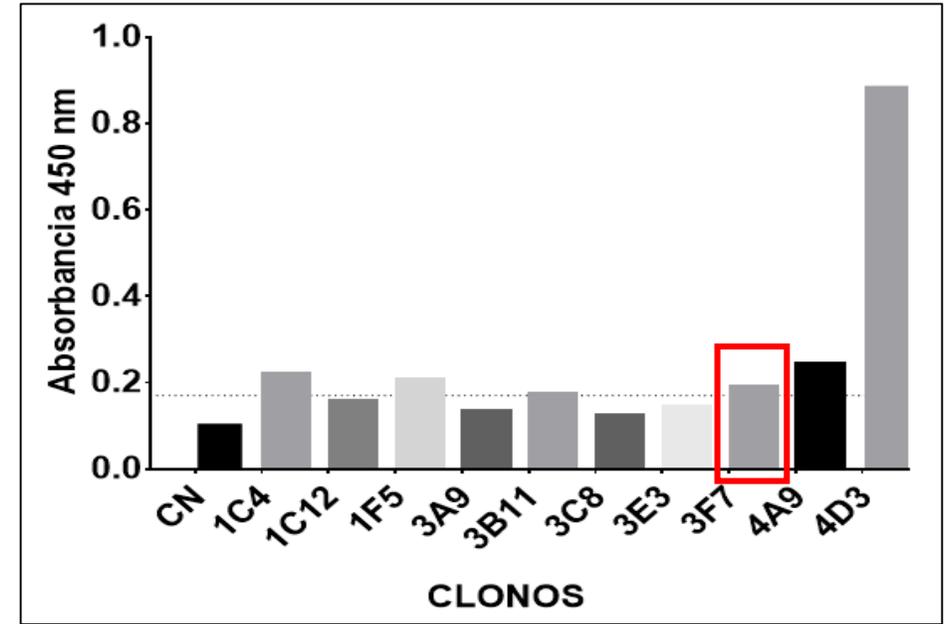
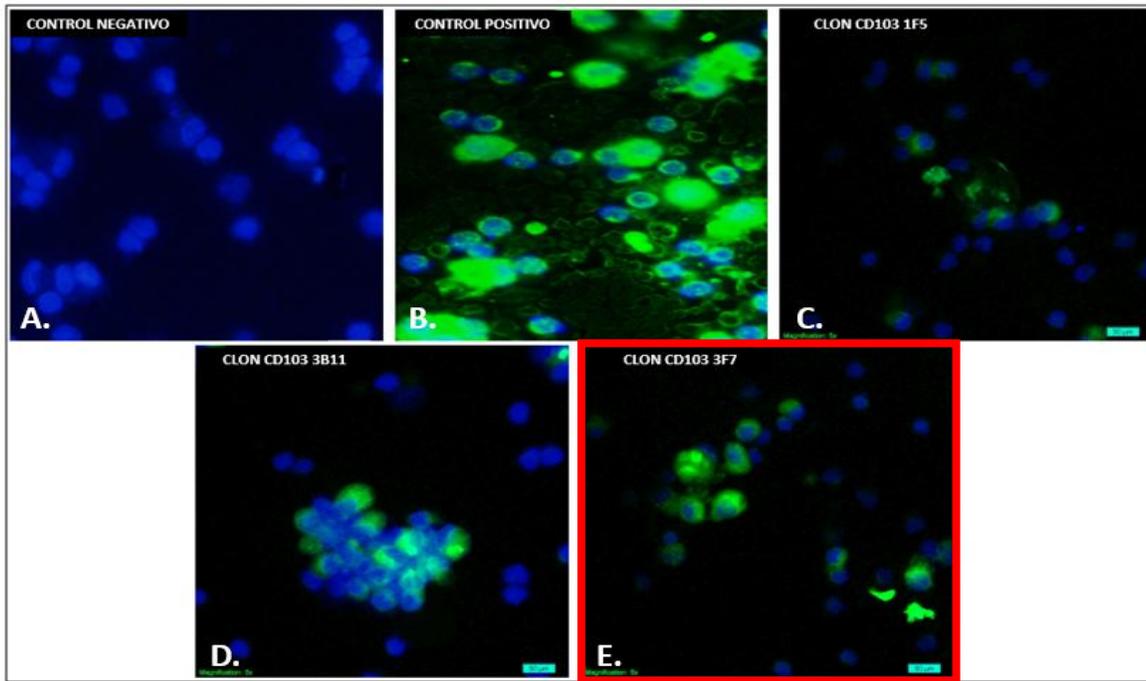


