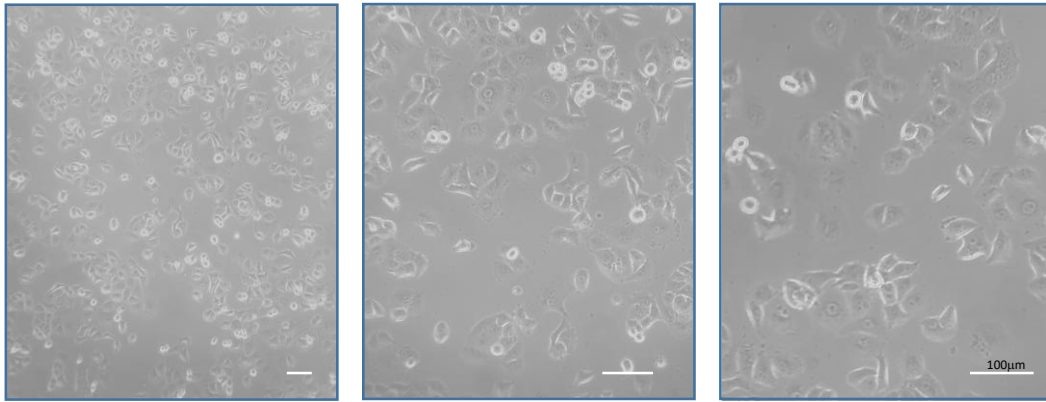




# Internalizzazione F-Bpa Report Misura

Andrea, Francesca, Luisa, Dante, Silvia

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



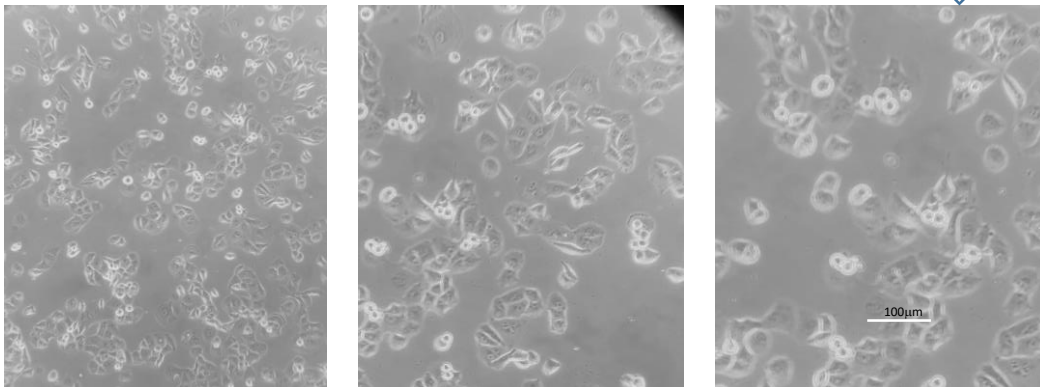
1x

2x

2,5x

4h con F-BPA

PANC-1 dopo incubazione 4h F-BPA

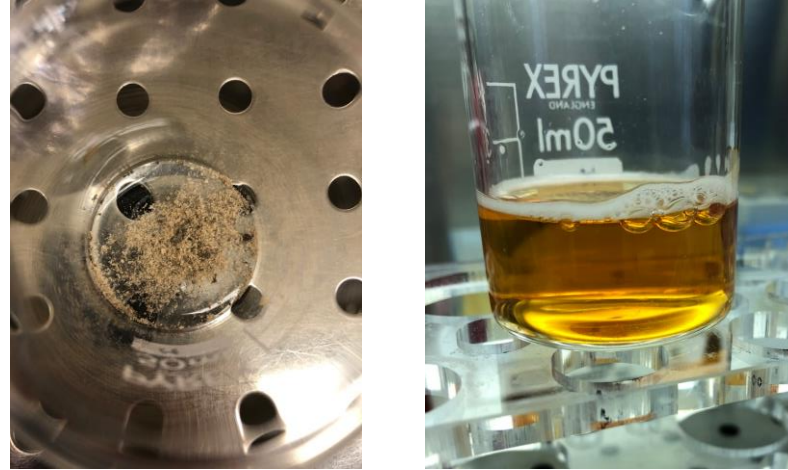


1x

2x

2,5x

