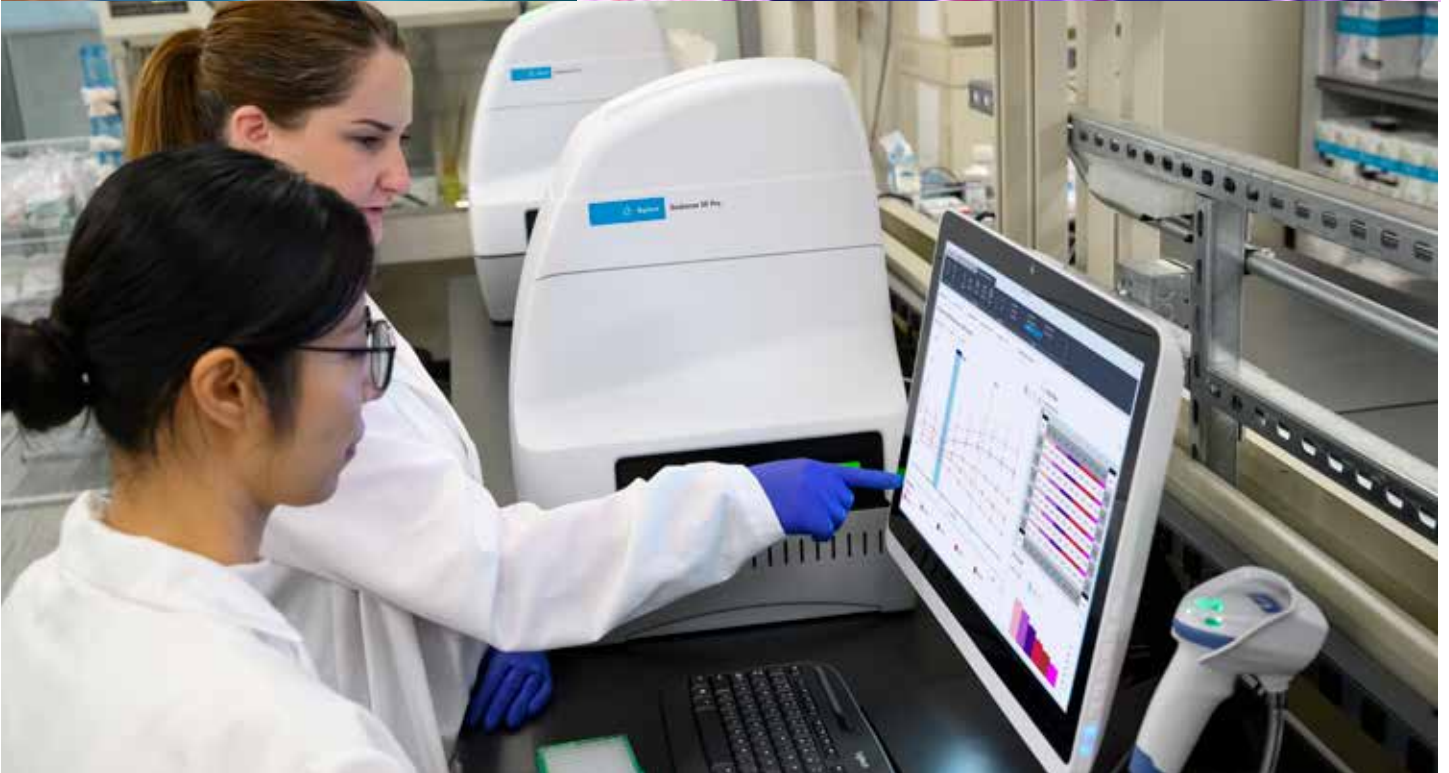
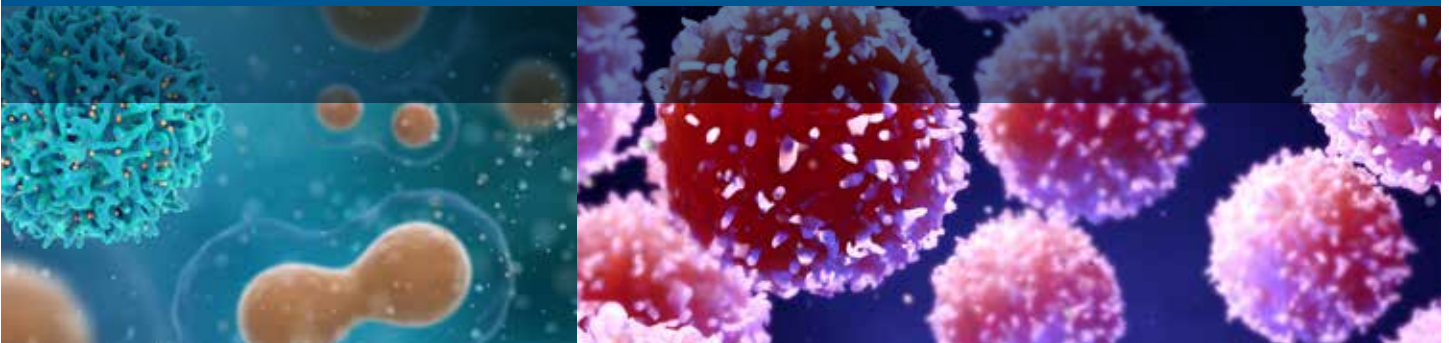


