

Modelo *in vitro* de regeneración del sistema nervioso central (SNC) con neuronas ganglionares de retina (NGR) adulta, utilizando células de glía envolvente olfativa humanas inmortalizadas (OEGhi).



NOMBRE DE LA TECNOLOGÍA/SERVICIO OFERTADA/O

Modelo *in vitro* de regeneración del sistema nervioso central (SNC) con neuronas ganglionares de retina (NGR) adulta, utilizando células de glía envolvente olfativa humanas inmortalizadas (OEGhi).

DESCRIPCIÓN Y CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES DE LA TECNOLOGÍA/SERVICIO

Estudios recientes han demostrado que las células de la glía envolvente olfatoria (GEO) son un potente mediador de regeneración en el SNC; sin embargo, estas células no se pueden mantener en cultivo indefinidamente. Así, Moreno-Flores y col. establecieron líneas de GEO inmortalizada (GEOi) a partir de cultivos primarios de bulbos olfativos de ratas adultas y humanos (GEOhi) y demostraron que estas líneas mantenían la capacidad neuro-regenerativa de los cultivos originales. Para ello utilizaron un modelo *in vitro* de regeneración del SNC con neuronas ganglionares de retina (NGR) adulta y también demostraron que GEOi promovía la reparación axonal y la recuperación funcional en un modelo *in vivo*, la lesión de la médula espinal (ME) de rata. Las propiedades neuro-regenerativas de la GEO se deben a la combinación de varios factores. Estas células mantienen la vasculatura, promueven angiogénesis en la zona lesionada, y modulan la respuesta inflamatoria. Los astrocitos reactivos son una de las principales fuentes de moléculas inhibitorias para la regeneración axonal. Las células de GEO interactúan en cultivo de manera diferente con astrocitos y células meníngeas, siendo capaces de mezclarse con los astrocitos reactivos de la cicatriz glial, reduciéndola. Producen proteasas de la matriz extracelular y penetran en la cicatriz glial correlacionando con su habilidad para promover regeneración del tracto corticoespinal en nuestro modelo de lesión de la médula espinal de rata. Además, secretan factores neurotróficos, siendo neuroprotectoras en la médula espinal lesionada. Finalmente, son capaces de producir remielinización tras su trasplante en médula espinal, reclutando células de Schwann, o bien mielinizando ellas mismas.

Las células de GEO humanas han sido sometidas a una inmortalización reversible usando transferencia lentiviral de los genes TERT y BMI-1, que quedan flanqueados en el genoma por sitios LoxP (dianas de la recombinasa CRE), pudiendo ser eliminados tras la expansión celular necesaria (como mecanismo de seguridad antes de un trasplante).



Modelo *in vitro* de regeneración del sistema nervioso central (SNC) con neuronas ganglionares de retina (NGR) adulta, utilizando células de glía envolvente olfativa humanas inmortalizadas (OEGhi).



ASPECTOS INNOVADORES DE LA TECNOLOGÍA/SERVICIO Y VENTAJAS COMPETITIVAS/TÉCNICAS DE LA TECNOLOGÍA/SERVICIO

Nuestro ensayo para la capacidad neuroregenerativa estará basado en un método, modificado del método de Wigley. A diferencia de neuronas de animales en el periodo embrionario o neonatal temprano, las neuronas maduras, especialmente las adultas, no son capaces de regenerar sus axones después del proceso que supone la disección y disociación para el establecimiento de cultivos celulares. Hemos descrito que neuronas ganglionares de retina adultas cultivadas sobre GEOs, desarrollan numerosas y largas neuritas.

Estas neuronas cultivadas son inmunoteñidas usando el anticuerpo 514, específico para la proteína asociada a los microtúbulos (MAP), MAP2 de alto peso molecular (MAP2A y B), con una distribución somatodendrítica; y el anticuerpo SMI31, específico para el fosfoepítipo axonal en MAP1B/neurofilamento. Se establece el criterio de que las neuritas SMI31-positivas/514 negativas son axones.

La longitud axonal media se determina utilizando la aplicación NeuronJ del software ImageJ (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA). El índice de regeneración axonal equivaldrá a la longitud media axonal por neurona.

PALABRAS CLAVE DE LA TECNOLOGÍA/SERVICIO

Línea celular de Glía envolvente olfativa humana, regeneración axonal, neuronas ganglionares de retina.

