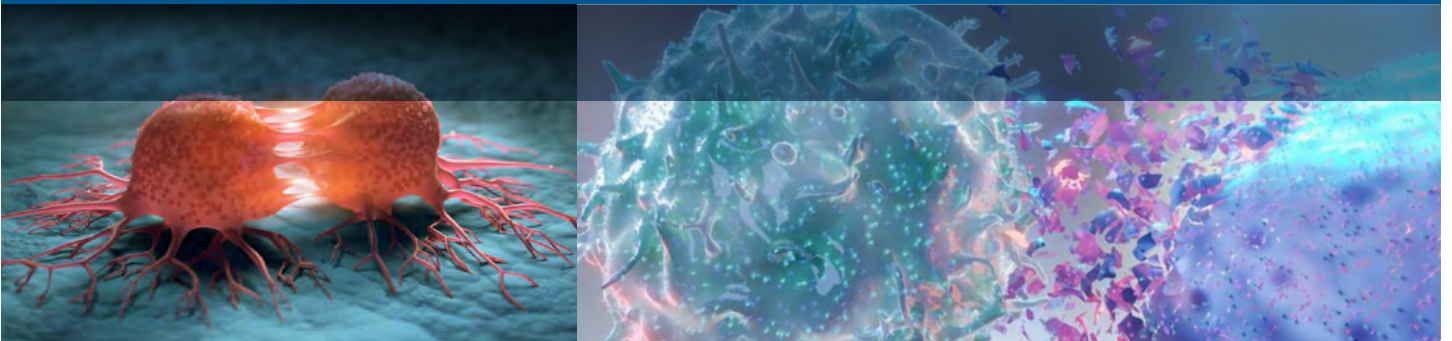


Análise metabólica em tempo real para pesquisa do câncer

Tecnologia Agilent Seahorse XF



A reprogramação metabólica é uma característica do câncer e um fator crítico de todas as demais características

Exploração de vulnerabilidades metabólicas para alvos terapêuticos

O câncer é um conjunto diversificado de doenças associadas a alterações genéticas que afetam a função celular normal, e a reprogramação metabólica está surgindo como um alvo crítico na intervenção terapêutica. As células cancerígenas são altamente dependentes de vias metabólicas para gerar a energia necessária para muitos processos oncogênicos, incluindo rápida proliferação, sobrevivência, invasão e metástase, reprogramando ainda seu próprio metabolismo para ajudar nesses processos.

Atualmente, os pesquisadores utilizam ferramentas de análise metabólica em conjunto com outros ensaios com base em células para aprofundar a compreensão da biologia do câncer. Investigações sobre a natureza dinâmica do metabolismo celular e como as células cancerígenas reprogramam o metabolismo para se adaptar e sobreviver utilizando medições funcionais em tempo real podem revelar vulnerabilidades metabólicas. Portanto, essas vulnerabilidades metabólicas podem ser exploradas como alvo terapêutico.

