Mięśnie w badaniach nad komórkami macierzystymi

Instytut Badawczy Biologii Zwierząt Hodowlanych Dummerstorf, Niemcy

Analiza komórek

OPINIA KLIENTA — INSTYTUT BADAWCZY BIOLOGII ZWIERZĄT HODOWLANYCH, DUMMERSTORF, NIEMCY

Instytut Badawczy Biologii Zwierząt Hodowlanych (FBN) w Dummerstorf (Niemcy) skupia się na opracowywaniu lepszych metod zarządzania hodowlą zwierząt w ramach zrównoważonego rolnictwa. Prowadzone przez Instytut badania obejmują cztery główne tematy: indywidualizację hodowli zwierząt gospodarskich, hodowlę zwierząt w zrównoważonych cyklach zasobów, postępowanie w krytycznych fazach życia zwierząt gospodarskich oraz promowanie różnorodności w hodowli zwierząt. W ramach tych tematów działa szereg grup roboczych. Grupę roboczą FBN ds. biologii komórkowej wzrostu mięśni prowadzi dr Monika Röntgen. Zajmuje się ona wyjaśnianiem sposobu, w jaki nowe narzędzia badawcze, takie jak urządzenie LiCellMo firmy PHCbi, zapewniają większą dokładność i oszczędność czasu przy pomiarze kluczowych parametrów miogenezy (rozwoju i wzrostu mięśni).

Postnatalna miogeneza zależy od komórek macierzystych mięśni, w tym komórek satelitarnych (SC). Liczba i właściwości funkcjonalne takich komórek macierzystych decydują o formowaniu mięśni, ich wzroście, potencjale regeneracyjnym oraz zdolnościach adaptacyjnych. W krytycznych okresach rozwoju mięśni ich funkcjonalność może natomiast zostać trwale zmieniona przez różne czynniki.

„Nasze badania mają na celu pogłębienie wiedzy na temat procesów rozwoju i plastyczności mięśni, aby poprawiać zdrowie mięśni, skład ciała oraz jakość mięsa zwierząt hodowlanych. Szukamy również alternatywnych i przyjaznych dla środowiska sposobów produkcji białka zwierzęcego jako elementu globalnego bezpieczeństwa żywnościowego" — wyjaśniła dr Röntgen. „Nasze główne tematy badawcze obejmują molekularną i metaboliczną kontrolę wczesnych postnatalnych procesów miogenicznych u zwierząt hodowlanych, modulację zachowań wzrostowych komórek macierzystych za pomocą związków dietetycznych, substancji bioaktywnych i komponentów układu odpornościowego oraz wytwarzanie białka do żywienia ludzi ze zwierzęcych komórek macierzystych".

Konsekwentne działania od samego początku

Zespół badawczy jest szczególnie zainteresowany lepszym zrozumieniem wzrostu mięśni w bardzo wczesnym okresie poporodowym. Jest to krytyczny okres, ponieważ dzieją się wtedy dwie rzeczy. Po pierwsze rozwija się populacja komórek macierzystych (dorosłych). Po drugie tkanka mięśniowa, a w szczególności miofibryle, przyrastają bardzo szybko.

Dr Monika Röntgen

„Do tej pory nie przeprowadzono zbyt wielu badań nad rolą komórek macierzystych na wczesnym etapie rozwoju mięśni zwierząt hodowlanych" — powiedziała dr Röntgen. „Skupiamy się na badaniach nad świniami, ponieważ są to bardzo ważne zwierzęta hodowlane, a także stanowią bardzo interesujący model w kontekście medycyny człowieka".

„W szczególności staramy się dowiedzieć więcej o ważnej chorobie genetycznej, która występuje w tym wczesnym okresie: syndromie wrodzonej rozkroczności (splay leg syndrome), który uniemożliwia prosiętom stanie, a co za tym idzie, picie. Może to skutkować przedwczesną śmiercią dotkniętych nim prosiąt" — dodała. „Patogeneza tej choroby nie jest do końca poznana, a choroba ta występuje także u wielu innych gatunków, w tym ludzi, psów i owiec. Lepsze zrozumienie tej choroby pozwala nam dowiedzieć się więcej na temat wczesnego i prenatalnego rozwoju mięśni, ponieważ oba te procesy są zaburzone w jej przebiegu".

