



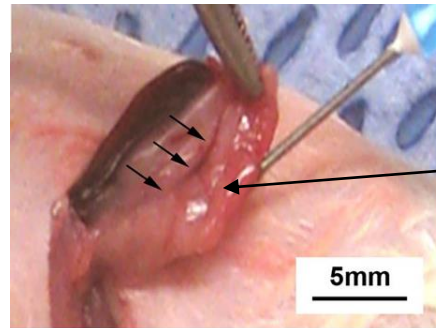
Internalizzazione F-Bpa primi dati

Andrea, Francesca, Luisa, Dante, Silvia

PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Analisi preclinica in modelli tumorali murini di nuovi traccianti contenenti Fluoro 19 per Risonanza Magnetica.

60 topi Nod/Scid +10% da inoculare con PANC-1



30 topi con F-BPA

200 mg/ml

400 mg/ml

pancreas

30 topi con F₁₂ B₁₂

200 mg/ml

400 mg/ml

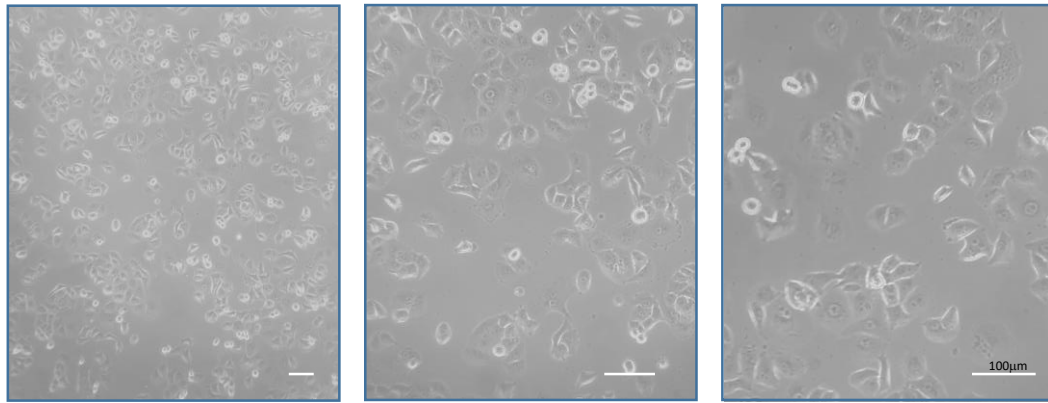
Per ogni concentrazione del tracciante 3 sottogruppi composti ognuno da 5 animali verranno sacrificati a tempi diversi dalla somministrazione: 1h, 2,5h, 4h.



Espianto del tessuto tumorale e di altri organi quali milza fegato e reni per la successiva analisi MRI

Il protocollo è stato
sottomesso al Ministero il
26/07/2019

PANC-1 2×10^6 cells/1T75 24h semina (10X)