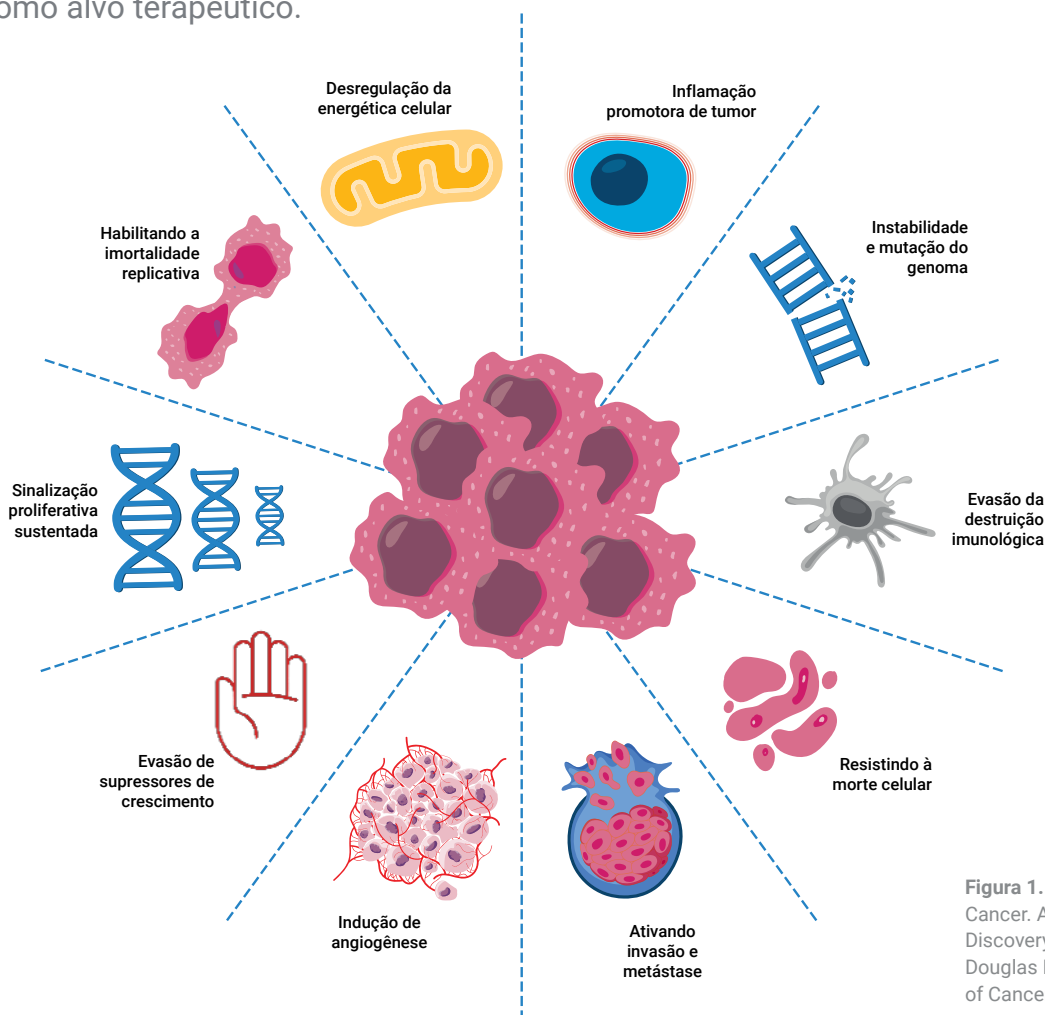


Figura 1. The Hallmarks of Cancer. Adaptado de Cancer Discovery, 2022, 12(1), 31-46, Douglas Hanahan, Hallmarks of Cancer: New Dimensions, com a autorização de AACR.

Soluções Seahorse XF para pesquisas de câncer

Gere medições funcionais em tempo real

A plataforma Agilent Seahorse XF fornece medições funcionais de duas vias metabólicas primárias – glicólise e fosforilação oxidativa – de células vivas em tempo real. Essa tecnologia permite a avaliação fenotípica de células cancerígenas em resposta a diferentes substratos ou inibidores metabólicos.

Ferramentas analíticas
de dados de última geração

Cálculo de resultados
em tempo real

Reagentes, meios e kits
validados



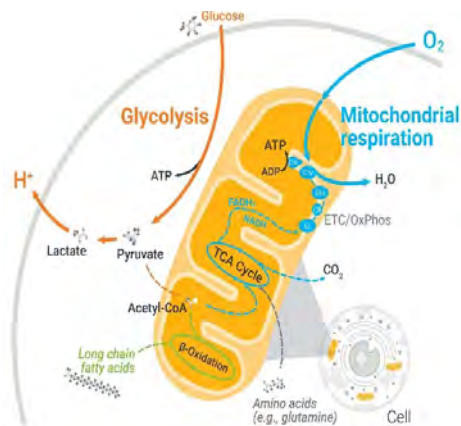
Cartucho de sensor
de pH e O₂
sem marcação

Portas de injeção
mais relevantes
para modulação
em tempo real

Análise de células vivas
com opções de
placa 2D e 3D

Descubra por que os pesquisadores de câncer estão usando a tecnologia de análise de células Seahorse XF para investigar:

- Fenotipagem metabólica para modelos de doenças
- Dependências, plasticidade e vulnerabilidades do substrato do câncer no microambiente tumoral (TME)
- Intermediários de sinalização ou vias, identificação/validação de alvos, mecanismo de ação e bloqueio de pontos de verificação
- Imuno-oncologia e aptidão das células imunológicas versus exaustão

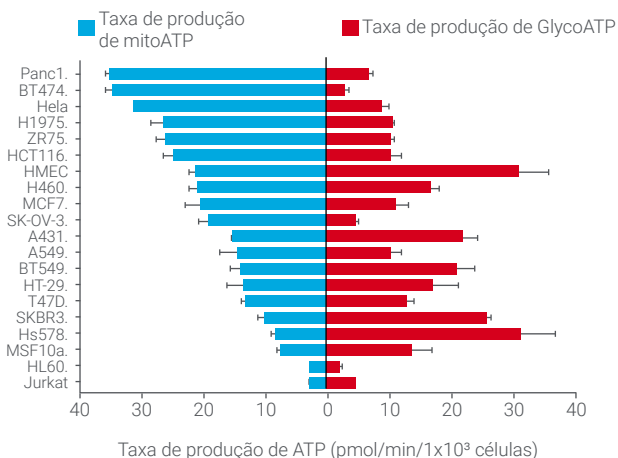


As dependências e estratégias de adaptação das células cancerígenas vão além da glicólise

Defina as variabilidades nos fenótipos metabólicos que impulsionam as vulnerabilidades do câncer

O câncer é uma doença metabólica frequentemente caracterizada por um efeito Warburg com glicólise regulada positivamente. No entanto, os fenótipos metabólicos variam muito e podem servir como um preditor crítico da proliferação do câncer, das vulnerabilidades e da resistência às terapias. A análise celular com a tecnologia Seahorse XF pode proporcionar uma medida direta do metabolismo funcional das células vivas, destacando as vulnerabilidades do câncer que impulsionam a progressão e proliferação das células cancerígenas.

Os fenótipos metabólicos e as vulnerabilidades metabólicas do câncer são altamente diversos



As células cancerígenas desenvolveram diferentes estratégias para a produção de energia celular com implicações significativas para a estratégia terapêutica. A medição das taxas de produção de ATP em um painel de 20 linhagens celulares de câncer com o ensaio de taxa de ATP em tempo real Agilent Seahorse XF revela uma ampla variedade de fenótipos de energia, desde predominantemente oxidativos (Figura 2, parte superior) até predominantemente glicolíticos (Figura 2, parte inferior).

Figura 2: De Romero et al. Bioenergetic profiling of cancer cell lines: quantifying the impact of glycolysis on cell proliferation, Agilent Technologies Poster, AACR, 2018.

