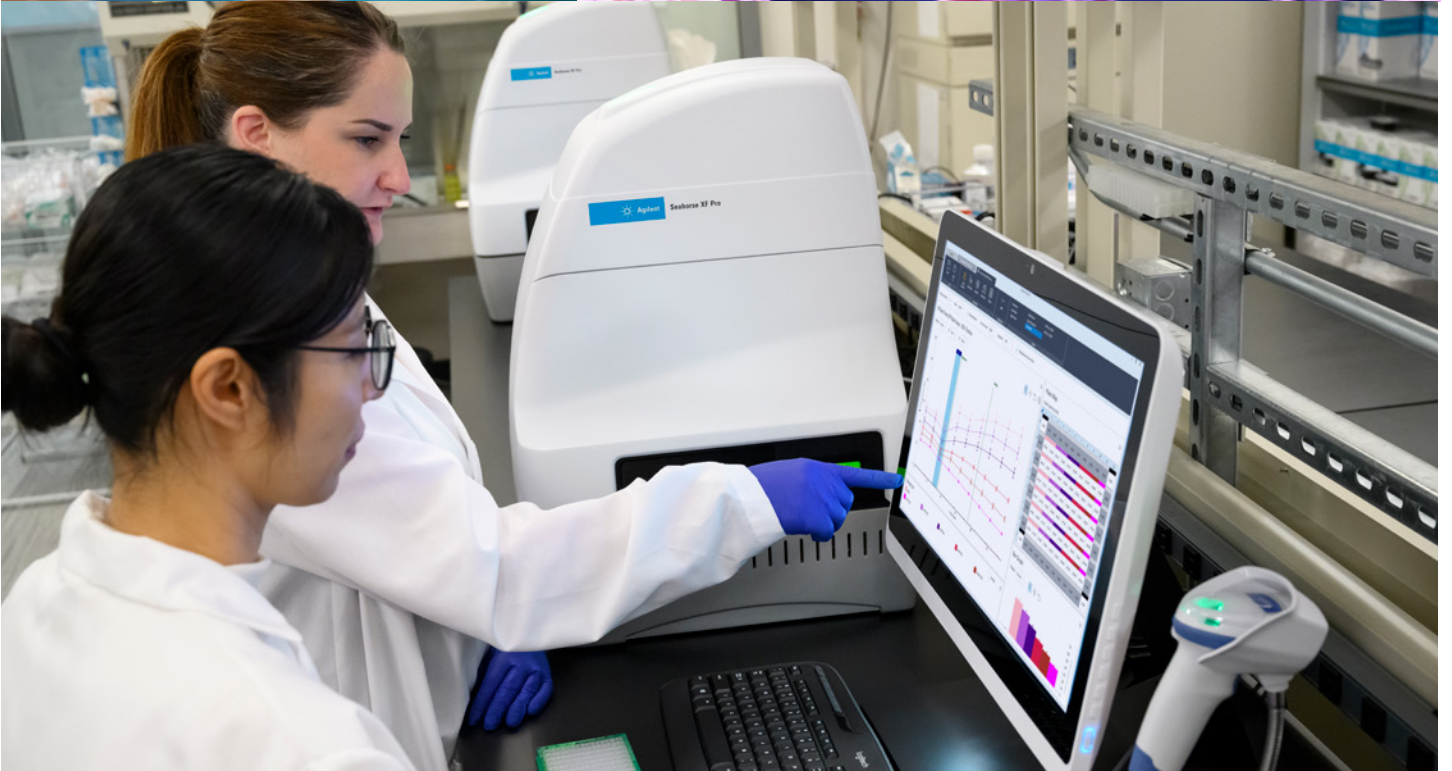
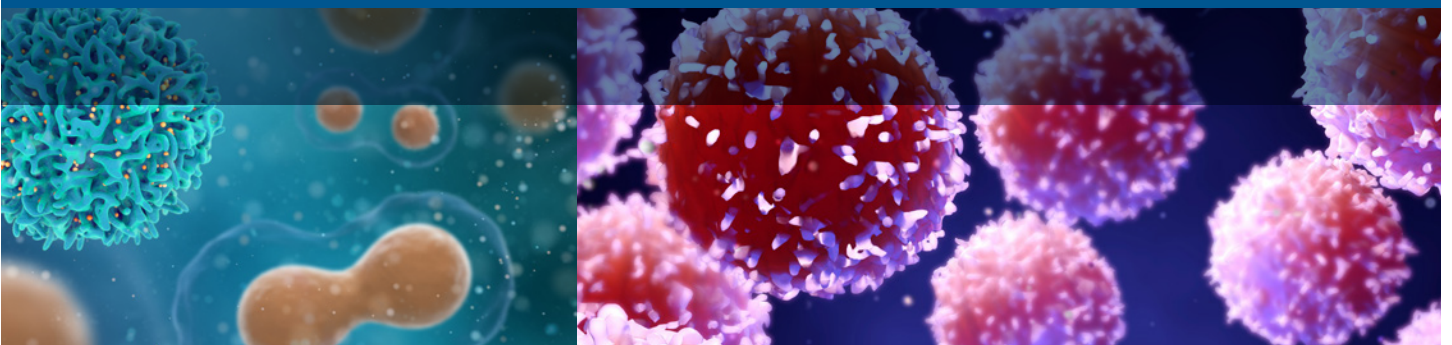