CD11c

4E4

VOLVER

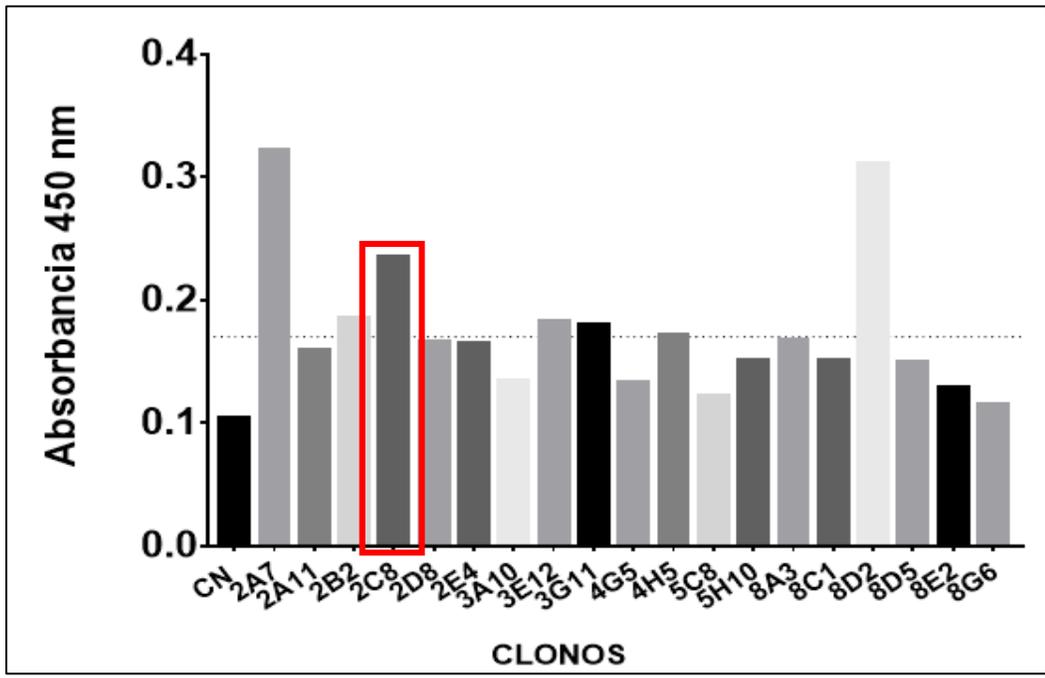
