

세포 밖 흐름 분석을 사용해 T 세포 생체 에너지 균형 및 예비 호흡 능력 평가

저자

Jessica Walls and
Natalia Romero
Agilent Technologies, Inc.

개요

Agilent Seahorse XF T 세포 대사 프로파일링 키트는 T 세포 대사를 실시간으로 완벽하게 평가할 수 있는 강력한 솔루션입니다. 대사는 T 세포 운명 및 기능의 핵심 동인으로 부상했습니다. 실제로, T 세포의 대사 재프로그래밍을 입양 T 세포 치료의 항종양 효능을 개선할 전략으로 사용할 수 있다는 점이 입증되었습니다. XF T 세포 대사 프로파일링 키트를 사용하면 T 세포 집단의 해당작용과 미토콘드리아 활동을 동시에 측정할 수 있을 뿐만 아니라 미토콘드리아 호흡 능력도 측정할 수 있습니다. 이러한 파라미터는 T 세포 치료의 지속성 개선 및 최적의 기능과 연관이 있습니다. 이전에 FCCP를 사용해 미토콘드리아 호흡 능력을 측정하면 세포 유형, 분화 단계, 기증자, 건강 상태나 질병 상태 간에 농도 최적화가 필요했습니다. XF T 세포 대사 프로파일링 키트는 개선된 uncoupler(BAM15)를 사용하므로 T 세포 생체 에너지 능력을 보다 정확하고 일관되게 측정할 수 있고, FCCP와 비교해 농도 최적화의 필요성도 감소했습니다. 이뿐만 아니라 이 응용 자료에서는 XF T 세포 지속성 분석 워크플로에 따라 T 세포 증식 과정에서 배지 조성이 미치는 영향을 평가하는 데 이 키트를 사용한 내용을 집중적으로 다룹니다. 이 워크플로를 사용하면 해당작용 및 미토콘드리아 활동과 능력을 동시에 평가할 수 있어 T 세포의 대사 프로파일에 대한 종합적인 이해가 가능하고, 이를 T 세포 치료의 설계 및 개발을 모니터링하고 개선하는 데 통합할 수 있습니다.

서론

세포 매개 면역 치료의 발전은 면역 체계 연구뿐만 아니라 암 연구에도 혁신을 일으켰습니다. 세포 치료에서 가장 각광받는 유형 중 하나는 새로운 키메라 항원 수용체(CAR) T 세포의 유전자 조작을 통해 암 세포를 표적으로 삼는 것입니다. T 세포의 대사 속성, 즉 T 세포가 생체 에너지 요구를 충족하는 방법이 항종양 기능을 조절하고 T 세포 기반 면역 치료의 효과를 가져오는 데 핵심적인 역할을 한다는 강력한 증거가 있습니다.¹

T 세포의 대사 표현형은 활성화 및 분화 과정에서 일련의 변화를 거쳐 T 세포 기능을 유지하는 데 매우 중요한 effector와 기억 세포가 됩니다.² Naïve T 세포는 정지 상태에 있고, 낮은 대사 요구는 주로 미토콘드리아 호흡작용을 통해 충족됩니다. 항원 자극을 사용해 정지 상태 종료, 신속한 영양분 흡수 증가, 동화 작용 대사 증가, 미토콘드리아 대사 재프로그래밍을 유도합니다. 이러한 대사 변화는 T 세포가 빠르게 증식 및 분화하도록 도와 세포 독성을 일으키는 사이토카인 또는 분자를 생성하도록 합니다. 항원 자극제를 성공적으로 제거한 후 남아 있는 분화된 기억 T 세포는 주로 미토콘드리아 활동과 높은 예비 호흡 능력(SRC)의 도움을 받는 중지된 표현형으로 다시 변화합니다. 만성 자극 조건이나 대사적으로 제한적인 환경에서 T 세포의 기능은 대사적으로 장애가 발생할 수 있습니다. T 세포 탈진이라고 알려진 상태로 T 세포의 미토콘드리아 생체 에너지 능력과 effector 기능이 감소합니다(그림 1).

T 세포 운명 및 기능에 대사 조절이 미치는 강력한 영향 때문에 CAR-T와 다른 입양 T 세포 치료의 대사적 특징을 확인하는 것이 T 세포 지속성 및 항종양 기능을 정의하는 데 있어 매우 중요한 역할을 담당할 수 있습니다. 게다가 T 세포 대사 경로 조절 또는 재프로그래밍을 T 세포의 항종양 효능을 개선하는 전략으로 사용할 수 있습니다.