# Análise metabólica de células vivas para pesquisa sobre imunologia

Tecnologia Agilent Seahorse XF



# Direcionamento do sistema imunológico modulando as vias metabólicas que regulam o destino e a função das células

As células imunológicas são capazes de perceber uma variedade de estímulos e sinais de seu ambiente e integrar esses sinais para ajustar os processos e as funções intracelulares a fim de fornecer uma resposta imunológica integrada. Abordagens analíticas, como ensaios de expressão de marcadores de células imunes, ensaios de liberação de citocinas e perfil de vias, fornecem uma categorização convencional de células imunológicas, especialmente depois que a célula está comprometida com uma determinada linhagem ou estado de ativação. No entanto, a intervenção e a modulação da via para controlar a função das células imunes requerem uma visão mais abrangente do destino e da função dessas células, incluindo uma compreensão dos fatores estimulantes dos processos das células imunológicas. Os programas metabólicos são determinantes críticos dos resultados das células imunes.

A tecnologia Agilent Seahorse XF fornece medições metabólicas cinéticas e funcionais para uma medição mais direta dos processos das células imunes à medida que eles ocorrem, em tempo real. Os programas metabólicos são determinantes para os resultados das células imunes. Os processos das células imunes, incluindo a ativação, a proliferação e o desenvolvimento da memória, são todos impulsionados pela reprogramação metabólica, que pode ser modulada para melhorar o desempenho. A análise metabólica não apenas avalia a cinética em tempo real, mas também um rico conjunto de alvos de vias para modular a biologia das células imunológicas.

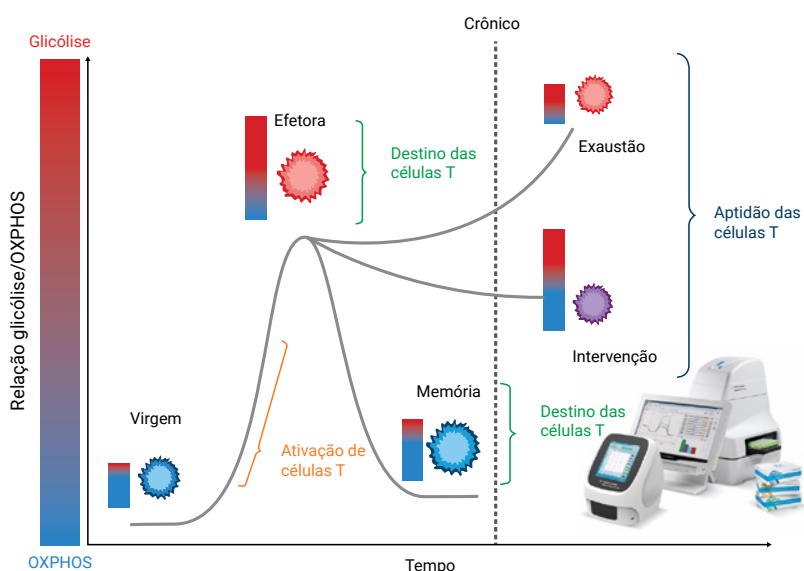


Figura 1. Medição de fenótipos metabólicos de células imunes, ilustrando uma relação entre a taxa de glicólise/OXPHOS e o destino, a aptidão e a função celular.

# Soluções de análise celular Agilent Seahorse XF para pesquisa sobre imunologia

Gerar dados funcionais em tempo real a partir de células vivas

A tecnologia Agilent Seahorse XF oferece medição em tempo real da bioenergia celular. Os parâmetros bioenergéticos, como a atividade mitocondrial, a glicólise e as taxas de produção de ATP, fornecem informações sobre as funções imediatas e precoces das células imunes para uma compreensão mais completa da função dessas células, que pode ser modulada para melhorar ou prever o desempenho.



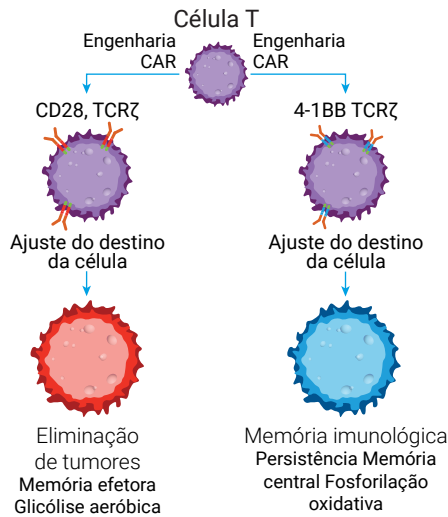
Os pesquisadores de imunologia estão usando a tecnologia de análise celular Agilent Seahorse XF para investigar:

- Ciclo de vida, ativação e comprometimento da linhagem das células imunes
- Fenotipagem da memória, aptidão, exaustão e capacidade de manter a função
- Requisitos de combustíveis metabólicos
- Sinalização, vias, pontos de controle e bloqueios metabólicos
- Metabolismo do hospedeiro-patógeno em doenças infecciosas

Para saber mais sobre o Agilent Seahorse XF Pro, [clique aqui](#).

