

INDICE

	Página
I RESUMEN	1
II INTRODUCCIÓN	3
III REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Sistema inmune	5
3.1.1 Generalidades	5
3.1.2 Hematopoyesis	7
3.2 Células del sistema inmune	9
3.2.1 Linfocitos	9
3.2.1.1 Linfocitos T	10
3.2.1.2 Linfocitos B	10
3.2.2 Monocitos	11
3.2.3 Macrófagos	11
3.2.4 Neutrófilos	12
3.2.5 Eosinófilos	12
3.2.6 Basófilos	13
3.3 Órganos linfoides	13
3.3.1 Órganos linfoides primarios	13
3.3.2 Órganos linfoides secundarios	14
3.4 Inmunidad Innata	15
3.5 Inmunidad Adquirida	16

3.6 Especificidad de la respuesta inmune	16
3.7 Citoquinas	17
3.7.1 Interleuquina 4	20
4.1 Consumo de frutas para control de enfermedades	21
4.1.1 Propiedades del tomate	22
4.1.2 Licopeno	22
5.1 Cultivo celular	24
5.1.1 Medio de cultivo RPMI 1640	24
5.1.2 Concanavalin A	24
6.2 RT- PCR	25
VII HIPÓTESIS	29
VIII OBJETIVOS	29
8.1 Objetivo general	29
8.2 Objetivos específicos	29
IX MATERIALES Y MÉTODOS	30
9.1 Vegetal	31
9.2 Estandarización de obtención de la muestra	31
9.3 Obtención del recuento de Glóbulos Blancos	32
9.4 Estandarización cultivo celular	34
9.4.1 Adición de los compuestos	34
9.5 Extracción de RNA	38
9.6 Tratamiento de RNA con DNAsa	39

9.7 Síntesis de cDNA	39
9.8 Amplificación de cDNA por PCR	39
9.8.1 Preparación gel de agarosa	41
9.8.2 Carga de los geles	41
X RESULTADOS	42
10.1. Cálculo de volumen de muestra y medio de cultivo	42
10.2 Viabilidad de células una vez estandarizado en cultivo celular	43
10.3 RT-PCR para células Hek 293	44
10.4 RT-PCR para GADPH e IL-4	45
10.5 Concentración de RNA final	46
XI DISCUSIÓN	48
XII CONCLUSIONES	51
XIII ANEXOS	52
13.1 Reactivos, insumos y equipos	52
13.1.1 Reactivos e insumos	52
13.1.2 Equipos	53
13.1.3 Material de vidrio	53
XIV BIBLIOGRAFÍA	54

INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Citoquinas y sus acciones.	19
Tabla 2. Curva para estandarización de mononucleares.	34
Tabla 3. Primers empleados para la detección de IL-4 y GADPH.	40
Tabla 4. Protocolo para amplificación por PCR.	40
Tabla 5. Programación de termociclado en PCR para estandarizar temperatura.	41
Tabla 6. Concentración obtenida al leer las absorbancias de cada muestra.	46

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Células del sistema hematopoyético. (Orellana R. 2004)	9
Figura 2. Perfil térmico típico de una PCR. (Pérez A. 2009)	28
Figura 3. Técnica de extracción de sangre a una persona sana de la Universidad de Talca	32
Figura 4. a): Sangre mezclada con 5 ml de PBS. b) Sangre con histopaque.	32
Figura 5. a) Centrifugado de los tubos. b) Fases: Base: Glóbulos rojos; medio bajo: Histopaque; medio: capa de mononucleares; superficie: plasma.	33
Figura 6. Orden de carga de pocillos con sus respectivos extractos.	35
Figura 7. Fotografía microscopio óptico aumento 40X del cultivo celular a diferentes concentraciones de células mononucleares. A) $1,5 \times 10^5$. B) 3×10^5 . C) 6×10^5 . D) 9×10^5 . E) $1,2 \times 10^6$ células/ μ L	37
Figura 8. Solución que contiene mezcla de cada pocillo junto con reactivo trizol.	38
Figura 9. Viabilidad de las células una vez estandarizada la técnica. a)viabilidad antes de incubacion. b) células muertas teñidas con azul de tripan. c) viabilidad de células a las 24 horas después de la incubación.	43
Figura 10. Electroforesis en gel de agarosa para RT-PCR en células HEK 293. 1) IL-2; 2) IL-4; 3) TNF	44
Figura 11. Electroforesis en gel de agarosa con productos de PCR para GADPH e IL-4.	45
Figura 12. Electroforesis en gel de agarosa con productos de PCR para IL-4.	47