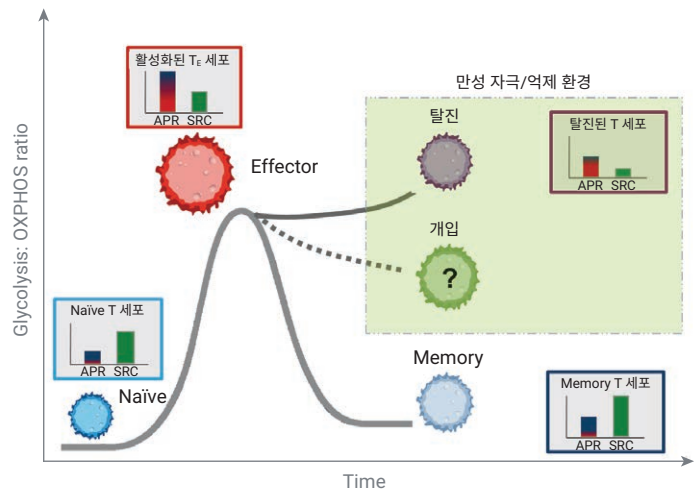


그림 1. T 세포 에너지 대사의 기초와 T 세포 대사 표현형 측정으로 해당작용/OXPHOS 비율 및 세포 운명, 적합성, 기능 간의 관계를 설명합니다. 만성 자극 또는 종양 미세 환경과 같은 억제 환경에서 존재할 때 T 세포의 표현형이 탈진되고 미토콘드리아 기능이 손상될 수 있습니다.

다양한 T 세포 수명 단계에서 T 세포의 해당작용과 미토콘드리아 생체 에너지 경로에 대한 특성을 완벽하게 규명하고 다양한 세포 환경 또는 스트레스 신호에 대한 대사 적응 정보를 확보하는 것이 T 세포 치료를 최적화하고 면역치료 제품의 항종양 효력을 개선하는데 있어 매우 중요합니다. 라이브셀의 해당작용과 미토콘드리아 기능을 동시에 연구하도록 설계된 Agilent Seahorse XF 기술은 면역 세포 대사를 연구하는 데 사용되는 선도적인 플랫폼 중의 하나일 뿐만 아니라 T 세포 활성화 및 분화 과정에서 발생하는 대사 변화의 근본적인 역할을 알아내고 면역 대사를 이해하는데 크게 기여하고 있습니다.^{3,4}

이 응용 자료는 T 세포 집단의 해당작용과 미토콘드리아 활동을 동시에 강력하게 측정하는 것뿐만 아니라 미토콘드리아 호흡 능력을 측정할 수 있도록 설계된 새로운 Agilent Seahorse XF T 세포 대사 프로파일링 키트를 소개합니다. 이러한 측정을 통해 단 한 번의 시험에서 T 세포 대사 프로파일에 대한 특징을 완벽하게 규명할 수 있고, 측정 결과는 T 세포 치료제의 항종양 기능 증가 또는 감소와의 상관 관계를 밝히는 데 사용할 수 있습니다. 이러한 측정 결과는 T 세포 지속성 개선을 목적으로 하는 치료 개발 과정이나 종양 미세 환경에서 대사적 탈진 사후 활성화를 피하고자 할 때 특히 유용하게 사용될 수 있습니다.

T 세포에서 사용되는 미토콘드리아 uncoupler 성능 검토

Agilent Seahorse XF 분석기와 함께 Agilent Seahorse XF Cell Mito Stress Test를 사용하는 T 세포의 미토콘드리아 기능 연구는 T 세포 에너지 대사 및 T 세포 운명 및 기능을 정하는 데 있어 에너지 대사의 역할에 대한 근본적인 지식을 제공해 주었습니다.^{3,4} Agilent Seahorse XF Cell Mito Stress Test Kit는 일련의 시약과 함께 사용하기 때문에 미토콘드리아 기능의 특성을 완벽하게 규명할 수 있습니다. 특히, ATP 합성 억제제(oligomycin) 연속 주입, 미토콘드리아 uncoupler(carbonyl cyanide *p*-(trifluoromethoxy)phenylhydrazone, FCCP) 및 미토콘드리아 억제제(rotenone 및 antimycin A 혼합물)(rot/AA)를 사용해 원상태 세포의 산소 소모율과 미토콘드리아 ATP 생성(ATP-연계 호흡), 연결되지 않은 최대 호흡 및 SRC, 즉 기초 호흡 및 최대 호흡 능력 간의 차이를 계산할 수 있습니다. 이러한 파라미터는 다양한 T 세포 집단의 미토콘드리아 기능 특성을 규명하고 T 세포의 항종양 효력을 개선하는 프로세스를 설명하는 데 널리 사용되어 왔습니다.⁵⁻⁷ 그러나 면역 대사 분야에서 이러한 시험이 많이 채택되었음에도 불구하고 T 세포에서 사용할 때 주로 protonophore uncoupler FCCP를 사용하므로 몇 가지 문제가 발생합니다.

T 세포(및 잠재적으로 다른 면역 세포)에서 FCCP를 사용하는 것이 이상적이지 않은 몇 가지 이유가 있습니다. 첫 번째로 FCCP의 최적 농도가 면역 세포 유형, 분화 단계, 기증자, 질병 상태를 비롯한 여러 가지 요인에 따라 달라집니다. 각 개별 실험에 따라 농도를 맞추거나 최적화하지 않으면 최대 호흡 능력이 과소평가될 수 있습니다. 둘째, naïve T 세포 및 일부 분화된 다른 T 세포에서 FCCP 노출 후 산소 소모율(OCR)이 안정적이지 않아 측정 결과가 크게 달라지고 그에 따라 최대 호흡 능력이 축소되어 보여질 가능성이 있습니다.