# A análise metabólica revela um rico conjunto de alvos de vias para promover novas oportunidades terapêuticas em imun- oncologia

Descubra estratégias para perturbar as vias e controlar a resposta das células imunes para avançar no desenvolvimento da terapia celular



O objetivo das terapias baseadas em células imunes é melhorar o desempenho das células imunológicas nativas, expandindo ou modificando essas células para alterar as vias de sinalização relevantes que resultam em mudanças na função celular. A análise XF fornece medições críticas de células vivas em tempo real, revelando o resultado funcional das estratégias de modulação. Descubra como a modulação das respostas das células imunológicas por meio de sinalização, bloqueio de ponto de controle ou perturbação de vias é "funcionalizada" por meio de alterações na programação metabólica.

Figura 2. A engenharia e a bioenergética das células T afetam o "destino das células T", favorecendo a população efetora ou de memória.

A análise metabólica avança o desenvolvimento da imunoterapia adotiva ao revelar uma ligação metabólica crítica entre os co-receptores CAR T e a resposta de células efetoras versus células de memória

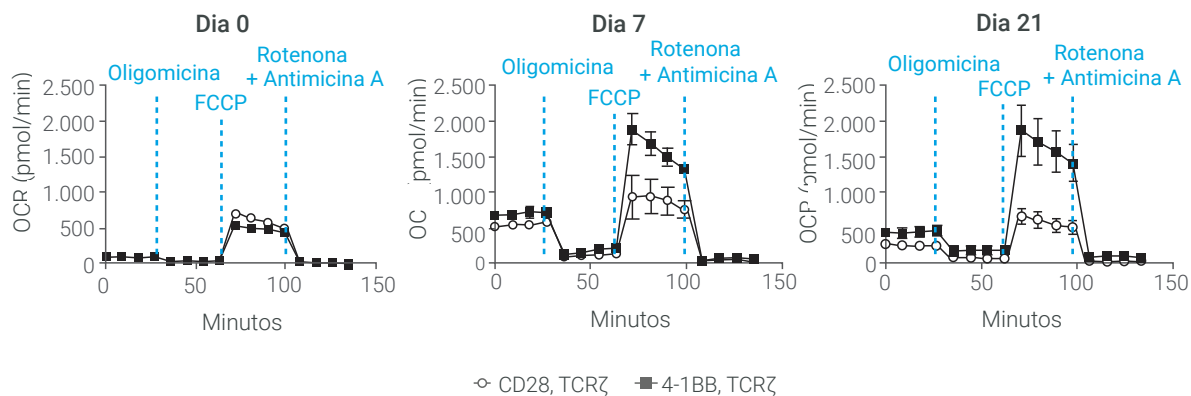


Figura 3. Adaptado de Kawalekar, O. et al. Distinct Signaling of Coreceptors Regulates Specific Metabolism Pathways and Impacts Memory Development in CAR T Cells. Immunity 2016, 44(2), 380-90.

A capacidade respiratória de reserva (SRC) é uma medida confiável da função mitocondrial que representa a capacidade das células de aumentar a produção de energia mitocondrial, se necessário. Para células CAR T expandidas, um aumento no SRC está fortemente correlacionado com os fenótipos de células T de memória ou células-tronco T de memória.

Kawalekar et al. usaram os ensaios do Seahorse XF para mostrar que a escolha do domínio de sinalização CAR determina o fenótipo bioenergético das células CAR T CD8+ após a estimulação do antígeno. Em um período de 21 dias, as células CAR T contendo o domínio de coestimulação de sinalização 4-1BB apresentaram um aumento de SRC, culminando em uma maior persistência in vitro e maior diferenciação da memória central em relação às células T CAR contendo o domínio de coestimulação de sinalização CD28.

## Monitoramento das alterações metabólicas nas células tumorais para melhor caracterizar o microambiente do tumor e explorar as terapias de ponto de controle

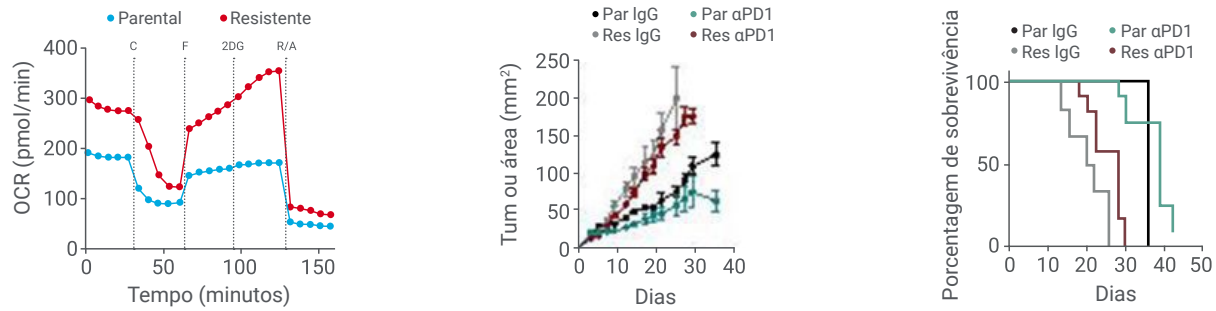
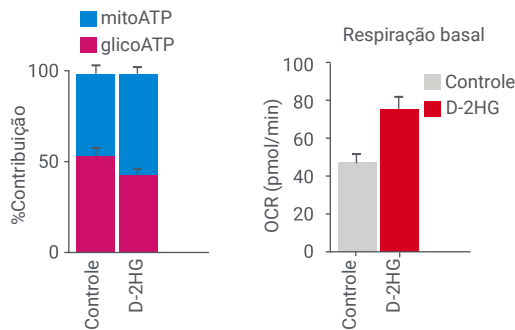


