



Methode zur Bestimmung der Zelltypparameter- Anpassung zum Abgleich mit dem Vi-CELL XR

Mit der Einführung des neuen Vi-CELL BLU ist es nun möglich, den Plattenmodus für komplexere Versuchsanordnungen zu nutzen.

Ein denkbarer Anwendungsfall ist die Unterstützung bei der Anpassung der Vi-CELL BLU Zelltypen, um Zellzahlen und Vitalitätswerte zu erhalten, die den auf bereits vorhandenen Vi-CELL XR ermittelten Werten entsprechen.

Die Standard-Zelltypen des Vi-CELL BLU entsprechen den meisten allgemeinen Zelllinien relativ genau, doch bei bestimmten Zelllinien und exotischeren Zelltypen kann ggf. eine gewisse Verfeinerung nötig sein, um eine gute Übereinstimmung zwischen den Geräten zu erzielen.

Die nachfolgend beschriebene Methode nutzt einen einfachen faktoriellen Ansatz. Sie erfordert keine umfangreiche Statistik (es sei denn, dies wird gewünscht), sondern gibt auf schnelle Weise Orientierung darüber, welche Parameter den größten Einfluss auf die gewünschten Werte haben und in welche Richtung sie angepasst werden müssen.

Versuchsplanung

Ausgehend vom Säuger-Standardzelltyp wurden 8 Zelltypen definiert. Die Werte sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt.

Zelltyp	MT01	MT02	MT03	MT04	MT05	MT06	MT07	MT08
Minimaler Durchmesser (µm)	6	6	6	6	6	6	6	6
Maximaler Durchmesser (µm)	20	40	20	40	20	40	20	40
Bilder	100	100	100	100	100	100	100	100
Zellschärfe	7	7	7	7	7	7	7	7
Minimale Zirkularität	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Decluster-Grad	Hoch	Hoch	Hoch	Hoch	Niedrig	Niedrig	Niedrig	Niedrig
Aspirationszyklen	3	3	3	3	3	3	3	3
Spothelligkeit lebensfähiger Zellen (%)	40	40	90	90	40	40	90	90
Spotfläche lebensfähiger Zellen (%)	5	5	5	5	5	5	5	5
Mischzyklen	3	3	3	3	3	3	3	3

In diesem speziellen Fall haben wir 3 Hauptparameter angepasst: den maximalen Durchmesser, die Spothelligkeit für lebensfähige Zellen und den Decluster-Grad. Für jeden Parameter wurden ein hoher und ein niedriger Wert gewählt, um die jeweiligen Extrema festzulegen. Dadurch ergeben sich 8 mögliche Kombinationen; hierfür eignet sich das Layout einer Mikrotiterplatte (96 Wells) sehr gut, da eine Reihe mit 12 Proben je Zelltyp bestückt werden kann.

Dann wurden CHO-Zellen mit 6×10^6 Zellen/ml in eine Mikrotiterplatte gegeben. Bei der Vorbereitung der Platte wurde jedem Zelltyp eine vollständige Reihe zugewiesen. Zum Ausgleich von Laufzeitproblemen wurde die Platte im Spaltenmodus bearbeitet, so dass die Zelltypen nacheinander analysiert wurden. Diese Anordnung wurde in Dreifachbestimmung auf 3 verschiedenen Vi-CELL BLU Geräten bearbeitet.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	MT01											
B	MT02											
C	MT03											
D	MT04											
E	MT05											
F	MT06											
G	MT07											
H	MT08											

Abbildung 1: Plattenlayout für Zelltypanalyse

Ergebnisse

Die Ergebnisse des Laufs wurden in Microsoft Excel™ importiert und die Daten mithilfe einer Pivottabelle extrahiert. Die Ergebnisse wurden in einfachen Hoch:Niedrig-Diagrammen aufgetragen, um die Auswirkungen der verschiedenen Zelltypeneinstellungen auf die Werte von Konzentration, Vitalität und durchschnittlichem Durchmesser zu beurteilen.