Células de câncer de mama invasivas positivas para receptores de estrogênio são caracterizadas por um fenótipo metabólico mais oxidativo

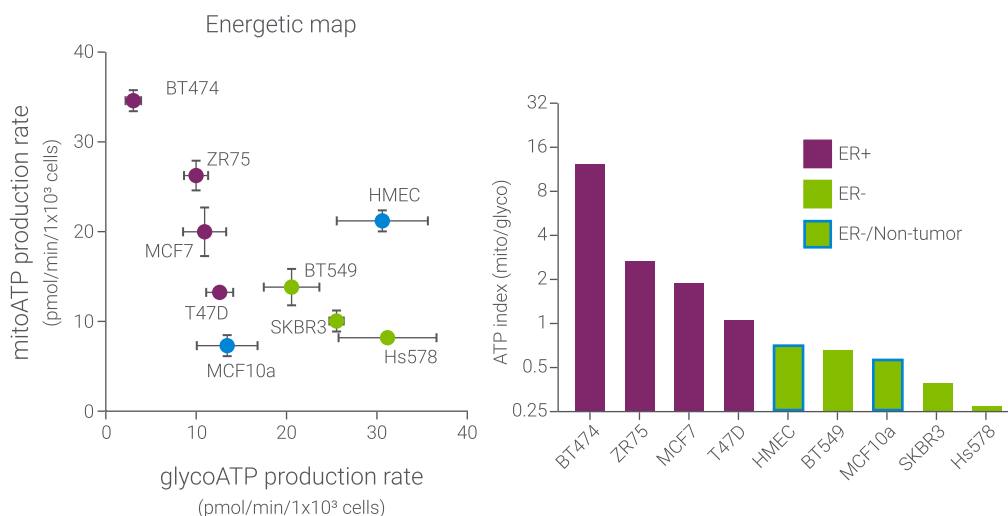


Figura 3. De Romero, N. et al. Bioenergetic profiling of cancer cell lines: quantifying the impact of glycolysis on cell proliferation, Agilent Technologies Poster, AACR, 2018.

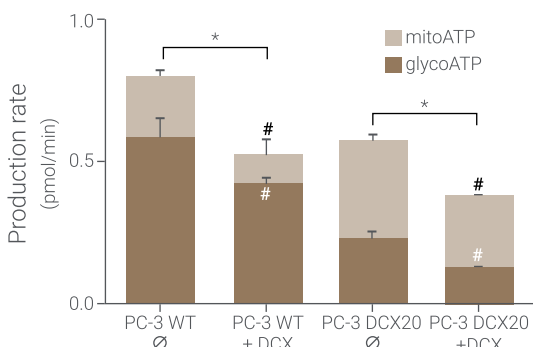
O mapa energético na Figura 3 mostra a comparação entre a distribuição da taxa de produção de mitoATP e a taxa de produção de glicoATP em sete linhagens celulares de câncer e duas linhagens celulares normais derivadas da mama. A análise do índice metabólico (taxa de produção de mitoATP / taxa de produção de glicoATP) mostra que as linhagens celulares de câncer de mama positivas para receptor de estrogênio (ER+) têm um índice metabólico mais alto.

Meça mudanças dinâmicas no metabolismo das células cancerígenas

Mudanças rápidas no metabolismo são uma estratégia crítica na quimiorresistência

A proliferação do câncer é um processo rápido e dinâmico que demanda energia bioquímica significativa. Como resultado, as células cancerígenas apresentam um metabolismo alterado que pode depender de uma ou ambas as principais vias metabólicas – glicólise ou fosforilação oxidativa. A capacidade de algumas células cancerígenas de alternar entre vias é uma estratégia importante que promove a adaptação das células cancerígenas. A tecnologia Seahorse XF permite medições simultâneas das duas principais vias metabólicas em células vivas em tempo real.

As células cancerígenas exploram rapidamente o metabolismo para se adaptar e sobreviver através da plasticidade metabólica



As células do câncer de próstata (PC-3) usam predominantemente a glicólise para geração de ATP. No entanto, Catapano *et al.* demonstraram que a linhagem resistente a medicamentos, PC-3_DCX20, estabelecida com base no tratamento a longo prazo com docetaxel (DCX), apresenta maior dependência da fosforilação oxidativa para geração de ATP (Figura 4), demonstrando plasticidade metabólica.

Figura 4. Adaptado de Catapano, J., et al. (2022) Acquired drug resistance interferes with the susceptibility of prostate cancer cells to metabolic stress. *Cell Mol Biol Lett*, 27(1), 100, sob a licença Creative Commons 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

A tecnologia Seahorse XF revela possíveis alvos terapêuticos para cânceres resistentes à quimioterapia

