

Monitoraggio in linea del mezzo di coltura con l'analizzatore metabolico per cellule vive

Introduzione

Nei campi dell'immunologia dei tumori, compresa la terapia CAR-T, e della medicina rigenerativa che utilizza cellule staminali come le cellule iPS, la comprensione del metabolismo cellulare sta diventando un fattore importante in un'ampia gamma di settori, tra cui la ricerca di base nell'analisi patologica e lo studio dei processi produttivi per la formulazione di prodotti farmaceutici. Finora, l'analisi dei componenti del terreno di coltura è stata effettuata mediante campionamenti periodici, ma nella ricerca di base e nella fase di sviluppo di processi su piccola scala è possibile raccogliere solo una piccola quantità di campioni. Inoltre, poiché il campionamento fornisce solo dati di misurazione relativi a pochi punti temporali al giorno, non fornisce un quadro accurato dei cambiamenti di stato delle cellule durante la coltura.

Nel presente studio, è stato utilizzato un analizzatore metabolico per cellule vive per misurare continuamente i livelli di glucosio e lattato durante la coltura di cellule Jurkat, al fine di studiare l'accuratezza e la stabilità del sensore in linea proprietario di PHC.

L'analizzatore metabolico per cellule vive PHC

Una delle vie principali del metabolismo energetico cellulare è la glicolisi. Durante il processo glicolitico, il glucosio presente nel terreno di coltura viene assorbito dalle cellule e viene prodotto lattato. Utilizzando un sensore in linea proprietario adattato alle tecnologie dei sensori elettrochimici sviluppate da PHC nel campo della misurazione del glucosio nel sangue, i ricercatori di PHC hanno progettato un analizzatore in grado di monitorare in modo altamente accurato e continuo le concentrazioni di glucosio e lattato nel terreno di coltura durante la coltivazione delle cellule in una piastra a 24 pozzetti, senza necessità di campionamento. Questo analizzatore consente di misurare le variazioni metaboliche come dati lineari continui, anziché in pochi punti temporali al giorno. Inoltre, poiché il dispositivo analizza il glucosio assunto dalla via glicolitica e il lattato prodotto di conseguenza, è possibile valutare direttamente le variazioni nella glicolisi.

Metodo

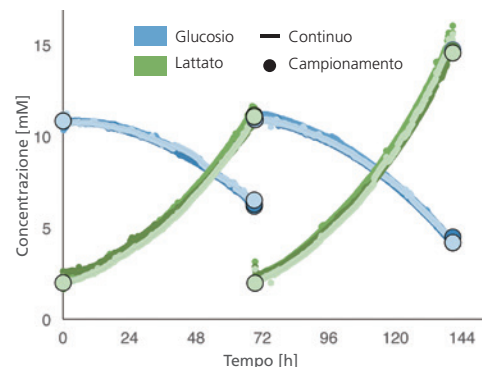
L'analizzatore metabolico per cellule vive utilizza sensori elettrochimici per ottenere valori di corrente elettrica corrispondenti alle concentrazioni di glucosio e lattato. Prima di misurare i campioni, viene creata una curva di calibrazione per valutare e convertire la relazione tra corrente e concentrazione, a partire da misure effettuate con terreno di coltura con concentrazioni note di glucosio e lattato.

In questo esperimento, le cellule Jurkat (ATCC: TIB-152) sono state coltivate in terreno RPMI 1640 in piastre da 24 pozzetti. Le concentrazioni di glucosio e lattato sono state misurate continuamente per un totale di 6 giorni utilizzando l'analizzatore metabolico per cellule vive. Le cellule Jurkat sono state riseminate il giorno 3, il terreno è stato campionato al momento della risemina e l'accuratezza delle misurazioni è stata valutata confrontando le concentrazioni convertite dai valori attuali misurati dall'analizzatore metabolico per cellule vive con le concentrazioni misurate dalla colorimetria.



Risultato

Per valutare l'accuratezza della misurazione dell'analizzatore metabolico per cellule vive durante la coltivazione delle cellule, le cellule Jurkat sono state coltivate e monitorate continuamente per un periodo di 6 giorni utilizzando l'analizzatore metabolico per cellule vive. Durante i 6 giorni di proliferazione cellulare, la concentrazione di glucosio nel terreno di coltura è diminuita con il consumo di glucosio e la concentrazione di lattato nel terreno di coltura è aumentata con la produzione di lattato. Questi aumenti e diminuzioni delle concentrazioni possono essere rappresentati come cambiamenti continui sulla base dei dati acquisiti. La discrepanza con i dati di campionamento della colorimetria dei terreni raccolti 3 e 6 giorni dopo la semina delle cellule è stata del 92-110%.



Conclusione

L'analizzatore metabolico per cellule vive è stato in grado di misurare le concentrazioni di glucosio e lattato nell'intervallo 4-11 mM e 2-15 mM, rispettivamente, per 6 giorni ininterrottamente, con una discrepanza massima del 10% rispetto ai dati di campionamento misurati mediante colorimetria. Inoltre, quando le cellule Jurkat sono state coltivate in terreno RPMI 1640, le variazioni delle concentrazioni di glucosio e lattato in risposta ai cambiamenti associati alla proliferazione cellulare hanno potuto essere rappresentate come dati continui.

Questi risultati indicano che l'analizzatore metabolico per cellule vive può essere utilizzato per valutare i cambiamenti del metabolismo cellulare nel tempo, misurando continuamente le concentrazioni di glucosio e lattato nel terreno di coltura, ed è quindi in grado di monitorare il metabolismo cellulare senza la necessità di un campionamento periodico.

*I dati sono il risultato della verifica di PHC e non costituiscono una garanzia dei dati del cliente.