

Obtención de un anticuerpo monoclonal que identifica timocitos humanos

A. M. VÁZQUEZ,¹ C. HERMIDA,² K. TORRES,¹ J. GAVILONDO,³ M. M. VÁZQUEZ,¹
E. RENGIFO,¹ J. F. AMADOR,¹ M. M. GARCÍA¹ y G. BOMBINO¹

¹ Departamento de Biología, Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología, 29 y F, Vedado, La Habana 4, Cuba

² Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", 200 y 17, Siboney, La Habana, Cuba

³ Laboratorio de Híbridomas, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Apartado 6162, La Habana 6, Cuba.

Recibido en febrero de 1988

RESUMEN

El anticuerpo monoclonal (AcM) IOR-T7, del tipo IgM, es secretado por un híbrido generado por la inmunización de ratones BALB/c con células de la línea de cultivo CEM y la fusión de los linfocitos esplénicos con el mieloma P3/x63.Ag8.6.5.3. Este AcM no reconoce, o lo hace en muy bajo porcentaje, las poblaciones celulares de la sangre periférica, mientras que identifica el 76 y el 79% de timocitos fetales y pediátricos, respectivamente, y las líneas celulares CEM y Molt-4, de origen T. El antígeno reconocido por este AcM parece estar relacionado con estadios tempranos de la ontogenia de los timocitos humanos.

SUMMARY

The monoclonal antibody (MAb) IOR-T7, of the IgM type, is secreted by a hybridoma generated by the immunization of BALB/c mice with cells of the CEM culture line, and the fusion of the splenic lymphocytes with the P3/x63.Ag8.653 myeloma. This MAb does not recognize at all, or identifies in very low percentages, the peripheral blood cell populations, while reacts with 76 and 79% of fetal and pediatric thymocytes, respectively, and the CEM and Molt-4 culture cell lines of T origin. The antigen recognized by this MAb seems to be related with early stages of the ontogeny of human thymocytes.

INTRODUCCION

La obtención de anticuerpos monoclonales (AcM) contra marcadores de superficie de linfocitos (Kung *et al.*, 1979; Reinherz *et al.*, 1979, 1979a, 1980; Engleman *et al.*, 1981; Norton *et al.*, 1986), ha permitido definir distintos estadios durante el proceso de diferenciación que desarrollan en el timo las células precursoras provenientes de la médula, para terminar en linfocitos T maduros.

En general, puede decirse que estos se caracterizan por la expresión de los antígenos T10 y T9 (protimocitos, estadio I), pérdida del T9, aparición del T6 y coexpresión de T4 y T8 (timocito común, estadio II) y finalmente desaparición de T6, expresión de T3 y T1, y división de las poblaciones que expresan además T4 o T8 (timocitos maduros, estadio III). Ya en la sangre, las células T se encuentran en el estadio IV de diferenciación y pierden el marcador T10 (Reinherz *et al.*, 1980a; Bradstock *et al.*, 1980; Bhan *et al.*, 1980).

Conociendo que estos antígenos de diferenciación se conservan o expresan en diferentes líneas celulares de cultivo derivadas de leucemias y linfomas, nosotros empleamos

la inmunización con la línea CEM (origen T) para obtener AcM capaces de identificar timocitos humanos y que, a su vez, pudieran ser de utilidad en el diagnóstico y clasificación de estas enfermedades malignas. El AcM obtenido, que denominamos IOR-T7, parece identificar un antígeno expresado durante las etapas tempranas del desarrollo ontogénico de los timocitos.

MATERIALES Y METODOS

Inmunización y obtención de hibridomas de ratón

Se inmunizaron ratones BALB/c con inyecciones endovenosas consecutivas de 2, 5 y 10 millones de células CEM, en un intervalo de dos semanas. El animal seleccionado para la fusión se reinmunizó tres días antes con 20 millones de células, empleando la misma vía. Los procedimientos básicos para la producción de hibridomas mediante la fusión del mieloma P3/x63/Ag8.653 y los linfocitos esplénicos, así como el cultivo y clonaje de estos, han sido descritos en otros trabajos (Fernando *et al.*, 1986).