또한, XF Cell Mito Stress Test에서 FCCP를 사용하면 glycolytic ATP(glycoATP) 생성물에 해당하는 해당작용 활동의 정량적 측정 결과를 제공하는 시험의 기능이 제한됩니다. Seahorse XF ECAR(세포 외 산성화율) 측정 결과를 사용해 glycoATP 생성물을 계산하려면 기초 OCR 측정 및 rot/AA 추가 후 OCR을 사용해 추정하는 CO₂ 기여도를 수정해야 합니다.⁸ 그러나 분석에서 rot/AA 전에 FCCP를 사용하는 경우 CO₂ 기여도를 과소평가하고 해당작용 활동 정량화에 영향을 미칠 수 있습니다. 이는 특히 산화 수준이 높은 세포, 즉 에너지를 미토콘드리아 산화성 인산화(OXPHOS) 반응을 통해 주로 공급받는 세포로 ECAR에 대한 CO₂ 기여도가 무시할만한 수준이 아닌 세포에서 중요합니다.

미토콘드리아 ATP(mitoATP) 생성물과 glycoATP 생성물을 동시에 평가하면 기초 세포 에너지 요구(즉 총 세포 ATP 생성물) 및 기초 대사 균형(즉 glycoATP 및 mitoATP 생성물 간의 비율) 특성을 규명할 수 있습니다. 이는 T 세포 운명 및 기능을 확인하는 데 매우 중요한 파라미터입니다. 그러나 XF Cell Mito Stress Test를 통해서만 알 수 없는 내용이므로 T 세포 생체 에너지학적 특성 규명이 완전하지 않습니다.

새로운 Agilent Seahorse XF T 세포 대사 프로파일링 키트 개발

T 세포 집단의 해당작용과 미토콘드리아 활동 모두에 대해 정확하고 일관성 있는 정량적 생체 에너지 측정을 동시에 수행할 수 있도록 Agilent Seahorse XF T 세포 대사 프로파일링 키트가 개발되었습니다. 이 키트를 사용하면 uncoupler BAM15 ((2-fluorophenyl){6-[(2-fluorophenyl)amino](1,2,5-oxadiazolo[3,4-e]pyrazin-5-yl)}amine)를 사용해 T 세포의 최대 호흡 능력을 정확하게 측정할 수 있습니다. BAM15는 FCCP와 효력이 비슷한 것으로 보고된 새로운 uncoupler이지만, 세포 독성이 적고 원형질막에 대한 친화성이 낮아 효과 범위가 더 광범위합니다.⁹

그림 2A~2C(빨간선)에서 확인할 수 있는 것처럼 naïve T 세포를 XF Cell Mito Stress Test Kit로 테스트했을 때 FCCP 주입 후 장비 측정 3분 동안 O_2 수준의 변화율이 일관되거나 선형으로 나타나지 않아 OCR 계산이 달라지거나 최대 호흡이 과소평가되었습니다(그림 2D~2F 빨간선). 또한, FCCP 주입 또는 운반체 주입을 통해 얻은 동역학적 궤도와 비교했을 때 나타나는 것처럼, rot/AA 주입 후 OCR이 유의미하게 과소평가되었을 수 있습니다(그림 2D, 빨간선 또는 파란선) 그러나 uncoupler BAM15를 FCCP 대신 사용하는 경우 BAM15 주입 이후 OCR이 안정적으로 증가해(그림 2A~2C 초록선) 최대 호흡을 보다 정확하고 정밀하게 확인할 수 있는 것으로 나타났습니다(그림 2D~2F 초록선).

