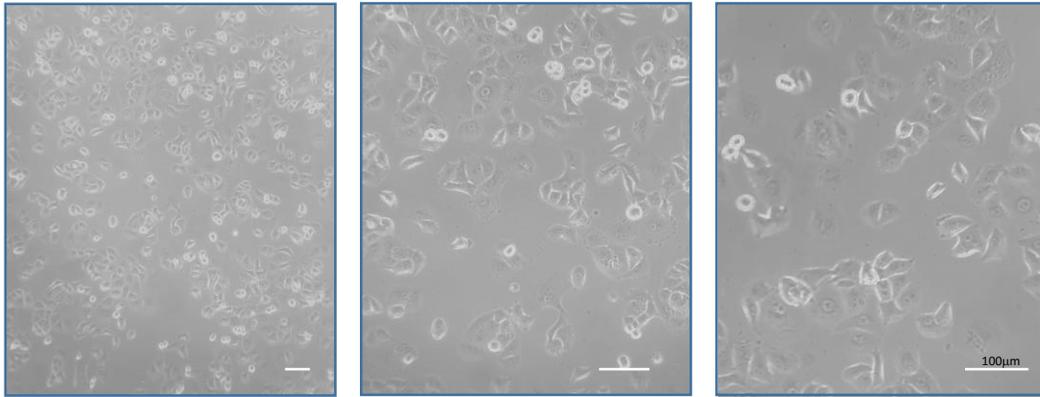




Internalizzazione F-Bpa Report Misura

Andrea, Francesca, Luisa, Dante, Silvia

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



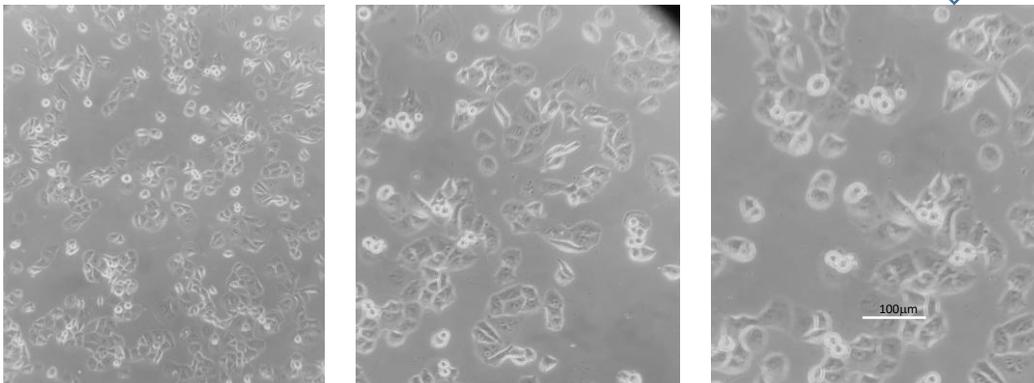
1x

2x

2,5x

4h con F-BPA

PANC-1 dopo incubazione 4h F-BPA

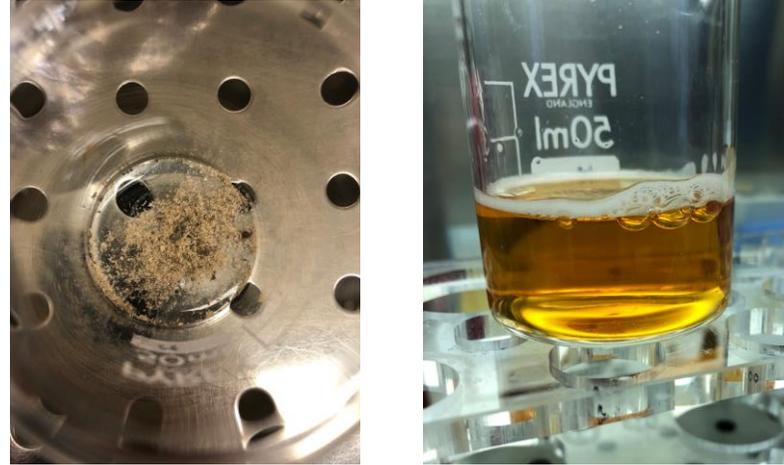


1x

2x

2,5x

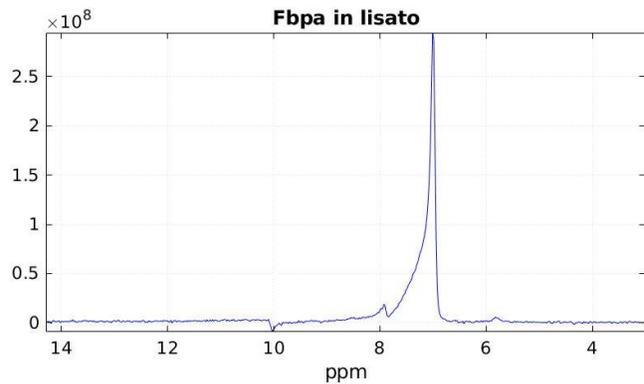
F-BPA



PANC-1 adese in T75

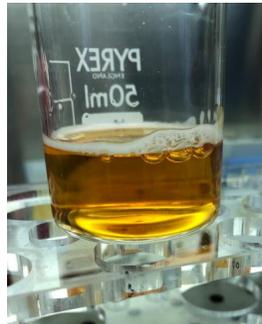
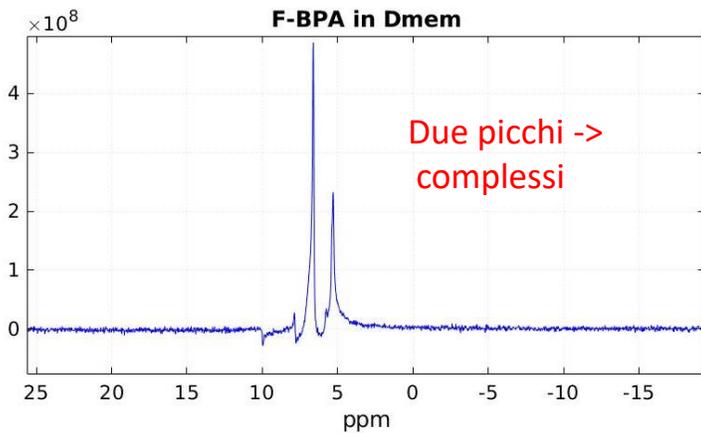