Determinación de la especificidad de los anticuerpos

Para la identificación de la reactividad entre los anticuerpos producidos y las diferentes células diana, se empleó la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Boucheix *et al.*, 1983), empleando como controles de referencia el AcM OKT9 (anti-receptor de transferrina; Ortho Diagnostics, Raritan) y los AcM anti-T3, anti-T4 y anti-T8 (linfocitos T, linfocitos T auxiliares, linfocitos T supresores/citotóxicos, respectivamente).

Los estudios se realizan con:

a) Células mononucleares de sangre periférica (CMP), células obtenidas a partir de donantes sanos por técnicas diversas (García y Silva, 1979; Territo y Clive, 1980; Hudson y Hay, 1980; Moretta *et al.*, 1977). En algunos experimentos, las CMP se activaron durante 72 horas en cultivo con un microgramo de fitohemaglutinina por mililitro de medio RPMI 1640, suplementado con 10% de suero bovino inactivado (CUBAVET).

b) Plaquetas, obtenidas a partir de concentrados producidos por el Banco de Sangre provincial.

c) Células de timos pediátricos y fetales, tomadas durante la primera hora posterior a interrupciones de embarazo prescritas y operaciones cardiovasculares, y procesadas como reportado en trabajos anteriores (Vázquez *et al.*, 1986)

d) Las líneas celulares humanas de cultivo CEM y Molt-4 (estirpe T), Raji y Ramos (estirpe B), HL-60 (promielocítica), K562 (eritroblastoide), Chang (hepática) y MDA-MB-231 (carcinoma mamario).

Determinación de isotipo de los anticuerpos

Se empleó la técnica de inmunodifusión radial doble de Ouchterlony y Nielsson (1978), con antisueros clasificadores (Miles) y sobrenadantes de cultivo, concentrados 20 veces por ultrafiltración.

RESULTADOS

De los 600 cultivos de hibridomas generados en la fusión, el 75% de ellos producían anticuerpos que reconocían por IFI la línea celular CEM, en el primer tamizaje. En los subsiguientes ensayos de reconocimiento, se seleccionaron aquellos cultivos en los cuales este reconocimiento se mantenía y se manifestaba como altos porcentajes de células CEM fluorescentes y muy baja reactividad con CMP de donantes sanos. Uno de estos hibridomas se clonó y reclonó, seleccionándose finalmente el 372/90/27 para su caracterización posterior. El AcM secretado por este clon es del tipo IgM y se denominó IOR-T7.

En la tabla 1 se muestra que el AcM IOR-T7 no reconoce, o lo hace en muy bajo porcentaje, a los leucocitos, eritrocitos y plaquetas de sangre periférica; asimismo, la estimulación de CMP con fitohemaglutinina no aumenta la expresión del antígeno reconocido, por lo que es diferente del receptor de transferrina, cuyo incremento en expresión es identificado por el AcM OKT9 en estos experimentos.

Tabla 1
RECONOCIMIENTO DEL AcM IOR-T7 EN DIFERENTES POBLACIONES CELULARES
DE LA SANGRE PERIFERICA DE DONANTES SANOS

<i>Poblaciones celulares</i>	<i>Porcentaje de células positivas por IFI</i>
CMP	3 ± 3* (11)**
Linfocitos T	2 ± 3 (8)
Linfocitos B	2 ± 3 (5)
Monocitos	6 ± 4 (4)
Polimorfonucleares	2 ± 2 (6)
Plaquetas	0 ± 0 (3)
Eritrocitos	0 ± 0 (4)
CMP activadas con PHA	1 ± 1 (3)***

* Media ± desviación estándar

** Entre paréntesis se señalan los números de muestras estudiadas

*** En este experimento, los controles con los AcM anti-T3 y OKT9 dieron 70 ± 0 (2) y 84 ± 4 (2), respectivamente.

El AcM IOR-T7 reconoce el 76% de los timocitos fetales y el 79% de los timocitos pediátricos y su reactividad se limita a las líneas celulares de cultivo de origen T, como puede verse en las tablas 2 y 3, donde se compara su reactividad con otros AcM de especificidad conocida.

Tabla 2
RECONOCIMIENTO DEL AcM IOR-T7 EN SUSPENSIONES CELULARES
DE TIMOS FETALES Y PEDIATRICOS¹

	<i>IOR-T7</i>	<i>anti-T3</i>	<i>anti-T4</i>	<i>anti-T8</i>
Timos fetales (más de 19 semanas)	76 ± 10*(3)**	39 (2)	85 ± 6 (3)	88 ± 6 (3)
Timos pediátricos (8-16 años)	79 ± 19 (5)	70 ± 8 (5)	79 ± 3 (5)	77 ± 13 (5)

¹ Ver leyenda de la tabla 1, para los símbolos.