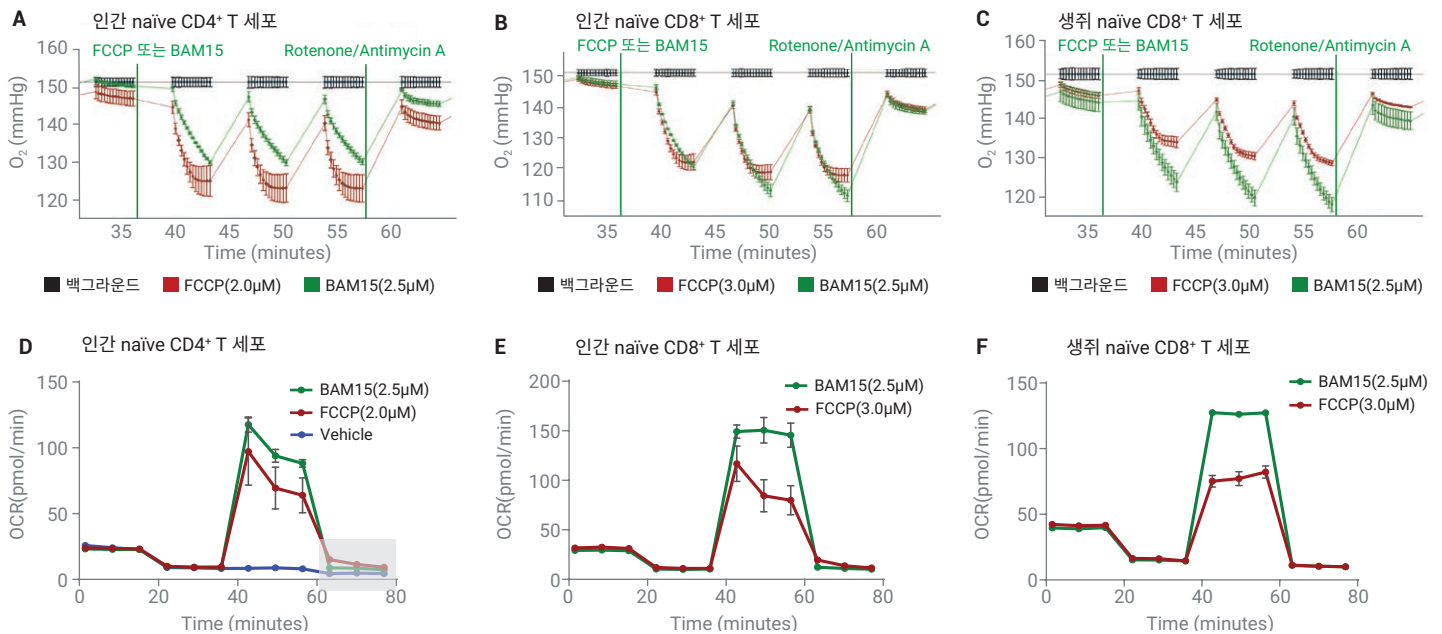
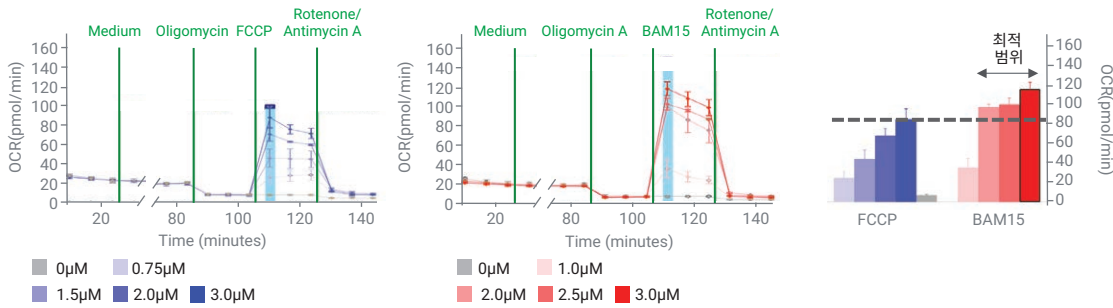


그림 2. uncoupler FCCP 및 BAM15를 사용해 산소 소모량 측정 비교. 모든 세포는 10mM 포도당, 2mM 글루타민, 1mM 피루빈산을 첨가한 pH 7.4의 Seahorse XF RPMI 실험용 배지에서 Well당 2×10^6 의 세포 수로 시딩했습니다. 최적 농도의 uncoupler FCCP(빨간선) 또는 BAM15(초록선)를 추가한 후 naïve 인간 CD4⁺(A), naïve 인간 CD8⁺(B) 및 비장 유래 CD8⁺ T 세포(C)의 세포 밖 산소 수준 변화. naïve 인간 CD4⁺(D), naïve 인간 CD8⁺(E), 비장 유래 생쥐 CD8⁺ T 세포(F)에 대한 XF Cell Mito Stress Test(빨간선) 또는 T 세포 대사 프로파일링 키트 시험(초록선)에서 얻은 산소 소모율(OCR). 2D의 파란선은 uncoupler 대신 시험 배지를 주입한 경우의 조건과 일치합니다.

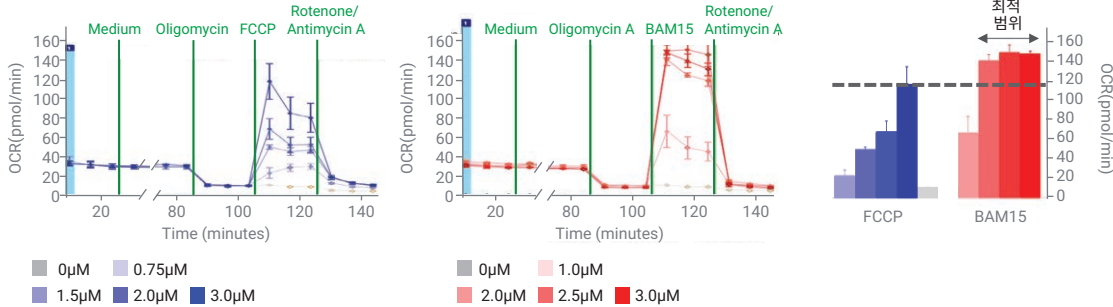
이러한 예비 테스트 후에는 세포 유형당 적어도 세 명의 다른 기증자에게 얻은 인간 naïve CD4⁺, 인간 naïve CD8⁺, 인간 PBMC, 비장 유래 생쥐 CD8⁺ T 세포를 사용해 추가로 실험했습니다. 모든 경우에 FCCP 또는 BAM15를 사용해 나란히 적정 농도 평가를 수행했습니다. 최적의 FCCP 농도에서 얻은 최대 호흡 및 표준 편차와 비교해 봤을 때 uncoupler로 BAM15를 사용했을 때

