

## Aggiunta di muscoli alla ricerca sulle cellule staminali

Istituto di Ricerca per la Biologia degli Animali da Allevamento (FBN)  
Dummerstorf, Germania

### Analisi cellulare

TESTIMONIANZA DEL CLIENTE - ISTITUTO DI RICERCA PER LA BIOLOGIA DEGLI ANIMALI DA ALLEVAMENTO (FBN)  
DUMMERSTORF, GERMANIA

**L'Istituto di Ricerca per la Biologia degli Animali da Allevamento (FBN) a Dummerstorf, in Germania, si concentra sull'esplorazione di una migliore gestione del bestiame nel contesto di un'agricoltura sostenibile. L'Istituto organizza la ricerca in quattro temi principali: individualizzazione dell'allevamento degli animali da reddito, allevamento degli animali in cicli di risorse sostenibili, gestione delle fasi critiche della vita degli animali da reddito e promozione della diversità nell'allevamento degli animali. Al suo interno, una serie di gruppi di lavoro approfondisce temi specifici. Il gruppo di lavoro FBN Biologia cellulare della crescita muscolare è diretto dalla dott.ssa Monika Röntgen. L'autrice illustra come i nuovi strumenti di ricerca, come ad esempio LiCellMo di PHCbi, offrano una maggiore precisione e capacità di risparmio di tempo nella misurazione di parametri importanti nella miogenesi (sviluppo e crescita muscolare).**

La miogenesi postnatale dipende dalle cellule staminali muscolari, comprese le cellule satelliti (SC). Il numero e le proprietà funzionali di queste cellule staminali determinano la formazione, la crescita, il potenziale di rigenerazione e l'adattabilità del muscolo. E, durante i periodi critici dello sviluppo muscolare, la funzionalità può essere modificata permanentemente da una varietà di fattori.

"La nostra ricerca intende contribuire a una migliore comprensione dei processi di sviluppo e plasticità muscolare per migliorare la salute dei muscoli, la composizione corporea e la qualità della carne negli animali da allevamento. Stiamo anche valutando approcci alternativi ed ecologici per produrre proteine animali come componente della sicurezza alimentare globale", ha spiegato. "I nostri principali temi di ricerca sono il controllo molecolare e metabolico dei processi miogenici precoci postnatali negli animali da allevamento, la modulazione del comportamento di crescita delle cellule satellite (SC) tramite composti dietetici, sostanze bioattive e componenti del sistema immunitario, e la produzione di proteine per l'alimentazione umana da cellule staminali animali."

#### Concentrati fin dall'inizio

Il gruppo di lavoro è particolarmente interessato a comprendere meglio lo sviluppo muscolare nel primissimo periodo postnatale. Questo è un periodo critico

perché avvengono due cose. In primo luogo, si sviluppa la popolazione di cellule staminali (adulte). In secondo luogo, il tessuto muscolare, in particolare le miofibre, cresce molto rapidamente.



Dott.ssa Monika Röntgen

## TESTIMONIANZA DEL CLIENTE - FBN Dummerstorf, Germania

"Finora, non sono state condotte molte ricerche sul ruolo delle cellule staminali nello sviluppo muscolare precoce degli animali da allevamento," ha dichiarato il dott. Röntgen. "Ci concentriamo sulla ricerca nel maiale perché è un animale da allevamento molto importante ed è anche un modello molto interessante per la medicina umana."

"In particolare, stiamo cercando di saperne di più su un'importante malattia genetica che si manifesta in questo periodo iniziale: la "sindrome delle zampe divaricate" che rende i suinetti incapaci di stare in piedi e, quindi, di bere. Può provocare la morte precoce dei suinetti colpiti", ha proseguito. "La patogenesi di questa malattia non è ancora stata chiarita. Si verifica anche in molte altre specie: esseri umani, cani e pecore. Aumentare la nostra comprensione della malattia chiarisce ulteriormente lo sviluppo muscolare precoce e prenatale, entrambi disturbati da questa malattia."

Il gruppo di Biologia cellulare della crescita muscolare è anche molto interessato a scoprire nuovi modi per ridurre l'uso di antibiotici tramite alternative e si concentra sullo studio del ruolo dei probiotici in questo senso.

### Carne coltivata

Tuttavia, il progetto più importante del Gruppo al momento è quello di sviluppare un processo completo per la produzione di carne coltivata usando cellule staminali di maiale. Questo progetto è finanziato dal Ministero Federale Tedesco dell'Istruzione e della Ricerca e l'FBN collabora con altri tre partner: due istituti di ricerca e un'azienda.



### Espansione

Nel gruppo del dott. Röntgen, tra gli altri, M.Sc. Tessa Wolter lavora a questo progetto che si concentra sulla ricerca di soluzioni per produrre proteine animali di alta qualità in modo basato su cellule.

"In generale, siamo molto interessati ai processi metabolici e al ruolo regolatore dei segnali metabolici e mitocondriali nella proliferazione e differenziazione cellulare, nei quali il lattato svolge un ruolo importante", ha dichiarato il dott. Röntgen. Per produrre cellule muscolari per la carne coltivata, dobbiamo raggiungere una maggiore efficienza della miogenesi. Un modo per farlo è cambiare la composizione del terreno di coltura in modo da rendere più efficace il metabolismo delle cellule."

*LiCellMo può essere utilizzato per analizzare i campioni di coltura prelevati dal bioreattore per verificare la presenza di glucosio e lattato per controllare la crescita cellulare e l'attività metabolica.*

"Nel nostro lavoro, dobbiamo eseguire molti test per ottimizzare i nostri terreni di coltura in relazione al glucosio e ad altri componenti", ha proseguito, "il LiCellMo ci aiuta perché possiamo vedere direttamente, in tempo reale, gli effetti positivi o negativi di tali cambiamenti." Normalmente, prima di iniziare ad analizzare i campioni di coltura, è necessario terminare gli esperimenti. E questo, ovviamente, è un processo che richiede molto tempo."