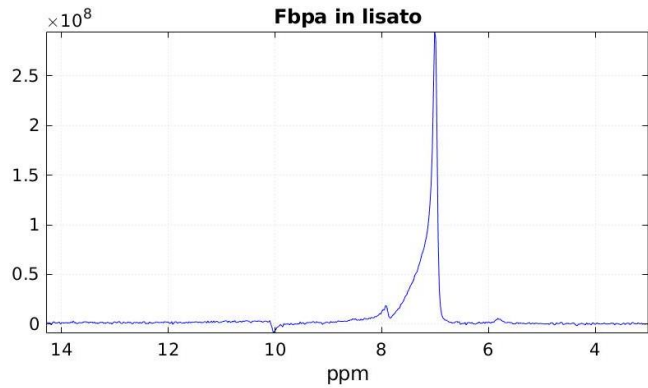
F-BPA



PANC-1 adese in T75

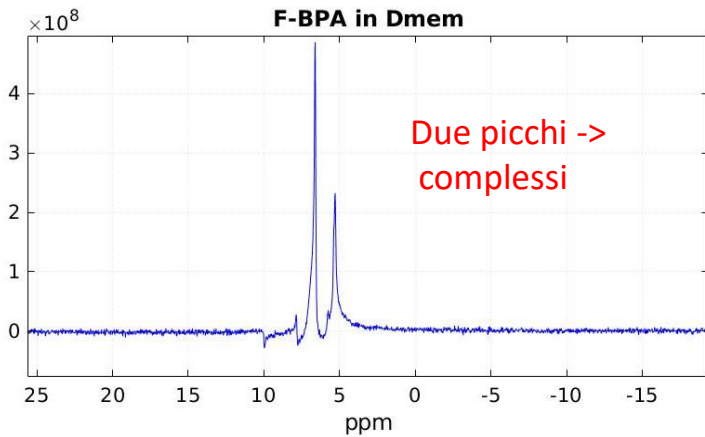


Il Dmem cambia colore quando si aggiunge l'f-bpa  
→  
Indizio di formazione complessi



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

SNR > 500

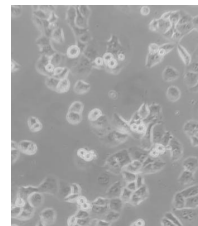
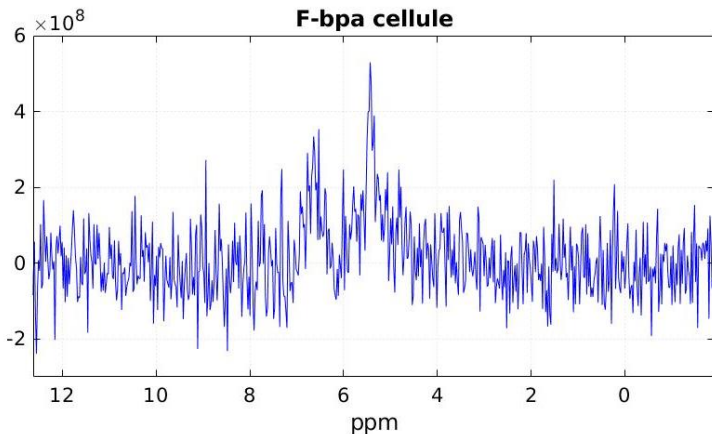