Figura 4. Adaptado de Zandberg, D. et al. Tumor hypoxia is associated with resistance to PD-1 blockade in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J ImmunoTher Cancer* 2021, 9(5), e002088.

Os ensaios Seahorse XF foram usados em estudos realizados por Zandberg, D. et al. para mostrar que o metabolismo oxidativo é regulado positivamente à medida que os tumores se tornam resistentes ao bloqueio anti-PD-1. Eles demonstraram que o status metabólico do microambiente do tumor pode ser preditivo da resposta do tumor à terapia anti-PD-1.

## Avaliação do equilíbrio bioenergético das células T para obter informações exclusivas sobre o fenótipo e a função celular



Notarangelo et al. usaram a tecnologia Seahorse XF para mostrar que o d-2-hidroxi-glutarato (D-2HG) derivado de tumores leva à alteração do equilíbrio metabólico nas células T CD8+ com maior dependência da fosforilação oxidativa (OXPHOS) para a geração de ATP, resultando em comprometimento da proliferação, produção de citocinas e citotoxicidade.

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.

## Avaliar o impacto da aptidão metabólica na função das células imunes

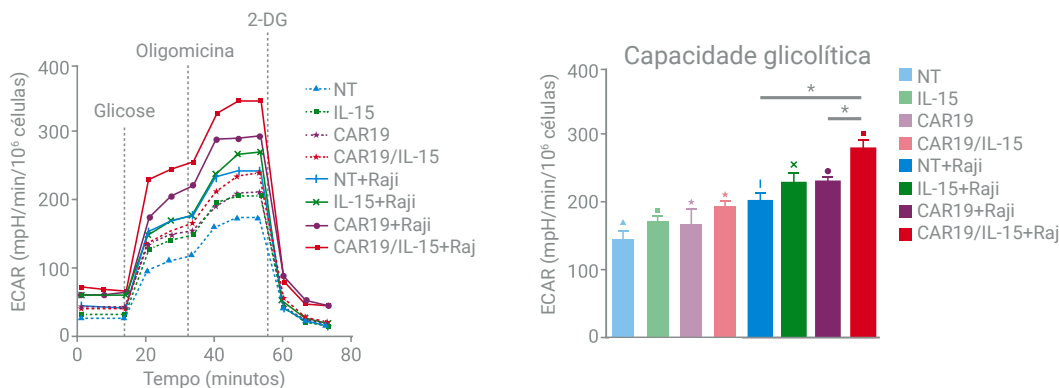


Figura 6. Adaptado de Li, L. et al. Loss of metabolic fitness drives tumor resistance after CAR-NK cell therapy and can be overcome by cytokine engineering. *Science Advances* 2023, 9, eadd6997

Li et al. usaram a tecnologia Seahorse XF para mostrar que a engenharia das células NK CAR19 para expressar a interleucina 15 (IL-15) resulta em maior aptidão metabólica com melhor atividade glicolítica em comparação com os controles. O estudo mostrou que os efeitos antitumorais das células CAR NK podem ser melhorados com o aumento de sua aptidão metabólica.

# Medições quantitativas em tempo real fornecem uma visão abrangente da função das células imunes

## Medições funcionais do Seahorse XF fornecem informações sobre os fatores críticos que afetam a resposta, o destino e a função das células imunes

As medições metabólicas fornecem uma indicação sensível de como as células imunes respondem sob várias condições para atender às demandas integradas e multifacetadas associadas às respostas imunológicas. Os pesquisadores estão aplicando a tecnologia Seahorse XF para investigar questões relacionadas à inflamação, autoimunidade e imunossupressão, juntamente com as dependências de substrato e o efeito imunossupressor do microambiente tumoral.

### Metabolismo como indicador de fenótipo e função inflamatória em macrófagos

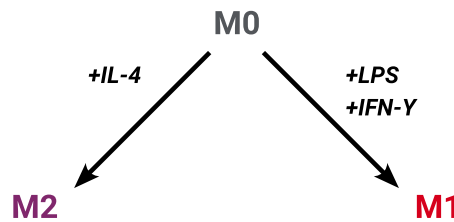
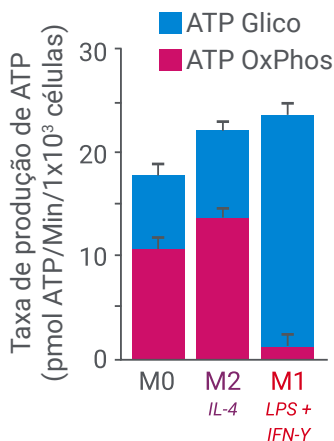


Figura 7. O ensaio de taxa de ATP em tempo real Agilent Seahorse XF revela que a polarização de macrófagos é impulsionada por dois programas metabólicos celulares distintos. De Divakaruni et al. (2018) *Cell Metabolism* e Desousa et al. (2023) *EMBO Reports*.