Il Dmem cambia colore quando si aggiunge l'f-bpa
→
Indizio di formazione complessi



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

SNR > 500

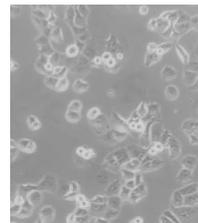
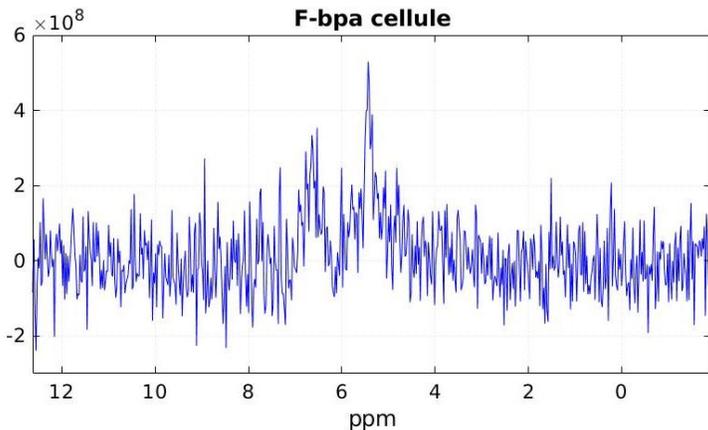


SNR ~ 420

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

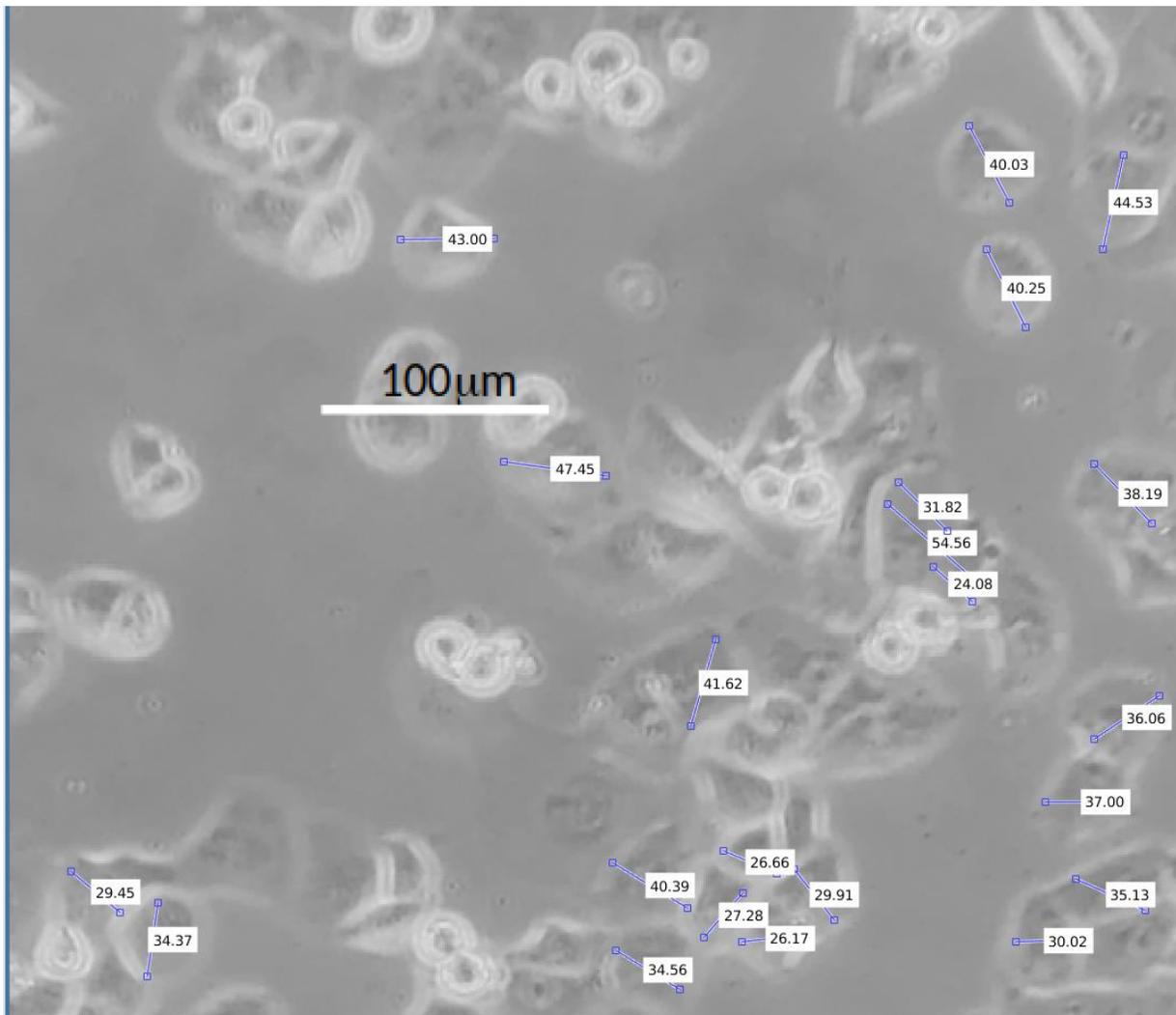
Noi misuriamo il contributo alla magnetizzazione degli
atomi di fluoro nel capillare NMR cioè quello
internalizzato nelle cellule. Le Moli (o atomi) di fluoro
aspettate sono

