



# Ontogenia de linfocitos B Pseudo-innatos de modelos murinos.

**María del Carmen Prado Zamora**

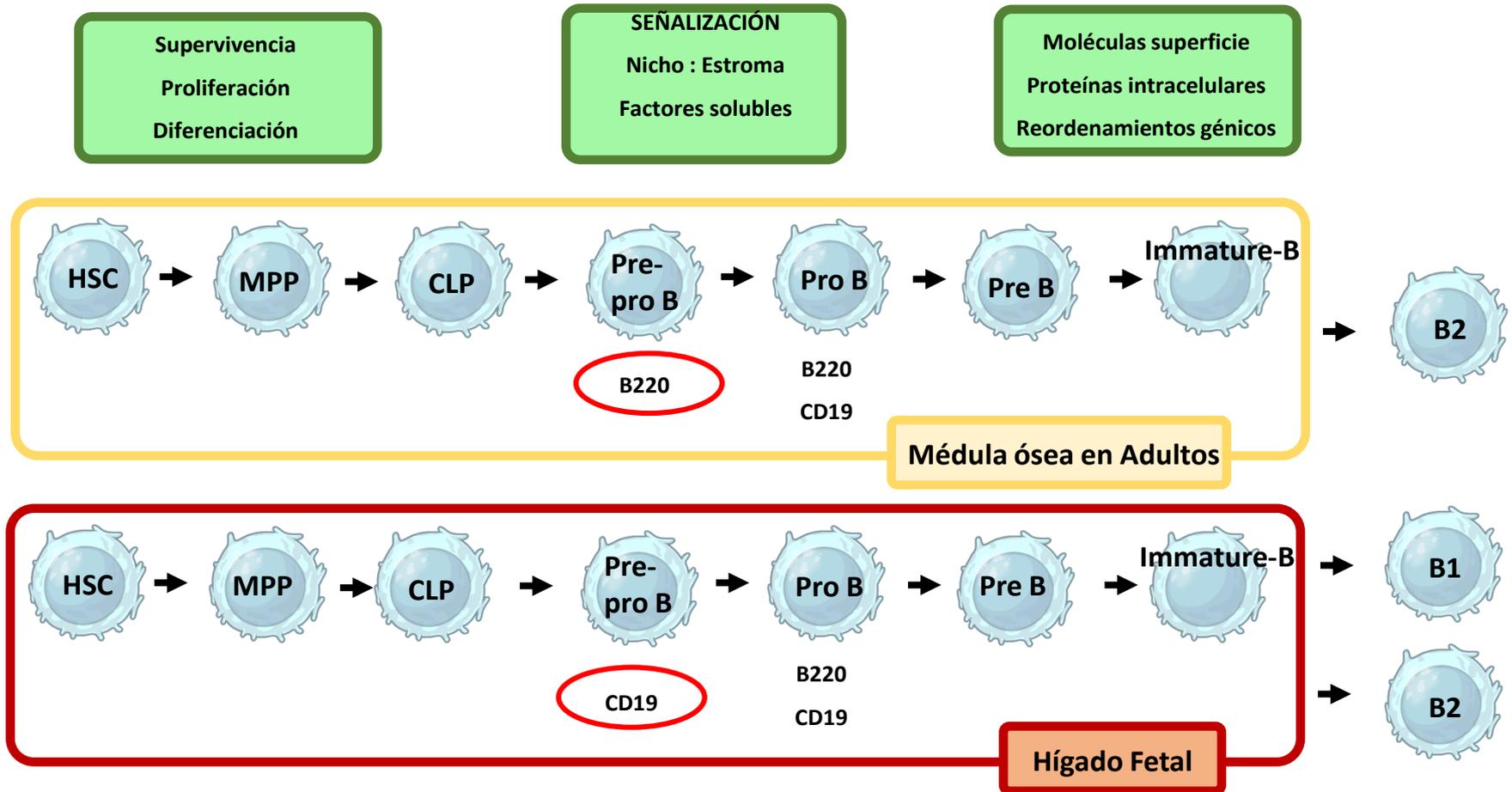
**Directoras de Tesis: María Luisa Gaspar Alonso Vega**