Tanto a polarização pró-inflamatória (M1) quanto a anti-inflamatória (M2) dos macrófagos causam um aumento na taxa de produção de ATP, mas o metabolismo energético responde de maneiras muito diferentes. O fenótipo anti-inflamatório M2 é fortemente caracterizado pela fosforilação oxidativa (OXPHOS), enquanto os macrófagos do fenótipo pró-inflamatório M1 aumentam a glicólise e redirecionam seu metabolismo aeróbico para a geração de espécies reativas de oxigênio e metabólitos pró-inflamatórios, como succinato e itaconato.

## A tecnologia Seahorse XF fornece informações sobre vias, sinalização e requisitos nutricionais essenciais para respostas imunes antitumorais relevantes para o microambiente do tumor

As medições metabólicas fornecem uma indicação sensível de como as células imunes respondem sob várias condições para atender às demandas integradas e multifacetadas associadas às respostas imunológicas. Os pesquisadores estão aplicando a tecnologia Seahorse XF para investigar questões relacionadas à inflamação, autoimunidade e imunossupressão, juntamente com as dependências de substrato e o efeito imunossupressor do microambiente tumoral.

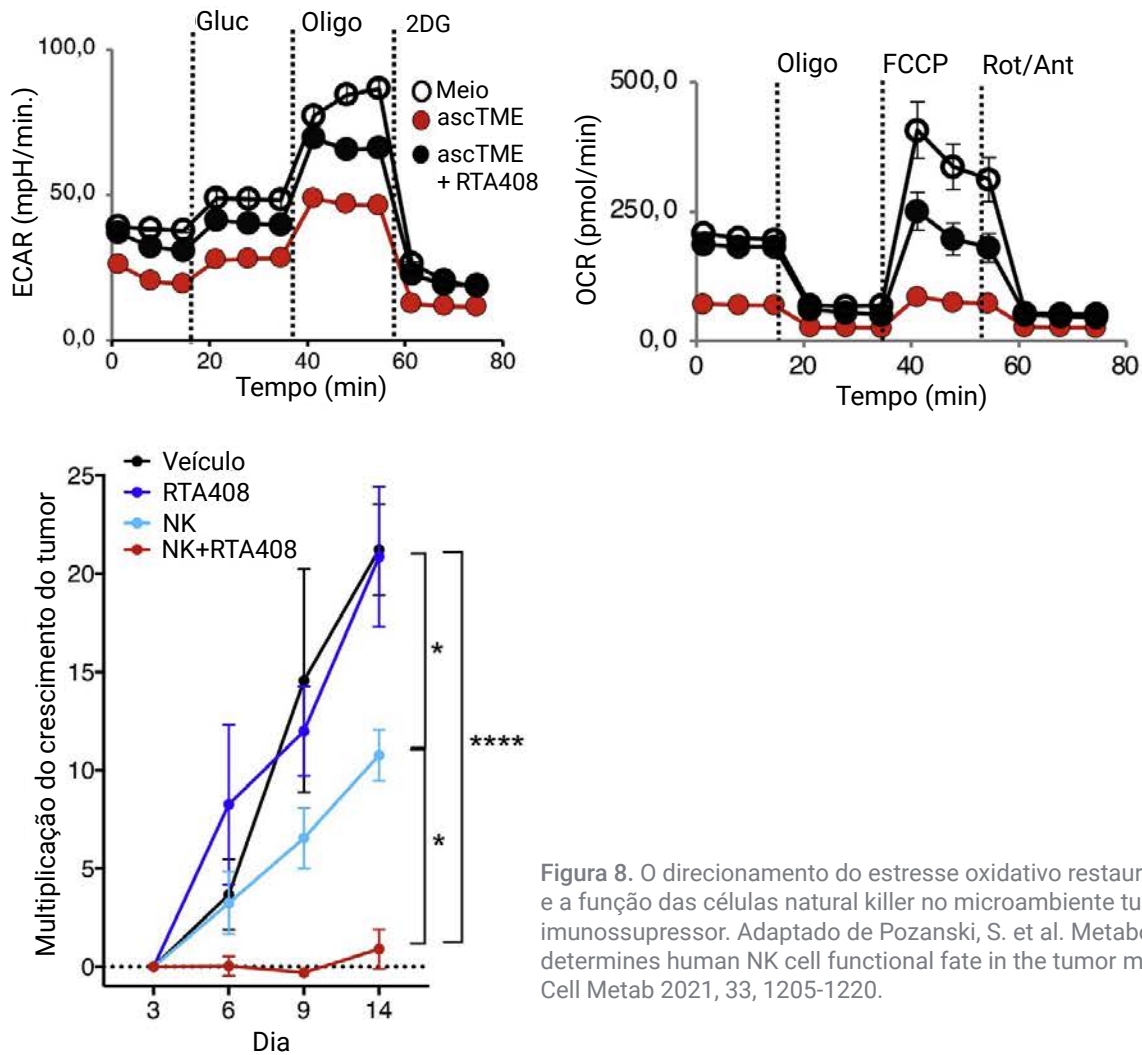


Figura 8. O direcionamento do estresse oxidativo restaura o metabolismo e a função das células natural killer no microambiente tumoral imunossupressor. Adaptado de Pozanski, S. et al. Metabolic flexibility determines human NK cell functional fate in the tumor microenvironment. Cell Metab 2021, 33, 1205-1220.

