

Producción de tetrámeros de MHC-I

Claire Horlock, Imperial College London, Reino Unido

Traducción: Jesús Gil, Würzburg, DE (SEI)

Los **tetrámeros de MHC** fueron descritos por primera vez a mediados de 1990 y, desde entonces, han desempeñado un papel fundamental para los inmunólogos especializados en células T. La identificación de células T específicas de antígeno es realmente complicada debido a la baja avididad de la interacción entre el receptor del linfocito T (TCR) y el complejo péptido:MHC. La interacción tiene una vida media de tan solo 10 segundos.

La producción de los tetrámeros se muestra en la **Figura 1**. Primero se sintetizan las cadenas pesadas del MHC que expresan un dominio de reconocimiento para BirA (origen bacteriano). Posteriormente se les une β_2 -microglobulina (β_2 M; la cadena ligera del MHC) y un péptido sintético. La enzima **BirA** se añade posteriormente para biotilizar el complejo, añadiendo una molécula de biotina a cada monómero de MHC que se forma. En presencia de **estreptavidina**, que tiene cuatro dominios de unión para biotina, se ensamblan cuatro monómeros de MHC para formar un tetrámero.

Mientras que un solo complejo péptido:MHC y TCR se une de manera débil, los tetrámeros pueden unir hasta cuatro TCRs simultáneamente, creando una interacción mucho más fuerte. Los tetrámeros de MHC solo se unen a los TCR específicos (**Figura 2**), por lo que se pueden generar tetrámeros con una cadena pesada determinada (por ej. HLA-A2, HLA-B7), unidos a cualquier epítipo de elección (ej. viral, bacteriano, tumoral o antígeno autoinmune).

La molécula de estreptavidina normalmente está unida a un **fluorocromo**, como la **ficoeritrina**, lo que permite una tinción directa para citometría de flujo. Un ejemplo de tinción de tetrámeros se muestra en la **Figura 3**.

En dicha foto las células periféricas mononucleares de la sangre (PBMCs) han sido teñidas con un anticuerpo específico para CD8 y se presentan tetrámeros con moléculas HLA-A2 que contienen un péptido de un citomegalovirus (CMV). Se puede ver que el 1,3% de las células CD8+ son tetrámero positivas. Con esta técnica se pueden medir células T antígeno específicas en un porcentaje tan bajo como 0,05%.

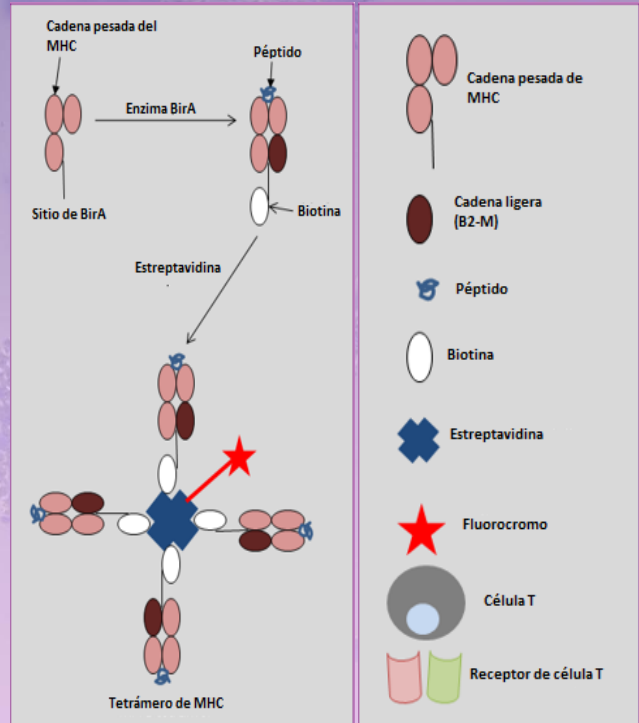


Figura 1. Producción de tetrámeros de MHC. El diagrama muestra como se producen los tetrámeros de MHC. A la derecha se muestra la leyenda de los símbolos utilizados.

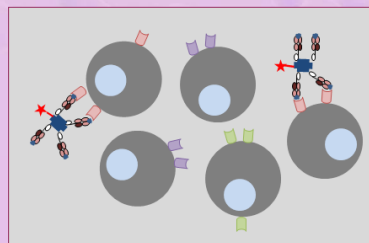


Figura 2. Los tetrámeros de MHC solo se unen a TCR específicos que reconocen el péptido contenido en las moléculas de MHC. Cualquier otro TCR no se unirá.

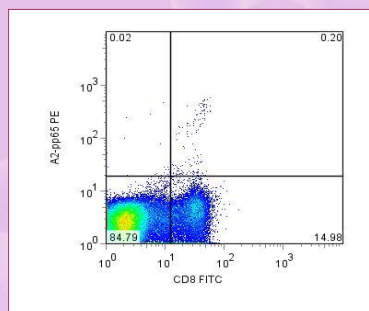


Figura 3. Análisis de citometría de flujo de un paciente cuyas células T reconocen específicamente el epítipo A2 de la proteína pp65 de citomegalovirus.