



Preparación de Ciclosporina A

Created: Nov 7, 2008; Last modified: Mar 24, 2021, Version: 3.0

La Ciclosporina A (CyA) es un agente inmunosupresor potente que afecta principalmente a los linfocitos T. Se deriva del hongo *Tolypocladium inflatum* y es ampliamente usada para eliminar la respuesta inmune adaptativa dependiente de estos Linfocitos. **¡PELIGRO- La Ciclosporina A ejerce un potente efecto inmunosupresor *in vivo* que puede ocasionar aplasia medular total irreversible por lo que solamente deberá manipularse dentro del cuarto de cultivo celular (CCC) y dentro del gabinete de seguridad biológica (GSB) de acuerdo a los lineamientos de seguridad para la manipulación de agentes citotóxicos (guantes, goggles y respirador) indicados en la hoja MSDS!** Debido a que la mayor parte de la población humana (~90%) ha estado expuesta al virus de Epstein-Barr (EBV), los linfocitos T presentes en las CMN aisladas por el método de Ficoll-1077 pueden interferir con el proceso de transformación. Para evitar esto se hace uso de una pequeña concentración de CyA en los medios de cultivo durante el proceso de transformación celular. La CyA inhibe la síntesis de IL-2 producida por linfocitos T evitando que se activen los linfocitos citotóxicos que podrían matar a las células B que están en vías de transformación. La CyA empleada por el Laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la UASLP es distribuida por Sigma Biopharmaceuticals con el número de catálogo C1832-10MG.

Procedimiento

1. Limpie con etanol al 70% el frasco de CyA y el de etanol absoluto antes de ingresarlos al CCC y al GSB.
2. Añada 1 mL de etanol absoluto al frasco de 10 mg de CyA provisto. Esto permitirá generar una solución de CyA a una concentración de 10mg/mL.
3. Mezcle adecuadamente por inversión la solución alcohólica de CyA.
4. Añada 99 mL de RPMI sin suero bovino fetal (FBS) a un frasco de policarbonato estéril de 125 mL y agregue el contenido total (1 ml) de la solución alcohólica de CyA para preparar la **Solución Stock de CyA** a 100 µg/mL.
5. Mezcle y almacene bajo refrigeración en el refrigerador del CCC.

Notas

1. La concentración final en el medio de cultivo de la Ciclosporina deberá ser de 1.0 µg/mL. Se requieren 10 µL de la solución stock de CyA por cada mL del medio de cultivo.





Referencias

1. Tosato G, Cohen JI. Generation of Epstein-Barr Virus (EBV)-Immortalized B Cell Lines. *Current Protocols in Immunology*. (2007) 7.22.1-7.22.4
2. Sigma. Product Information. Cyclosporin A from *Tolypocladium inflatum*.
3. Gorodezky C, et al. Manual de Procedimientos Serológicos y Celulares de Histocompatibilidad. Departamento de Inmunología e Inmunogenética del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE), Mexico, 2007.

Revision history

- 1.0 Original document.
- 2.0 Optimized protocol.
- 3.0 Changes to document format only.