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



SNR ~ 3,6

Controllo - Preparazione



Assumiamo una taglia lineare di $35\mu\text{m}$:

$$V_{cellula} = 2.24e+04 \mu\text{m}^3$$

$$V_{cellula} = 2.24e-05 L$$

$$N_{cellule} = 12e+06$$

$$V_{cellul2} = 2.7e+02 \mu L$$

Alla stessa concentrazione del mezzo

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

Ci aspettiamo:

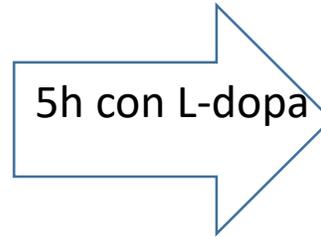
$$F - BPA_{capillare} = 3.8e-06 \text{ mol}$$

Pretrattamento L-dopa

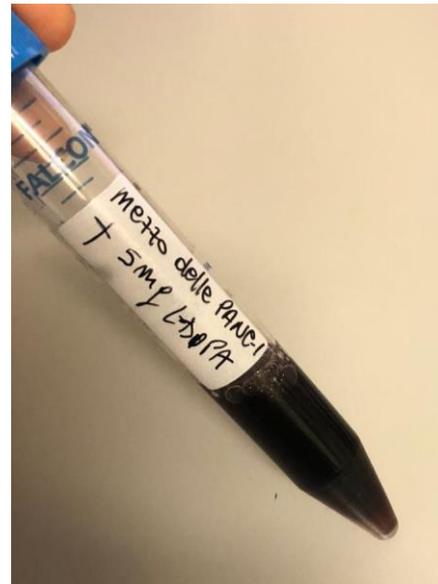
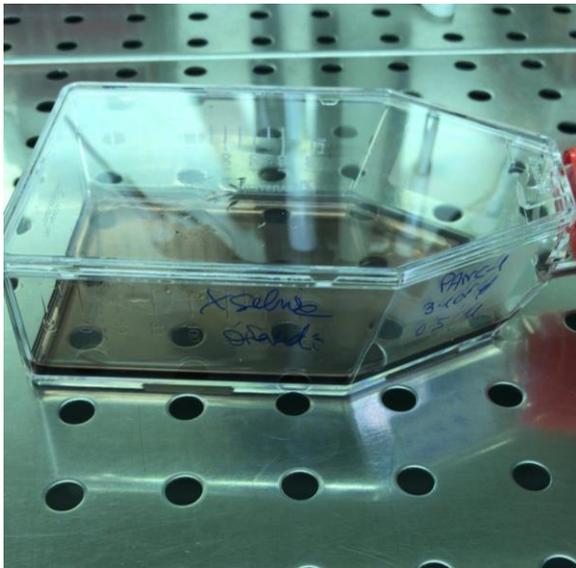
985.9 mg / L di L-dopa

equivalente a 5 mM

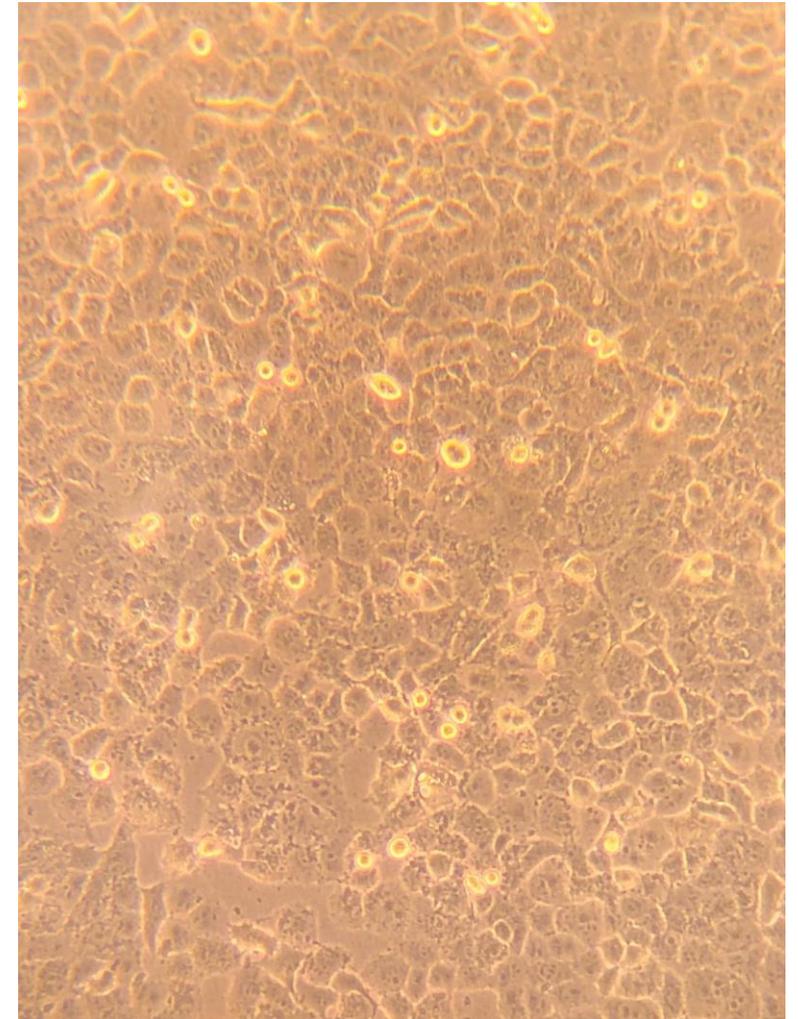
per 4 h e 45 min (invece di 4 h)



