PHCbi

LiCellMo™

Note d'application

À des fins de recherche uniquement

Visualisation du profil métabolique des cellules immunitaires avec des inhibiteurs métaboliques à l'aide de l'analyseur métabolique de cellules vivantes

Introduction

Il existe une diversité de profils métaboliques dans les cellules cancéreuses, et ceux-ci peuvent varier considérablement au sein d'un même cancer.[1] La dépendance à l'égard de la glycolyse aérobie, l'un des différents profils métaboliques, est également connue pour être commune dans les cellules immunitaires.[2] Cette dépendance génère une compétition pour les sources d'énergie entre les cellules cancéreuses et les cellules immunitaires au sein du micro-environnement tumoral, et a été impliquée dans le dysfonctionnement des cellules immunitaires.[3] Les cellules modifient également leur métabolisme en réponse à l'environnement. L'analyse du métabolisme cellulaire constitue donc un facteur clé dans la compréhension de la fonction cellulaire. Il existe différentes méthodes pour évaluer le métabolisme cellulaire par le biais de l'analyse des composants des milieux de culture. Toutefois, les méthodes conventionnelles basées sur quelques échantillons par jour au maximum ne permettent pas d'observer de changements au niveau du métabolisme cellulaire au fil du temps. Dans ce contexte, PHC a conçu un analyseur métabolique pour cellules vivantes doté de capteurs électrochimiques en ligne. Il a également établi une méthode permettant de mesurer en continu les concentrations de glucose et de lactate dans le milieu de culture. Dans cette étude, nous avons tenté de visualiser les profils métaboliques des cellules en mesurant en continu les changements du métabolisme cellulaire à l'aide d'un inhibiteur de la glycolyse et d'un inhibiteur du métabolisme mitochondrial.

Méthode

Cette étude a utilisé des cellules THP-1 d'une lignée cellulaire de leucémie monocytaire aiguë (obtenues auprès de la banque de cellules JCRB : JCRB0112.1), et des cellules NB-4 issues d'une lignée cellulaire de leucémie promyélocytaire aiguë (obtenues auprès de CLS - Cell Lines Service GmbH : 300299). Les lignées cellulaires THP-1 et NB-4 sont connues pour être dépendantes du métabolisme des acides gras et de la glycolyse, respectivement.[4] Les deux lignées cellulaires ont été cultivées pendant 72 heures dans un milieu RPMI 1640 complété par 10 % de SVF, au cours desquelles les concentrations de glucose et de lactate ont été mesurées en continu à l'aide de l'analyseur métabolique de cellules vivantes.

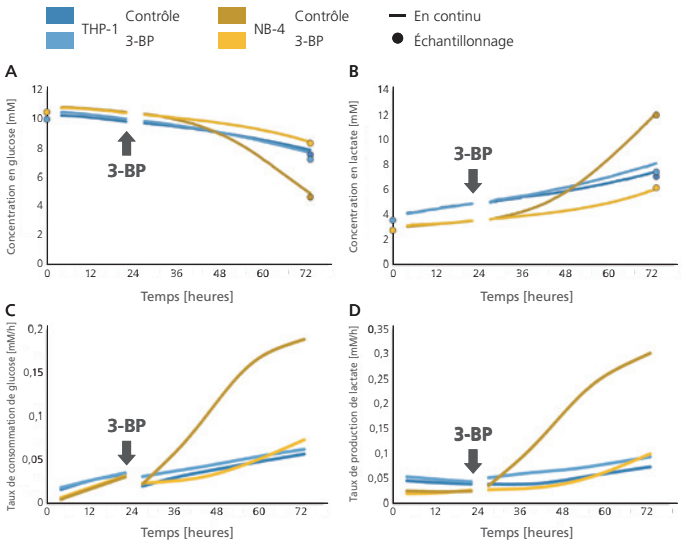
Dans l'expérience 1, l'inhibiteur de l'hexokinase, le 3-bromopyruvate (3-BP), a été ajouté à une concentration finale de 12,5 µM, 24 heures après l'ensemencement des cellules. Cela nous a permis d'examiner le type de changements métaboliques qui surviennent lorsque la glycolyse est inhibée dans des lignées cellulaires présentant des propriétés métaboliques différentes.

Dans l'expérience 2, l'oligomycine (Oligo), inhibiteur de l'ATP synthase, a été ajoutée à une concentration finale de 0,25 µM (0,1 % de DMSO), 24 heures après l'ensemencement des cellules. Cela nous a permis d'examiner le type de changements métaboliques qui surviennent dans les deux lignées cellulaires lorsque le métabolisme mitochondrial est inhibé.

Dans les expériences 1 et 2, les concentrations de glucose et de lactate dans le milieu de culture à la fin des mesures continues ont fait l'objet d'une comparaison sur la base des résultats de l'analyseur métabolique de cellules vivantes et de l'analyse colorimétrique.