일관되게 최대 호흡은 더 높고, 표준 편차는 더 낮게 나타났습니다 (그림 3A~3C). 또한, 적정 실험을 통해 최적의 BAM15 농도 범위가 최적의 FCCP 범위보다 더 넓은 것으로 입증되었는데 이는 BAM15를 사용하는 경우 최소한 각 시료에 대한 uncoupler 농도를 최적화해야 함을 의미합니다(그림 3A 및 3B 중간 막대 그래프).

A 다양한 농도에서 인간 naïve CD4⁺ T 세포 동역학적 궤도 및 최대 호흡



B 다양한 농도에서 인간 naïve CD8⁺ T 세포 동역학적 궤도 및 최대 호흡



C 모든 naïve T 세포 테스트

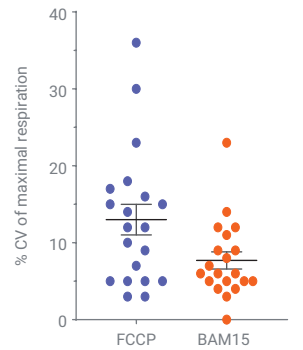


그림 3. 인간 naïve CD4⁺ T 세포(A) 및 CD8⁺ T 세포(B)를 사용하는 FCCP 및 BAM15 적정 실험에 따른 최대 호흡 측정 비교. 중간 막대 그래프는 다양한 uncoupler 농도에서 얻은 최대 호흡을 나타냅니다. (C) FCCP의 최적 농도 또는 2.5μM BAM15를 사용했을 때 naïve T 세포 패널에서 얻은 최대 호흡의 % CV.

XF T 세포 대사 프로파일링 키트(BAM15를 uncoupler로 사용)를 사용해 계산한 glycoATP 생성률을 Agilent Seahorse XF Real-Time ATP Rate Assay Kit를 사용하는 병렬 실험을 통해 얻은 생성률과도 비교했습니다. 결과에 따르면 이러한 두 가지 키트 또는 시험에서 얻은 기초 glycoATP 생성률에는 상당한 차이가 나타나지 않습니다(그림 4).

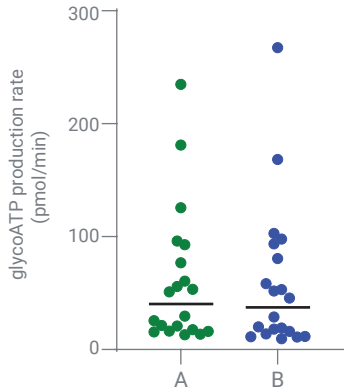


그림 4. Agilent Seahorse XF Real Time ATP Rate Assay Kit(B) 또는 XF T 세포 대사 프로파일링 키트(A)를 사용해 계산한 naïve T 세포의 기초 glycoATP 생성률 비교, oligomycin 및 rot/AA 주입 사이에 BAM15 주입.

마지막으로 광범위한 T 세포 패널을 선택해 인간부터 생쥐까지 다양한 기증자와 분화 단계를 포함해 XF T 세포 대사 프로파일링 키트를 추가로 평가했습니다. 적정 실험을 수행했고 최적의 FCCP 농도에서 얻은 최대 OCR 값을 T 세포 패널에 대한 BAM15(2.5µM)의 단일 농도에서 얻은 값과 비교했습니다(그림 5). 모든 경우에 2.5µM BAM15를 사용해 얻은 최대 OCR은 동일한 세포 유형을 사용해 최적의 FCCP 농도에서 얻은 최대 OCR의 최소 90%였습니다. 2.5µM BAM15를 사용해 얻은 최대 OCR은 최적의 FCCP 농도로 얻은 값보다 평균적으로 20% 더 높았으며, 이는 이 키트의 BAM15 시약을 모든 세포 유형에 대해 2.5µM라는 고정된 농도로 사용할 수 있고 최적화 과정이 거의 필요없다는 의미입니다.

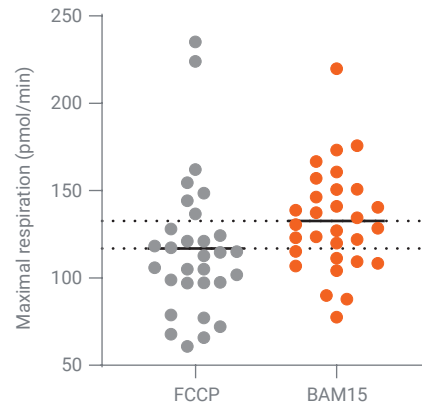


그림 5. 인간 PBMC, naïve CD4⁺, naïve CD8⁺, 활성화된 CD4⁺, 활성화된 CD8⁺, effector CD8⁺, 기억 CD8⁺, 생쥐 naïve, 활성화된 CD8⁺ T 세포(세포 유형당 n = 3)를 포함해 T 세포로 구성된 광범위한 패널을 사용해 최적의 FCCP 농도 또는 2.5µM BAM15에서 얻은 최대 호흡 비교.

