

## LABORATORIO DE BIOMEDICINA APLICADA



### OBJETIVOS:

Estudiar la aplicación de modificaciones celulares para su uso terapéutico

### ÁMBITO:

Enfermedades epiteliales y hematológicas hereditarias, así como modelos de cáncer

### ÁREA TEMÁTICA:

Biología y biomedicina

### TIPO DE SERVICIOS:

Investigación, Desarrollo e Innovación

### FUNCIONES:

- Caracterizar y separar células madre hematopoyéticas y epiteliales
- Desarrollar técnicas de terapia génica y terapia celular en un laboratorio limpio para aplicaciones clínicas
- Realizar estudios de oncología molecular
- Realizar el estudio e investigación de células hematopoyéticas y epiteliales para su aplicación
- Realizar trasplantes de células hematopoyéticas humanas y de piel humana en modelos de ratón
- Desarrollo por ingeniería genética de ratones para servir como nuevos modelos de cáncer
- Identificación y caracterización mediante genómica funcional de las células madre del cáncer y su relación con las células madre adultas

### UBICACIÓN:

CIEMAT Madrid-Moncloa. Avda. Complutense, 40 - 28040 Madrid. [www.ciemat.es](http://www.ciemat.es)

## CONSTA DE:

### 1) Sala de preparación de material

Zona de preparación del material que se utilizará en la investigación. Se compone de dos salas:

- √ *Sala de preparación de material no estéril.* En ella se lava y prepara el material para su esterilización. Para ello, el material de cristal se introduce en autoclaves.
- √ *Sala de preparación de material estéril.* En ella se prepara el material necesario para la investigación tanto el material de cristal procedente de la esterilización con autoclave o el material de plástico de un único uso.

### 2) Sala de criogenización y cámaras de frío

Salas acondicionadas para la congelación de células. Las células se conservan a  $-196^{\circ}\text{C}$  en  $\text{N}_2$  líquido tras una congelación gradual en presencia de un criopreservador (compuesto de glicerol o dimetilsulfóxido al 10 %) para evitar la ruptura de las células. También se conservan a  $-80^{\circ}\text{C}$  durante menos tiempo en ultracongeladores. Estas muestras incluyen desde muestras iniciales de las distintas fases de experimentación y las muestras finales.

### 3) Laboratorio de biología molecular

Consta de distintas salas donde se realiza la investigación y experimentación con muestras procedentes de células madre, tumores... Se trata de un laboratorio biológico completo donde se realiza la extracción y modificación de ADN, creación de nuevos vectores, tinciones, PCR,...

Para la caracterización de las células madre se utilizan microscopios ópticos y de fluorescencia. En la preparación de la muestra para microscopía se utiliza una sala específica donde se realiza el procesado de tejidos así como el corte con microtomo criogénico, el montaje en parafina y la tinción de muestras.

La caracterización de secuencias de ácidos nucleicos se realiza por medio de electroforesis.

Específicamente, en el área denominada Genderlab, se realiza el fenotipado y genotipado de genodermatosis para el diagnóstico molecular de estas patologías. También se realiza el aislamiento y purificación de ácidos nucleicos, análisis por Southern blot, el genotipado de mutaciones en pacientes de genodermatosis (incluyendo PCR y secuenciación), el fenotipado de muestras de piel de pacientes mediante inmuofluorescencia y el análisis histopatológico para determinar plano de ruptura de la unión dermo-epidérmica

### 4) Laboratorio de citometría y separación celular (LACISEP)

Realiza la identificación, caracterización, cuantificación y aislamiento de células madre adultas tanto en animales de experimentación (ratón) como en humanos, en concreto células madre hematopoyéticas, epidérmicas y mesenquimales.

Tanto la caracterización como el aislamiento se lleva a cabo mediante técnicas basadas en citometría de flujo, que permiten el análisis de una gran cantidad de células, analizando múltiples parámetros biológicos en muy poco tiempo. También se desarrollan nuevos sistemas de análisis más complejos en esta técnica, utilizada de forma rutinaria en hospitales, y se ensaya en animales de experimentación. Además, se han establecido técnicas de análisis para la caracterización de células madre embrionarias (ES) y células pluripotentes inducidas (iPS) tanto de ratón como humanas.

Este laboratorio también realiza el procesamiento/marcaje de muestras y la planificación/diseño de experimentos de análisis y separación celular así como la realización de ensayos de rutina en citometría siendo un referente a nivel nacional en el análisis y purificación de células madre, especialmente de células madre hematopoyéticas.