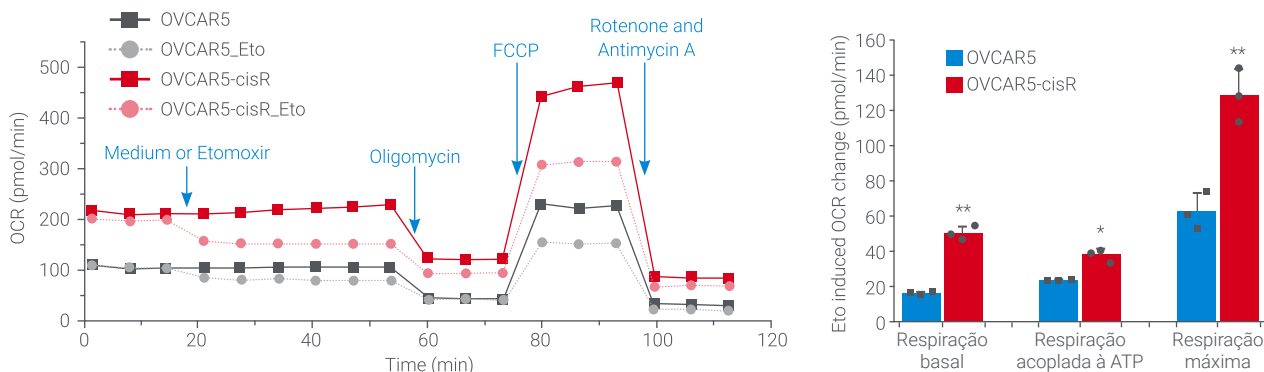


Figura 5. Adaptado de Tan, Y., et al. (2022) Metabolic reprogramming from glycolysis to fatty acid uptake and beta-oxidation in platinum-resistant cancer cells. *Nat Commun*, 13 (4554), sob a licença Creative Commons 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Tan e colegas (Figura 5) identificaram uma mudança metabólica estável em direção ao metabolismo energético dependente da oxidação de ácidos graxos (FAO) em células de câncer de ovário resistentes à cisplatina. Os ensaios Seahorse XF foram usados para mostrar que a FAO se torna significativamente aumentada em células de câncer de ovário resistentes à cisplatina em comparação com suas contrapartes parentais. O estudo aponta para o direcionamento da via FAO como uma possível estratégia terapêutica para cânceres resistentes à cisplatina.

Explore dependências de substrato de células cancerígenas com terapia combinada

As células cancerígenas podem alterar o metabolismo de lipídios ou de aminoácidos ou alterar o equilíbrio entre os processos anabólicos e catabólicos para se adaptar às condições nutricionais do microambiente tumoral (TME). Esses processos podem ser analisados diretamente através de medições metabólicas.

Descubra como a tecnologia de análise celular e a fenotipagem metabólica da Agilent podem fornecer informações sobre:

- Dependências celulares, incluindo combustíveis e microambiente
- Vulnerabilidades metabólicas para informar a identificação de alvos medicáveis
- Desenvolvimento e eficácia de medicamentos contra o câncer

Vulnerabilidades metabólicas podem revelar alvos terapêuticos para superar a quimiorresistência

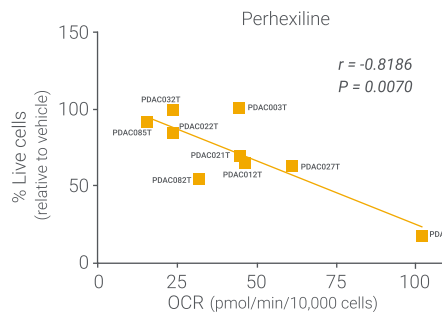
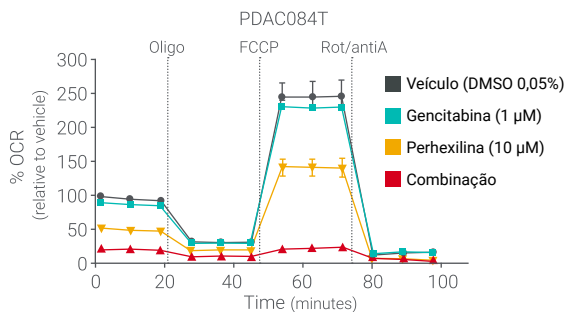


Figura 6. Adaptado de Reyes-Castellanos, G. et al. (2023) Combining the anti-anginal drug perhexiline with chemotherapy induces complete pancreatic cancer regression in vivo. *iScience*, 26, 106899.

Reyes-Castellanos e colegas (Figura 6) usaram ensaios Seahorse XF para mostrar que a respiração mitocondrial em células de adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) depende principalmente da FAO, revelando uma potencial vulnerabilidade metabólica para o câncer de pâncreas. Eles demonstraram que a taxa basal de consumo de oxigênio (OCR) serviu como um biomarcador para a resposta das células PDAC à perhexilina — um inibidor da FAO. O tratamento com perhexilina combinado à quimioterapia aprimorada com gentcibina levou a uma crise energética nas células PDAC e induziu a regressão completa do câncer pancreático em um xenoinxerto de PDAC.

A tecnologia Agilent Seahorse XF diferencia os mecanismos de dois inibidores de captação de lactato e medicamentos antitumorais em células inteiras e mitocôndrias isoladas

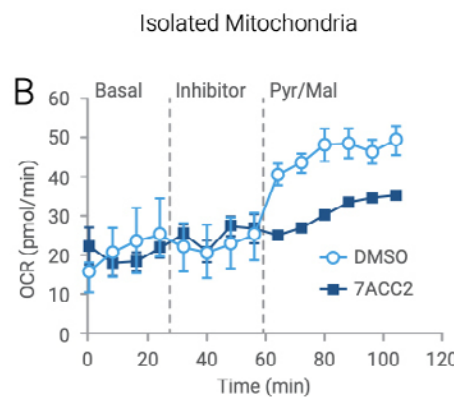
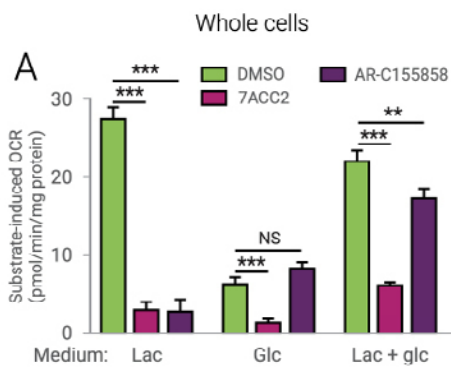


Figura 7A, 7B: Adaptado de Corbet, C., et al. (2018) Interruption of lactate uptake by inhibiting mitochondrial pyruvate transport unravels direct antitumor and radiosensitizing effects. *Nat Commun*, 9 (1): 1208, sob a licença Creative Commons 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

O analisador Seahorse XF primeiro determinou que, ao contrário do inibidor de lactato AR-C155858, o composto 7ACC2 é eficiente para bloquear o uso de lactato enquanto evita o metabolismo oxidativo da glicose (Figura 7A, células inteiras de câncer cervical). Utilizando mitocôndrias isoladas, o analisador Seahorse XF revela ainda que o 7ACC2 funciona para inibir a captação de lactato através da inibição do transportador mitocondrial de piruvato, que é um novo mecanismo (Figura 7B, mitocôndrias isoladas).