T 세포 치료제 지속성 최적화에 XF T 세포 대사 프로파일링 키트 활용

CAR-T 및 다른 입양 T 세포 치료를 평가할 때 고려해야 하는 중요한 특성 중 하나는 세포의 대사적 특징입니다. 대사적 특징이 T 세포 지속성 및 항종양 기능을 정의하는 데 매우 중요한 역할을 하기 때문입니다. 사실, *in vitro* 증식 과정에서 대사 활동이 높은 effector 표현형을 얻는 CAR-T 세포는 생체내에서 지속성과 항종양 활동이 높지 않은 것으로 보고되었습니다. 그러나 *in vitro* 증식 과정에서 대사 활동이 낮음-중간 사이이고 예비 호흡 능력이 높은 것으로 나타나는 CAR-T 세포는 항종양 면역력이 뛰어나고, 개선된 증식 능력, 더 높은 비율의 종양 세포 사멸, 사이토카인 생성이라는 특성이 있습니다.¹⁰ 여러 논문에 따르면, 제조 과정에서 증식 조건을 사용해 생체내 효력 감소로 이어지는 원하지 않는 대사 표현형을 가진 T 세포 산물을 생산할 수 있음을 보여줍니다. 또한, 이러한 논문들은 증식 과정에서 T 세포의 대사 컨디셔닝을 사용해 생체내 지속성을 확대하고 항종양 기능을 개선하는 대사 재프로그래밍을 유도할 수 있다는 점을 지적합니다.^{5,11,12}

T 세포 치료 발전을 지원하도록 설계된 XF T 세포 대사 프로파일링 키트는 단 한 번의 시험으로 T 세포 대사 프로파일을 모두 알려줍니다. 여기에는 지속성을 높이거나 낮추는 T 세포 대사 상태를 설명하기 위해 이전에 사용되었던 파라미터인 총 기초 에너지 요구, 기초 대사 균형, 예비 호흡 능력이 포함됩니다.¹⁰ 따라서 원하는 대사 표현형 생성으로 이어지는 T 세포 증식 조건을 평가하고 최적화해 T 세포 지속성을 높이는 데 매우 적합합니다.

여기서 XF T 세포 대사 프로파일링 키트는 세포 배양 배지 조성(10mM 포도당 + 10% FBS를 포함하는 RPMI 또는 ImmunoCult XF 배지(STEMCELL Technologies))과 다른 interleukins 추가(IL-2 또는 IL-15)가 T 세포 산물의 대사 프로파일에 어떻게 영향을 미치는지 평가하는 데 사용되었습니다. 이전 연구에 따르면 IL-15에서 증식된 세포는 IL-2에서 배양된 세포와 비교해 분화된 표현형이 더 적습니다.¹³ 이 연구에서는 건강한 다른 기증자의 pan T 세포를 CD3/CD28 항체와 결합된

마그네틱 비드로 활성화했습니다. 3일 후 마그네틱 비드를 제거했고, 세포가 앞에서 설명한 배지 조건에서 증식했습니다 (그림 6). 세포는 배양 시 1×10^6 cells/mL의 세포 양을 유지했고, 3일에 한 번씩 배지를 갈고 용량을 조절했습니다. 7일, 14일, 22일째 되는 날 시료를 제거하고 권장하는 시험 조건에 따라 XF T 세포 대사 프로파일링 키트를 사용하는 XF T 세포 지속성 검사로 분석했습니다.¹⁴

첫 번째로 세포 증식 과정에서 SRC를 비교했습니다. 그림 6A에서 확인할 수 있는 것처럼 7일째 되는 날 IL-15 또는 IL-2에서 증식한 세포의 SRC 변화가 관찰되었고, 이는 증식 과정에서 사용된 세포 배양 배지와는 관련이 없습니다. IL-15에서 증식된 세포의 SRC 증가가 22일째 되는 날, 특히 최적화된 ImmunoCult XF 배지에서 배양한 세포에서 두드러지게 나타났습니다(그림 6C). SRC 증가는 기억 같은 표현형의 특성으로 이전에는 지속성 증가와 관련이 있었습니다.