Análisis metabólico de células vivas para la investigación inmunológica

Tecnología Agilent Seahorse XF



Dirige el sistema inmunitario modulando las vías metabólicas que regulan el destino y la función celulares

Las células inmunitarias son capaces de percibir una gran variedad de estímulos y señales procedentes de su entorno e integrarlas para ajustar los procesos y funciones intracelulares con el fin de ofrecer una respuesta inmunitaria integrada. Los planteamientos analíticos, como los ensayos de expresión de marcadores de células inmunitarias, los ensayos de liberación de citocinas y los perfiles de vías, aportan una categorización convencional de las células inmunitarias, especialmente después de que la célula se haya vinculado con un linaje o estado de activación concreto. Sin embargo, la intervención y modulación de las vías para controlar la función de las células inmunitarias requiere una visión más completa del destino y la función de las células inmunitarias, incluida la comprensión de los factores previos que influyen en los procesos de las células inmunitarias. Los programas metabólicos son factores determinantes críticos para la respuesta de las células inmunitarias.

La tecnología Agilent Seahorse XF permite realizar medidas metabólicas cinéticas y funcionales, y facilita una evaluación más directa de los procesos de las células inmunitarias a medida que estos tienen lugar (es decir, en tiempo real). Los programas metabólicos son factores previos determinantes para la respuesta de las células inmunitarias. Los procesos de las células inmunitarias, como la activación, la proliferación y el desarrollo de la memoria, están impulsados por la reprogramación metabólica, que puede modularse para mejorar el rendimiento. El análisis metabólico permite conocer en tiempo real la cinética y, además, aporta un amplio conjunto de dianas de las vías para modular los procesos biológicos de las células inmunitarias.

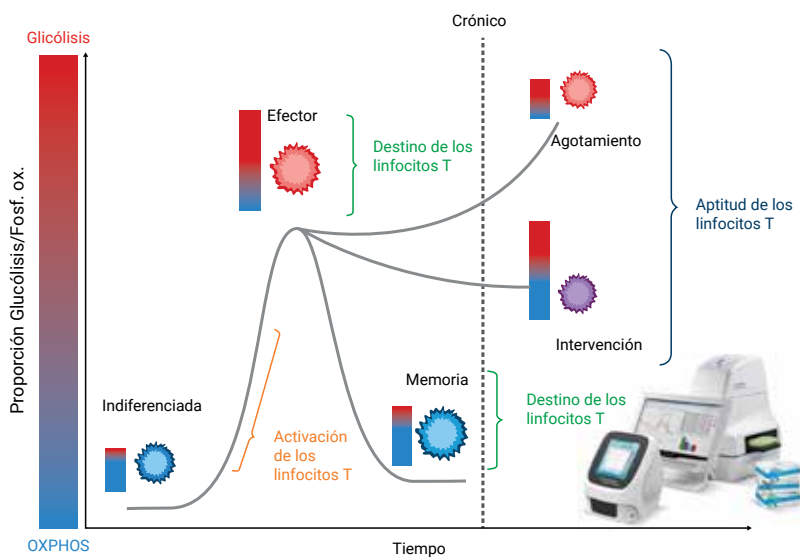


Figura 1. Medida de los fenotipos metabólicos de las células inmunitarias, que ilustra una relación entre la proporción glicólisis/fosforilación oxidativa y el destino, la aptitud y la función celulares.

Soluciones de análisis celular Agilent Seahorse XF para la investigación inmunológica

Generación de datos funcionales en tiempo real a partir de células vivas

La tecnología Agilent Seahorse XF permite medir la bioenergética celular en tiempo real. Parámetros bioenergéticos como la actividad mitocondrial, la glucólisis y las tasas de producción de ATP aportan información sobre las funciones inmediatas y tempranas de las células inmunitarias para una comprensión más completa de la función de las células inmunitarias que puede modularse para mejorar o predecir el rendimiento.



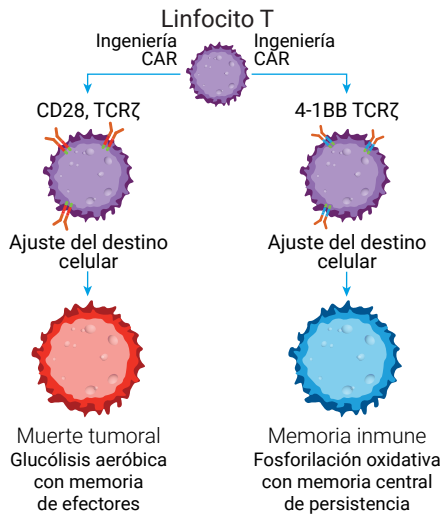
Los científicos dedicados a la investigación inmunológica están empleando la tecnología de análisis celular Agilent Seahorse XF para estudiar:

- El ciclo vital, la activación y la vinculación con el linaje de las células inmunitarias
- El fenotipado de memoria, la aptitud, el agotamiento y la capacidad para mantener la función
- Las necesidades metabólicas de combustible
- La señalización metabólica, las vías, los puntos de control y los bloqueos
- El metabolismo huésped-patógeno en las enfermedades infecciosas

Para obtener más información sobre el sistema Agilent Seahorse XF Pro, [haga clic aquí](#).