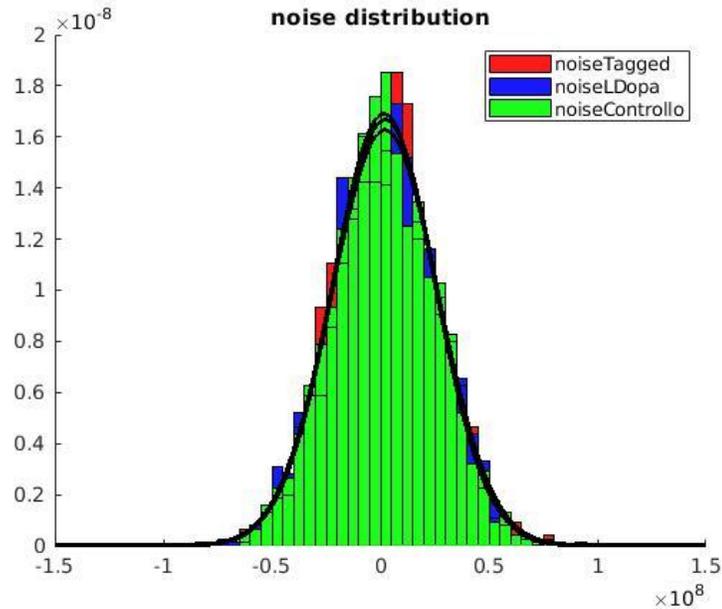
L-Dopa per 5h a 37 gradi fa cambiare colore al dmem



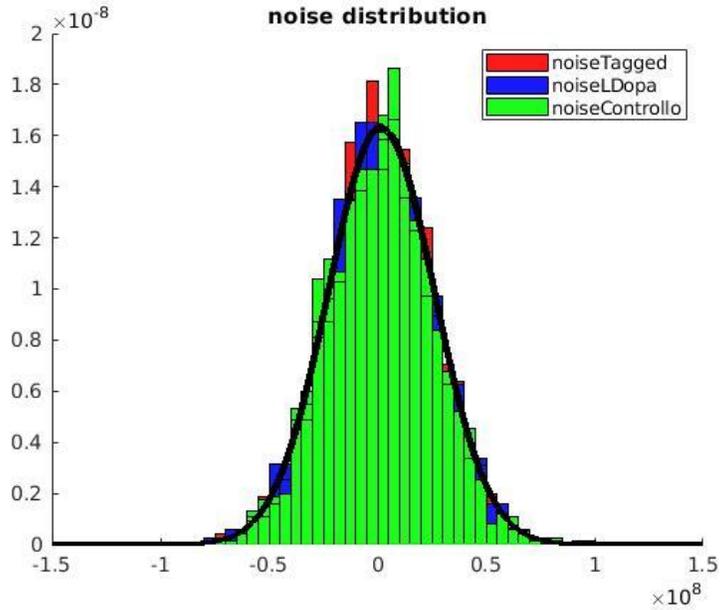
Cellule sembrano sane



2 Misure - Tempo di ripetizione [9s, 3s]



Short T



Long T

Distribuzione segnale background:

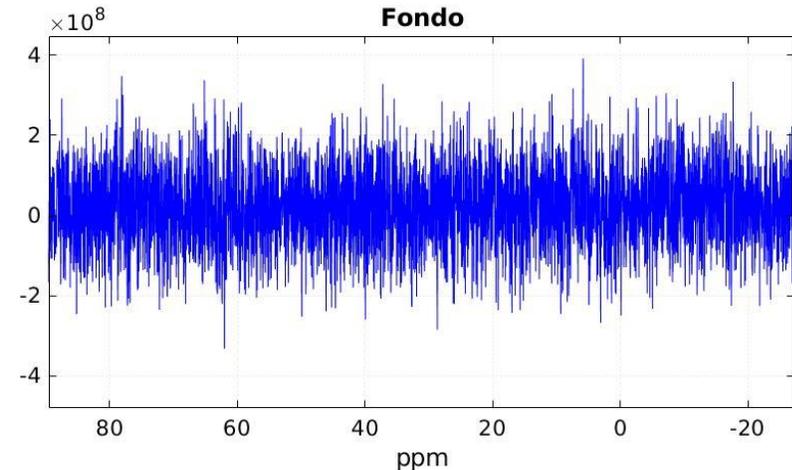
Check sulla acquisizione (il fondo deve essere uguale nelle 3 misure)

Dal fit:

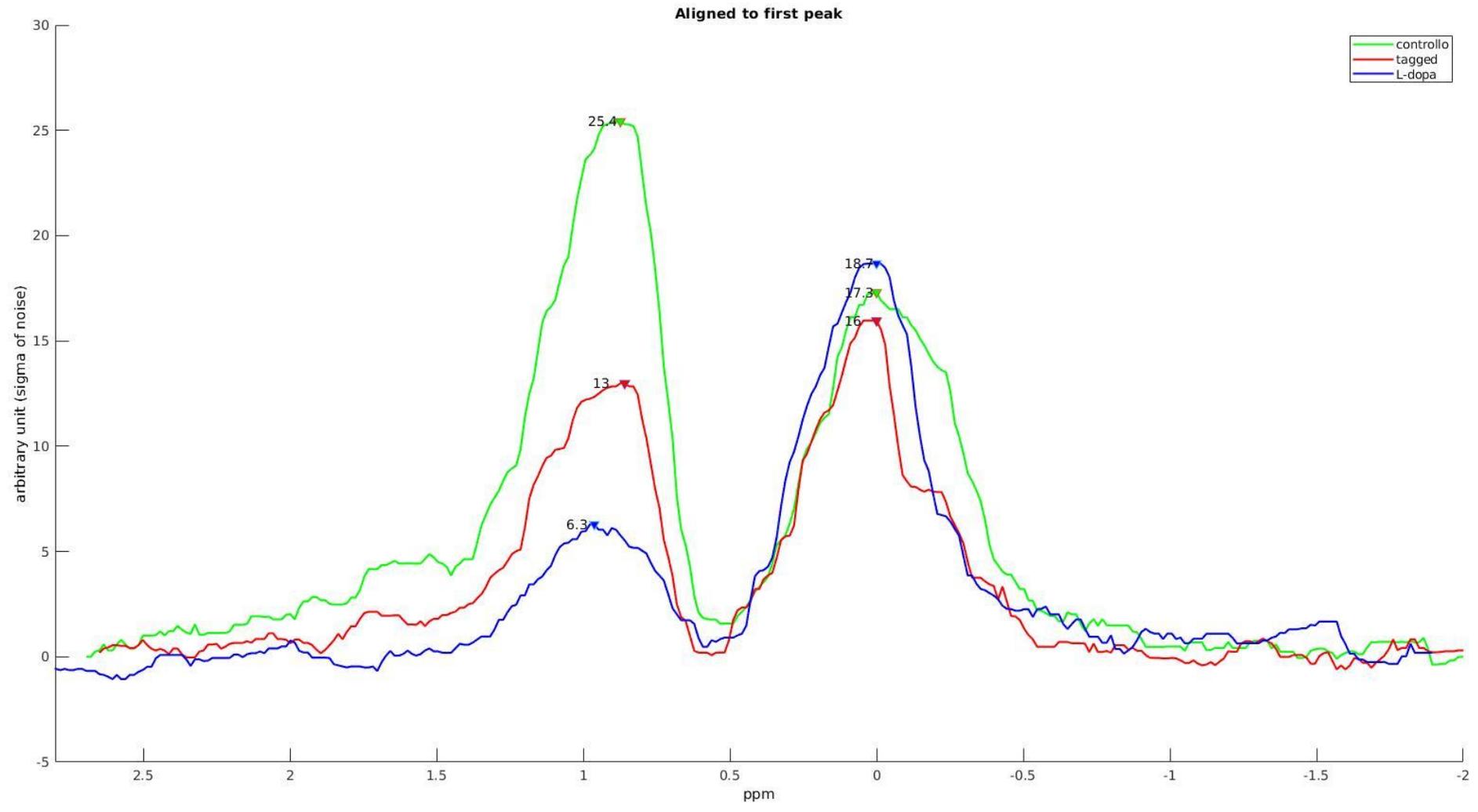
Media \rightarrow offset (si sottrae)

Sigma \rightarrow ampiezza fluttuazioni (Unità di misura)

Misura sul lavaggio \rightarrow Compatibile con solo fondo!!
NON C'E' FLUORO NEL IV LAVAGGIO