**Belén de Andrés Muguruza**

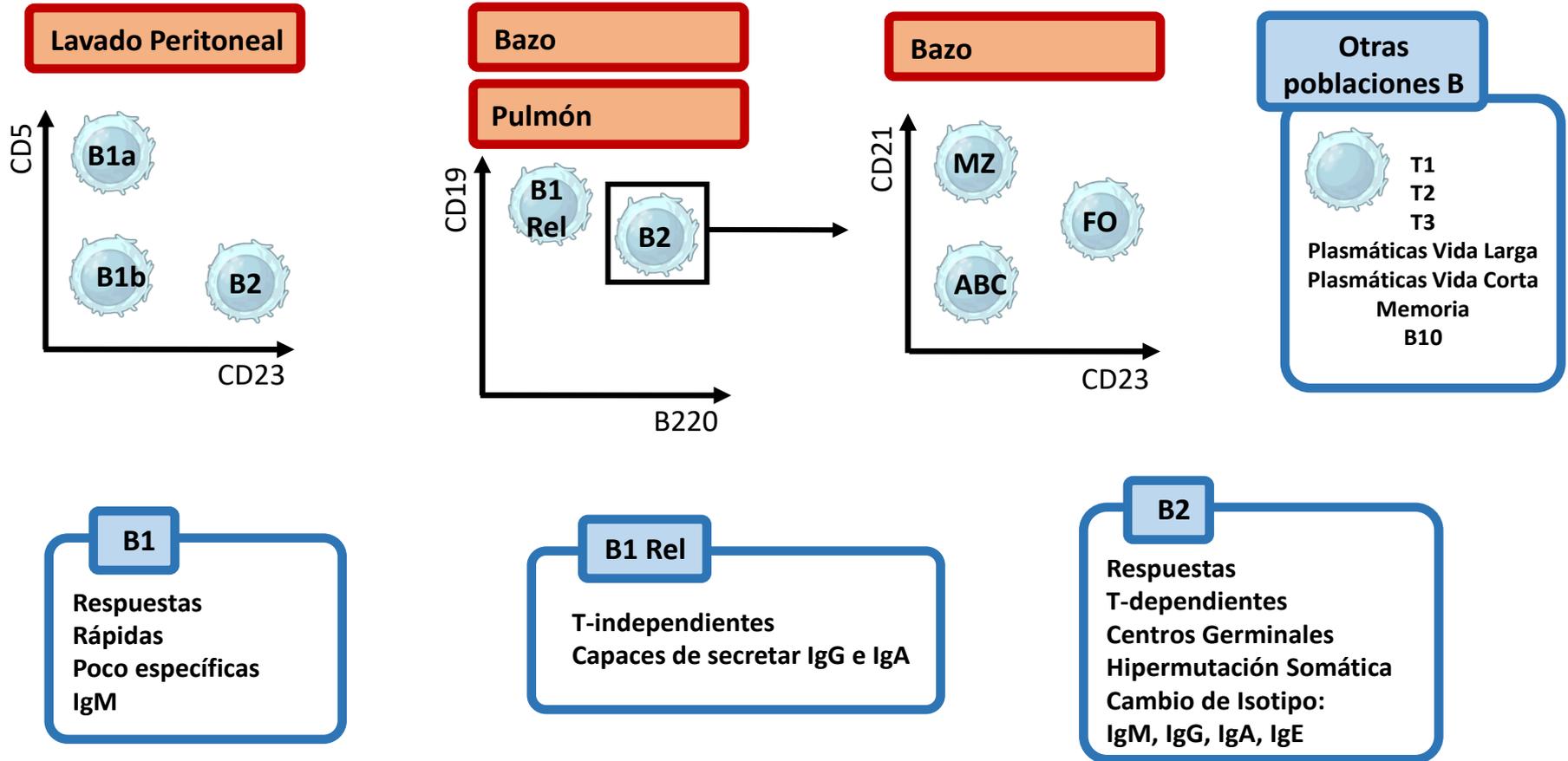
**17 de octubre de 2023**

**Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas y Salud Pública IMIENS ISCIII/UNED**

# Ontogenia de Linfocitos B en Ratón



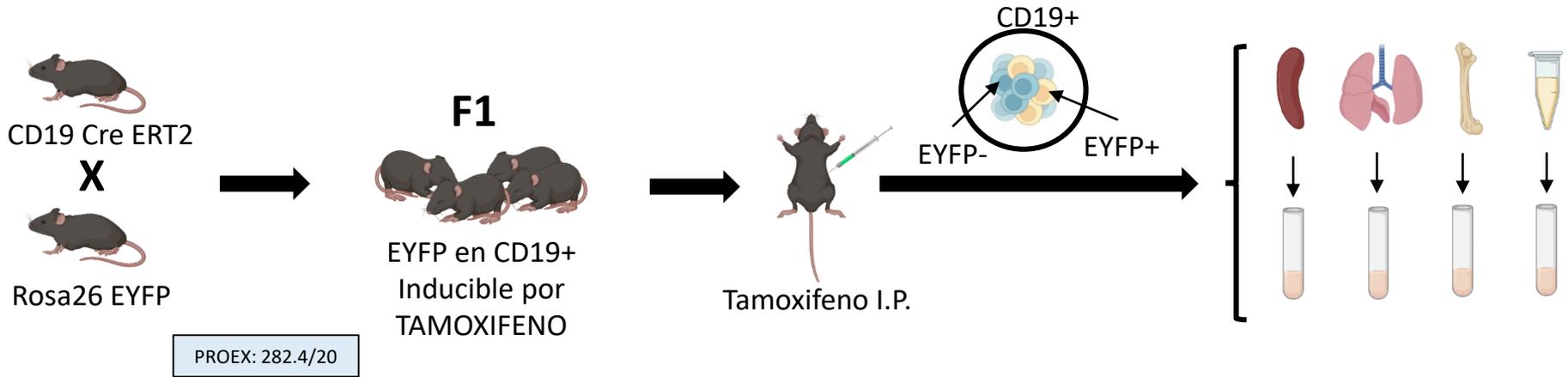
# Poblaciones de Linfocitos B en adultos