El análisis metabólico revela un amplio conjunto de dianas de vías que ofrecen nuevas oportunidades terapéuticas en inmuno-oncología

Descubra estrategias para influir en las vías y controlar la respuesta de las células inmunitarias para avanzar en el desarrollo de terapias celulares



El objetivo de las inmunoterapias celulares es mejorar el comportamiento de las células inmunitarias nativas mediante la expansión o modificación de las células inmunitarias para alterar las vías de señalización relevantes que dan lugar a cambios en la función celular. El análisis XF proporciona mediciones críticas de células vivas en tiempo real, revelando el resultado funcional de las estrategias de modulación. Descubra cómo puede “funcionalizar” la modulación de la respuesta de las células inmunitarias a través de las señales, el bloqueo de puntos de control o la intervención en las vías por medio de los cambios de la programación metabólica.

Figura 2. La ingeniería y la bioenergética de los linfocitos T afectan al “destino de los linfocitos T”, favoreciendo la población efectora o de memoria.

El análisis metabólico permite conseguir avances en el desarrollo de la inmunoterapia adoptiva al revelar un vínculo metabólico crítico entre los correceptores CAR T y la respuesta de las células efectoras frente a las de memoria

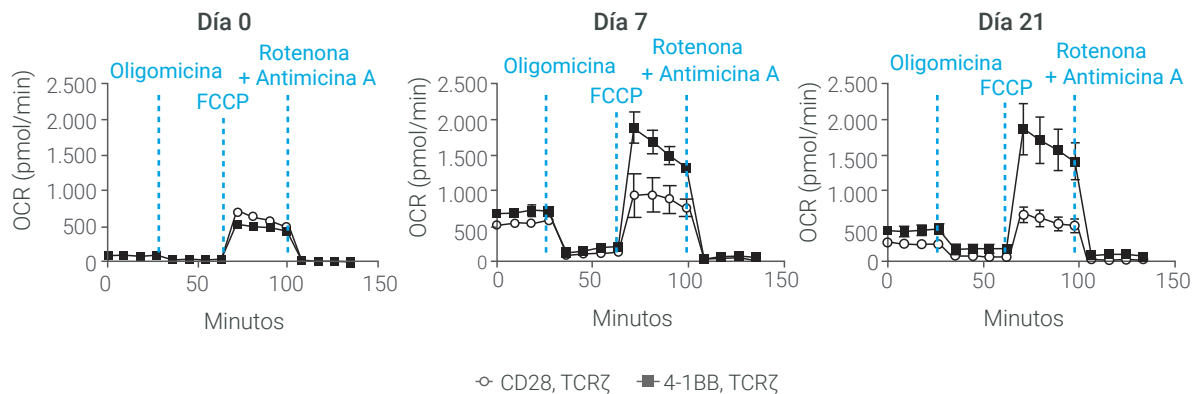


Figura 3. Adaptado de Kawalekar, O. et al. Distinct Signaling of Coreceptors Regulates Specific Metabolism Pathways and Impacts Memory Development in CAR T Cells. *Immunity* 2016, 44(2), 380–90.

La capacidad respiratoria de reserva (SRC) es una medida fiable de la función mitocondrial que representa la capacidad de las células para aumentar la producción de energía mitocondrial en caso necesario. En el caso de las células CAR T expandidas, un aumento de la SRC se correlaciona fuertemente con los fenotipos de memoria de linfocitos T o de células madre T.

Kawalekar et al. utilizaron los ensayos Seahorse XF para demostrar que la elección del dominio de señalización de CAR determina el fenotipo bioenergético de las células CD8+ CAR T después de la estimulación con antígenos. Durante un periodo de 21 días, las células CAR T que contenían el dominio coestimulante de señalización 4-1BB evolucionaron hasta mostrar una mayor SRC, lo que culminó en una mayor persistencia *in vitro* y una mayor diferenciación de la memoria central con relación a las células CAR T que contenían el dominio coestimulante de señalización CD28.

Controlar los cambios metabólicos en las células tumorales para caracterizar mejor el microentorno tumoral y aprovechar las terapias de puntos de control

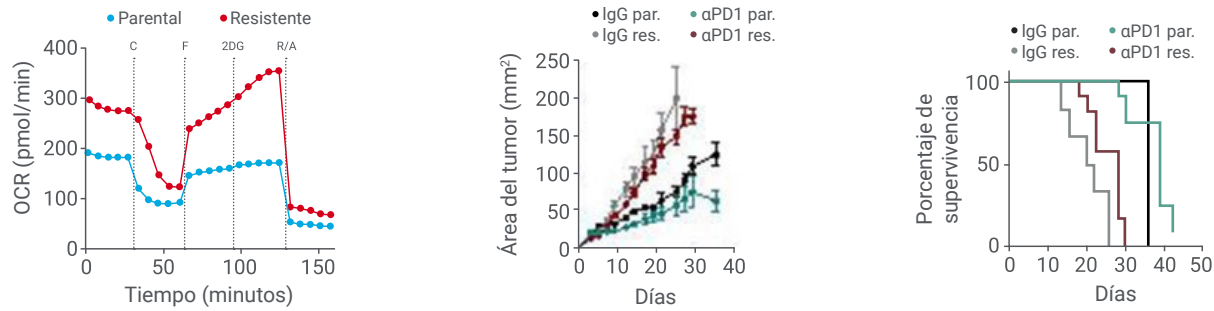
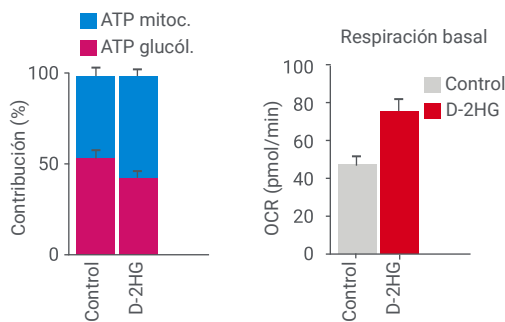


Figura 4. Adaptado de Zandberg, D. et al. Tumor hypoxia is associated with resistance to PD-1 blockade in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J ImmunoTher Cancer* 2021, 9(5), e002088.