SNR ~ 420

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

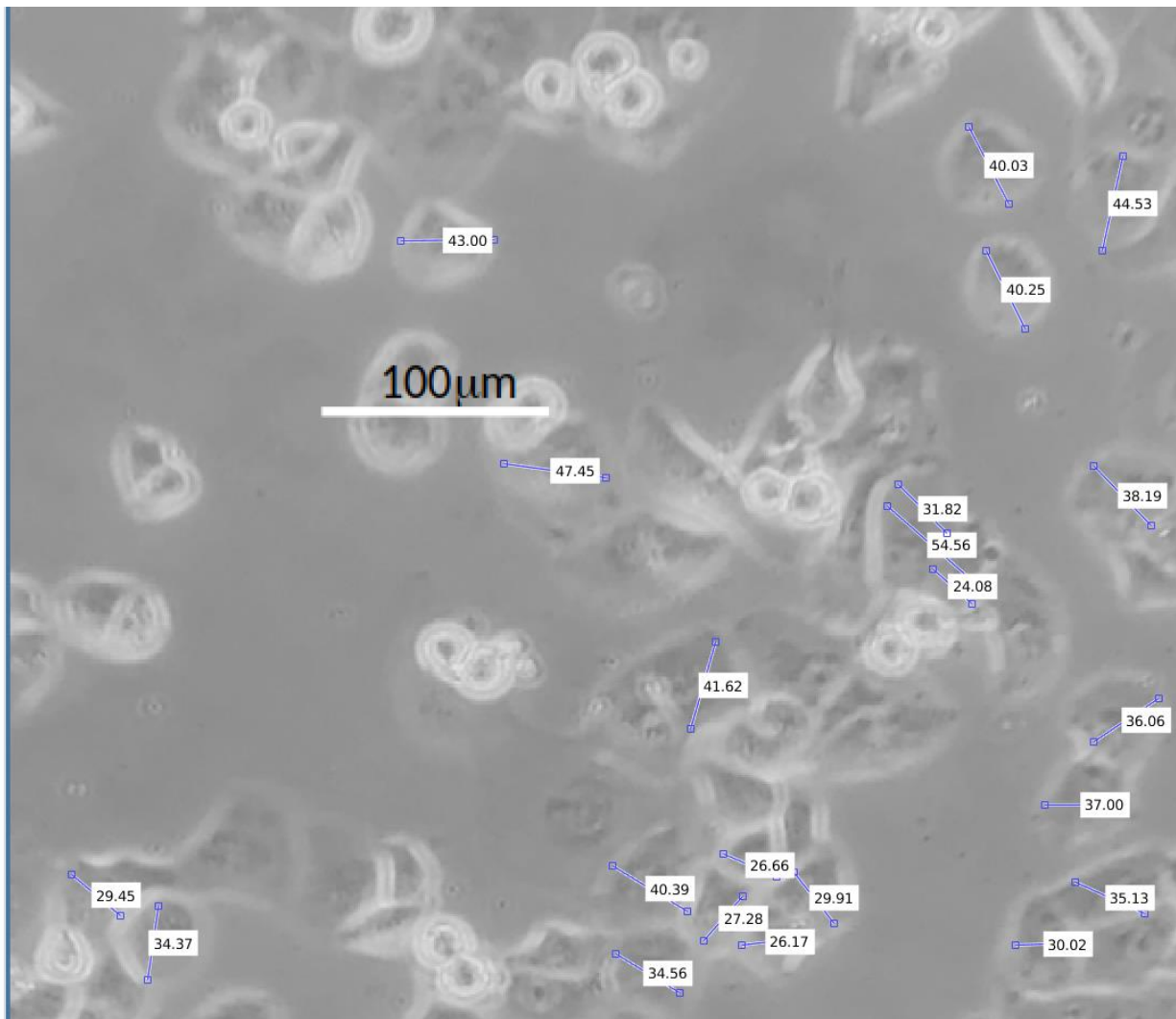
Noi misuriamo il contributo alla magnetizzazione degli  
atomi di fluoro nel capillare NMR cioè quello  
internalizzato nelle cellule. Le Moli (o atomi) di fluoro  
aspettate sono

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



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:

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

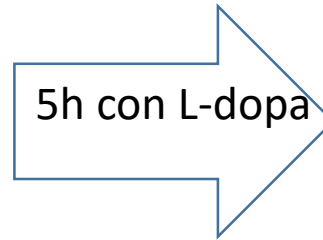


# Pretrattamento L-dopa

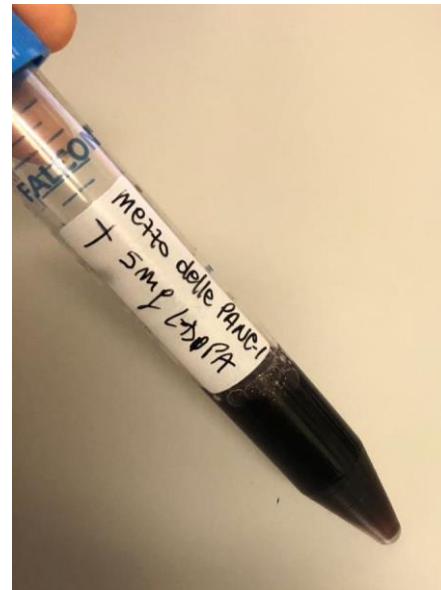
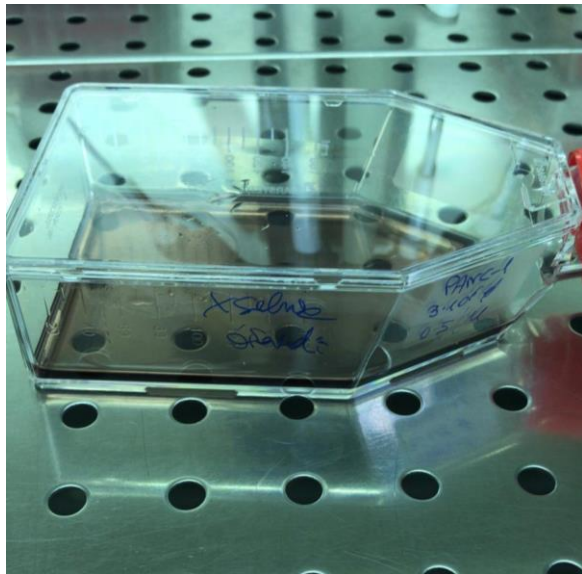
985.9 mg / L di L-dopa

equivalente a 5 mM

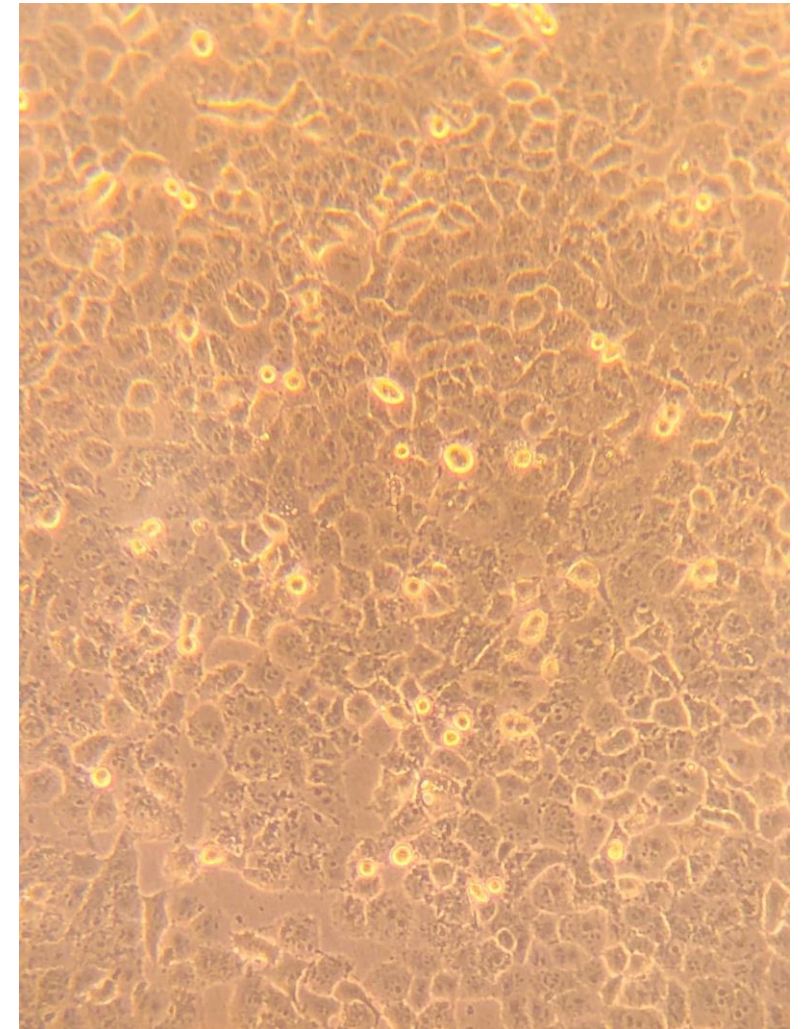
per 4 h e 45 min (invece di 4 h)