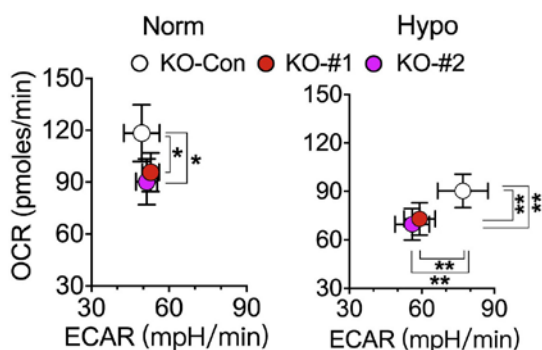
Descubra como os pesquisadores modelam o microambiente tumoral

O microambiente tumoral (TME) é um ambiente exclusivamente hipóxico e ácido que pode promover a progressão do câncer. Ao considerar o maior número possível de elementos do TME, os pesquisadores têm a maior oportunidade de produzir tratamentos eficazes.

A tecnologia Seahorse XF pode ser usada para modelar o TME:

- Os analisadores Agilent Seahorse XFe24 e XF Pro são compatíveis com estudos de hipóxia
- O analisador Seahorse XF Pro oferece uma opção de microplaca para esferoide 3D

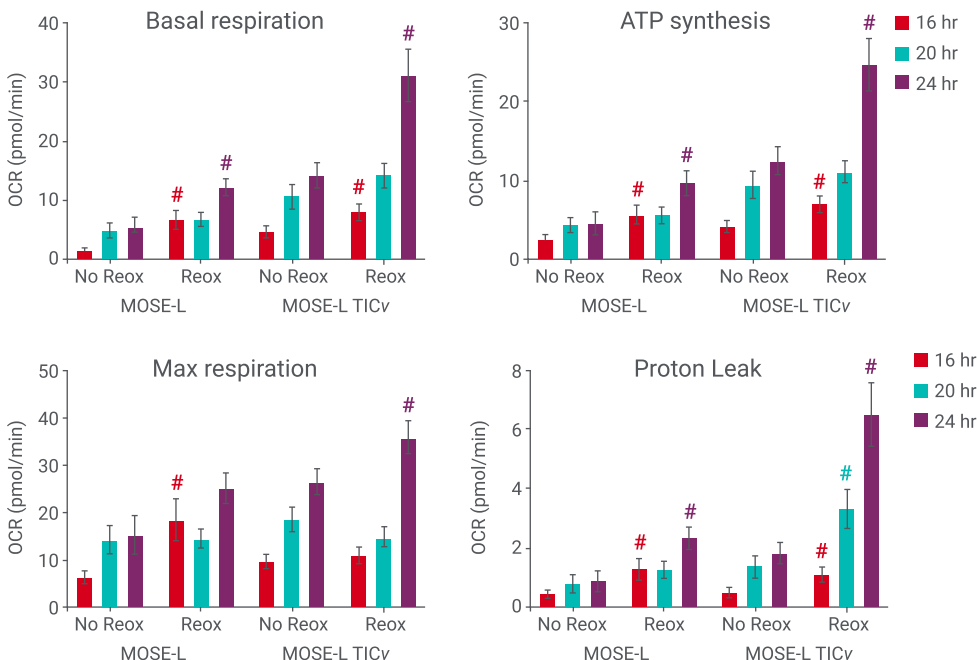
Gere informações sobre como as células cancerígenas adaptam o metabolismo à hipóxia



A tecnologia Seahorse XF foi usada em uma publicação de Yang e colegas (Figura 8) para gerar informações sobre o papel do UQC33 mitocondrial na adaptação de células do carcinoma hepatocelular (HCC) à hipóxia. Os pesquisadores demonstraram que o UQC33 forma um ciclo de feedback positivo com espécies reativas de oxigênio em células HCC hipóxicas, que mantém a estrutura e função mitocondrial e estabiliza a expressão de HIF-1α, aumentando a glicólise.

Figura 8. De Yang, Y., et al. (2020) Mitochondrial UQC33 Modulates Hypoxia Adaptation by Orchestrating OXPHOS and Glycolysis in Hepatocellular Carcinoma. Cell Reports, 33 (5), 108340.

Análise adaptações metabólicas de esferoides tumorais às mudanças nas condições de cultura

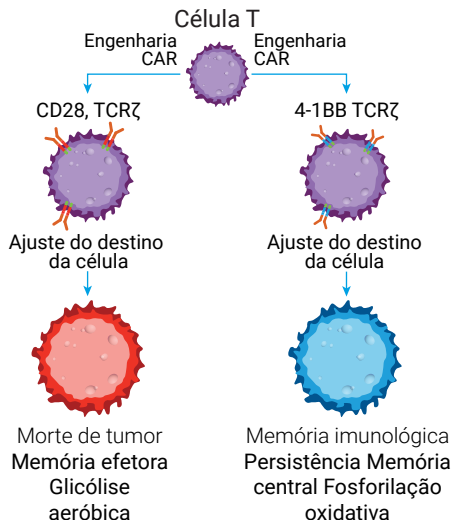


Greico e colegas (Figura 9) usaram ensaios Seahorse XF durante seus estudos sobre plasticidade mitocondrial em esferoides de câncer de ovário após adesão. Eles demonstraram que a adesão reverteu a fragmentação mitocondrial e aumentou significativamente a OCR nos esferoides MOSE-L de crescimento lento e nos esferoides MOSE-LTICv mais agressivos, especialmente após a reoxigenação.