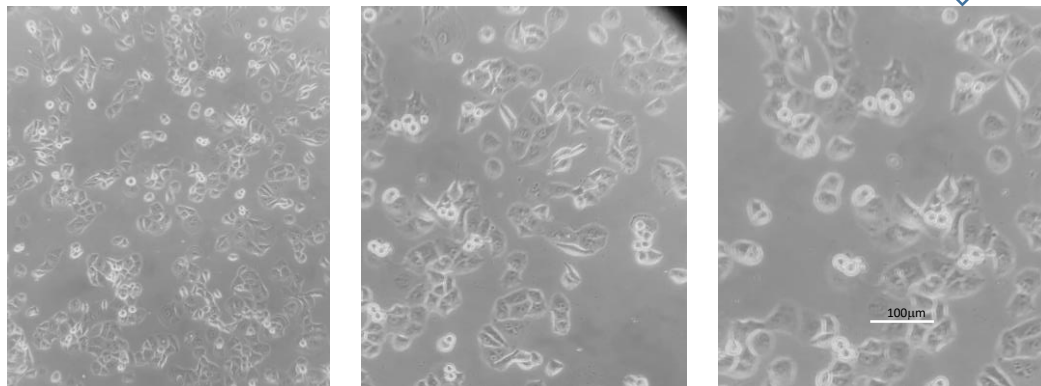
1x

2x

2,5x

4h con F-BPA

PANC-1 dopo incubazione 4h F-BPA

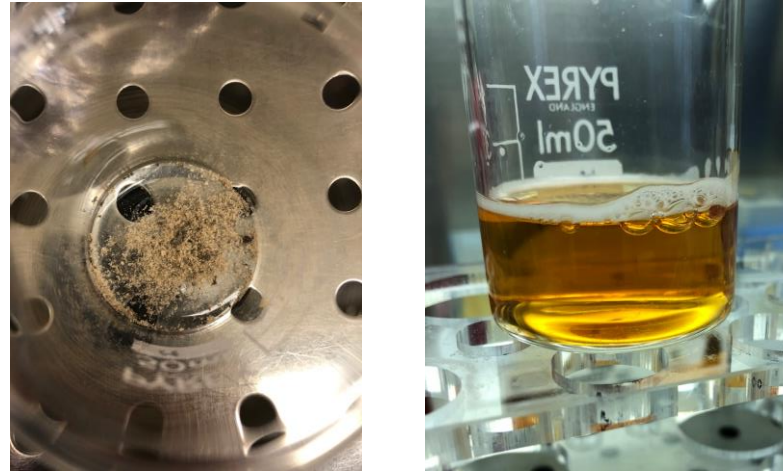


1x

2x

2,5x

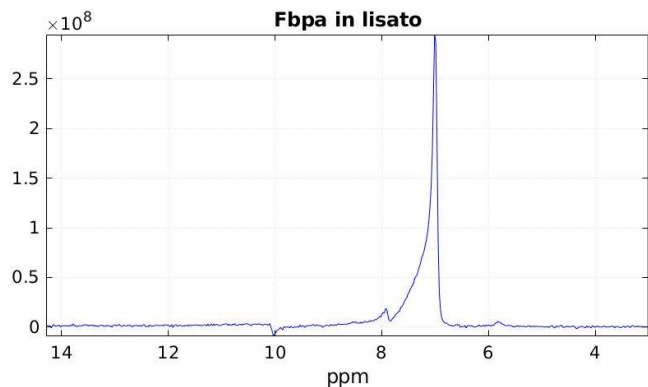
F-BPA



PANC-1 adese in T75

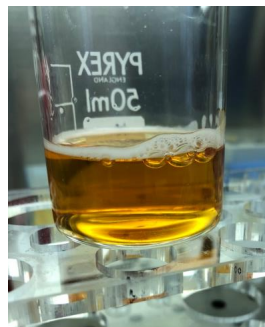
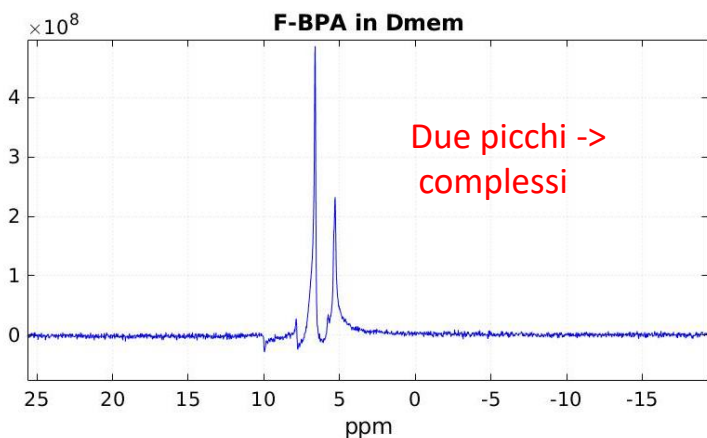


Il Dmem cambia colore quando si aggiunge l'f-bpa
→
Indizio di formazione complessi