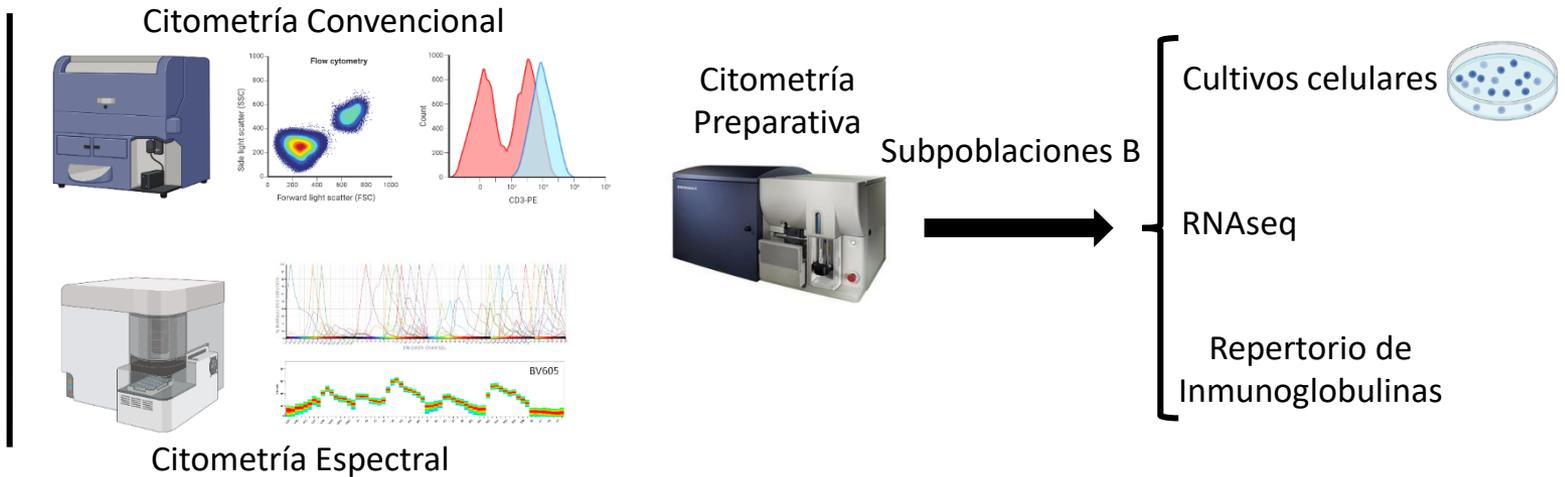
# Objetivos de la tesis

- 1) Determinar el **origen embrionario** de las **poblaciones CD19+**. Estudiar el **tiempo de permanencia** de las poblaciones CD19+ en **diversos órganos** y localizaciones (médula ósea, bazo, pulmón, peritoneo) a lo largo de la vida del ratón.
- 2) Caracterizar **diferencias fenotípicas** entre las distintas **poblaciones CD19+** (B1, B1Rel, subpoblaciones de B2) de origen embrionario y poblaciones celulares generadas de novo en condiciones de homeostasis.
- 3) Estudiar la **respuesta diferencial** de las poblaciones B frente a diversos **estímulos proliferativos** T-independientes y T-dependientes. Estudios de diferenciación a células plasmáticas.
- 4) Caracterizar en las distintas poblaciones B el **repertorio de inmunoglobulinas** así como sus diferencias en **expresión génica**.