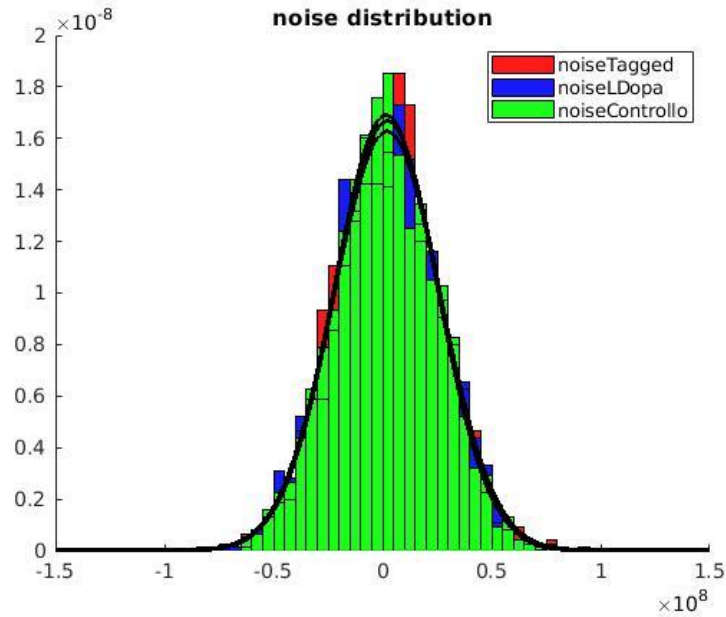
L-Dopa per 5h a 37 gradi fa cambiare colore al dmem



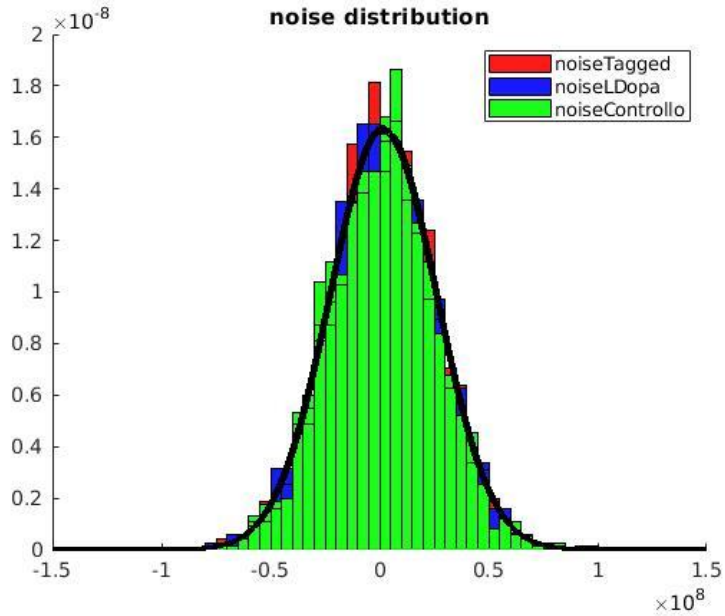
Cellule sembrano sane



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



Short T



Long T

Distribuzione segnale background:

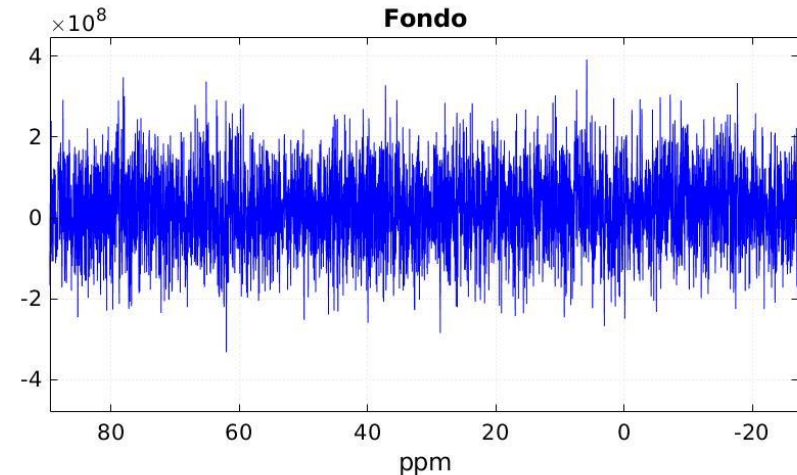
Check sulla acquisizione (il fondo deve essere uguale nelle 3 misure)