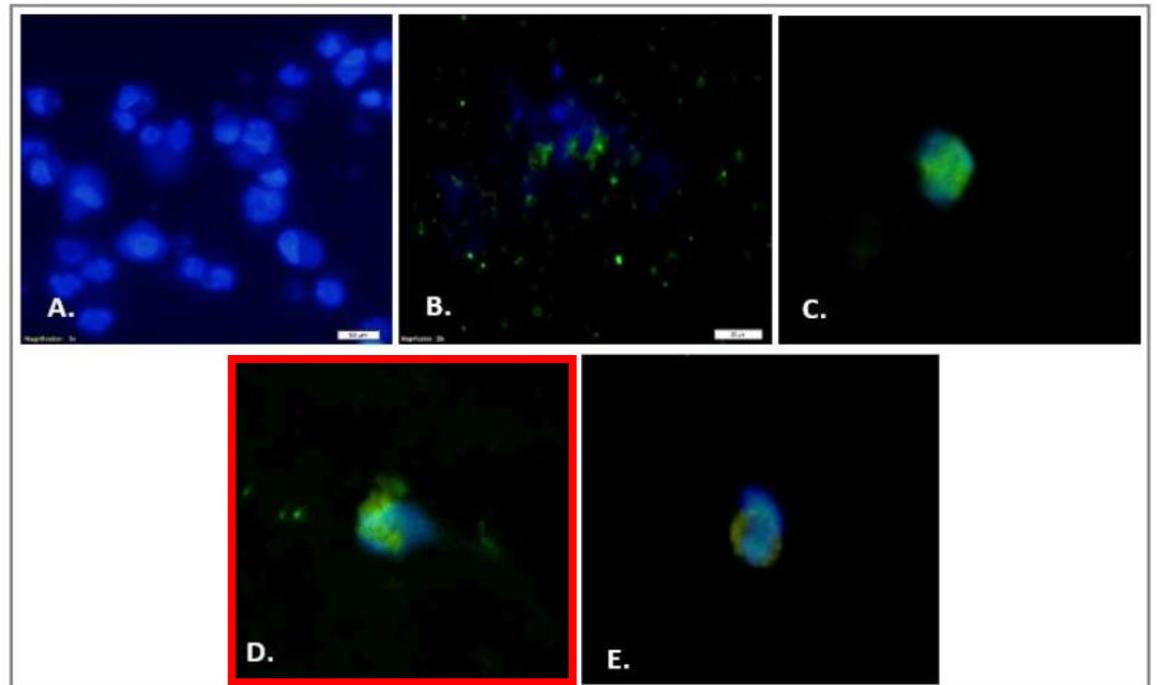
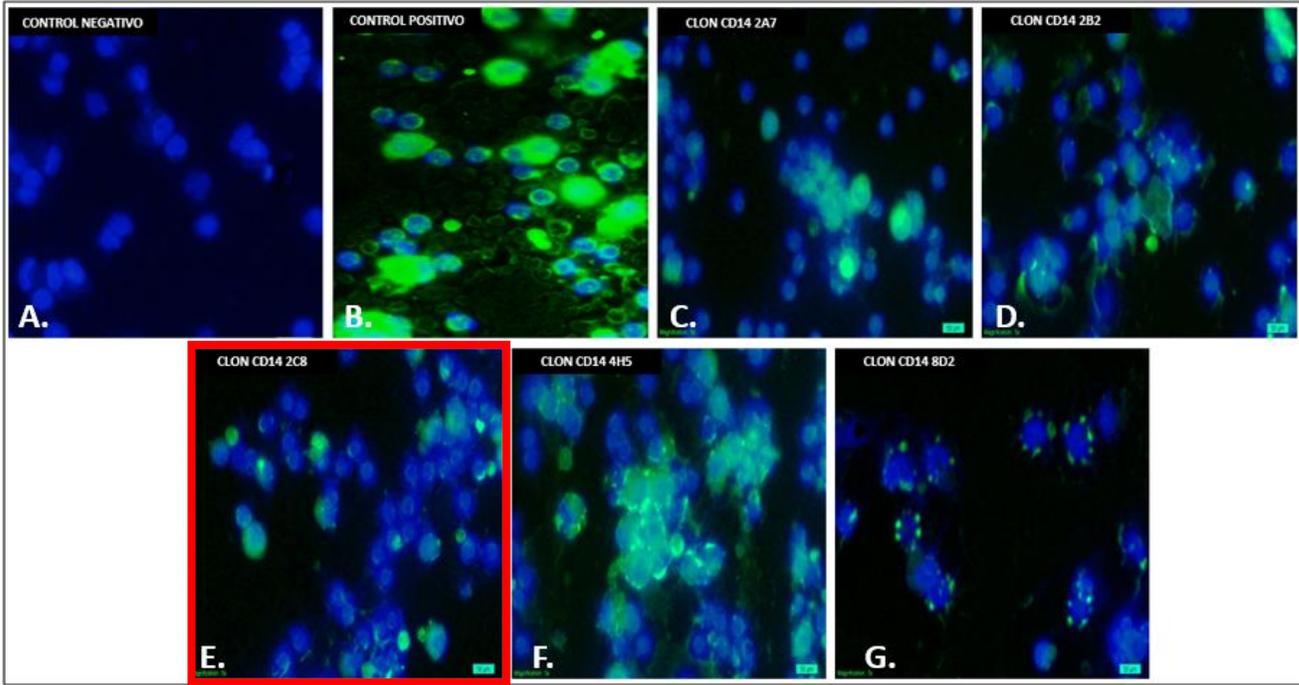