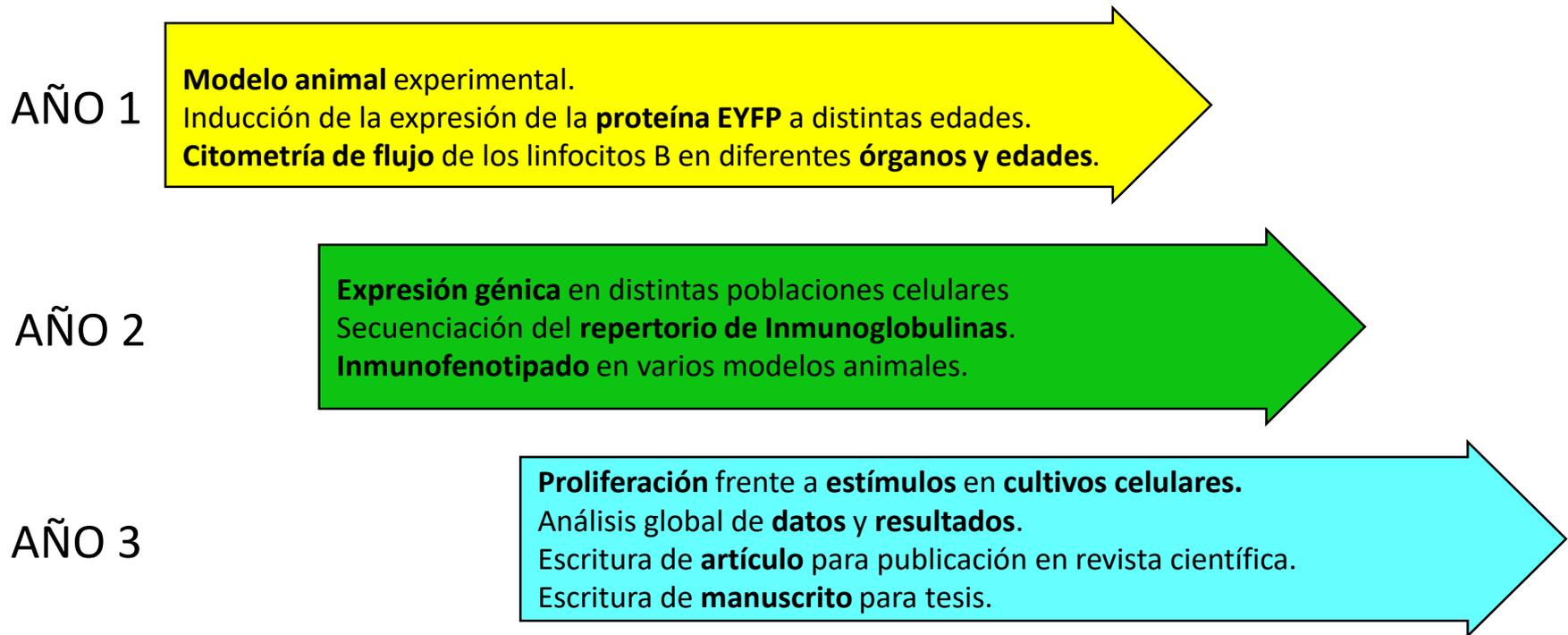
# Metodología



CD5 ko  
SAMP8  
SAMR1