Los ensayos Seahorse XF se utilizaron en los estudios de Zandberg, D. et al. para demostrar que el metabolismo oxidativo se incrementa a medida que los tumores se vuelven resistentes al bloqueo anti-PD-1. Demostraron que el estado metabólico del microentorno tumoral puede predecir la respuesta del tumor a la terapia anti-PD-1.

Evaluar la sensibilidad bioenergética de los linfocitos T para obtener información específica sobre el fenotipo y la función celulares



Notarangelo et al. utilizaron la tecnología Seahorse XF para demostrar que el d-2-hidroxiglutarato (D-2HG) derivado de tumores da lugar a una alteración del equilibrio metabólico en los linfocitos T CD8+ con una mayor dependencia de la fosforilación oxidativa para la generación de ATP, lo que resulta en una proliferación, producción de citocinas y citotoxicidad alteradas.

Figura 5. Adaptado de Notarangelo, G. et al. Oncometabolite d-2HG alters T cell metabolism to impair CD8+ T cell function. *Science* 2022, 377(6614), 1519–1529.

Evaluar el impacto de la aptitud metabólica en la función de las células inmunitarias

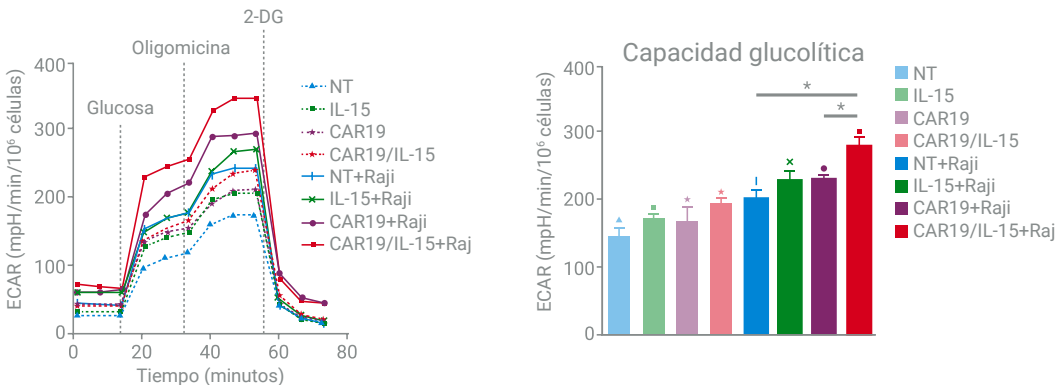


Figura 6. Adaptado de Li, L. et al. Loss of metabolic fitness drives tumor resistance after CAR-NK cell therapy and can be overcome by cytokine engineering. *Science Advances* 2023, 9, eadd6997

Li et al. utilizaron la tecnología Seahorse XF para demostrar que la ingeniería de las células NK CAR19 para que expresen interleucina 15 (IL-15) da lugar a una mayor aptitud metabólica con una mejor actividad glucolítica en comparación con los controles. Su estudio demostró que los efectos antitumorales de las células NK CAR pueden mejorarse aumentando su aptitud metabólica.

Medidas cuantitativas en tiempo real que ofrecen una panorámica completa de la función de las células inmunitarias

Las medidas funcionales con las soluciones Seahorse XF proporcionan información sobre los factores críticos que afectan a la respuesta, el destino y la función de las células inmunitarias

La elevada sensibilidad de las medidas metabólicas permite conocer cómo responden las células inmunitarias ante diferentes condiciones para satisfacer las exigencias integrales y multifacéticas asociadas a las respuestas inmunitarias. Los investigadores están aplicando la tecnología Seahorse XF para investigar preguntas relacionadas con la inflamación, la autoinmunidad y la inmunosupresión, junto con las dependencias del sustrato y el efecto inmunosupresor del microentorno tumoral.

El metabolismo como indicador del fenotipo y la función inflamatoria en macrófagos

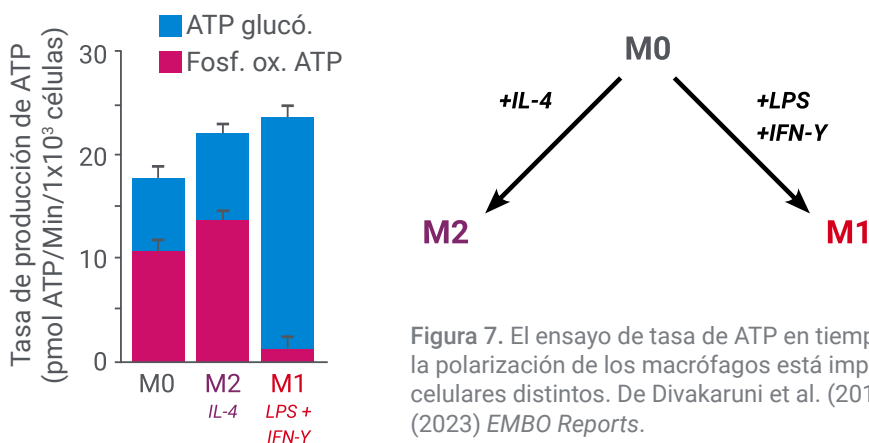


Figura 7. El ensayo de tasa de ATP en tiempo real de Agilent Seahorse XF revela que la polarización de los macrófagos está impulsada por dos programas metabólicos celulares distintos. De Divakaruni et al. (2018) *Cell Metabolism* y Desousa et al. (2023) *EMBO Reports*.