Dal fit:

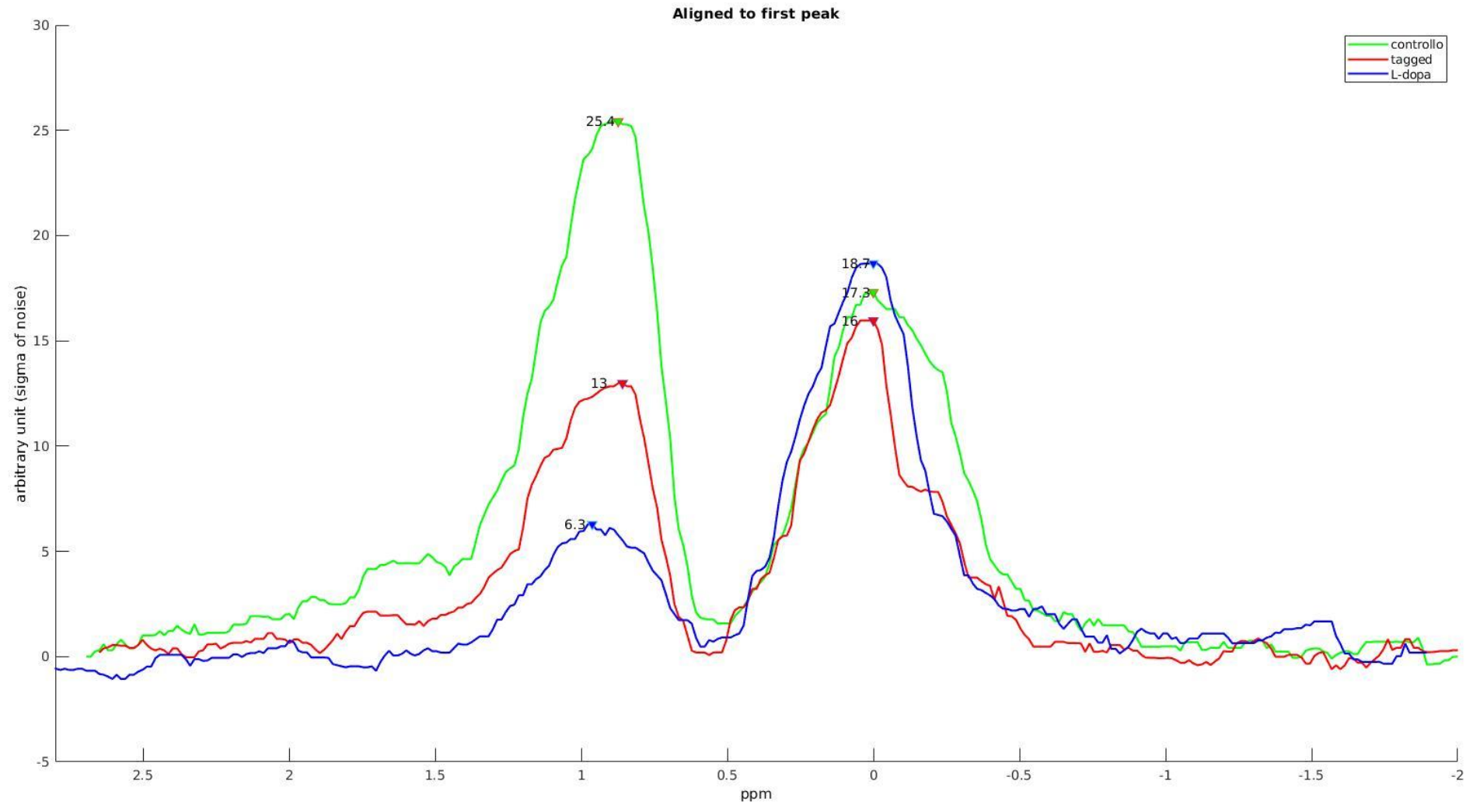
Media  $\rightarrow$  offset (si sottrae)