Figura 9. De Greico, J.P., et al. (2023) Mitochondrial plasticity supports proliferative outgrowth and invasion of ovarian cancer spheroids during adhesion. Front. Oncol.,12:1043670, sob a licença Creative Commons 4.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Promova novas oportunidades terapêuticas em imuno-oncologia com metabolismo

Descubra estratégias para interferir nas vias e controlar a resposta das células imunológicas para avançar no desenvolvimento da terapia celular



O objetivo das terapias com base em células imunológicas é melhorar o desempenho das células imunológicas nativas, expandindo ou modificando as células imunológicas para alterar as vias de sinalização relevantes de uma forma que altere a função celular. A tecnologia Seahorse 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 pontos de verificação ou perturbação da via é “funcionalizada” por meio de mudanças na programação metabólica.

O design da construção de CAR pode melhorar a aptidão das células imunológicas através da modulação do metabolismo

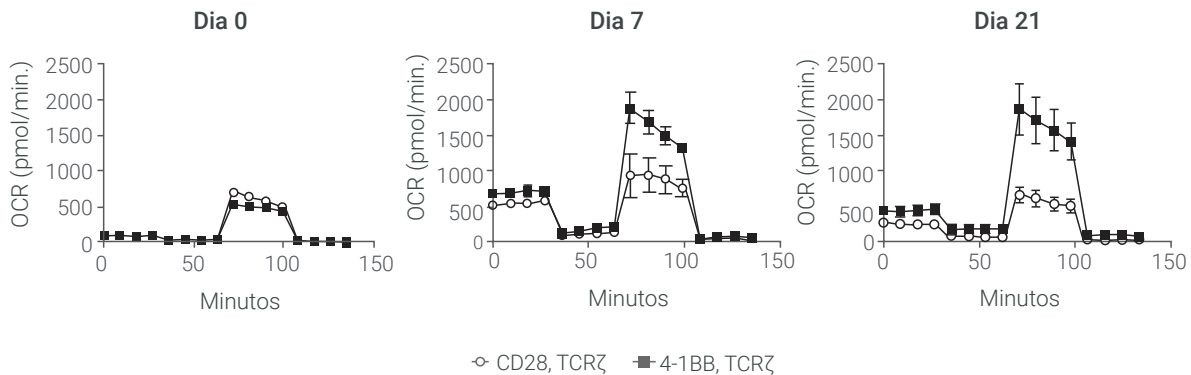


Figura 10. Adaptado de Kawalekar, O., et al. (2016) Distinct Signaling of Coreceptors Regulates Specific Metabolism Pathways and Impacts Memory Development in CAR T Cells. *Immunity*, 44(2), 380–90.

Kawalekar et al. utilizaram os ensaios Seahorse XF para mostrar que a escolha do domínio de sinalização CAR determina o fenótipo bioenergético da estimulação pós-antígeno de células T CAR CD8+. Durante um período de 21 dias, as células T CAR que continham o domínio coestimulatório de sinalização 4-1BB exibiram um SRC maior, culminando em maior persistência in vitro e aumentando a diferenciação da memória central em relação às células T CAR que contêm o domínio coestimulatório de sinalização CD28.

Monitore alterações metabólicas nas células tumorais para melhor caracterizar o microambiente tumoral e explorar terapias de ponto de verificação

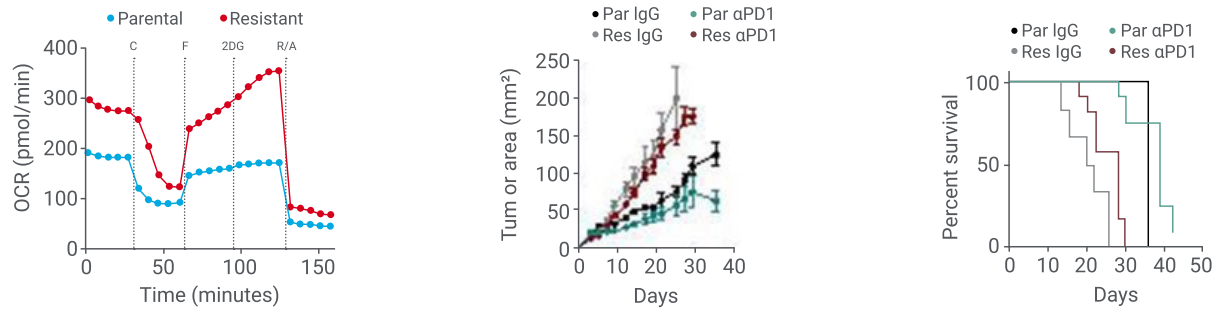


Figura 11. Adaptado de Zandberg, D. et al. Tumor hypoxia is associated with resistance to PD-1 blockade in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Immunother Cancer* 2021, 9(5), e002088.

Os ensaios Seahorse XF foram utilizados em estudos de Zandberg e colegas (Figura 11) para mostrar que o metabolismo oxidativo é regulado positivamente à medida que os tumores se tornam resistentes ao bloqueio anti-PD-1. Os pesquisadores demonstraram que o estado metabólico do TME pode ser preditivo da resposta tumoral à terapia anti-PD-1.