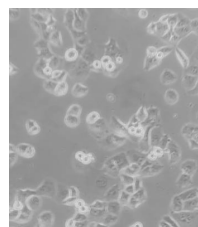
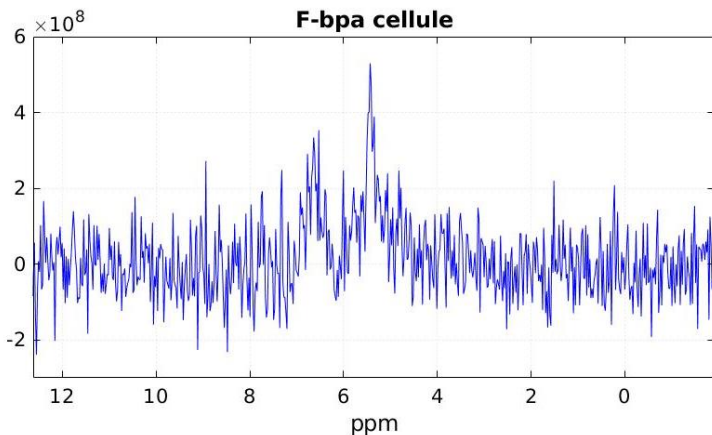


(controllo positivo)
F-bpa aggiunto
dopo il tampone di
lisi

SNR > 500



SNR ~ 420



SNR ~ 3,6

Assumendo che il trasporto sia solo passivo.
Nella cellula avremo al più la stessa concentrazione
che si trova nel DMEM C_{DMEM} .

Noi misuriamo il contributo alla magnetizzazione degli
atomi di fluoro nel capillare NMR cioè quello
internalizzato nelle cellule. Le Moli (o atomi) di fluoro
aspettate sono

$$N_F = C_{DMEM} \cdot N_{cellule} \cdot V_{cellula}$$

Assumendo una cellula sferica di taglia lineare $50 \mu\text{m}$
avremo un volume di $V_{cellula} = 6.5 \cdot 10^{-12} \text{L}$

E per una «flask» di cellule ($\sim 3 \text{ M}$)

$$V_{N\ cells} = 10^{-5} \text{L}$$

(ci può stare visto il volume del pellet)

$$C_{DMEM} = 14 \cdot \frac{10^{-6} \text{moli}}{\text{ml}}$$

Conclusioni e piano misure

- Abbiamo replicato qualitativamente il risultato di Pavia e Caserta
- Il segnale misurato è basso perchè il volume delle cellule è piccolo.
- Misuriamo basse concentrazioni senza grossi problem (18 h)
- L'F-Bpa forma complessi con il liquido di cultura, Abbiamo problemi a stimare la frazione internalizzata come rapport tra aree dei picchi.
- Prossimi esperimenti con 10 M di cellule e tenendo conto della reale quantità di molecole internalizzate per effettuare I controlli

Conclusioni e piano misure

Posizione picco di riferimento F-bpa con eventuale complesso

Dmem di incubazione con f-bpa alla concentrazione dell'esperimento.

Misura su lisato di 10^6 cellule incubate con f-bpa (0,5 ml)

Controllo positivo su lisato di cellule mai venute in contatto con f-bpa (stessi identici passaggi avvenuti sopra) + fbpa aggiunto alla concentrazione aspettata

Controllo negativo su 100 micro litri di liquido del terzo lavaggio diluito fino a 500 micro litri con tampone di lisi.

Questo è il massimo contributo che verrebbe dal pellet lavato male in cui il fluoro è solo nel volume non occupato da cellule.

- Se nella misura abbiamo un segnale paragonabile al controllo positivo, abbiamo provato un'internalizzazione di una certa frazione della concentrazione esterna di fluoro.
- Se il controllo negativo ha segnale confrontabile con il campione allora 3 lavaggi sono pochi e questo sarebbe un problema anche per i nostri colleghi.