Tanto la polarización proinflamatoria (M1) como la antiinflamatoria (M2) de los macrófagos provoca un aumento de la tasa de producción de ATP, pero el metabolismo energético responde de formas radicalmente distintas. El fenotipo antiinflamatorio M2 se caracteriza fuertemente por la fosforilación oxidativa, mientras que los macrófagos del fenotipo proinflamatorio M1 aumentan la glucólisis y reorientan su metabolismo aeróbico hacia la generación de especies reactivas de oxígeno y metabolitos proinflamatorios como el succinato y el itaconato.

La tecnología Seahorse XF proporciona información sobre las vías esenciales, la señalización y los requisitos de nutrientes para las respuestas inmunitarias antitumorales relevantes para el microentorno tumoral

La elevada sensibilidad de las medidas metabólicas permite conocer cómo responden las células inmunitarias ante diferentes condiciones para satisfacer las exigencias integrales y multifacéticas asociadas a las respuestas inmunitarias. Los investigadores están aplicando la tecnología Seahorse XF para investigar preguntas relacionadas con la inflamación, la autoinmunidad y la inmunosupresión, junto con las dependencias del sustrato y el efecto inmunosupresor del microentorno tumoral.

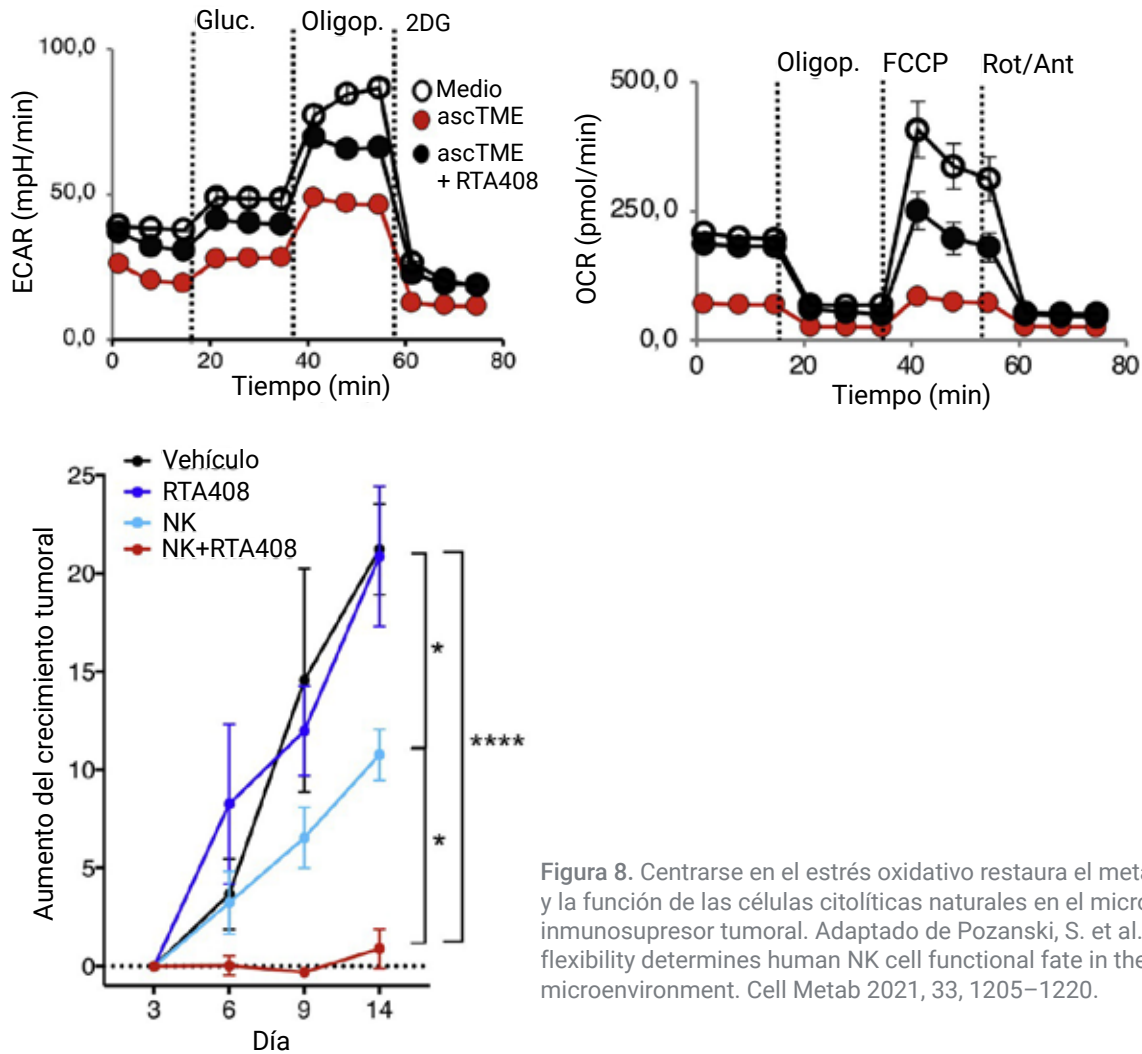


Figura 8. Centrarse en el estrés oxidativo restaura el metabolismo y la función de las células citolíticas naturales en el microentorno inmunosupresor tumoral. Adaptado de Poznanski, S. et al. Metabolic flexibility determines human NK cell functional fate in the tumor microenvironment. Cell Metab 2021, 33, 1205–1220.