Os ensaios Seahorse XF foram usados por Poznanski et al. para gerar percepções sobre os mecanismos de disfunção das células NK no microambiente tumoral (TME). O estudo mostrou que a reprogramação das células NK para aumentar sua flexibilidade de substrato metabólico resultou em uma aptidão metabólica sustentada e maior atividade antitumoral no TME hostil.

# Mudanças na função das células imunológicas requerem uma mudança na bioenergética

## A fenotipagem metabólica fornece informações sobre a função das células imunes

A ativação, a proliferação, o envolvimento de funções efetoras e o retorno à homeostase são aspectos cruciais do ciclo de vida das células imunes, sendo que a linhagem e a identidade das células imunes restringem a capacidade dessas células de desempenhar essas funções. A tecnologia Seahorse XF fornece medições funcionais em tempo real para obter uma visão abrangente da função das células imunes e informações sobre vias e alvos para modular as respostas das células imunes.

## A análise em tempo real da ativação de células imunes oferece informações sobre requisitos metabólicos, sinalização, vias e pontos de controle

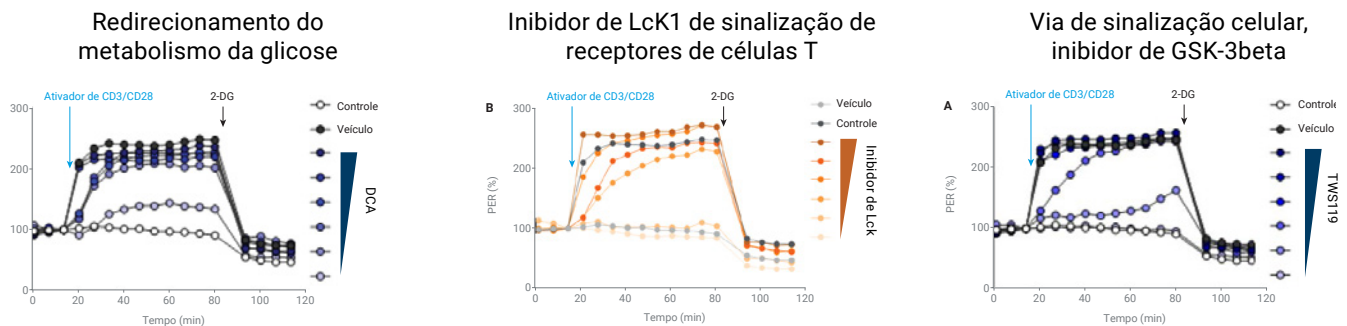


Figura 9. O ensaio de ativação de células T humanas Agilent Seahorse XF revela os requisitos metabólicos e de sinalização essenciais para a ativação de células T, permitindo que você investigue o efeito dos moduladores de células T. De Kam et al. Determining the Metabolic Consequences of Pharmacological Modulation of T Cell Activation. Pôster da Agilent Technologies, ASGCT, 2020.