Tabla 3
CARACTERISTICAS DE RECONOCIMIENTO DEL AcM IOR-T7
EN VARIAS LINEAS CELULARES DE CULTIVO¹

	<i>IOR-T7</i>	<i>OKT9</i>	<i>anti-T3</i>	<i>anti-T4</i>	<i>anti-T8</i>
Líneas de origen T					
CEM	56 ± 17* (12)**	89 ± 7 (12)	3 ± 3 (11)	84 ± 11 (12)	14 ± 7 (5)
Molt-4	39 ± 9 (3)	73 ± 13 (3)	2 ± 3 (3)	5 ± 3 (3)	42 ± 6 (3)
Líneas de origen B					
Raji	1 ± 1 (8)	90 ± 8 (8)	2 ± 3 (7)	3 ± 4 (8)	0 ± 0 (4)
Ramos	0 ± 0 (7)	69 ± 28 (2)	N.R.	N.R.	N.R.
Líneas de origen promielocítico					
HL-60	3 ± 3 (5)	45 ± 37 (3)	N.R.	N.R.	N.R.
Líneas de origen eritroblastoide					
K562	0 ± 1 (10)	88 ± 13 (7)	2 ± 4 (10)	2 ± 3 (6)	0 ± 0 (2)

¹ Ver leyenda de la tabla 1, para los símbolos; N.R. = no realizado.

DISCUSION

Los linfocitos T normales, así como algunas leucemias y linfomas de este origen, y las líneas de cultivo derivadas a partir de estas últimas, expresan antígenos restringidos a esta estirpe celular, así como otros marcadores de activación más difundidos entre otras células (Reinherz *et al.*, 1980a; Bradstock *et al.*, 1980; Bhan *et al.*, 1980; Tidman *et al.*, 1981; Ritz *et al.*, 1981; Stein *et al.*, 1981; Jamossy *et al.*, 1981; Bernard *et al.*, 1982; Schroff *et al.*, 1982; Bakri *et al.*, 1984; Bernal y Boumsell, 1984; Norton *et al.*, 1986; Smith y MacCulloch, 1984; Cotner *et al.*, 1983; Sutherland *et al.*, 1981; Uchiyama *et al.*, 1981; Yokoi *et al.*, 1982; Cortner *et al.*, 1983; Ueda *et al.*, 1985).

El AcM IOR-T7 parece identificar un antígeno restringido a líneas celulares de cultivo de origen T, como lo indica su no reconocimiento de líneas celulares de otro origen, pero que no se expresa en CMP con activación o sin ella. La relación entre el antígeno identificado y los marcadores de diferenciación que caracterizan la ontogenia de la estirpe de linfocitos T se puso más en evidencia por los experimentos en los cuales este AcM reconoció altos porcentajes de timocitos fetales y posnatales.

De estos datos se deriva la idea de que el AcM IOR-T7 se asemeja en su reactividad a aquellos AcM que identifican antígenos expresados durante una etapa temprana del desarrollo ontogénico de los timocitos, como es el caso de los AcM que reconocen al antígeno tímico común (CD1) (Mc. Michael *et al.*, 1979; Knowles *et al.*, 1982; Ishii *et al.*, 1983; Hermida *et al.*, 1986).

Los resultados obtenidos en sangre periférica y timo con este AcM, excluyen que el antígeno reconocido sea de los tipos T3, T4, T8, T11 o T1 (Kung *et al.*, 1979; Reinherz *et al.*, 1979; 1979a; 1980; Engleman *et al.*, 1981; Kamoun *et al.*, 1981; Howard *et al.*, 1981; Carrel *et al.*,

1984; Tsuge *et al.*, 1984; García *et al.*, 1984; Norton *et al.*, 1986) o semejante a los que identifican una mayor proporción de células tímicas fetales que posnatales (Vázquez *et al.*, 1986).