Los ensayos Seahorse XF fueron utilizados por Poznanski et al. para generar información sobre los mecanismos de disfunción de las células NK en el microentorno tumoral (TME). El estudio demostró que la reprogramación de las células NK para aumentar la flexibilidad de su sustrato metabólico dio lugar a una aptitud metabólica sostenida y a una mayor actividad antitumoral en el TME hostil.

Cualquier cambio en la función de las células inmunitarias requiere un cambio en la bioenergética

El fenotipo metabólico ofrece información para conocer mejor la función de las células inmunitarias

La activación, la proliferación, la inducción de las funciones efectoras y el retorno a la homeostasia son aspectos cruciales del ciclo de vida de las células inmunitarias (y el linaje y la identidad de dichas células limitan su capacidad de desempeñar estas funciones). La tecnología Seahorse XF proporciona mediciones funcionales en tiempo real para obtener una imagen completa de la función de las células inmunitarias y una visión de las vías y dianas para modular las respuestas de las células inmunitarias.

El análisis en tiempo real de la activación de las células inmunitarias ofrece información sobre los requisitos, las señales, las rutas y los puntos de control metabólicos

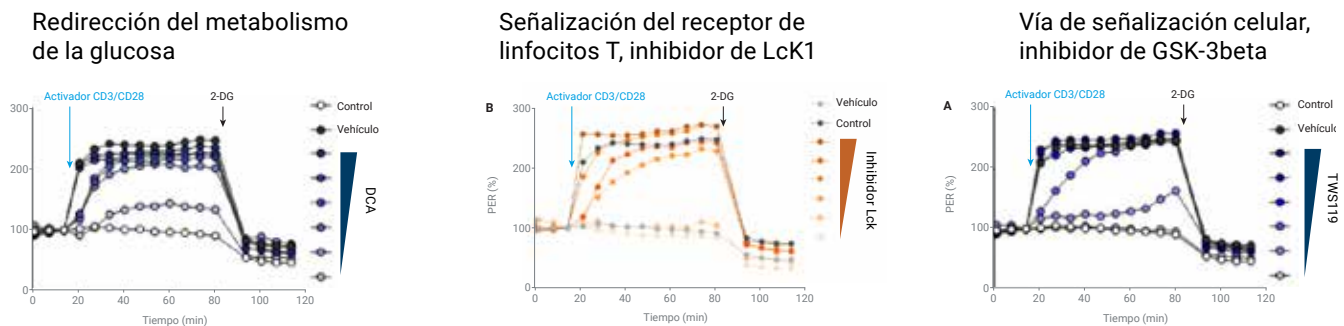


Figura 9. El ensayo de activación de linfocitos T Agilent Seahorse XF Hu permite conocer mejor los requisitos metabólicos y las señales que resultan críticos para la activación de los linfocitos T, lo que permite interrogar el efecto de los moduladores de los linfocitos T. De Kam et al. Determining the Metabolic Consequences of Pharmacological Modulation of T Cell Activation. Póster de Agilent Technologies, ASGCT, 2020.

Medida del metabolismo como indicador del tipo, la función y el linaje de las células inmunitarias