CD103

3F7

VOLVER



CD14

2C8

VOLVER

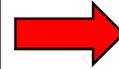
Workshop no.	Donator	Clone	Ref. no.	Species Ig	Reactivity ^a	Anti-species reactivity ^b	2nd round ^c
56	Serotec	YTH81.5	MCA502	rIgG2a	CD11a	hu	
57	Serotec	ICRF44	MCA551	mIgG1	CD11b	hu	yes
58	Serotec	BU15	MCA2087	mIgG1	CD11c	hu	
242	Dako	KB90	M 0732	mIgG1	CD11c	hu	
144	Serotec	A8	MCA1269	mIgG1	CD100	hu	
145	Serotec	LF61	MCA1416	mIgG1	CD103	hu	
146	Serotec	450-9D	MCA1456	mIgG1	CD104	hu	yes
323	Dako	12 E7	M 3601	mIgG1	CD99	hu	
324	Dako	Ber-ACT8	M 0847	mIgG1	CD103	hu	

Works.No	CD/CD?	Donator	Clone	Species Ig	**anti-species															
					ao	cy	rh	bo	ov	cp	pig	eq	do	cat	mi	lla	rb	gp	ch	tr
40	CD1b	Serotec	MT-101	mIgG1	-	-	-	-	-	-	++	NA	-	-	-	-	-	-	-	-
175	CD1b	Coulter	4.A7.6	mIgG2a	-	-	-	+	+	-	-	NA	-	-	-	-	-	NT	-	-
176	CD1c	Coulter	L161	mIgG1	-	X	+	-	+	-	-	NA	NT	-	-	-	-	-	-	-
41	CD1d	Serotec	NOR3.2	mIgG1	-	-	-	-	-	-	-	NA	-	NA	-	-	-	-	-	-
42	CD2	Serotec	LT2	mIgG2b	X	-	-	-	-	-	-	W/A	-	-	-	-	-	-	-	-
3	CD14	Bill Davis	CAM36A	mIgG1	-	X	+	+	+	+	++	-	+	++	++	+	+	-	-	-
60	CD14	Serotec	UCHM1	mIgG2a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+P
244	CD14	Dako	TUK4	mIgG2a	-	-	-	+	+	+	++	-	+	-	++	+	+	-	-	-
347	CD14	BD Pharmingen	M5E2	mIgG2a	-	-	-	+	+	+	?P	-	+	-	++	+	-	+	-	-

Species cells tested: Aotus (ao), cynomolgus (cy), and rhesus (rh) monkeys, bovine (bo), ovine (ov), goat (cp), pig, equine (eq), dog (do), cat, mink (mi), llama (lla), rabbit (rb), guinea pig (gp), chicken (ch), trout (tr), and carp (cr). Results displayed as (x) are potential positive after the first round

BDCA-1

Glucoproteína transmembrana



Estructuralmente relacionada con principales proteínas de MHC

Median la presentación de Ag, principalmente lipídicos y glucolípidos de origen propio o microbiano a las células T

Se distribuye ampliamente en todo el sistema endocítico

VOLVER

CD11c

```
graph LR; CD11c[CD11c] --> A[Subunidad Alfa integrina]; CD11c --> B[Adherencia de neutrófilos y monocitos a las células de endotelio]; CD11c --> C[Fagocitosis de partículas recubiertas de complemento];
```

Subunidad Alfa integrina

Adherencia de neutrófilos y monocitos a las células de endotelio

Fagocitosis de partículas recubiertas de complemento

VOLVER

CD103

Subunidad Alfa integrina E

Adhesión

Molécula accesoria para la activación de IEL.