Por las potencialidades del AcM IOR-T7 para el diagnóstico y clasificación de leucemias y linfomas de origen T, están en curso experimentos para determinar la localización anatómica en el timo de las células que expresan este antígeno, determinar sus características moleculares y estudiar su reconocimiento en leucemias y linfomas. Ello permitirá ubicarlo definitivamente en alguno de los *clusters* de diferenciación existentes (García, 1987) y definir mejor su aplicación.

AGRADECIMIENTOS

Las líneas Chang, HL-60, Ramos, Raji, K562 y Molt-4 fueron donadas por el Instituto Karolinska de Estocolmo; la CEM por J.C. Chermann, del Instituto Pasteur de París y la MDA-MB-231 por R. Cailleau, del M. D. Anderson Hospital and Tumor Institute, de Houston. Los autores desean agradecer la colaboración brindada por el hospital gineco-obstétrico Ramón González Coro y el Instituto de Cardiología de La Habana, para la obtención de las muestras de timo.

Este trabajo se realizó en el marco de la colaboración existente entre el Departamento de Biología del INOR y el Instituto Karolinska de Estocolmo, Suecia, parcialmente financiado por la agencia sueca SAREC.

REFERENCIAS

- BAKRI, K.; E. Z. EZDIULI; L. P. WASSER; T. HAN; T. SINCLAIR; S. SINGH; H. OZER y J. MINOWADA (1984). *T-suppressor cell chronic lymphocytic leukemia. Phenotypic characterization by monoclonal antibodies.* Cancer 54: 284-292.
- BERNARD, A.; B. RAYMAL; J. LAMERIE y L. BOUMSELL (1982). *Changes in surface antigens and malignant T cells from lymphoblastic lymphomas at relapse: an appraisal with monoclonal antibodies and microfluorometry.* Blood 59: 808-815.
- BERNARD, A. y L. BOUMSELL (1984). *Les antégens de differentiation des leucocytes malignes.* (2e. partie). Press. Med. 13: 2371-2380.
- BHAN, A. K.; E. REINHERZ; S. POPPEMA; R. T. MacCLUSKEY y S. F. SCHLOSSMAN (1980). *Localization of T cell and major histocompatibility complex antigens in the human thymus.* J. Exp. Med. 152: 771-782.
- BOUCHEIX, C.; J. Y. PERROT; M. MIRSHAHI; A. BERNADOU y C. ROSENFELD (1983). *A rapid method for detection of membrane antigens by immunofluorescence and its application to screening hybridoma antibodies.* J. Immunological Meth. 57: 145-150.
- BRADSTOCK, K. F.; G. JANOSSY; G. PIZZOLO; A. V. HOFFBRAND; A. McMICHAEL; J. R. PILCH; C. MILSTEIN; P. BAVERLEY y F. C. BOLLUM (1980). *Subpopulations of normal and leukemic human thymocytes: an analysis with the use of monoclonal antibodies.* JNCI 65: 33-39.
- CARREL, S.; N. GROSS; D. HEUMANN; R. P. SCKALY; C. GIRARDET; A. SCHMIDT-KESSER y J. P. MACH (1984). *Monoclonal antibody against a "Pan T Cell" antigen expressed by thymocytes peripheral T-lymphocytes and T-cell leukemias.* Molecular Immunology 21: 831-840.
- COTNER, T.; J. M. WILLIAMS; L. CHRISTENSUN; H. SHAPIRO; T. B. STROM y J. STROMINGER (1983). *Simultaneous flow cytometric analysis of human T cell activation expression and DNA content.* J. Exp. Med. 137: 461-472.
- ENGLEMAN, E. L.; R. WARNKE; R. I. FOX; J. DILLEY; C. J. BENIKE y R. LEVY (1981). *Studies of a human T lymphocyte antigen recognized by a monoclonal antibody.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 1791-1795.
- FERNANDEZ, A.; C. HERMIDA; J. GAVILONDO; C. GARCIA e I. ALVAREZ (1986). *Utilización de líneas celulares de cáncer mamario humano en la obtención de anticuerpos monoclonales que reconocen tejido tumoral.* Interferón y Biotecnología 3: 125-210.
- GARCIA, C. (1987). *Tercera Conferencia y Taller Internacional Sobre Antígenos de Diferenciación Leucocitarios Humanos.* Carta al Editor. Interferón y Biotecnología 4: 188-191.