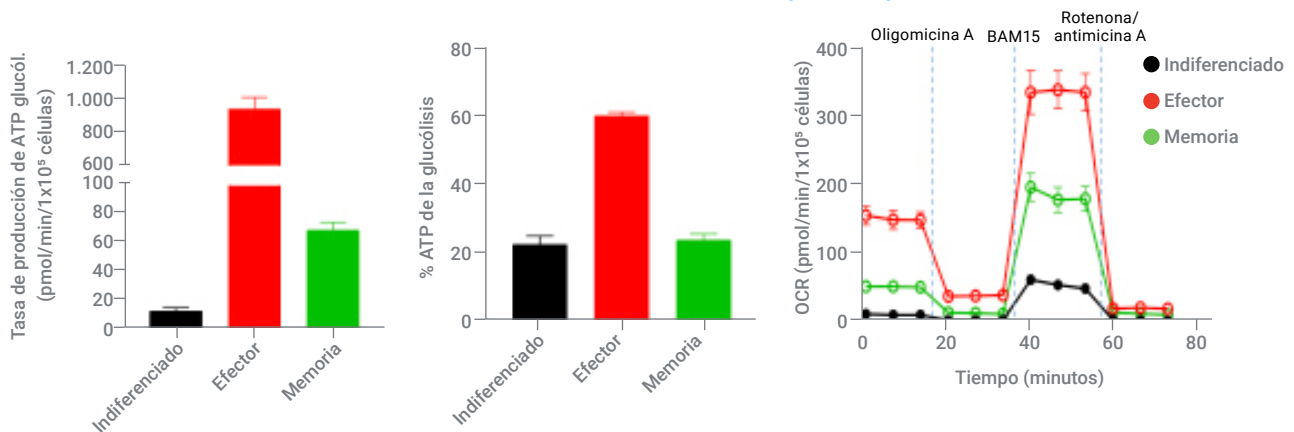


Figura 10. Los linfocitos T experimentan importantes cambios metabólicos tras su activación, pasando a la glucólisis para apoyar las funciones efectoras y el rápido crecimiento celular. Las células panT humanas se activaron con anti-CD3/CD28 durante 3 días y se expandieron después en medios de cultivo celular. El ensayo de aptitud metabólica de linfocitos T XF de linfocitos T indiferenciados (antes de la activación) y linfocitos T activados y expandidos durante 6 días (efectores) y 15 días (de memoria) se realizó utilizando el analizador Agilent Seahorse XFPro. Datos no publicados de Agilent Technologies.

El kit de análisis metabólico de linfocitos T XF revela el perfil bioenergético completo, incluida la actividad bioenergética glucolítica y mitocondrial, el equilibrio metabólico y la capacidad bioenergética mitocondrial. Proporciona una visión única del fenotipo y la función celulares en diferentes estados de diferenciación celular. Los linfocitos T indiferenciados tienen un fenotipo inactivo con una baja dependencia de la glucólisis; tras la activación por el encuentro con antígenos se produce un aumento de la actividad glucolítica. Cuando la infección se resuelve, un pequeño número de estas células genera una población de memoria y la actividad glucolítica vuelve a disminuir.

Generación de información sobre la respuesta metabólica entre el huésped y el patógeno

Los patógenos suelen dirigirse a las vías metabólicas celulares del huésped para establecer las condiciones óptimas para la infección. La respuesta del huésped puede incluir cambios a gran escala en el metabolismo celular, incluido el secuestro de las vías metabólicas centrales del carbono y el cambio de la función mitocondrial. Una cascada de redes de señalización y puntos de control también desencadena la respuesta inmunitaria innata para combatir las infecciones. La tecnología Seahorse XF proporciona medidas funcionales críticas para una visión completa y a nivel de sistema de la respuesta del huésped, proporcionando información sobre posibles dianas terapéuticas.

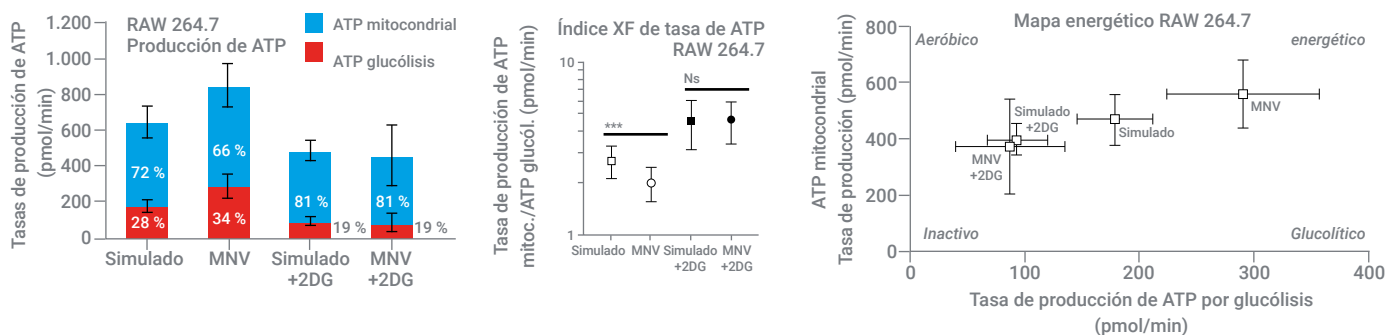


Figura 11. Los macrófagos murinos infectados por norovirus aumentan su dependencia de la glucólisis para la producción de ATP. Reproducido bajo licencia Creative Commons 4.0 de Passalacqua, K. et al. Glycolysis Is an Intrinsic Factor for Optimal Replication of a Norovirus. *mBio* 2019, 10(2), 02175–18. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

El ensayo de tasa de ATP en tiempo real Seahorse XF reveló que la infección por norovirus de células macrófagos de murinos supone un aumento de la tasa de producción global de ATP, con aumentos tanto en la glucólisis como en la fosforilación oxidativa, pero con una reprogramación global hacia un fenotipo más glucolítico, lo que sugiere un papel crítico de la actividad glucolítica del huésped para sostener la infección vírica inicial.

Obtenga más información sobre cómo Agilent Seahorse XF puede ayudarle a investigar el metabolismo inmunitario en nuestra página web específica [aquí](#).

