

La colonia Poodle

Julio Roberto Cáceres-Cortés*

La imagen muestra una colonia caprichosa de células madre hematopoyéticas CD34⁺ provenientes de médula ósea humana en un ensayo de formación de colonias en metilcelulosa (x400).

Selección de células CD34⁺

Las células CD34⁺ fueron purificadas a partir de células mononucleadas de médula ósea por un procedimiento de separación inmunomagnético doble negativo-positivo. Brevemente, las células linaje positivas (Lin⁺) fueron removidas por un marcaje con anticuerpos contra glicoforina humana (YTH 89.1, Serotec; Kidlington, Oxford, UK), CD11b (Mac-1, American Type Culture Collection [ATCC]; Rockville, MD) y CD72 (CAMPATH-1, Serotec), seguido de una incubación con anticuerpos monoclonales de ratón anti-rata (MAR18.5, ATCC) y un anticuerpo cabra anti-ratón acoplado a partículas magnéticas (Dynabeads; Cedarlane, Hornby, Ontario). Las células linaje negativas se marcaron con un anticuerpo monoclonal anti-CD34 (My-10, ATCC) y, subsecuentemente, incubadas con las Dynabeads. Finalmente, las células CD34⁺ fueron liberadas de las partículas magnéticas por una incubación nocturna a 37°C en medio Iscove modificado por Dulbecco (IMDM) suplementado con 10% de suero fetal de bovino ([FCS], GIBCO (Grand Island, NJ)).



Condiciones de cultivo

Las células primarias CD34⁺ se sembraron en micropozos de fondo plano (Linbro; Flow Laboratories, McLean, VA) en 100 µL de medio de cultivo Iscove modificado por Dulbecco (IMDM) (Gibco, Grand Island, NY) suplementado con 10% de suero fetal de bovino ([FCS] (Gibco), viscosificado con 1% de metilcelulosa, albúmina de suero bovina (20 mg/mL; Sigma, St. Louis, MO), transferrina saturada en hierro (30 µg/mL; Hoechst), insulina (1.7 µM; Upstate Biotechnology Institute, Lake Placid, NY), GM-CSF (6 ng/mL) e incubadas a 37°C, 5% CO₂ a 95% de humedad durante 14 días. Las colonias CFU-GM que contenían más de 40 células se contaron utilizando un microscopio invertido.

* Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Escuela Superior de Medicina. Instituto Politécnico Nacional.

Correspondencia: Dr. Julio Roberto Cáceres-Cortés. Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n, colonia Casco de Santo Tomás, México 11340, DF. Correo electrónico: jcacortes@gmail.com

Recibido: noviembre, 2010. Aceptado: enero, 2011.

Este artículo debe citarse como: Cáceres-Cortés JR. La colonia Poodle. Rev Hematol Mex 2011;12(1):51.