- GARCIA, C. A. y C. SILVA (1979). *Cultivo y estimulación de linfocitos humanos purificados con Verograftn*. Reporte preliminar. Revista CENIC.
- GARCÍA, C. A.; J. GAVILONDO; J. F. AMADOR; A. M. VAZQUEZ y A. FERNANDEZ (1984). *Obtención de hibridomas de ratón productores de anticuerpos monoclonales que reconocen células humanas de origen T. II. Caracterización de los anticuerpos monoclonales IOR-T1 e IOR-T2*. Interferón y Biotecnología 1: 29-38.
- HERMIDA, C.; J. GAVILONDO; A. M. VAZQUEZ y K. TORRES (1986). *Obtención de anticuerpos monoclonales que reconocen proteínas de membranas expresadas por la leucemia en cultivo CEM*. Resúmenes del 2do. Seminario Cubano sobre Interferón y Iro. de Biotecnología. La Habana, Cuba, febrero de 1986 (en prensa).
- HOWARD, F. D.; J. A. LEDBETTER; J. WONG; C. P. BIEBEC; E. B. STINSON y L. A. HERZEMBERG (1981). *A human T lymphocyte differentiation marker defined by monoclonal antibodies that block E-rosette formation*. J. Immunology 126: 2117-2122.
- HUDSON, C. Y. F. HAY (1980). *Practical Immunology*. 2nd Ed. Blackwell Scientific Publications. London, Edimburg, Melbourne.
- ISHII, Y.; S. KON; T. TAKEI; J. FUJIMOTO y K. KIKUCH (1983). *Four distinct antigen systems on human thymus and T cells defined by monoclonal antibodies*. Immunohistological and immunochemical studies. Clin. Exp. Immunol. 53: 31-40.
- JANOSSY, G.; N. TIDMAN; E. S. PAPAGEORGION; P. C. KUNG y G. GOLDSTEIN (1981). *Distribution of T lymphocyte subsets in the human bone marrow and thymus: An analysis with monoclonal antibodies*. J. Immunol 126: 1608-1613.
- KAMOUH, M.; P. J. MARTIN; J. A. HANSEN; M. A. BROWN; A. W. SIADAK y R. C. NOWINSKI (1981). *Identification of a human T lymphocyte surface protein associated with the E-rosette technique*. J. Exp. Med. 153: 207-212.
- KNOWLES, I.; D. M. y J. P. HALPER (1982). *Human T cell malignancies: correlative clinical, histopathological and cytochemical analysis of 23 cases*. Am. J. Pathol. 106: 187-203.
- KUNG, F. C.; G. GOLDSTEIN; E. L. REINHERZ y S. F. SCHLOSSMAN (1979). *Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens*. Science 206: 247-249.
- MacMICHEL, A.; J. R. PILCH; O. GALFRE; D. Y. MASON; J. W. FABER y C. MILSTEIN (1979). *A human thymocyte antigen defined by a hybrid myeloma monoclonal antibody*. Eur. J. Immunol 9: 205-210.
- MORETTA, L.; S. R. WEBBS; C. E. GROSS; P. M. LYDYARD y M. D. COOPER (1977). *Functional analysis of two human T cell subpopulations: help and suppression of B responses by T cells bearing receptors for IgM and IgC*. J. Exp. Med. 146: 182-200.
- NORTON, A. J.; A. D. RAMSAY; S. H. SMITH; P. C. BEVERLEY y P. G. ISAACSON (1986). *Monoclonal antibody (UCHLI) that recognizes normal and neoplastic T cells in routinely fixed tissues*. J. Clin. Pathol. 39: 399-405.
- OUCHTERLONY, O. y L. A. NIELSSON (1978). "Immunodiffusion and immunoelectrophoresis", en: *Handbook of Experimental Immunology*, p. 196. Ed. D. M., Weir Blackwell Scientific Publications. Oxford, London, Edimburg, Melbourne.
- REINHERZ, E. L.; P. C. KUNG; G. GOLDSTEIN y S. F. SCHLOSSMAN (1979). *A monoclonal antibody with selective reactivity with functionally mature human thymocytes and all peripheral human T-cell*. J. Immunol. 123: 1312-1317.
- REINHERZ, E. L.; P. C. KUNG; G. GOLDSTEIN y S. F. SCHLOSSMAN (1979a). *Further characterization of the human inducer T-cell subset defined by monoclonal antibody*. J. Immunol. 123: 2894-2896.
- REINHERZ, E. L.; P. C. KUNG; G. GOLDSTEIN y S. F. SCHLOSSMAN (1980). *A monoclonal antibody reactive with the human cytotoxic/suppressor T-cell subset previously defined by a heteroantiserum termed TH2*. J. Immunol. 124: 1301-1307.
- REINHERZ, E. L.; P. C. KUNG; C. GOLDSTEIN; R. H. LEVEY y S. F. SCHLOSSMAN (1980a). *Discrete stages of human intrathymic differentiation: Analysis of normal thymocytes and leukemic lymphoblasts of T-cell lineage*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 1588-1592.
- RITZ, J.; J. M. PESANDO; J. N. MC. CONARTY; L. A. CLAVELL; S. E. SELLEN y S. F. SCHLOSSMAN (1981). *Use of monoclonal antibodies as diagnostic and therapeutic reagents in acute lymphoblastic leukemia*. Cancer Research 41: 4771-4775.
- SCHROFF, R. W.; K. A. FOON; R. J. BILLING y J. L. FAHEY (1982). *Immunologic classification of lymphocytic leukemias based on monoclonal antibody-defined cell surface antigens*. Blood 59: 207-215.
- SMITH, L. y E. A. McCULLOCH (1984). *Lineage infidelity following exposure of T lymphoblasts (Molt-3 cells) to 5-Azacytidine*. Blood 63: 1324-1330.
- STEIN, H.; G. TOLKSDORF y K. LEUHERT (1981). *T-cell lymphoma. A cell origin-related classification on the basis of cytologic and enzyme cytochemical criteria*. Path. Res. Pract. 171: 197-215.