Ensayos optimizados para medir el inmunometabolismo

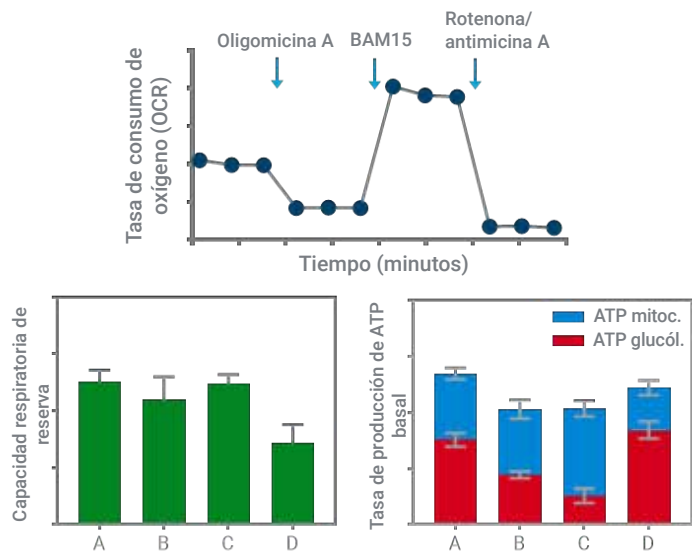
Ensayos de perfiles metabólicos de linfocitos T XF: Ensayos personalizados para el desarrollo de terapias celulares

Con reactivos optimizados para diferentes poblaciones de linfocitos T y células NK, estos ensayos proporcionan parámetros bioenergéticos robustos vinculados a atributos críticos para las propiedades antitumorales: persistencia celular y aptitud metabólica.

- Adecuado para la evaluación del diseño de constructos, estrategias de ingeniería, selección de materiales de partida o acondicionamiento metabólico durante la expansión celular *in vitro*
- Aplicable para evaluar la capacidad de los linfocitos T y las células NK para mantener la aptitud metabólica en microentornos tumorales
- Incluye BAM15, un desacoplador mejorado para medidas más consistentes y precisas de la función mitocondrial de linfocitos T y células NK
- Proporciona una visión completa del metabolismo de los linfocitos T y las células NK, incluida la cuantificación simultánea de la actividad de los efectos glucolíticos y mitocondriales y de la capacidad bioenergética
- Probado para perfiles metabólicos de linfocitos T y células NK



Una visión integral de la bioenergética celular



Número de referencia 103772-100 (XF Pro /XFe96) y 103771-100 (XF HS Mini y XFp)

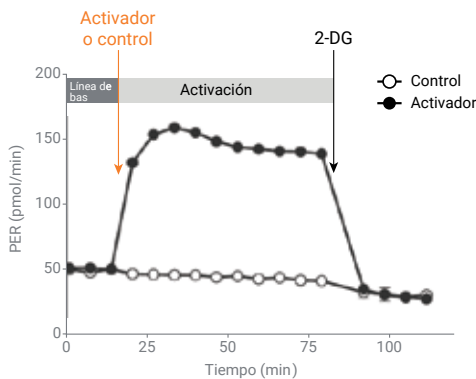
Los ensayos de activación de células inmunitarias en tiempo real Agilent Seahorse XF sirven como indicadores rápidos y robustos de la activación

La activación de las células inmunitarias está impulsada por un cambio rápido hacia las vías promotoras del crecimiento que resultan necesarias para la proliferación celular. Los ensayos de activación de células inmunitarias en tiempo real Agilent Seahorse XF permiten la detección de respuestas de activación en cuestión de minutos tras la estimulación, proporcionando información sobre la activación de células inmunitarias, la modulación y la reprogramación metabólica relacionada.

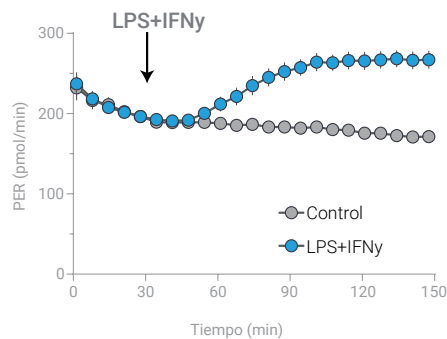
Ensayos específicos para células inmunitarias:

- Ensayo de activación de linfocitos T Agilent Seahorse XF Hu
- Ensayo de activación de macrófagos en tiempo real Agilent Seahorse XF
- Ensayo de activación de neutrófilos en tiempo real Agilent Seahorse XF

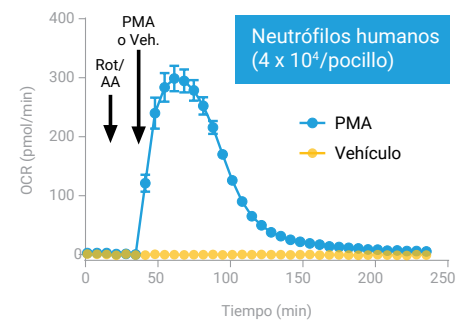
Ensayo de activación de linfocitos T (Número de referencia del kit 103759-100)



Ensayo de activación de macrófagos



Ensayo de activación de neutrófilos



Explore los kits de ensayo Agilent Seahorse XF [aquí](#)

Más información:

www.agilent.com/lifesciences/cellanalysis

Tienda on-line:

www.agilent.com/lifesciences/store

Busque el servicio local de ventas y soporte en su país:

www.agilent.com/lifesciences/contactus

España:

901 11 68 90

customercare_spain@agilent.com

Europa

info_agilent@agilent.com

Asia-Pacífico

inquiry_lsca@agilent.com

**Solo para uso en investigación.
Prohibido su uso en procedimientos diagnósticos.**

RA45427.4037615741

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
Publicado en EE. UU. el 2 de octubre de 2024
5994-7553ES