## Medição do metabolismo como um indicador do tipo, função e comprometimento da linhagem de células imunes

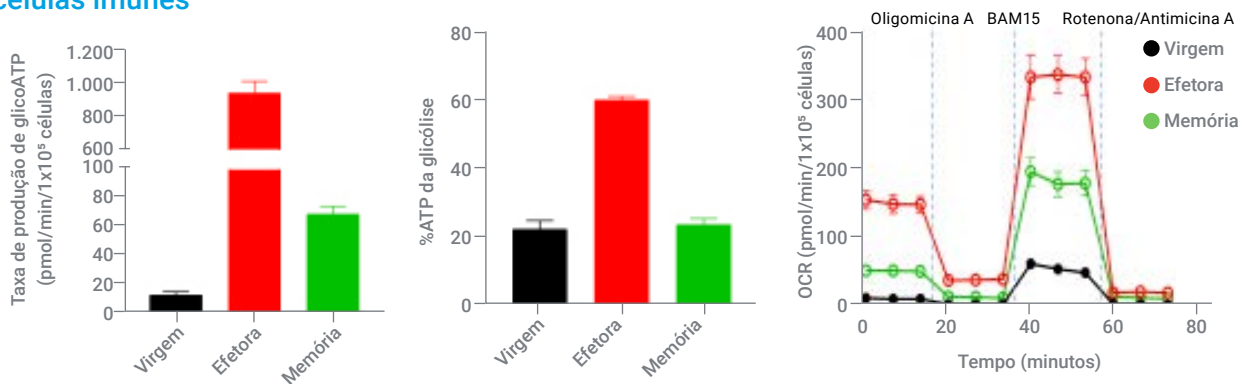
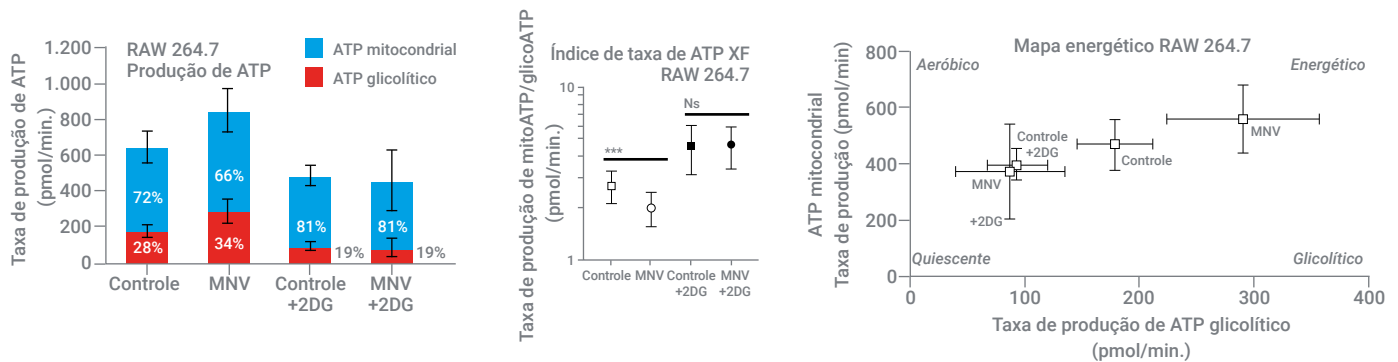


Figura 10. As células T passam por grandes mudanças metabólicas após a ativação, mudando para a glicólise para apoiar as funções efetoras e o rápido crescimento celular. As células panT humanas foram ativadas com anti CD3/CD28 por 3 dias e expandidas depois em meios de cultura celular. O ensaio de aptidão metabólica de células T XF de células T virgens (antes da ativação) e células T ativadas e expandidas por 6 dias (efetora) e 15 dias (memória) foi realizado usando o analisador Agilent Seahorse XFPro. Dados não publicados da Agilent Technologies.

O kit de perfil metabólico de células T XF revela o perfil bioenergético completo, incluindo a atividade bioenergética glicolítica e mitocondrial, o equilíbrio metabólico e a capacidade bioenergética mitocondrial. Ele fornece uma visão única do fenótipo e da função celular em diferentes estados de diferenciação celular. As células T virgens têm um fenótipo quiescente com baixa dependência da glicólise; após a ativação pelo encontro de antígenos, há um aumento na atividade glicolítica. Quando a infecção é resolvida, um pequeno número dessas células gera uma população de memória e a atividade glicolítica diminui novamente.

# Geração de informações poderosas sobre a resposta metabólica do hospedeiro e do patógeno

Os patógenos geralmente têm como alvo as vias metabólicas celulares do hospedeiro para estabelecer condições ideais para a infecção. A resposta do hospedeiro pode incluir alterações em larga escala no metabolismo celular, inclusive o sequestro de vias metabólicas de carbono central e a alteração da função mitocondrial. Uma cascata de redes de sinalização e pontos de controle também aciona a resposta imune inata para combater a infecção. A tecnologia Seahorse XF fornece medições funcionais críticas para uma visão abrangente, em nível de sistema, da resposta do hospedeiro, fornecendo percepções sobre possíveis alvos terapêuticos.



**Figura 11.** Macrófagos murinos infectados com norovírus aumentam sua dependência da glicólise para a produção de ATP. Reproduzido sob a licença 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/>

O ensaio de taxa de ATP em tempo real Seahorse XF revelou que a infecção por norovírus em células de macrófagos murinos resulta em um aumento na taxa geral de produção de ATP, com aumentos tanto na glicólise quanto na OXPHOS, mas com uma reprogramação geral para um fenótipo mais glicolítico, sugerindo um papel crítico da atividade glicolítica do hospedeiro para sustentar a infecção viral inicial

Saiba mais sobre como o Agilent Seahorse XF pode ajudá-lo a investigar o metabolismo imunológico em nossa página dedicada [aqui](#).

# Ensaio otimizados para medição do imunometabolismo

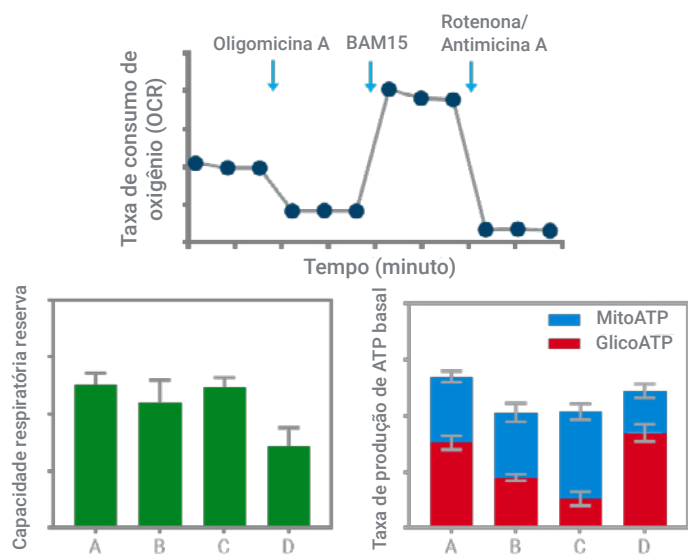
## Ensaio de perfil metabólico de células T XF: Ensaio personalizado para o desenvolvimento de terapias celulares