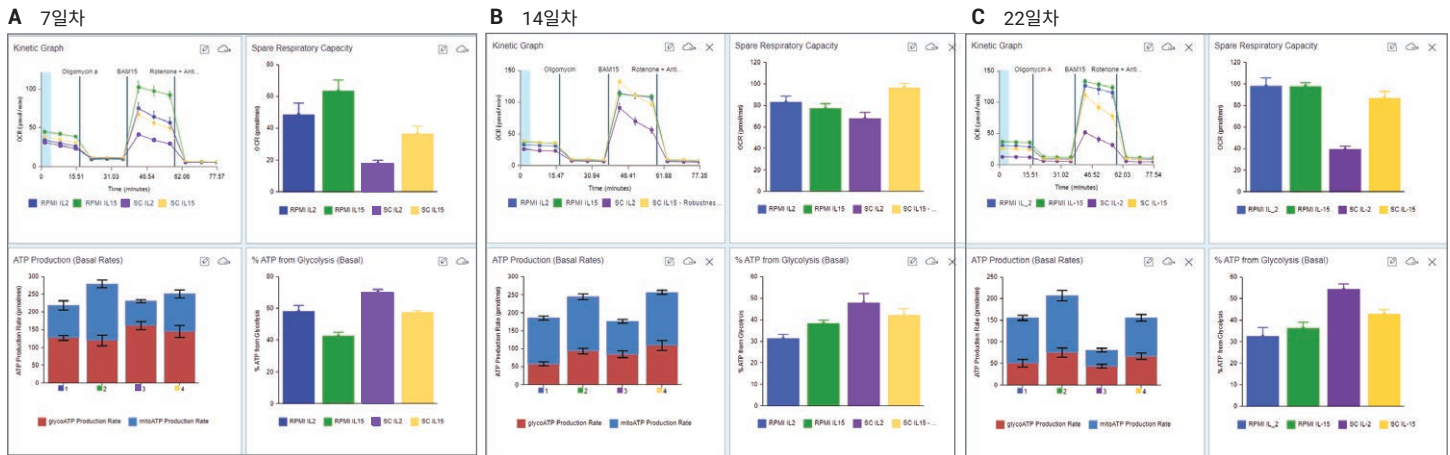


그림 6. 세포 증식 조건이 T 세포 대사 측정에 미치는 영향. 인간 말초혈액 pan T 세포는 ImmunoCult XF T 세포 증식 배지에서 Dynabeads Human Activator CD3/CD28을 사용해 활성화했고 5% CO₂ 인큐베이터에서 37°C로 배양했습니다. 활성화 이틀 후에 Dynabeads를 제거했고 세포를 4개 그룹으로 나눠 다음 4가지 배지 조건에 따라 mL당 1×10^6 의 세포 수로 재부유시켰습니다. 파란색 – RPMI, 2mM 글루타민, 10% FBS 및 IL-2(300U/mL) 첨가, 초록색 – RPMI, 2mM 글루타민, 10% FBS 및 IL-15(10ng/mL) 첨가, 보라색 – ImmunoCult XF 배지, IL-2(300U/mL) 첨가, 노란색 – ImmunoCult XF 배지, IL-15(10ng/mL) 첨가. 활성화 후 7일, 14일, 22일째 되는 날 시료를 가져와 분석했습니다. 각 날에 보고된 데이터에는 OCR 동역학적 궤도(상단 왼쪽), SRC(상단 오른쪽), ATP 생성률(하단 왼쪽), 해당작용에 따른 ATP 비율(하단 오른쪽)이 포함되어 있습니다.

다음 단계는 특성 규명 및 증식 조건을 개선하기 위해 이 분석에서 나온 다른 결과를 조사하는 것입니다. 다른 결과는 해당작용 및 미토콘드리아의 기초 ATP 생성률입니다(그림 6, 각 패널에서 하단 그래프 두 개). IL-15를 함유한 ImmunoCult XF 배지에서 증식된 세포는 IL-2를 함유한 배지의 세포와 비교했을 때 산화 대사 균형이 더 높은 것(해당작용의 %ATP가 더 낮음)으로 나타났습니다(그림 6, 각 패널에서 오른쪽 하단 그래프, 노란색과 보라색 막대 비교). 또한, RPMI 배지에서 증식 및 분화된 세포는 사용한 interleukin의 종류와 관계없이 ImmunoCult XF 배지에서 증식 및 분화된

세포보다 대사 요구가 높은 것(총 기초 ATP 생성률이 더 높음)으로 나타났습니다(그림 6, 각 패널에서 왼쪽 하단 그래프). 대사 요구 증가는 effector T 세포 표현형과 관련이 있습니다. 사실, Agilent NovoCyte Advanteon 유세포 분석기를 사용하여 CCR7-A 및 CD45RO-A 표면 마커 발현을 분석했을 때 ImmunoCult XF 배지에서 증식된 세포가 effector 기억 표현형에서 농축된 RPMI에서 증식된 세포와 비교했을 때 더 높은 비율의 CCR7-A⁺/CD45RO-A⁺ 중앙 기억 집단을 유지하는 것으로 관찰되었습니다(그림 7).