# Planificación temporal

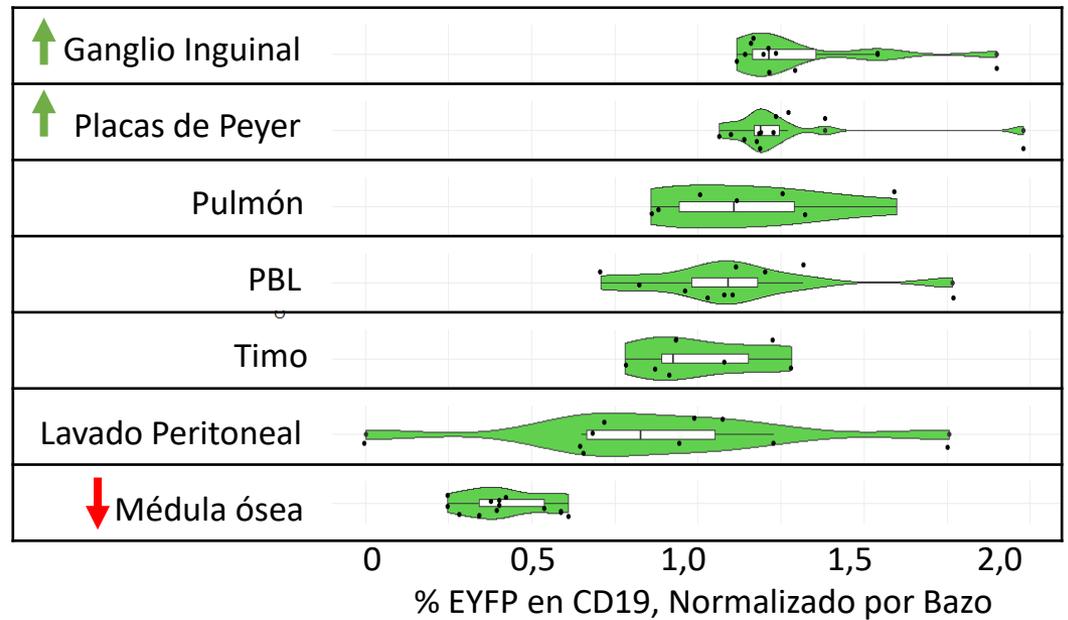
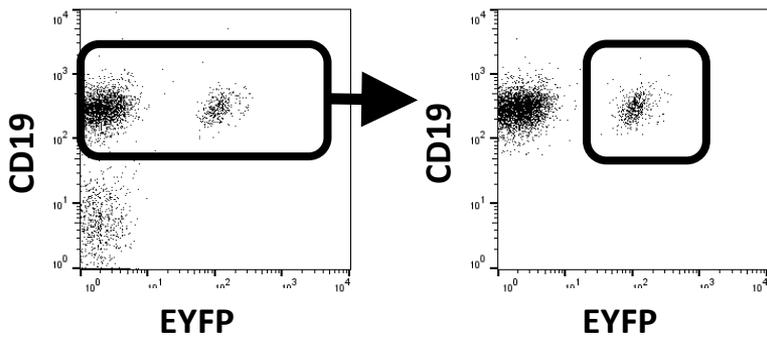