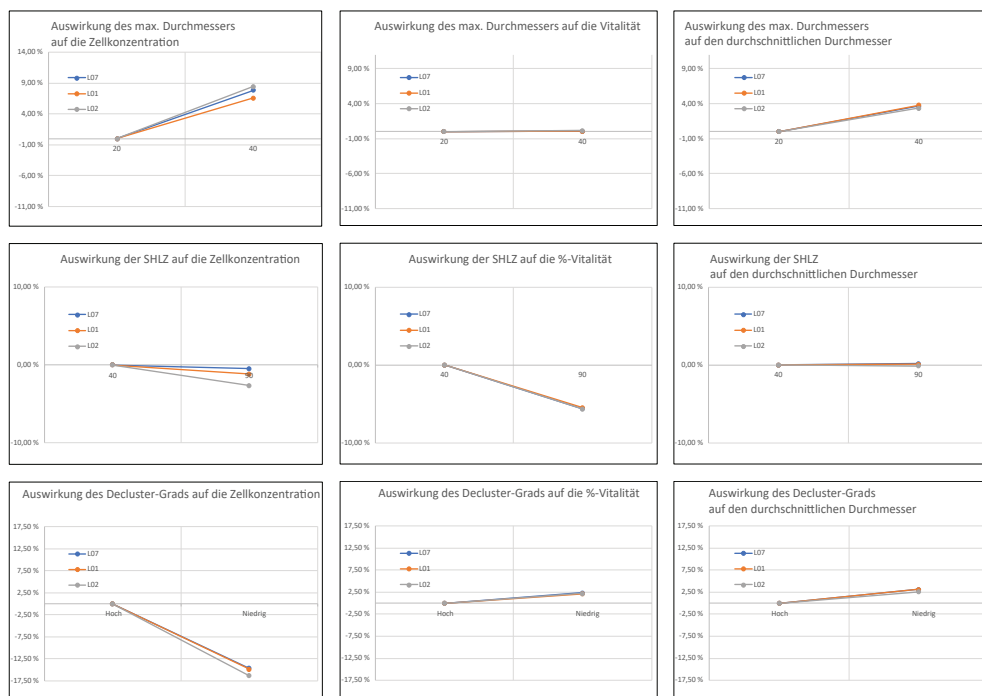


Abbildung 2: Hoch:Niedrig-Diagramme für angepasste Zelltypparameter

Die Ergebnisse zeigen, dass der maximale Durchmesser und der Decluster-Grad einen deutlichen Einfluss auf die Zellkonzentration, aber wenig Einfluss auf die prozentuale Vitalität haben. Die Spothelligkeit für lebensfähige Zellen hat erwartungsgemäß den größten Einfluss auf die Vitalitätswerte.

Anhand der obigen Diagramme lässt sich abschätzen, was bei der Anpassung dieser Parameter passieren wird.

Wenn es jedoch um eine Annäherung an die Werte des Vi-CELL XR geht, kann diese Methode besonders gute Dienste leisten, wenn dieselben Proben gleichzeitig mit der Erfassung der oben genannten Daten auf dem Vi-CELL XR analysiert werden. Dadurch erhält man Vergleichsdaten zu denselben Zellproben. Für einen Versuch mit 10 Proben auf 3 verschiedenen Vi-CELL XR Geräten unter Verwendung des CHO-Standardzelltyps sind wir so vorgegangen.

In den nachstehenden Diagrammen sind die Ergebnisse der verschiedenen Zelltypen von den Vi-CELL BLU Geräten (Säulen) zusammen mit den Durchschnittsergebnissen von den Vi-CELL XR Geräten (Linien) dargestellt.