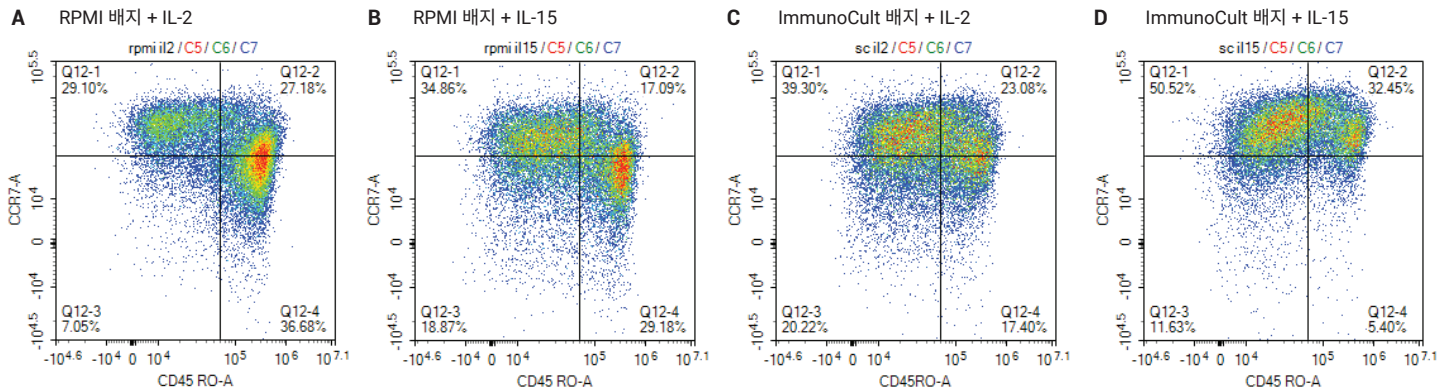


그림 7. 세포 표면 마커 CCR7-A 및 CD45RO-A의 유세포 분석기 분석, 22일째 되는 날 그래프에 표시된 대로 다른 배지 조건에서 시료 증식. RPMI 배지에는 2mM 글루타민과 10% FBS를 첨가했습니다.

결론

이 문서는 T 세포 대사 프로파일의 특성을 완벽하게 규명하기 위한 최적화된 시험을 소개합니다. 이 시험은 XF 분석기와 XF T 세포 대사 프로파일링 키트를 함께 사용해 T 세포의 최대 호흡과 예비 호흡 능력에 대한 강력한 측정과 uncoupler 농도 최적화 과정을 최소화할 수 있도록 최적화된 uncoupler를 제공합니다. 또한, 이 시험을 통해 사용자는 기초 세포 생체 에너지 요구를 고유하게 측정하는 것뿐만 아니라 동일한 세포 시료에서 해당작용 활동에 대한 정량적 정보를 얻을 수 있습니다.

T 세포 치료 효능을 발전시키고 예측하는 능력을 개선하기 위해서는 CAR-T 세포 치료 제품의 특성 규명을 위한 종합적인 데이터 세트를 제공하는 직교 분석과 도구를 함께 사용해야 합니다. T 세포의 대사 특성이 T 세포 산물의 지속성과 항종양 효력을 개선하기 위해 분석해야 하는 주요 특성 중 하나입니다. XF T 세포 지속성 시험은 동일한 시료에서 T 세포 대사 프로파일의 특성을 완벽하게 규명할 수 있는 다중 파라미터 결과를 제공하며, T 세포 유래 치료의 설계 및 제조를 최적화하기 위한 일상적인 시험에도 통합할 수 있습니다.

참고 문헌

1. Chang C. H.; Pearce, E. L. *Nature Immunology* **2016**, 17, 364–368. <https://dx.doi.org/10.1038%2Fni.3415>.
2. Sukumar et al. *Current Opinion in Immunology* **2017**, 46, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2017.03.011>.
3. Wei et al. *Frontiers in Immunology* **2021**, 12, 717014. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.717014>.
4. Voss et al. *Nature Reviews Immunology* **2021**, 21, 637–652. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00529-8>.
5. Geiger et al. *Cell* **2016**, 167, 829–842. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2016.09.031>.
6. Kawalekar et al. *Immunity* **2016**, 44, 380–390. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2016.01.021>.
7. Scharping et al. *Immunity* **2016**, 45, 374–388. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2016.07.009>.
8. Natalia, R. Quantifying Cellular ATP Production Rate Using Agilent Seahorse XF Technology. *Agilent Technologies white paper*, publication number **5991-9309EN**.
9. Kenwood et al. *Molecular Metabolism* **2014**, 3, 114–123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmet.2013.11.005>.
10. Rostamian et al. *Cancer Letters* **2021**, 500, 107–118. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.12.004>.
11. Hermans et al. *PNAS* **2020**, 117(11), 6047–6055. <https://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1920413117>.
12. Geltink et al. *Nature Metabolism* **2020**, 2, 703–716. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0256-z>.
13. Alizadeh et al. *Cancer Immunol. Res.* **2019**, 7(5), 759–772. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0466>.
14. Agilent Seahorse XF T Cell Metabolic Profiling Kit User Guide. *Agilent Technologies*, publication number **5994-3493EN**.

www.agilent.com/chem/xfpro

연구 용도로만 사용하십시오. 진단 용도로는 사용하지 않습니다.

RA44573.6858796296

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2022
2022년 2월 8일 한국에서 인쇄
5994-4494KO

한국에질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com