Com reagentes otimizados para diferentes populações de células T e NK, esses ensaios fornecem parâmetros bioenergéticos robustos vinculados a atributos críticos para propriedades antitumorais: persistência celular e aptidão metabólica.

- Adequados para avaliação do projeto de construção, estratégias de engenharia, seleção do material de partida ou para condicionamento metabólico durante a expansão celular in vitro
- Aplicável para uso na avaliação da capacidade das células T e NK de manter a aptidão metabólica em microambientes tumorais
- Inclui o BAM15, um desacoplador aprimorado para medições mais consistentes e precisas da função mitocondrial das células T e NK
- Fornece uma visão abrangente do metabolismo das células T e NK, incluindo a quantificação simultânea da atividade dos efeitos glicolíticos e mitocondriais e da capacidade bioenergética
- Testado para o perfil metabólico de células T e NK



Uma visão abrangente da bioenergética celular



Part number 103772-100 (XF Pro /XFe96) e 103771-100 (XF HS Mini e XFp)

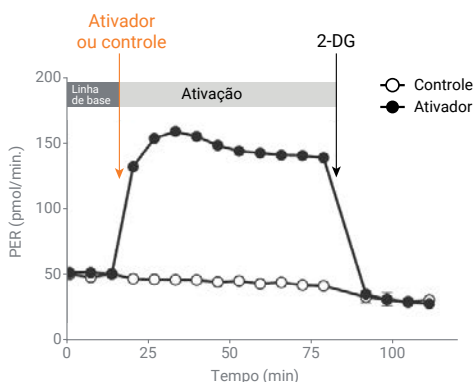
## Os ensaios de ativação de células imunes em tempo real Agilent Seahorse XF fornecem um indicador rápido e robusto de ativação

A ativação das células imunes é impulsionada por uma rápida mudança para as vias que promovem o crescimento, necessárias para a proliferação celular. Os ensaios de ativação de células imunes em tempo real Agilent Seahorse XF permitem a detecção de respostas de ativação em minutos após a estimulação, fornecendo informações sobre a ativação, modulação e a reprogramação metabólica de células imunes.

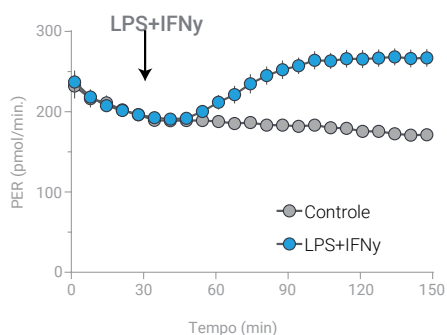
Específico para células imunológicas:

- Ensaio de ativação de células T humanas Agilent Seahorse XF
- Ensaio de ativação de macrófagos em tempo real Agilent Seahorse XF
- Ensaio de ativação de neutrófilos em tempo real Agilent Seahorse XF

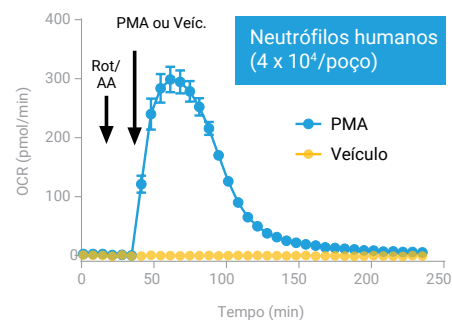
### Ensaio de ativação de células T (Part number do kit 103759-100)



### Ensaio de ativação de macrófagos



### Ensaio de ativação de neutrófilos



Saiba mais:

[www.agilent.com/lifesciences/cellanalysis](http://www.agilent.com/lifesciences/cellanalysis)

Comprar on-line:

[www.agilent.com/lifesciences/store](http://www.agilent.com/lifesciences/store)

Encontre o departamento de vendas e suporte local em seu país:

[www.agilent.com/lifesciences/contactus](http://www.agilent.com/lifesciences/contactus)

Brasil:

**0800 7281405**

[chem\\_vendas@agilent.com](mailto:chem_vendas@agilent.com)

Europa

[info\\_agilent@agilent.com](mailto:info_agilent@agilent.com)

Ásia e Pacífico

[inquiry\\_lsca@agilent.com](mailto:inquiry_lsca@agilent.com)

**Apenas para uso em pesquisa.**

**Não deve ser usado em procedimentos de diagnóstico.**

**RA45427.4037615741**

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2024  
Publicado nos EUA, 2 de outubro de 2024  
5994-7553PTBR