La separación de células madre se realiza por citometría de flujo. Este equipo permite la separación y análisis de la distribución de las células madre características (marcadas) según la fluorescencia de las mismas. Este análisis se completa con la medida de la distribución de las células por tipos aunque el equipo que realiza esta tarea no realiza su separación.

#### **5) Laboratorio de cultivos celulares hematopoyéticos**

Realiza el cultivo de precursores y células madre hematopoyéticas y la obtención de tejidos. El cultivo celular se realiza en cabinas de flujo laminar específicas y el crecimiento se realiza en cámaras de incubación específicas.

#### **6) Laboratorio de cultivos celulares epiteliales (Keratolab)**

Realiza los cultivos de células, realizados en cabinas de flujo laminar específicas, y la obtención de tejidos, realizada en cámaras de incubación específicas.

Además, también permite la realización del aislamiento y expansión de células primarias obtenidas de biopsias de piel y líneas celulares de distintos orígenes, la generación de pieles bioingenierizadas para modelización y ensayos terapéuticos de distintas enfermedades, la modificación genética (terapia génica) en estos tipos celulares y se usan distintos vectores virales y sistemas físicos avanzados (liposomas, nanopartículas).

#### **7) Animalario**

Una vez identificadas las células modificadas, éstas son introducidas en ratones de laboratorio para comprobar su eficacia en sistemas reales.

El objetivo de este laboratorio es obtener una granja de animales sanos no variables para que los efectos del experimento sean causa del mismo y no de otra variable. Para ello, los animales se distribuyen en distintas zonas:

- √ *Zona de cría.* Es donde se encuentran las familias de ratones (formadas por dos hembras y un macho) y los ratones utilizados para procrear. Todos están clasificados según sus características y su uso. Las jaulas tienen una entrada de aire presurizado en unas determinadas condiciones y es extraído de forma cíclica.
- √ *Zona de animales adultos.* En este caso, los animales se agrupan en jaulas similares a las anteriores según las cepas, colores y tipos.

- Sala de animales irradiados. Son animales que han sido irradiados para la experimentación.
- Sala de animales inmunodeficientes. Es la zona donde se encuentran los ratones totalmente inmunodeficientes y que aceptan células de cualquier tipo de ratón o humanas pues su sistema de defensa no existe.
- Sala de ratones desnudos. Es la zona donde se encuentra un tipo específico de ratones que no tienen pelo utilizados para estudios de piel.
- Sala de animales transgénicos. Es la zona de cría y estudio de animales transgénicos donde se estudian cepas combinadas para ver la respuesta de los animales a la carcinogénesis. Estos animales son los más sensibles pues son, a la vez, transgénicos e inmunodeficientes.

√ *Zona de estudios*. Dependiendo del experimento (estudio) al que se somete y del tipo de ratón, los ratones a estudio son colocados en determinadas salas.

Este laboratorio está autorizado para el uso confinado de organismos modificados genéticamente de tipo II pudiendo realizar la generación de ratones transgénicos por microinyección, la irradiación de animales y sus muestras (rayos X), el diagnóstico por imagen (PET, CT, moléculas marcadas), la criopreservación y rederivación de líneas de ratón y biopatología clínica de diversas especies.

## 8) Laboratorio de manipulación embrionaria

Realiza la modificación genética embrionaria por fecundación in vitro mediante la manipulación por microinyección nuclear de DNA y vectores virales en pronúcleos

La inyección se puede realizar con varios equipos de inyección de módulos. Esta técnica permite crear animales con unas determinadas características y evitan la cuarentena de los animales enfermos pues son utilizados sus propios embriones.

## 9) Laboratorio de efectos biológicos de las radiaciones

Realiza irradiaciones con rayos X a ratones para su acondicionamiento y utilización en experimentos que así lo requieran. Así mismo, también se realizan irradiaciones a cultivos celulares in vitro.

## 10) Laboratorio para manipulación de células humanas (CLINISTEM)

Realiza la manipulación de muestras para su uso clínico en pacientes. Este laboratorio tiene un nivel de contención tipo II pudiendo ser utilizados para organismos modificados genéticamente.

## SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD:

Esta instalación pertenece a la Red de Laboratorios e Infraestructuras de la Comunidad de Madrid con nivel de calidad de trazabilidad como laboratorios de ensayo y nº de referencia de: 262-Laboratorio de cultivos de la División de Hematopoyesis; 277-Laboratorio de citometría y separación celular (LACISEP); 372-Keratolab; 380-Genderlab; 373-Servicio de Animalario.

Además, el Laboratorio para manipulación de células humanas (CLINISTEM) se encuentra certificado por la Agencia Española del Medicamento (AEMPS) en las normas de correcta fabricación de medicamentos, GMP's.