EXPERIENCIA RELEVANTE

Moreno-Flores y col. establecieron líneas de GEO inmortalizada (GEOi) a partir de cultivos primarios del bulbo olfativo de rata y humanos obtenidos de necropsias y de autopsias. Demostramos que dichas líneas de GEOi mantenían la capacidad neuro-regenerativa de los cultivos primarios originales, tanto en un modelo *in vitro* de regeneración del SNC adulto - el cocultivo de GEO y GEOi con neuronas ganglionares de retina (NGR) adulta - , como en un modelo *in vivo* - la lesión de la médula espinal de rata (aplastamiento de las columnas dorsales a nivel cervical 3).

APLICACIONES DE LA TECNOLOGÍA/SERVICIO

Modelo de regeneración de neuronas ganglionares de retina (NGR) adulta.



**INVESTIGACIÓN
en la UFV**



Comercialización de la tecnología, transferencia del conocimiento generado en la Universidad hacia el tejido empresarial

Modelo *in vitro* de regeneración del sistema nervioso central (SNC) con neuronas ganglionares de retina (NGR) adulta, utilizando células de glía envolvente olfativa humanas inmortalizadas (OEGhi).



ÁREA TECNOLÓGICA

Biotechnología y sanidad.

GRADO DE DESARROLLO DE LA TECNOLOGÍA

Diseño preliminar.

TIPO DE COLABORACIÓN SOLICITADA

Investigación posterior.

DESTINATARIOS DE LA TECNOLOGÍA/SERVICIO OFERTADA/O

Laboratorios de investigación biomédica.

CÓDIGOS UNESCO: 2407, 2409, 2410.

PERFIL DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN

La Dra. Moreno-Flores y col. establecieron varias líneas clonales de GEO inmortalizada a partir de cultivos primarios obtenidos del bulbo olfativo de rata. Varias de estas líneas mantenían la capacidad regenerativa de los cultivos parentales originales y les proveyeron de una fuente inagotable de estas células para estudios *in vitro* e *in vivo*. Utilizaron la línea TEG3 de GEO inmortalizada para demostrar que el trasplante de esta línea clonal en un modelo animal de lesión de la médula espinal (aplastamiento bilateral de las columnas dorsales de la médula espinal de rata a nivel cervical 3) daba lugar a su integración en la médula sin formar tumores y promovía reparación axonal de los principales tractos implicados en la lesión permitiendo recuperación funcional motora y sensitiva de los animales lesionados y transplantados. Posteriormente extendieron estos estudios a células de GEO humanas, que fueron obtenidas a partir de bulbos olfativos de autopsias, e inmortalizadas reversiblemente, manteniendo las propiedades neuro-regenerativas de los cultivos primarios originales, pero con capacidad para dividirse indefinidamente *in vitro*.

La Dra. M. Teresa Moreno tiene una experiencia post doctoral de 20 de años en el campo de la regeneración del sistema nervioso central. A destacar son sus periodos en los laboratorios del Prof. Manuel Nieto-Sampedro en el Instituto Cajal de Madrid, en el Departamento de Neuromorfología dirigido por el Prof. Georg W. Kreutzberg, en el Instituto Max-Planck de Neurobiología, en Munich, y en el laboratorio del Dr. Francisco Wandosell en el "Centro de Biología Molecular Severo Ochoa" (CBMSO). A partir del año 2007 pasó a dirigir el laboratorio de



**INVESTIGACIÓN
en la UFV**



Comercialización de la tecnología, transferencia del conocimiento generado en la Universidad hacia el tejido empresarial

Modelo *in vitro* de regeneración del sistema nervioso central (SNC) con neuronas ganglionares de retina (NGR) adulta, utilizando células de glía envoltiva olfativa humanas inmortalizadas (OEGhi).



Neuro-regeneración, dentro del grupo del Prof. Jesús Ávila en el CBMSO, siendo investigador principal de proyectos financiados por la compañía Noscira (Neuropharma S.A.) y por la Fundación Marcelino Botín. Su trabajo, en la línea de regeneración neuronal, ha dado lugar a más de 30 publicaciones en revistas SCI, la mitad de las cuales en la línea en la que se encuadra este proyecto.

Contacto comercial:



Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación OTRI-UFV-otri@ufv.es

BORRADOR



**INVESTIGACIÓN
en la UFV**



Comercialización de la tecnología, transferencia del conocimiento generado en la Universidad hacia el tejido empresarial