VOLVER

CD14

```
graph LR; CD14[CD14] --> A[Ag superficie expresado monocitos / macrófagos]; CD14 --> B[Mediar repuesta inmune innata al LPS bacteriano];
```

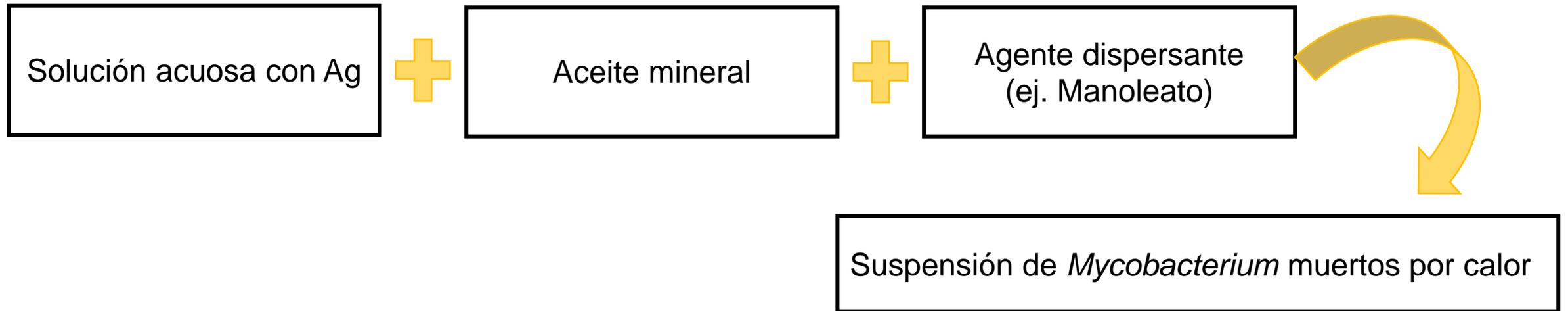
Ag superficie expresado
monocitos / macrófagos

Mediar repuesta inmune innata al
LPS bacteriano

VOLVER

Cepa	Principales características	ventajas	principales aplicaciones
C57BL/6	endogámica, negro	estabilidad de la cepa, de fácil cría	modelos fisiológicos o patológicos para experimentos <i>in vivo</i> , cepa de fondo genético para transgénicos y congénicos
BALB/c	endogámica, inmunodeficientes	de fácil cría, propensos a los tumores	producción de hibridomas y anticuerpos monoclonales, modelos para la investigación de terapias contra el cáncer e inmunología.
CD-1	exogámica, albino	variabilidad genética	clonado posicional, selección genotípica, pruebas de toxicidad (cuestionable)
CB17 SCID	endogámica, albino	sin células T o B, trasplante de tumores	modelo animal inmunodeficiente para pruebas de nuevos tratamientos contra el cáncer como huésped para sistema inmune humano.

VOLVER



- Liberan lentamente el Ag
- Estímulo persistente
- Macrófago aumenta moléculas B7 - Interacción CD28 - LT_H

VOLVER

Donación células PAI



<https://encrypteddes?q=tbn:ANd9GcTt0aHlqUuAGAWXPsoBEM1bW7kQbMaG-OPL3t3NslINliG4uWE8&s>

Dr. Gerd Pluschke

VOLVER

Swiss TPH



Swiss Tropical and Public Health Institute
Schweizerisches Tropen- und Public Health-Institut



scienceoferadication.org/wp-content/uploads/2012/12/SwissTPH1_compressed.jpg

NCBI protein

Base de datos de proteínas

Colección de secuencias de
varias fuentes

VOLVER

Bioinformática

TMHMM server

Enfoque oculto del modelo markov

Modela la longitud de la hélice

Incorpora hidrofobicidad, sesgo de carga, longitudes de hélice y restricciones gramaticales.