# Resultados



## Análisis

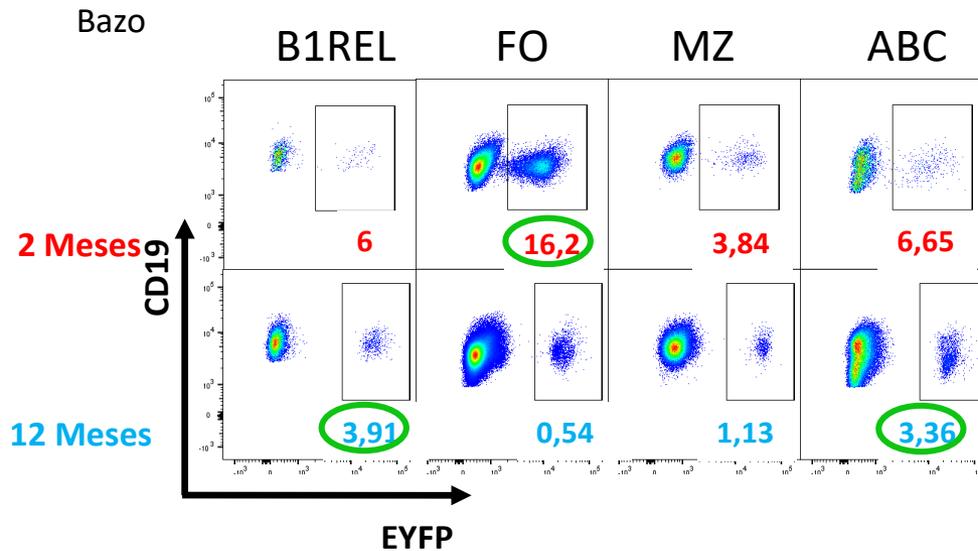
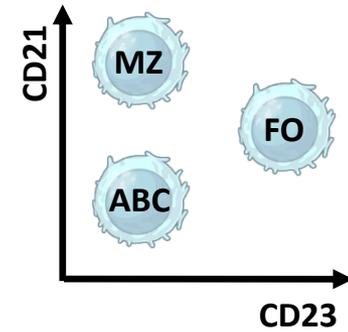
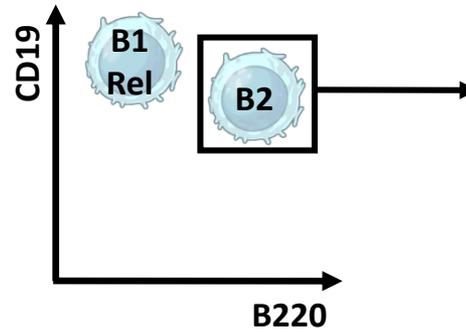
TRATAMIENTO A EDAD ADULTA: Bazo



# Resultados

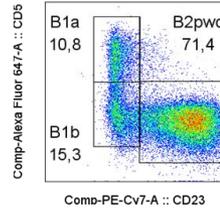
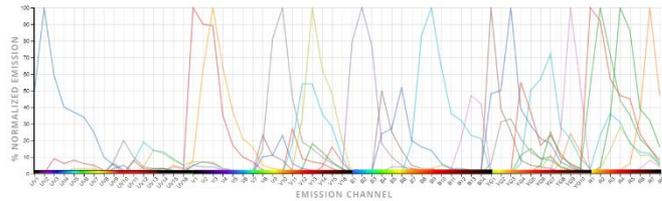