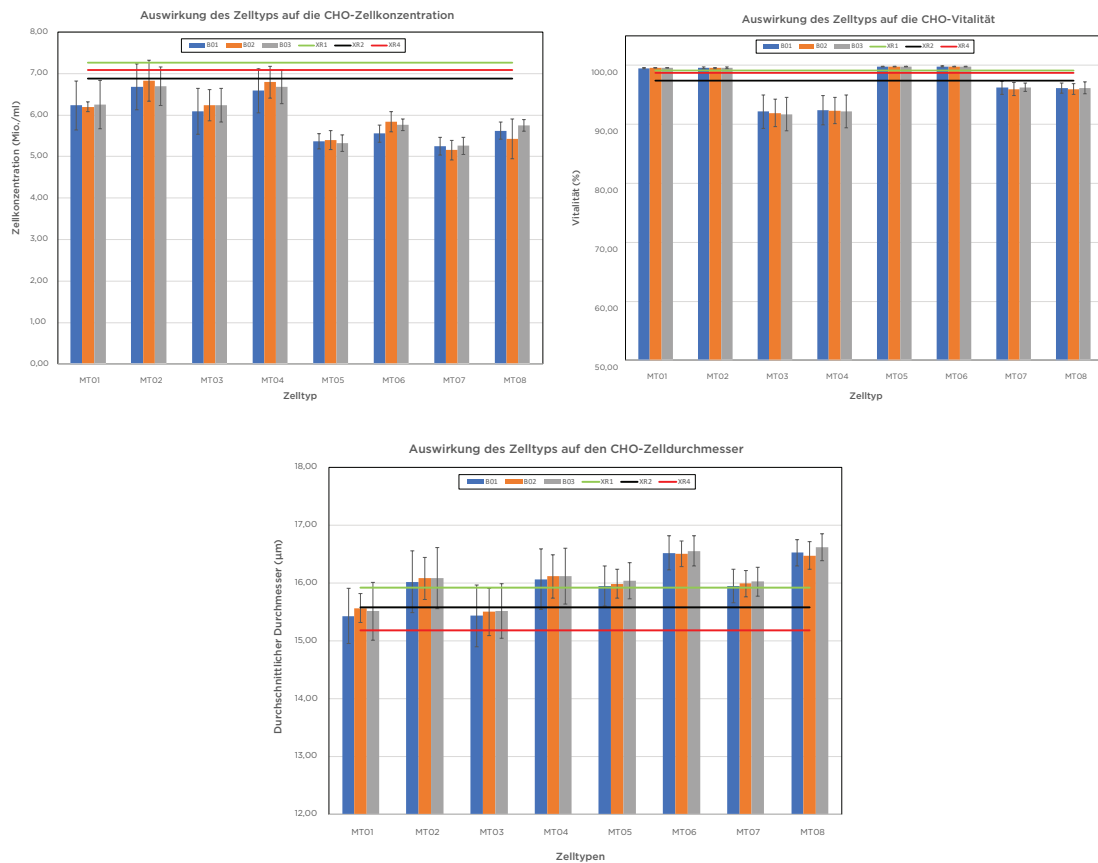


Abbildung 3: Vergleich von Vi-CELL BLU und Vi-CELL XR bei Verwendung verschiedener Zelltypeinstellungen

Aus den obigen Diagrammen ist ersichtlich, wo die besten Übereinstimmungen vorliegen:

Bei der Zellkonzentration erzielen die Zelltypen MT02 a und MT04 a die beste Übereinstimmung, wobei MT02 noch etwas besser ist.

Bei der Zellvitalität erreichen MT01, MT02, MT05 und MT06 eine sehr gute Übereinstimmung.

Beim durchschnittlichen Durchmesser erzielen alle Zelltypen bis auf MT06 und MT08 eine relativ gute Übereinstimmung, wobei MT01 und MT03 den Bereich des Vi-CELL XR sehr gut abdecken.

Ausgehend von den obigen Einstellungen ist es jedoch der Zelltyp MT02, der bei den Werten der Hauptparameter eine sehr akzeptable Übereinstimmung liefert. Mit Rückgriff auf die Kenntnisse über die Auswirkungen der Zelltyp-Parameteranpassungen sollte es möglich sein, den Zelltyp MT02 durch eine leichte Verringerung des maximalen Durchmessers noch weiter zu verfeinern, so dass er besser mit den Werten des Vi-CELL XR übereinstimmt.

Schlussfolgerungen

Mithilfe des Plattenladers am Vi-CELL BLU kann ein Einzelversuch durchgeführt werden, um sehr schnell aussagekräftige Informationen über die richtige Anpassung an die Werte des Vi-CELL XR zu erhalten. Die Platte ermöglicht eine komplexe Versuchsanordnung und die Erfassung ausreichender Probandaten, um verlässliche Zahlen zu erhalten.