Estadística topología de las proteínas

VOLVER

SignalP.V. 4.0

V.1: Se basó en redes neuronales artificiales

V.2: Introdujo modelos ocultos de markov

V.3: Mejoró las predicciones del sitio de escisión

V.4: Mejoró la discriminación de la señal péptidos y hélices TM

VOLVER

IEDB Analysis Resource

```
graph LR; A[IEDB Analysis Resource] --> B[Base de datos del epítotope humano]; A --> C[Humanos, primates no humanos y otras especies en el contexto de enfermedades infecciosas, alergias, autoinmunidad y trasplantes]; A --> D[Algoritmo de random forest entrenado en epítotos y aminoácidos no epítotos]; A --> E[Se predice que los residuos con puntajes superiores al umbral (0.5) son parte de un epítotope y se colorean en amarillo en el gráfico];
```

Base de datos del epítotope humano

Humanos, primates no humanos y otras especies en el contexto de enfermedades infecciosas, alergias, autoinmunidad y trasplantes

Algoritmo de random forest entrenado en epítotos y aminoácidos no epítotos

Se predice que los residuos con puntajes superiores al umbral (0.5) son parte de un epítotope y se colorean en amarillo en el gráfico

VOLVER

BLAST

```
graph LR; A[BLAST] --> B[Encuentra regiones de similitud entre secuencias biológicas]; A --> C[Compara las secuencias de nucleótidos o proteínas con bases de datos]; A --> D[Calcula la significación estadística];
```

Encuentra regiones de similitud entre secuencias biológicas

Compara las secuencias de nucleótidos o proteínas con bases de datos

Calcula la significación estadística

VOLVER

Concentraciones

IL4 (100ng/ml)

GM-CSF (50ng/ml)

**Lipopolisacarido
(100ng/ml)**

VOLVER



<https://sibcolombia.net/socios/udca/>

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS
APLICADAS Y AMBIENTALES
U.D.C.A
RES. MEN N°. 7392 DEL 20/05/1983. CÓDIGO SNIES 1835
VIGILADA MINEDUCACIÓN



<https://bmeditores.mx/entorno-pecuario/historia/asociacion-americana-de-medicos-veterinarios-avma-953>

- Normas de bioética conforme a lo indicado en la Ley 84 de 1989, la resolución 8430 de 1993, emitida por el Ministerio de Salud de Colombia.
- Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio, octava edición, del Instituto Nacional de Salud.
- Asociación Americana Medica Veterinaria (AVMA) en el panel de Eutanasia en 2013.
- Investigación cuenta con el aval del comité de ética de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A regulado por el acuerdo No. 285/2008, capitulo VII.
- Comida Rodent Diet 5010 y agua.

VOLVER

 UNIVERSIDAD DE CIENCIAS
APLICADAS Y AMBIENTALES
U.D.C.A

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
COMITÉ DE BIOÉTICA U.D.C.A
2019

Bogotá, D.C. Viernes, Abril 26 de 2019

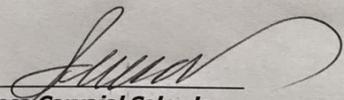
Doctora
Catalina Esther Avendaño Valenzuela
Docente
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales
Ciudad

Respetada Doctora, reciba un cordial saludo.

En reunión de sesión del comité de bioética de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, se analizó la ficha del proyecto titulado: **"Evaluación y caracterización de células dendríticas después de la estimulación con péptidos sintéticos candidatos a vacuna frente a Plasmodium falciparum encapsulados en microesferas"**, presentado por usted, y una vez recibidas las correcciones sugeridas en carta de Marzo 15 de 2019, se tomó la siguiente decisión:

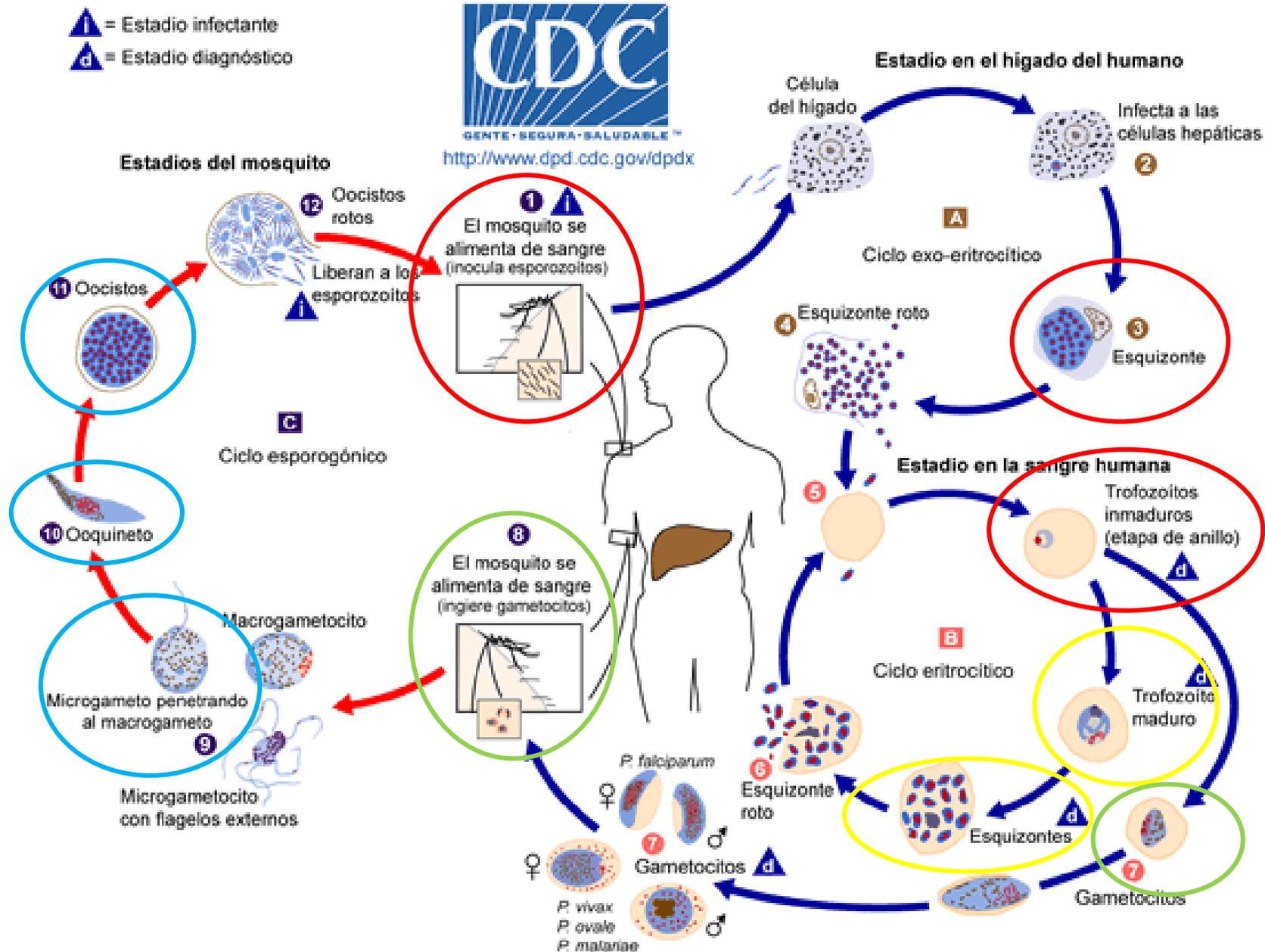
Teniendo en cuenta que en la propuesta de investigación se han acogido las definiciones en las normas nacionales e internacionales sobre bienestar animal, **este comité da su aval para el desarrollo de la propuesta.**

