

Monitorowanie in-line pożywki hodowlanej za pomocą analizatora metabolizmu żywych komórek

Wstęp

W dziedzinie immunologii nowotworów, w tym terapii CAR-T, oraz medycyny regeneracyjnej wykorzystującej komórki macierzyste, takie jak komórki iPS, zrozumienie metabolizmu komórkowego staje się ważnym czynnikiem w wielu obszarach, w tym w badaniach podstawowych w analizie patologicznej oraz w badaniach procesów produkcyjnych w celu formułacji produktów farmaceutycznych. Do tej pory analiza składników pożywki hodowlanej była przeprowadzana poprzez okresowe pobieranie próbek, ale w badaniach podstawowych i na etapie opracowywania procesów na małą skalę można pobrać tylko niewielką ilość próbki. Ponadto z racji tego, że pobieranie próbek dostarcza danych pomiarowych z co najwyżej kilku punktów czasowych dziennie, nie zapewnia ono dokładnego obrazu zmian stanu komórek podczas hodowli.

W niniejszym badaniu wykorzystaliśmy analizator metabolizmu żywych komórek do ciągłego pomiaru poziomu glukozy i mleczanu podczas hodowli komórek Jurkat w celu zbadania dokładności i stabilności opatentowanego czujnika in-line firmy PHC.

Analizator metabolizmu żywych komórek firmy PHC

Jednym z głównych szlaków metabolicznych energii komórkowej jest glikoliza. Podczas procesu glikolitycznego glukoza z pożywki hodowlanej jest pobierana do komórek i wytwarzany jest mleczan.

Wykorzystując opatentowany czujnik in-line zaadaptowany z technologii czujników elektrochemicznych opracowanych przez firmę PHC w dziedzinie pomiaru stężenia glukozy we krwi, naukowcy z firmy PHC opracowali analizator zdolny do bardzo dokładnego i ciągłego monitorowania stężenia glukozy i mleczanu w pożywce hodowlanej podczas hodowli komórek w 24-dółkowej płytce, bez konieczności pobierania próbek. Analizator ten umożliwia pomiar zmian metabolicznych jako ciągłych danych liniowych, a nie tylko w kilku punktach czasowych dziennie.

Ponadto z racji tego, że urządzenie analizuje glukozę pobieraną przez szlak glikolityczny i wytwarzany w wyniku tego mleczan, zmiany w glikolizie mogą być poddawane bezpośredniej ocenie.



Metoda

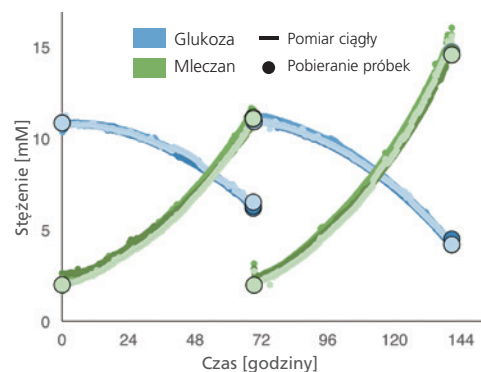
Analizator metabolizmu żywych komórek wykorzystuje czujniki elektrochemiczne do uzyskiwania wartości prądu elektrycznego odpowiadających stężeniom glukozy i mleczanu. Przed pomiarem próbek na podstawie pomiarów z użyciem pożywki hodowlanej o znanym stężeniu glukozy i mleczanu tworzona jest krzywa kalibracyjna do oceny i konwersji zależności między prądem a stężeniem.

W tym eksperymencie komórki Jurkat (ATCC: TIB-152) hodowano w pożywce RPMI 1640 w 24-dółkowych płytkach. Stężenie glukozy i mleczanu mierzono w sposób ciągły przez łącznie 6 dni przy użyciu analizatora metabolizmu żywych komórek. Komórki Jurkat zostały ponownie wysiane w dniu 3., pożywka została pobrana w momencie ponownego wysiewu, a dokładność pomiarów została oceniona poprzez porównanie stężeń przeliczonych z wartości prądu mierzonych przez analizator metabolizmu żywych komórek ze stężeniami mierzonymi za pomocą kolorymetrii.

* Dane są wynikiem weryfikacji przez PHC i nie stanowią gwarancji danych klienta.

Wynik

Aby ocenić dokładność pomiaru analizatora metabolizmu żywych komórek podczas hodowli, komórki Jurkat były hodowane i stale monitorowane przez 6 dni przy użyciu analizatora metabolizmu żywych komórek. W ciągu 6 dni proliferacji komórek stężenie glukozy w pożywce hodowlanej zmniejszało się wraz ze zużyciem glukozy, a stężenie mleczanu w pożywce hodowlanej zwiększało się wraz z produkcją mleczanu. Na podstawie uzyskanych danych wzrosty i spadki stężeń można przedstawić jako zmiany ciągłe. Rozbieżność z danymi z kolorymetrii pożywek pobranych 3 i 6 dni po wysianiu komórek wynosiła 92–110%.



Wniosek

Analizator metabolizmu żywych komórek mógł mierzyć stężenia glukozy i mleczanu w zakresie wynoszącym odpowiednio 4–11 mM i 2–15 mM przez 6 dni w sposób ciągły, z maksymalną rozbieżnością wynoszącą 10% w porównaniu z danymi próbkowania mierzonymi za pomocą kolorymetrii. Ponadto, gdy komórki Jurkat hodowano w pożywce RPMI 1640, zmiany stężenia glukozy i mleczanu w odpowiedzi na zmiany związane z proliferacją komórek można było przedstawić jako dane ciągłe.

Wyniki te wskazują, że analizator metabolizmu żywych komórek może być wykorzystywany do oceny zmian w metabolizmie komórek w czasie poprzez ciągły pomiar stężenia glukozy i mleczanu w pożywce hodowlanej. Może zatem monitorować metabolizm komórek bez konieczności okresowego pobierania próbek.