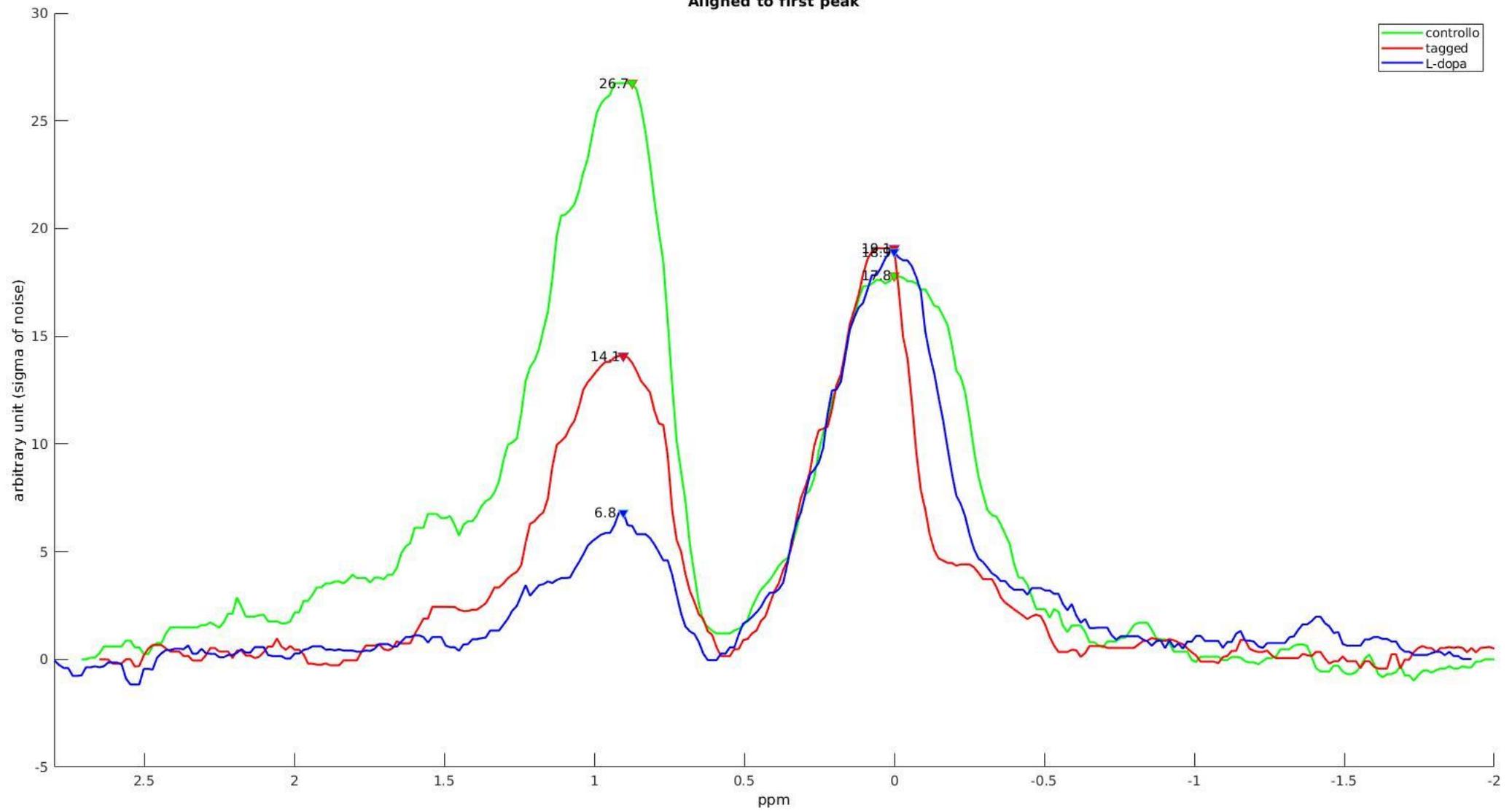


Long T

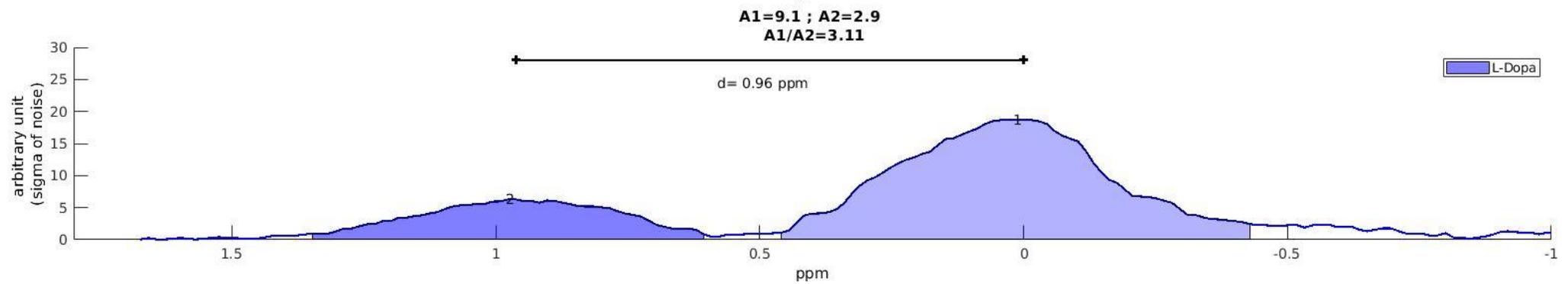
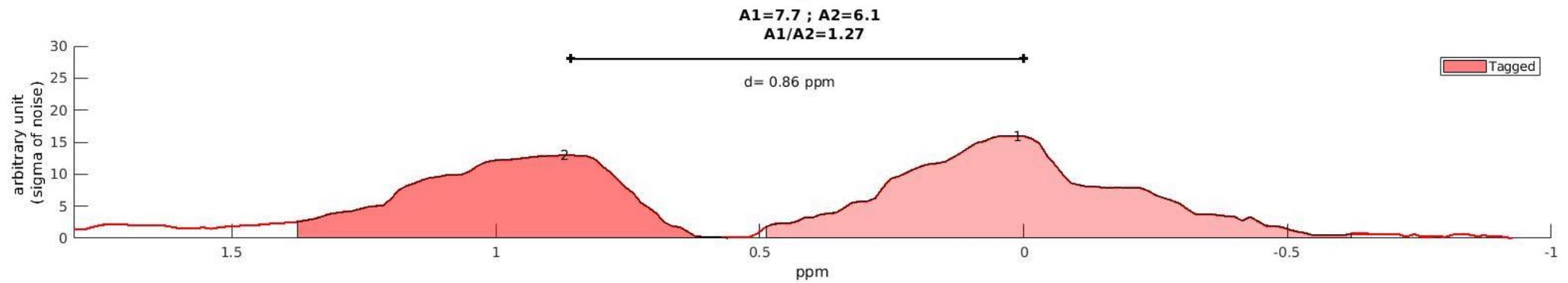
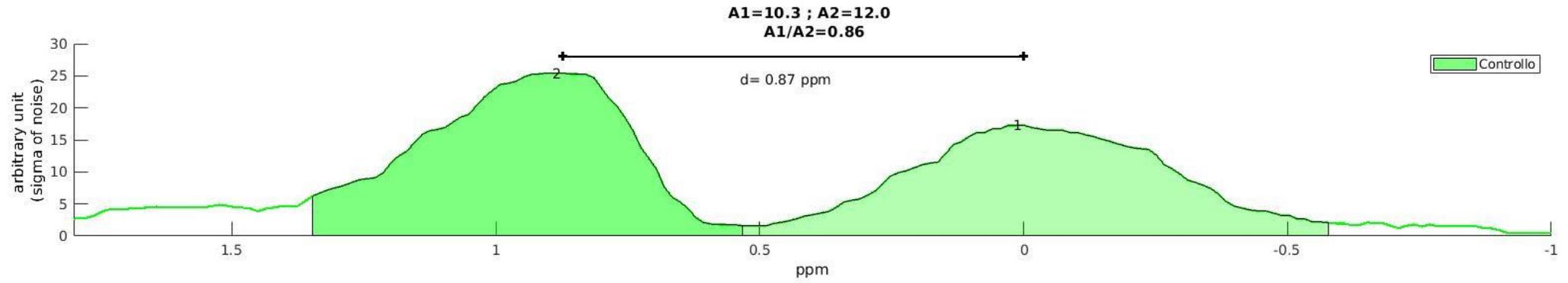