Cordialmente,

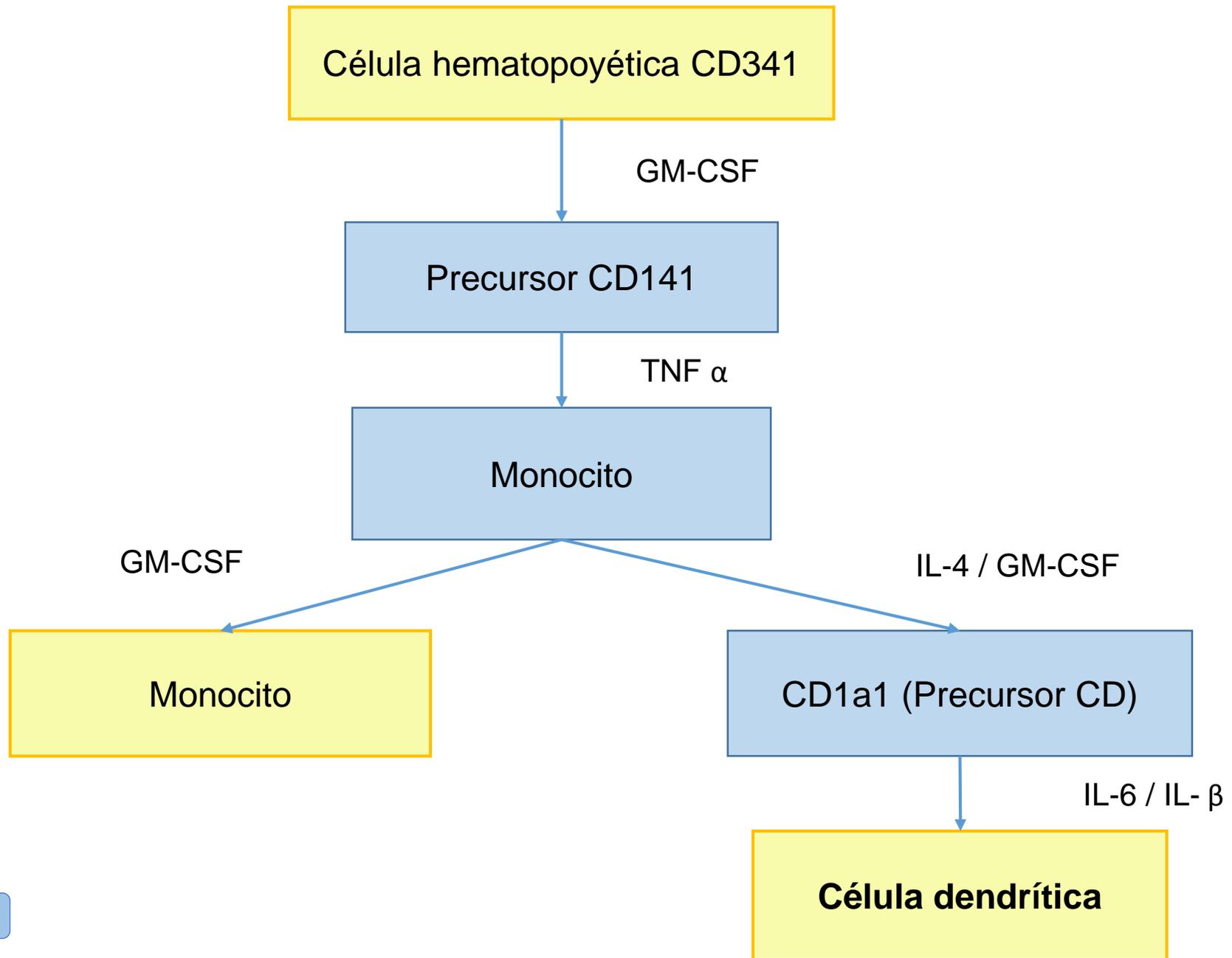

Teresa Carvajal Salcedo
Decana Facultad de Ciencias Agropecuarias

Miembros: ASCUN - IAUP - UDUAL - AUALCPI - RED UREL - OUI - ASOCIACIÓN ORION - RCI - ARIUSA

CAMPUS UNIVERSITARIO: Calle 222 No. 55 - 37 PBX: (57-1) 668 4700 FAX: (57-1) 676 1132
SEDE NORTE: Calle 72 No. 14 - 20 TELS.: 217 9345 - 345 0396
NIT.: 860.403.721-2 - www.udca.edu.co - Bogotá D.C. - Colombia



VOLVER



VOLVER