Avalie o impacto da aptidão metabólica na função das células imunológicas

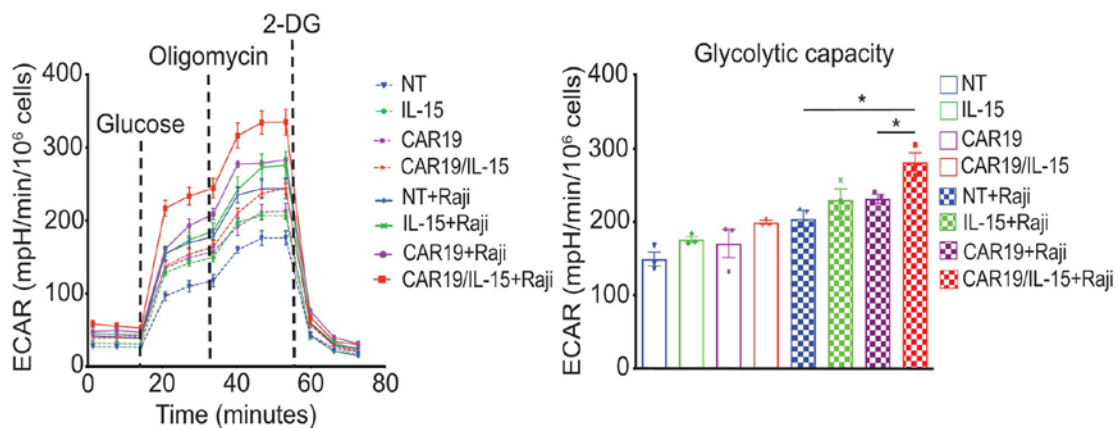


Figura 12. Adaptado de Li, L. et al. Loss of metabolic fitness drives tumor resistance after CAR-NK cell therapy and can be overcome by cytokine engineering. *Science Advances* 2023, 9, eadd6997

Li e colegas (Figura 12) usaram ensaios Seahorse XF para demonstrar que a engenharia de células NK CAR19 para expressar interleucina 15 (IL-15) resulta em melhor aptidão metabólica com melhor atividade glicolítica em comparação com controles. O estudo demonstrou que os efeitos antitumorais das células CAR NK podem ser aprimorados aumentando sua aptidão metabólica.

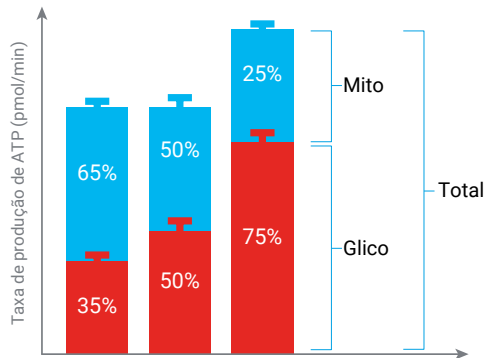


O kit de perfil metabólico de células T Agilent Seahorse XF é recomendado para medições robustas e precisas de atividades glicolíticas e mitocondriais em populações de células T e NK. Saiba mais [aqui](#).

Ensaios Seahorse XF para medir o metabolismo do câncer

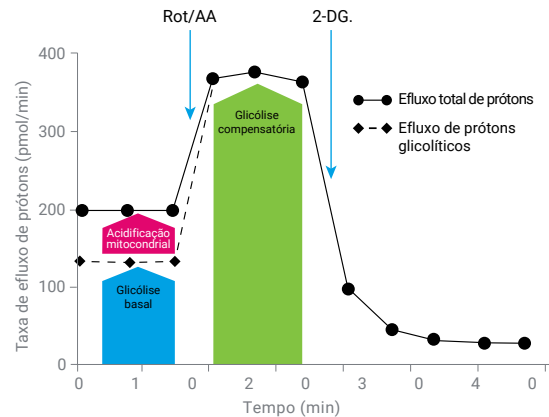
Kit de ensaio de taxa de ATP em tempo real Agilent Seahorse XF

- Para analisadores Agilent Seahorse XF Pro e XFe: part number 103592-100
- Para analisadores Agilent Seahorse XF HS Mini e XFp: part number 103591-100



Kits de ensaio de taxa glicolítica Agilent Seahorse XF

- Para analisadores Seahorse XF Pro e XFe: part number 103344-100
- Para analisadores Seahorse XF HS Mini/ XFp: part number 103346-100



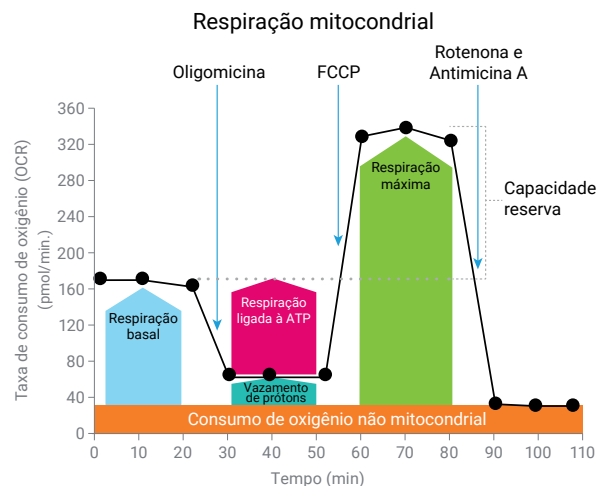
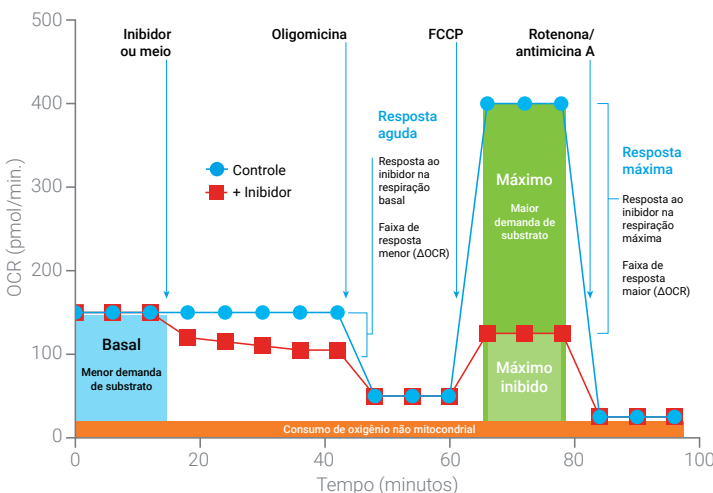
Descubra vulnerabilidades, plasticidade e fenotipagem metabólica do câncer com medições simultâneas de fosforilação oxidativa e glicólise para obter informações abrangentes sobre os promotores da função celular. Essa informação agora é quantitativa com os kits de ensaio de taxa de ATP glicolítico e em tempo real Seahorse XF.