Adulta: 2 meses  
TM IP: 5 x 2mg

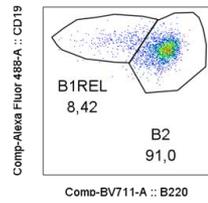
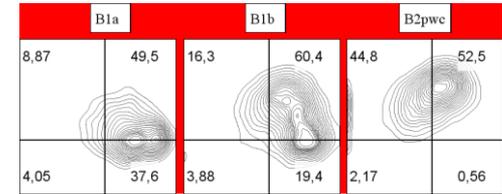


Experimento representativo

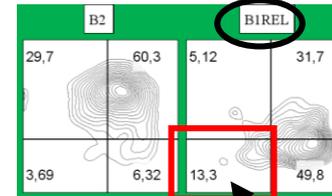
# Resultados Citometría espectral



Lavado Peritoneal



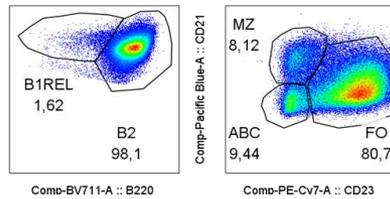
PULMÓN



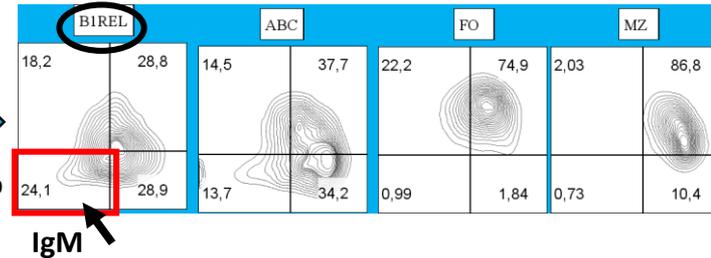
Similarity™ Indices

Configuration: 5L 16UV-16V-14B-10YG-8R

Viabilidad	CellTrace Blue	APC-Cy7	Alexa Fluor 647	BV421	Alexa Fluor 488	PE	PE-Cy7	B1605	BV711	PerCP-Cy5.5	PE-Dazzle594	APC	Pacific Blue	Alexa Fluor 700
IgM	0	1												
CD5	0	0	0,18	1										
CD1d	0,13	0	0	0	1									
CD19	0	0	0	0	0	1								
Lamda	0	0	0	0,01	0	0,07	1							
CD23	0	0,29	0,03	0	0	0,02	0,02	1						
IgD	0,01	0,02	0,03	0,06	0	0,28	0,03	0,17	1					
B220	0,01	0,19	0,18	0,09	0	0,01	0,11	0,17	0,25	1				
CD9	0	0,14	0,29	0	0	0,05	0,23	0,17	0,5	0,25	1			
CD86	0	0,02	0,06	0	0,05	0,67	0,05	0,47	0,04	0,25	0,25	1		
CD138	0	0,18	0,9	0	0	0,04	0,05	0,14	0,23	0,37	0,16	0,1	1	
CD21	0,08	0	0	0,78	0	0,01	0	0,06	0,07	0,01	0,01	0	0	1
Kappa	0	0,36	0,53	0	0	0	0,09	0,03	0,44	0,35	0,03	0,49	0	0



BAZO



# Conclusiones

El modelo CD19CreERT2 x Rosa26EYFP marca con una señal fluorescente a células CD19+ de un modo selectivo y nos permite trazarlas a lo largo del tiempo.

El porcentaje de marca fluorescente en CD19+ se detecta en todos los órganos, siendo mayor en Ganglios y Placas de Peyer y menor en Médula Ósea.

El porcentaje de marca fluorescente en células CD19+ se mantiene en el tiempo de modo preferencial sobre células B1Rel.

El panel espectral multicolor nos permite analizar varios marcadores simultáneamente sobre las diferentes poblaciones de linfocitos B, con lo que podremos clasificar eficientemente los cambios en ellas a lo largo de la vida.



**Gracias por su atención!**

Ontogenia de linfocitos B Pseudo-innatos de modelos murinos.