- SUTHERLAND, R.; D. DELIA; C. SCHNEIDER; R. NEWMAN; J. KEMSHEAD y M. REAVES (1981). *Ubiquitous cell-surface glycoprotein on tumor cells in proliferation-associated receptors for transferrin*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **78**: 4515-4519.
- TERRITO, M. y M. CLINE (1980). "Macrophage activation and function", en: *Manual of Clinical Immunology*, pp. 304-308. Eds. N. R. Rose y H. Firedman. American Society for Microbiology, Washington, USA.
- TIDMAN, N.; G. JANOSSY; M. BADER; S. GRANGER; P. C. KUNG y G. GOLDSTEIN (1981). *Delineation of human thymocytes differentiation pathways utilizing double-staining techniques with monoclonal antibodies*. Clin. Exp. Immunol. **45**: 457-567
- TSUGE, I.; R. VEDA; K. NISHIDA; R. NAWIKAWA; M. SETO; T. MARUYAMA; S. TAKAMOTO; H. MATSUCKA; S. TORRI; K. OTA y T. TAKAHASHI (1984). *Five antigens on human T cells detected by mouse monoclonal antibodies*. Clin. Exp. Immunol. **58**: 444-452.
- UCHIYAMA, T.; D. NELSON; T. FLEISHER y T. WALDMANN (1981). *A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activates and functionally mature human T cells. II. Expression of Tac antigen cytotoxic killer T-cells, suppressor cells, and on one of two types of helper T-cells*. J. Immunol. **126**: 1398-1403.
- UEDA, R.; NISHIDA; Y. KOIDE; I. TSUGE; H. SETO; H. YOSHIDA; I. MIYOSHI; K. OTA y T. TAKAHASHI (1985). *Two mouse monoclonal antibodies detecting two different epitopes of an activated lymphocyte antigen on adult T leukemia cells*. Cancer Research **45**: 1314-1319.
- VAZQUEZ, A. M.; R. GISCOMBE, G. HOLM; A. VELANDIA; U. SUNDIN; G. GONZALEZ; J. GAVILONDO; M. BJÖRKHOLM; C. GARCIA y J. TAIN (1986). *IOR-T2: anticuerpo monoclonal que reconoce un antígeno de diferenciación de las células tímicas presente en las células tumorales de pacientes con linfomas T cutáneos*. Interferón y Biotecnología **3**: 229-237.
- YOKOI, T.; T. MIYAWAKI; A. YACHIE; S. OHZEKI y N. TANIGUCHI (1982). *Discrepancy in expression ability of Tac antigen and Ia determinants defined by monoclonal antibodies on activated or cultured cord blood T lymphocytes*. J. Immunol. **129**: 1441-1445.