Kits de teste de estresse oxidativo em substrato Agilent Seahorse XF

- Kit de teste de estresse oxidativo em ácidos graxos de cadeia longa Agilent Seahorse XF: part number 103672-100
- Kits de teste de estresse oxidativo em glicose/piruvato Seahorse XF: part number 103673-100
- Kit de teste de estresse oxidativo em glutamina Seahorse XF: part number 103674-1

Kit de teste de estresse em Mito Agilent Seahorse XF

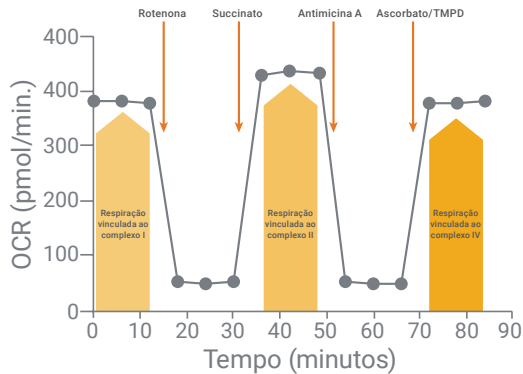
- Para analisadores Seahorse XF Pro e XFe: part number 103015-100
- Para analisadores Seahorse XF HS Mini e XFp: part number 103010-100



Investigue como as células cancerígenas alteram ou deslocam a oxidação de substratos mitocondriais para aumentar a proliferação, sobreviver no TME ou responder a intervenções genéticas ou farmacêuticas.

Permeabilizador de membrana plasmática Agilent Seahorse XF

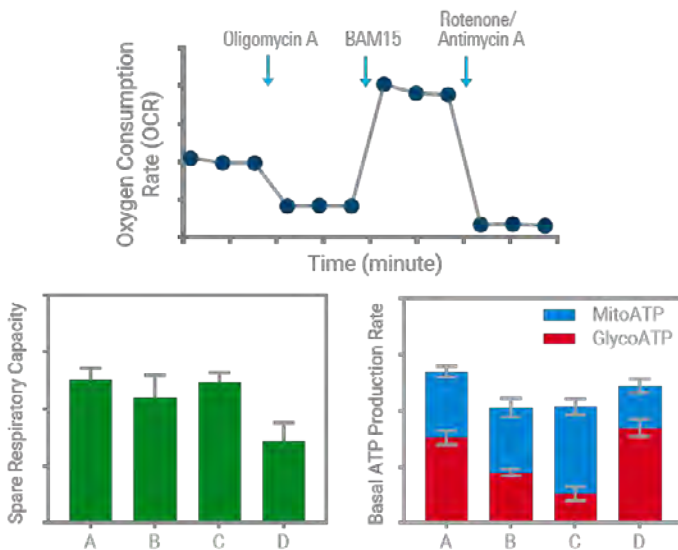
– Part number: 102504-100



Execute os mesmos ensaios que você realizaria em mitocôndrias isoladas, sem isolar mitocôndrias. O reagente exclusivo permeabiliza a membrana plasmática de células intactas em cultura sem danificar as membranas mitocondriais. Isso permite o controle experimental do fornecimento de substrato às mitocôndrias e a caracterização detalhada dos principais componentes da função mitocondrial, como transportadores, enzimas e complexos da cadeia de transporte de elétrons.

Kit de perfil metabólico de células T Agilent Seahorse XF: Ensaios personalizados para o desenvolvimento de terapias celulares

Com reagentes otimizados para diferentes populações de células T e células NK, esses ensaios fornecem parâmetros bioenergéticos robustos ligados 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
- Aplicáveis para uso na avaliação da capacidade das células T de manter a aptidão metabólica em TMEs
- Inclui BAM15 – um desacoplador aprimorado para medições mais consistentes e precisas da função mitocondrial de células T e células NK
- Fornece uma visão abrangente do metabolismo das células T e das células NK, incluindo quantificação simultânea dos efeitos glicolíticos e mitocondriais, atividade e capacidade bioenergética
- Validado para perfil metabólico de células T e células NK

Explore os kits de ensaio Agilent Seahorse XF [aqui](#).

Saiba mais:

www.agilent.com/lifesciences/store

Comprar on-line:

www.agilent.com/lifesciences/store

Encontre um centro de vendas e suporte local em seu país:

www.agilent.com/lifesciences/contactus

Brasil

0800 7281405

chem_vendas@agilent.com

Europa

info_agilent@agilent.com

Ásia e Pacífico

inquiry_lsca@agilent.com

Somente para uso em pesquisas. Não deve ser usado em procedimentos de diagnóstico.

RA45355.4045486111

Essas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
Publicado nos EUA em 27 de março de 2024
5994-7275PTBR