Grupa ds. biologii komórkowej wzrostu mięśni jest również bardzo zainteresowana znalezieniem nowych sposobów ograniczenia stosowania antybiotyków poprzez alternatywne rozwiązania i skupia się na badaniu roli probiotyków w tym zakresie.

Mięso in vitro

Największym obecnie projektem grupy jest opracowanie kompletnego procesu produkcji mięsa hodowlanego z komórek macierzystych świni. Projekt ten jest finansowany przez niemieckie Federalne Ministerstwo Edukacji i Badań Naukowych, a FBN współpracuje tu z trzema innymi partnerami, w tym dwoma instytutami badawczymi i jedną firmą prywatną.

Zwiększanie skali

W grupie dr Röntgen pracuje m.in. mgr inż. Tessa Wolter, która zajmuje się poszukiwaniem rozwiązań pozwalających na produkcję wysokiej jakości białek zwierzęcych w sposób komórkowy.

„Ogólnie rzecz biorąc, jesteśmy bardzo zainteresowani procesami metabolicznymi oraz regulacyjną rolą sygnałów metabolicznych i mitochondrialnych w proliferacji i różnicowaniu komórek, wśród których istotną rolę odgrywa mleczan" — powiedziała dr Röntgen. „Aby wytwarzać komórki mięśniowe na potrzeby mięsa in vitro, musimy osiągnąć wyższą efektywność miogenezy. W tym celu można na przykład zmienić skład pożywki w taki sposób, aby metabolizm komórek był bardziej efektywny".

Urządzenie LiCellMo może być używane do analizy pobranych z bioreaktora próbek pożywki pod kątem stężenia glukozy i mleczanu, w celu kontrolowania wzrostu i aktywności metabolicznej komórek.

„W naszej pracy musimy przeprowadzać wiele testów, aby zoptymalizować pożywkę pod kątem glukozy i innych składników" — dodała dr Röntgen. „Urządzenie LiCellMo pomaga nam, ponieważ możemy bezpośrednio w czasie rzeczywistym obserwować pozytywne lub negatywne skutki takich zmian. Zazwyczaj trzeba by najpierw zakończyć eksperymenty, zanim możliwe byłoby rozpoczęcie analizy próbek pożywki. Jest to oczywiście bardzo czasochłonny proces".

Dzięki urządzeniu LiCellMo zespół badawczy może bezpośrednio zobaczyć, jak zmienia się aktywność metaboliczna komórek (odzwierciedlana przez pH, poziom glukozy i mleczanu) i w razie potrzeby szybko podejmować decyzje o optymalnym momencie wymiany pożywki.

„Kolejną kwestią jest to, że musimy zwiększyć skalę naszych działań" — zauważyła dr Röntgen. „Jest to jedno z największych wyzwań, ponieważ w standardowej hodowli komórkowej zazwyczaj używamy naczyń lub kolb o małej objętości od 12 do 20 ml. Kiedy zaczynasz pracę z bioreaktorem, objętość jest znacznie większa i najpierw trzeba ustalić, jaka gęstość komórek jest optymalna. Brzmi to prosto, ale to jest główny punkt dla wszystkich kroków, które potem nastąpią. W naszym przypadku najpierw przeszliśmy z naczynia o pojemności 12 ml do mniejszego bioreaktora o całkowitej pojemności 200 mililitrów, a następnie zaczęliśmy działać na większą skalę, używając bioreaktora o pojemności 20 litrów. Oczywiście nie da się szybko przenieść warunków z płytki do tak dużej objętości. Dlatego trzeba kontrolować, co dzieje się z biegiem czasu. Urządzenia LiCellMo można używać do analizy próbek pożywki pobranych z bioreaktora pod kątem poziomu glukozy i mleczanu, aby kontrolować wzrost komórek i aktywność metaboliczną".

Korzyści praktyczne

„Jedną z zalet urządzenia LiCellMo jest jego niewielki rozmiar. Bardzo dobrze pasuje do naszego inkubatora i nie zajmuje zbyt dużo miejsca. Dzięki temu mamy nadal wystarczająco dużo przestrzeni, aby prowadzić inne eksperymenty równolegle" — powiedziała Wolter. „Bardzo pomocny był również wyświetlacz pokazujący dane bez opóźnień".

