LiCellMo™

Note d'application

À des fins de recherche uniquement

Contrôle en ligne du milieu de culture à l'aide d'un analyseur métabolique de cellules vivantes

Introduction

Dans les domaines de l'immunologie du cancer, notamment la thérapie CAR-T, et de la médecine régénérative qui utilise des cellules souches telles que les cellules CSPi, la compréhension du métabolisme cellulaire revêt une importance croissante dans un grand nombre de domaines, notamment la recherche fondamentale dans l'analyse pathologique et l'étude des processus de production pour la formulation de produits pharmaceutiques. Jusqu'à présent, l'analyse des composants du milieu de culture était effectuée au moyen d'un échantillonnage périodique. Toutefois, dans le cadre de la recherche fondamentale et de la phase de développement de processus à petite échelle, seule une petite quantité d'échantillon peut être prélevée. Par ailleurs, l'échantillonnage ne fournissant des données de mesure qu'à partir de quelques instants tout au plus par jour, cela ne permet pas de se faire une idée précise de l'évolution de l'état des cellules au cours de la culture.

Dans la présente étude, nous avons utilisé un analyseur métabolique de cellules vivantes pour mesurer en continu les niveaux de glucose et de lactate pendant la culture de cellules Jurkat, afin d'étudier la précision et la stabilité du capteur en ligne exclusif de PHC.

L'analyseur métabolique de cellules vivantes PHC

L'un des principaux vecteurs du métabolisme énergétique cellulaire est la glycolyse. Au cours du processus glycolytique, le glucose présent dans le milieu de culture est absorbé par les cellules tout en produisant du lactate. Les chercheurs de PHC ont mis au point un analyseur capable de surveiller de manière très précise et continue les concentrations de glucose et de lactate dans le milieu de culture tout en cultivant des cellules dans une plaque à 24 puits, sans qu'il soit nécessaire de prélever des échantillons, grâce à un capteur en ligne exclusif adapté des technologies de capteurs électrochimiques développées par PHC dans le domaine de la mesure du taux de glucose dans le sang. Cet analyseur permet de mesurer les changements métaboliques sous forme de données linéaires continues plutôt qu'à certains instants de la journée. Par ailleurs, il est possible d'évaluer directement les changements dans la glycolyse car le dispositif analyse le glucose absorbé par la voie glycolytique et le lactate produit en conséquence.

Méthode

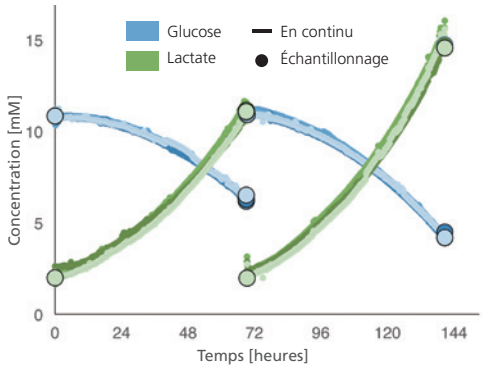
L'analyseur métabolique de cellules vivantes utilise des capteurs électrochimiques pour obtenir des valeurs de courant électrique correspondant aux concentrations de glucose et de lactate. Avant la mesure des échantillons, on établit une courbe d'étalonnage pour évaluer et convertir la relation entre le courant et la concentration à partir de mesures effectuées dans un milieu de culture dont les concentrations en glucose et en lactate sont connues.

Dans cette expérience, des cellules Jurkat (ATCC : TIB-152) ont été cultivées dans un milieu RPMI 1640 sur des plaques comportant 24 puits. On a mesuré en continu les concentrations de glucose et de lactate sur une période totale de 6 jours à l'aide de l'analyseur métabolique de cellules vivantes. Les cellules Jurkat ont été réensemencées au 3e jour et le milieu a fait l'objet d'un échantillonnage au moment du réensemencement. Puis on a évalué la précision des mesures en comparant les concentrations converties à partir des valeurs actuelles mesurées par l'analyseur métabolique des cellules vivantes avec les concentrations mesurées par colorimétrie.

*Les données sont le résultat de la vérification par PHC et ne constituent pas une garantie des données des clients.

Résultat

Pour évaluer la précision des mesures de l'analyseur métabolique de cellules vivantes pendant la culture cellulaire, on a cultivé et surveillé de manière continue des cellules Jurkat pendant une période de 6 jours à l'aide de l'analyseur métabolique de cellules vivantes. Pendant les 6 jours de prolifération cellulaire, on a constaté que la concentration de glucose dans le milieu de culture diminuait avec la consommation de glucose et que la concentration de lactate dans le milieu de culture augmentait avec la production de lactate. Il a été possible de décrire ces augmentations et diminutions de concentrations comme des changements continus sur la base des données acquises. L'écart avec les données d'échantillonnage issues de la colorimétrie des milieux prélevés 3 et 6 jours après l'ensemencement des cellules était de 92 à 110 %.



Conclusion

L'analyseur métabolique de cellules vivantes a pu mesurer les concentrations de glucose et de lactate dans la plage de 4-11 mM et 2-15 mM, respectivement, pendant 6 jours en continu, avec un écart maximum de 10 % par rapport aux données d'échantillonnage mesurées par colorimétrie. Par ailleurs, lorsque les cellules Jurkat sont cultivées dans le milieu RPMI 1640, il est possible de représenter sous forme de données continues les variations des concentrations de glucose et de lactate en réponse aux changements associés à la prolifération cellulaire.

Ces résultats indiquent que l'analyseur métabolique de cellules vivantes peut être utilisé pour évaluer les changements dans le métabolisme cellulaire au fil du temps en mesurant en continu les concentrations de glucose et de lactate dans le milieu de culture. Il est donc également capable de surveiller le métabolisme cellulaire sans qu'il soit nécessaire de procéder à des échantillonnages périodiques.

PHC Europe
A Member of PHC Group

Eikdonk 1 | 4825 AZ Breda | Netherlands
T: +31 (0) 76 543 3833 | biomedical.nl@eu.phchd.com

www.phchd.com/eu/biomedical

Version : 291124