Con il LiCellMo, il team di ricerca può osservare direttamente come cambierà l'attività metabolica delle cellule, riflessa dal pH, glucosio e lattato, e prendere decisioni rapide sul momento ottimale per i cambi di terreno di coltura.

"Un altro aspetto è che dobbiamo aumentare la scala," ha osservato il dott. Röntgen. "Questa è una delle sfide più grandi, perché nella coltura cellulare standard normalmente utilizziamo piatti o fiasche con piccoli volumi da 12 a 20 ml. Quando si inizia a utilizzare un bioreattore, il volume è molto più elevato e bisogna prima scoprire quale sia la densità cellulare ottimale. Sembra semplice, ma questo è il punto principale per tutti gli altri passaggi che seguiranno. Nel nostro caso, siamo passati prima da un piatto da 12 ml a un bioreattore più grande, con un volume complessivo di 200 millilitri, e abbiamo iniziato a lavorare su una scala più ampia utilizzando un bioreattore con un volume di 20 litri. Ovviamente, non è possibile trasferire rapidamente la situazione dal piatto a questo volume elevato. Pertanto, è necessario controllare ciò che accade nel tempo. LiCellMo può essere utilizzato per analizzare i campioni di coltura prelevati dal bioreattore per verificare la presenza di glucosio e lattato, al fine di controllare la crescita cellulare e l'attività metabolica."

### Vantaggi pratici

Un vantaggio del LiCellMo è la dimensione ridotta. Si adatta molto bene alla nostra incubatrice e non occupa troppo spazio. Quindi, c'è ancora spazio sufficiente per svolgere altri esperimenti in parallelo," ha detto la signora Wolter. "Il display che mostra i dati sull'ora è stato anche molto utile."

"Il LiCellMo è semplice da usare e, soprattutto, è molto, molto sensibile." Pertanto, è molto importante disporre di terreni di coltura sterili per tutte le condizioni testate per differenziare le attività delle cellule dagli effetti della manipolazione, ad esempio, aprendo la porta dell'incubatore.

«Un altro vantaggio di LiCellMo è che si possono eseguire gli esperimenti in un formato a basso volume, il che aiuta a risparmiare risorse come le cellule primarie o i terreni di coltura», ha sottolineato. A differenza del formato a 96 pozzetti, quello a 24 pozzetti utilizzato con LiCellMo non è troppo piccolo. Questo è importante perché in molti

*Il LiCellMo è semplice da usare e, cosa più importante, è molto, molto sensibile*

tipi di cellule la capacità di proliferare e differenziarsi varia a seconda delle dimensioni della piastra. Bisogna trovare il formato ottimale, ma 24 pozzetti sono un buon formato per iniziare e le cellule spesso crescono meglio che in formati più piccoli."

Il dott. Röntgen ha aggiunto che i kit di analisi disponibili in commercio sono stati utilizzati in precedenza per misurare il lattato in particolare, ma il LiCellMo offre notevoli vantaggi.

"Il lattato è molto importante nei muscoli, naturalmente" ha detto. "In genere, la misurazione dell'attività della lattato

deidrogenasi nel tessuto muscolare o nelle cellule è un metodo standard per ottenere informazioni sulla situazione metabolica. Un altro metodo consiste nel misurare la concentrazione di lattato extracellulare utilizzando kit di analisi che, nelle nostre mani, non erano sufficientemente sensibili quando si utilizzano le cellule. Inoltre, per entrambi i metodi, i campioni vengono analizzati dopo avere completato l'esperimento. In questo caso, devo dire che l'analisi del lattato con il LiCellMo funziona molto meglio grazie alla maggiore sensibilità."

"È anche un vantaggio poter condurre altri esperimenti in parallelo, perché il LiCellMo utilizza normali piastre per colture cellulari disponibili in commercio", ha affermato la signora Wolter. "E, cosa più importante, è possibile utilizzare le cellule per indagini a valle dopo averle monitorate. Ad esempio, è possibile determinare il numero di cellule, le concentrazioni di DNA e proteine per caratterizzare la crescita cellulare o studiare l'espressione dei geni per comprendere i processi di regolazione. Non si tratta di un test finale con il LiCellMo. Se durante la misurazione si è interessati ad altri esami o trattamenti, è possibile mettere in pausa il LiCellMo in qualsiasi momento e continuare la misurazione in seguito."

### Potenziale futuro

Per il dott. Röntgen, le misurazioni dirette da bioreattori più grandi saranno probabilmente fondamentali.

"È già un vantaggio poter analizzare i terreni di coltura dei nostri bioreattori con apparecchiature come il LiCellMo", ha dichiarato. "Sappiamo che in futuro avremo bioreattori molto più grandi, e sarebbe fantastico avere la possibilità diretta di campionare e controllare i terreni di coltura in un bioreattore nel corso del tempo. In modo da prelevare direttamente un campione, analizzarlo e ottenere informazioni rilevanti."

**Per saperne di più sull'Istituto di Ricerca per la Biologia degli Animali da Allevamento (FBN):**

<https://www.fbn-dummerstorf.de/en/>

**Per saperne di più sul gruppo della dott.ssa Monika Röntgen:**

<https://www.fbn-dummerstorf.de/en/research/working-groups/cell-biology-of-muscle-growth/>

**Per saperne di più sul LiCellMo**

**PHC Europe**

[www.phchd.com/eu/biomedical](http://www.phchd.com/eu/biomedical)

**Analizzatore metabolico cellulare  
LiCellMo**

