Obtención de células linfoides

de pulmón

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dr. Oscar Medina Contreras | Dr. Oscar Medina Contreras | Dra. Jenny Vilchis Gil |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 2020-04-08 | 2020-04-08 | 2020-05-01 |

1. **Propósito**

Extraer células linfoides de pulmón de ratones de la cepa BALB/c o C57BL/6 para los fines que se requiera.

1. **Alcance**

Este procedimiento involucra a todo el personal técnico, científico y estudiantes que deseen extraer células linfoides de pulmón de ratones de la cepa BALB/C o C57BL6 en la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez.

1. **Políticas de operación, normas y lineamientos**

Es responsabilidad de todo el personal técnico, científico y estudiantes adscritos a la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez conocer y dar seguimiento a este procedimiento.

Los residuos de tipo CRETI (Corrosivas, Reactivas, Explosivas, Toxicas e Inflamables) se deberán eliminar con base en su clasificación y especificaciones de manejo según la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002; así como sus características intrínsecas y su toxicidad al ambiente según la NOM-052-SEMARNAT- 2005.

El manejo de animales de laboratorio, se debe de realizar según los lineamientos de la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999, sobre las especificaciones técnicas para el cuidado, uso y disposición final de productos biológicos, excretas y cadáveres. Así como la norma oficial mexicana NOM-087-ECOL-1995, que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos, que se generan en establecimientos que presten atención médica.

1. **Descripción del Protocolo**

* Sacrificar a los ratones (BALB/C o C57BL6) mediante dislocación cervical.
* Perfundir los pulmones con PBS 1X, removerlos y colocarlos en PBS 1X / SFB (5%).
* Disgregar el tejido con RPMI, SFB al 2%, colagenasa (1mg/ml) y DNasa I (1mg/ml).
* Mantener en agitación a 250 rpm por 11 minutos a 37°C. Pasar las células por una membrana de nylon de 40-70 micras de diámetro, recolectar y lavar con PBS1X.
* Eliminar los eritrocitos con solución de lisis eritrocitario por 5 minutos/37°C.
* Lavar las células con PBS1X 1500 RPM /4°C / 5 minutos y resuspender las células en PBS1x (2ml; frio).

1. **Diagrama de Flujo**
2. **Documentos de Referencia**

Valle-Rios, R. *et al.* Isthmin 1 is a secreted protein expressed in skin, mucosal tissues, and NK, NKT, and th17 cells. *J. Interferon Cytokine Res.* 34, 795–801 (2014).