„LiCellMo to urządzenie łatwe w obsłudze, a co najważniejsze — bardzo, bardzo czułe. Dlatego niezwykle istotne jest przygotowanie ślepych próbek pożywki dla wszystkich testowanych warunków, aby odróżnić rzeczywistą aktywność komórek od efektów związanych z obsługą, np. otwieraniem drzwi inkubatora.
„Kolejną zaletą urządzenia LiCellMo jest to, że można przeprowadzać eksperymenty w małej objętości, co pozwala oszczędzać zasoby, takie jak komórki pierwotne lub pożywka"

Urządzenie LiCellMo jest łatwe w użyciu, a co najważniejsze, jest bardzo, bardzo czułe.

— dodała Wolter. „W przeciwieństwie do formatu 96-dołkowego, 24-dołkowy format płytki używany z urządzeniem LiCellMo nie jest zbyt mały. Ma to duże znaczenie, ponieważ w przypadku wielu typów komórek zdolność do proliferacji i różnicowania zależy od rozmiaru płytki. Trzeba znaleźć optymalny format, choć format 24-dołkowy to dobre rozwiązanie na początek, ponieważ komórki często rosną w nim lepiej niż w mniejszych formatach".

Dr Röntgen dodała, że chociaż wcześniej stosowano komercyjnie dostępne zestawy testowe, zwłaszcza do pomiaru mleczanu, to jednak LiCellMo wnosi istotne korzyści.

„Mleczan jest oczywiście bardzo ważny w mięśniach" — powiedziała. „Pomiar aktywności dehydrogenazy mleczanowej w tkance mięśniowej lub komórkach jest standardową metodą uzyskiwania informacji o stanie metabolicznym. Inną metodą jest pomiar stężenia mleczanu w pożywce za pomocą zestawów testowych, które w naszym przypadku okazały się niewystarczająco czułe, zwłaszcza podczas pracy z komórkami. Ponadto w obu przypadkach próbki są analizowane dopiero po zakończeniu eksperymentu. Tutaj muszę przyznać, że analiza mleczanu za pomocą urządzenia LiCellMo przynosi znacznie lepsze efekty ze względu na wyższą czułość".

„Zaletą jest także to, że można równolegle przeprowadzać inne eksperymenty, ponieważ urządzenie LiCellMo wykorzystuje standardowe, komercyjnie dostępne płytki do hodowli komórek" — powiedziała Wolter. „I co najważniejsze, po okresie monitorowania komórek można dalej wykorzystywać je do kolejnych analiz. Można na przykład określić liczbę komórek oraz stężenie DNA i białek, aby scharakteryzować ich wzrost lub badać ekspresję genów, aby zrozumieć procesy regulacyjne. To nie jest ostatnie badanie z użyciem urządzenia LiCellMo. Jeśli podczas pomiaru interesują nas inne testy lub zabiegi, możemy zatrzymać urządzenie LiCellMo w dowolnym momencie, a potem kontynuować pomiar w zależności od potrzeb".

Przyszły potencjał

Dla dr. Röntgen bezpośrednie pomiary z większych bioreaktorów będą prawdopodobnie kluczowe.

„Już teraz zaletą jest to, że możemy analizować pożywkę z naszych bioreaktorów za pomocą urządzeń takich jak LiCellMo" — powiedziała. „Wiemy, że w przyszłości będziemy dysponować znacznie większymi bioreaktorami i wtedy świetnie byłoby mieć możliwość bezpośredniego pobierania próbek i kontrolowania pożywki w czasie. Tak, abyśmy mogli natychmiast pobrać próbkę, przeanalizować ją i uzyskać istotne informacje".

Dowiedz się więcej o Instytucie Badawczym Biologii Zwierząt Hodowlanych (FBN): *https://www.fbn-dummerstorf.de/en/*

Dowiedz się więcej o grupie dr Moniki Röntgen:
https://www.fbn-dummerstorf.de/en/research/working-groups/cell-biology-of-muscle-growth/

Dowiedz się więcej o urządzeniu LiCellMo

PHC Europe
www.phchd.com/eu/biomedical

Analizator metabolizmu komórek żywych
LiCellMo