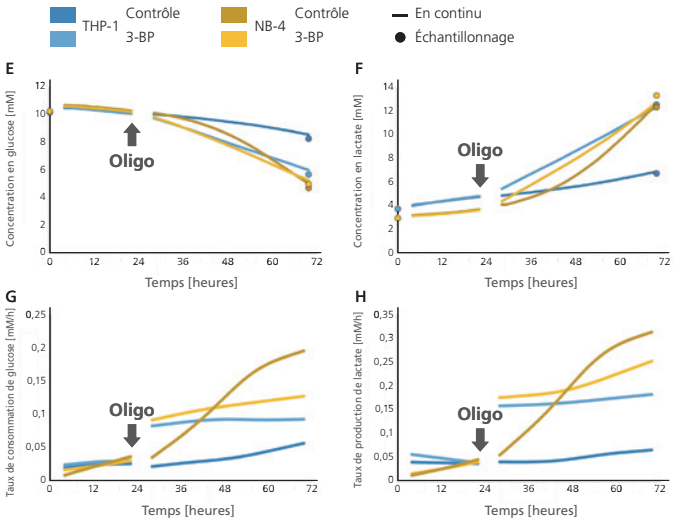
Résultat 1

Dans un premier temps, une évaluation de la précision des résultats des mesures a été réalisée. Lors de la comparaison des résultats de l'analyseur métabolique de cellules vivantes avec ceux de l'analyse colorimétrique des concentrations de glucose et de lactate dans le milieu de culture à la fin des mesures continues, l'écart maximal était de 9 %. On peut donc en conclure que les mesures étaient suffisamment précises (A et B). Ensuite, on a procédé au calcul du taux de consommation de glucose et de celui de production de lactate à partir des variations des concentrations de glucose et de lactate déterminées par des mesures continues (C et D). La comparaison de ces valeurs a montré que le taux métabolique du glucose et du lactate dans les cellules NB-4 a considérablement augmenté, mais que cette augmentation a diminué 60 heures après l'ensemencement des cellules. En outre, le taux métabolique des cellules NB-4 a été inhibé immédiatement après l'ajout de 3-BP, et cette inhibition s'est poursuivie pendant le reste de l'expérience. En revanche, les cellules THP-1 n'ont présenté qu'une faible modification du taux métabolique et aucun changement au niveau de la réponse au 3-BP.



Résultat 2

Lors de la comparaison des résultats de l'analyseur métabolique de cellules vivantes avec ceux de l'analyse colorimétrique des concentrations de glucose et de lactate dans le milieu de culture à la fin des mesures continues, l'écart maximal était de 6 % (E et F). Lors du calcul du taux de consommation de glucose et de celui de production de lactate à partir des concentrations de glucose et de lactate déterminées par des mesures continues, les taux métaboliques des deux lignées cellulaires ont montré une augmentation spectaculaire en réponse à l'Oligo (G et H). Cependant, bien que le taux métabolique des cellules NB-4 ait augmenté à la suite du traitement par Oligo, il était plus élevé dans le groupe DMSO 45 heures après l'ensemencement des cellules.



Discussion

L'inhibition de la glycolyse par le traitement au 3-BP n'a affecté que les cellules NB-4, et les mesures continues ont démontré que les cellules NB-4 possèdent des propriétés dépendantes de la glycolyse. En outre, un changement du taux métabolique s'est produit 60 heures après l'ensemencement, ce qui suggère également un changement au niveau de l'état des cellules à ce moment-là.

Le traitement par Oligo a favorisé la glycolyse dans les cellules THP-1 et la production d'ATP mitochondriale a été inhibée, ce qui a pu entraîner un changement métabolique. Ainsi, les mesures en continu ont permis de montrer que les cellules THP-1 présentent des propriétés dépendantes du métabolisme mitochondrial. Le changement du taux métabolique après le traitement par Oligo diffère entre les cellules THP-1 et les cellules NB-4, ce qui suggère une évolution dans le temps de la réactivité aux inhibiteurs métaboliques en fonction du type de cellule.

Conclusion

Nous avons développé une méthode pour mesurer en continu les concentrations de glucose et de lactate à l'aide d'un analyseur métabolique à cellules vivantes doté de capteurs en ligne. Nous avons également confirmé que les mesures continues étaient suffisamment précises, indépendamment de l'utilisation d'un inhibiteur.

Les mesures en continu du milieu de culture ont permis de mettre en évidence des modifications du métabolisme cellulaire en réponse à l'environnement, plutôt que de fournir un simple instantané du métabolisme cellulaire. Par ailleurs, l'évaluation de la différence de réactivité de chaque type de cellule aux inhibiteurs métaboliques au cours du temps, à l'aide de mesures continues, s'est avérée utile pour clarifier les propriétés métaboliques des cellules.

La compréhension du métabolisme des cellules immunitaires est importante pour élucider les propriétés de ces cellules.[5] On sait également que les cellules immunitaires modifient dynamiquement leur propre métabolisme au cours des phases d'activation, de prolifération et d'épuisement.[6] La relation étroite entre la fonction cellulaire et le métabolisme est au cœur de la recherche sur les thérapies à base de cellules immunitaires, en particulier celles qui ciblent le cancer. Nous estimons que l'utilisation de l'analyseur métabolique de cellules vivantes avec surveillance en ligne permettra de faire de nouvelles découvertes dans la recherche concernant les propriétés métaboliques des cellules immunitaires.

Références

1. Chen P-H, Cai L, Huffman K, et al. Metabolic diversity in human non-small cell lung cancer cells. Mol Cell. 2019;76:838-851.
2. Pearce EL, Poffenberger MC, Chang CH, Jones RG. Fueling immunity: Insights into metabolism and lymphocyte function. Science. 2013;342:124254.
3. Chang CH, Qiu J, O'Sullivan D, et al. Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression. Cell. 2015;162:1229-1241.
4. Miwa H, Shikami M, Goto M, et al. Leukemia cells demonstrate a different metabolic perturbation provoked by 2-deoxyglucose. Onco Rep. 2013;29:2053-2057.
5. Buck MD, O'Sullivan D, Pearce EL. T cell metabolism drives immunity. J Exp Med. 2015;212:1345-1360.
6. Jones RG, Thompson CB. Revving the engine: signal transduction fuels T cell activation. Immunity. 2007;27:173-178.

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

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