Short T

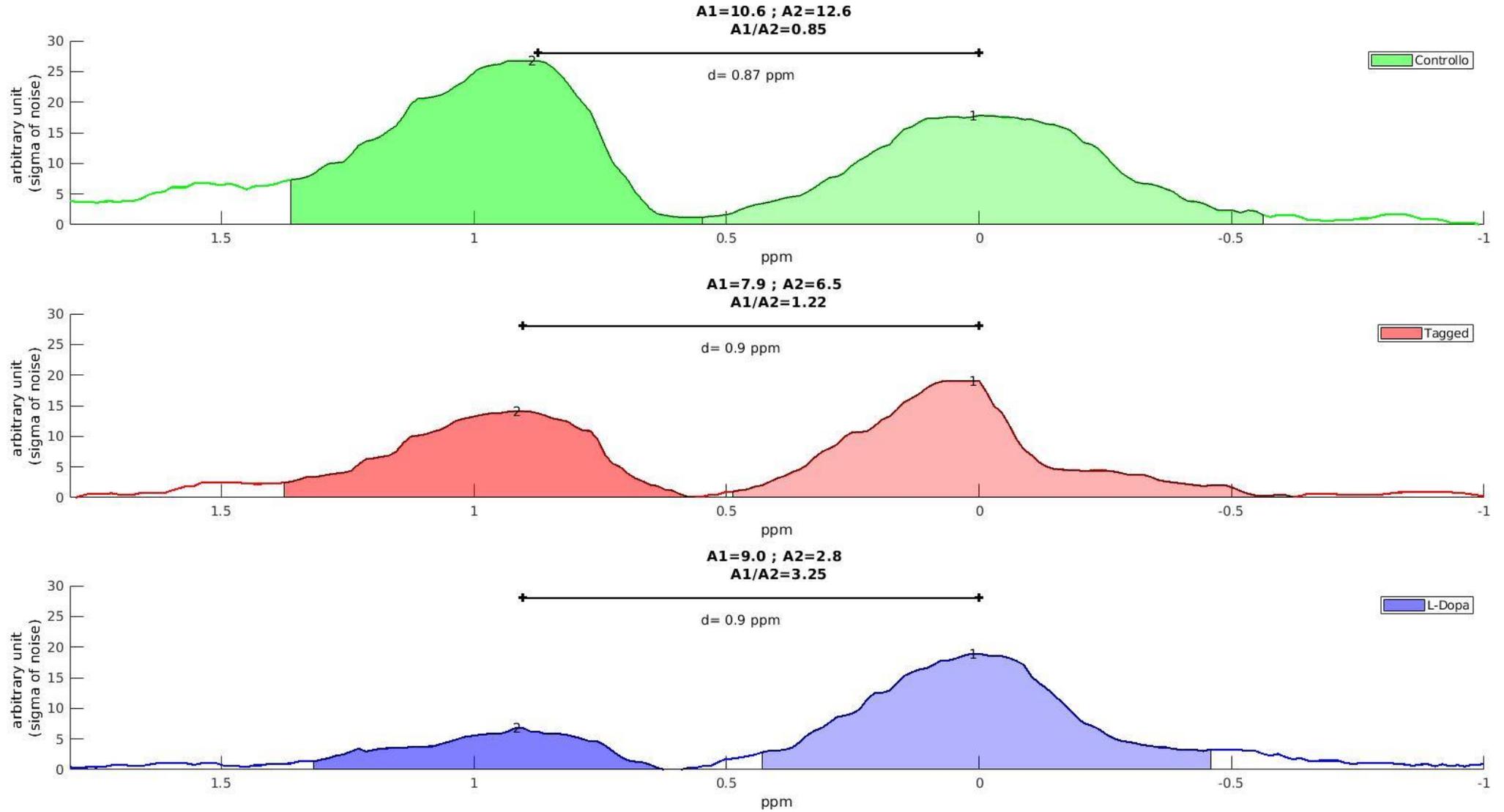
Aligned to first peak



Long T



Short T



T Long	Controllo	F-BPA	L-Dopa + F-PBA	
Peak 1 (mag)	17.3	16.0	18.7	σ
Peak 2 (mag)	25.4	13.0	6.3	σ
Δ Peak	0.87	0.86	0.96	ppm
Area 1	10.3	7.7	9.1	σ ppm
Area 2	12.0	6.1	2.9	σ ppm
Area Ratio	0.86	1.27	3.11	

Una nota sugli errori:

Non abbiamo misure ripetute però una stima di errore massimo può essere:

Per le ampiezze: +/- 0.5 σ

Per le posizioni → 0.5 taglia del filtro: 0.1 ppm

Per le aree: 1 σ ppm

T short	Controllo	F-BPA	L-Dopa + F-PBA	
Peak 1 (mag)	17.1	19.1	18.9	σ
Peak 2 (mag)	26.7	14.1	6.8	σ
Δ Peak	0.87	0.90	0.90	ppm
Area 1	10.6	7.9	9.0	σ ppm
Area 2	12.6	6.5	2.8	σ ppm
Area Ratio	0.85	1.22	3.25	

Una nota sugli errori:

Non abbiamo misure ripetute però una stima di errore massimo può essere:

Per le ampiezze: +/- 0.5 σ

Per le posizioni → 0.5 taglia del filtro: 0.1 ppm

Per le aree: 1 σ ppm

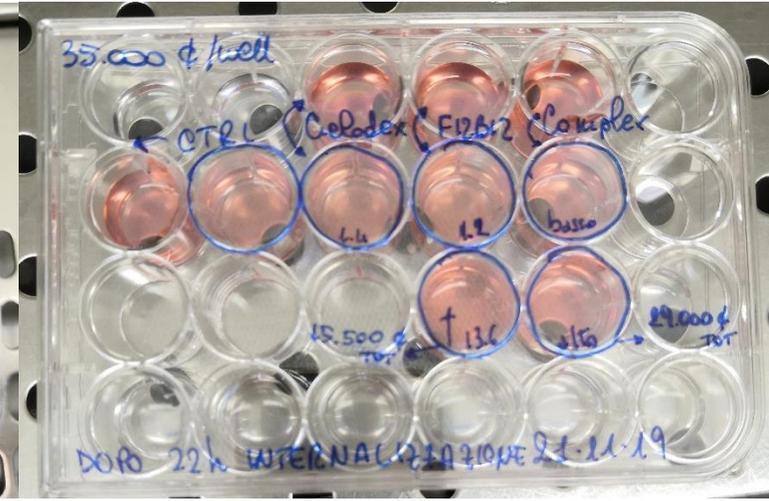
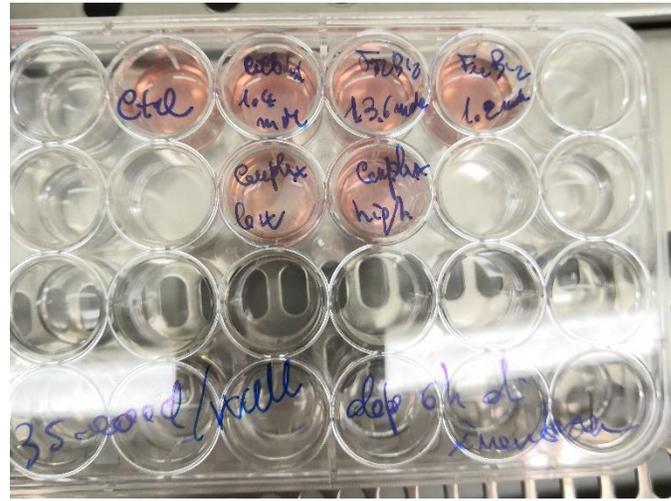
Test Tossicità per F12B12

Test Tossicità due concentrazioni

- 1.2 mM (stessa concentrazione 19F di F-BPA)
- 13.6 mM (stessa concentrazione di Molecola)

Due tempi

- 7 ore (come BSH)
- 22 ore (come articolo Chem. Comm 2016)

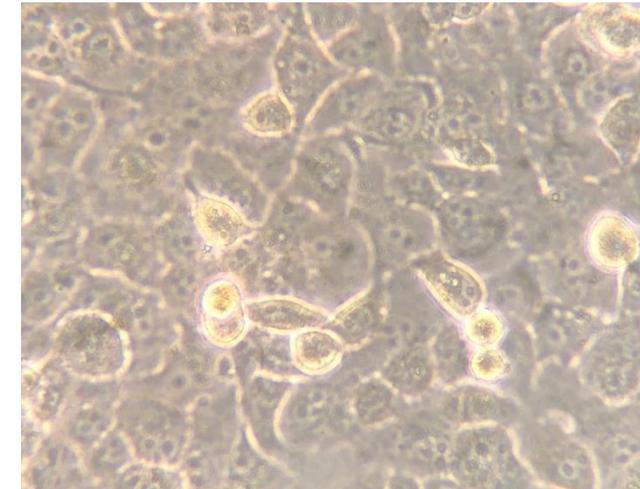


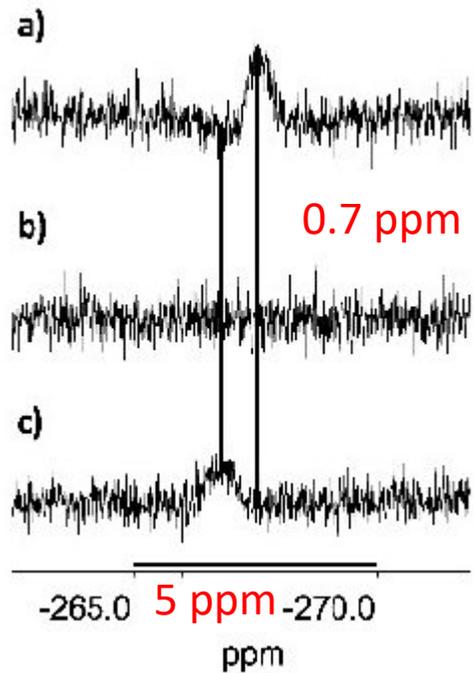
Alta Concentrazione

- Ad alta concentrazione le ciclodestrine e il complesso uccidono buona parte delle cellule a 7 ore
- Le cellule sopravvissute sono vitali dopo 48 ore
- Ci sono stati problem di solubilità → la concentrazione testata potrebbe essere inferiore al dichiarato

Bassa concentrazione

- Numero di cellule paragonabile al controllo dopo 7 e 22 ore
- Vitali dopo 48 ore





Warneke, Chem. Comm. 2016

Disclaimer:
Finestra di acquisizione non uguale.

Test Internalizzazione F12B12 complessato

- 1.2 mM di F12B12 + 1.4 nM di ciclodestrina, incubazione di 22 ore
- Unico picco compatibile con controllo