Sigma  $\rightarrow$  ampiezza fluttuazioni (Unità di misura)

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

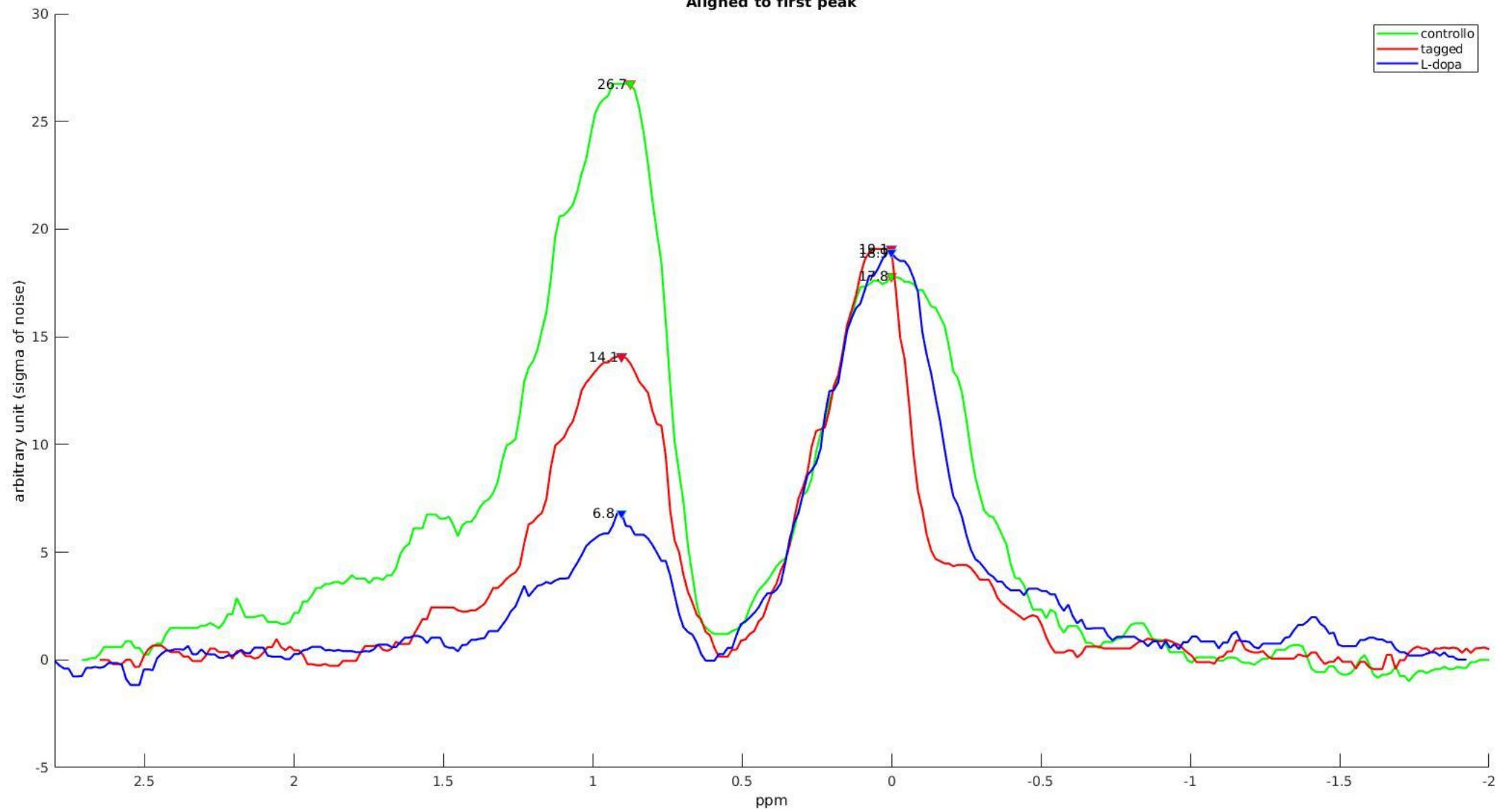


# Long T



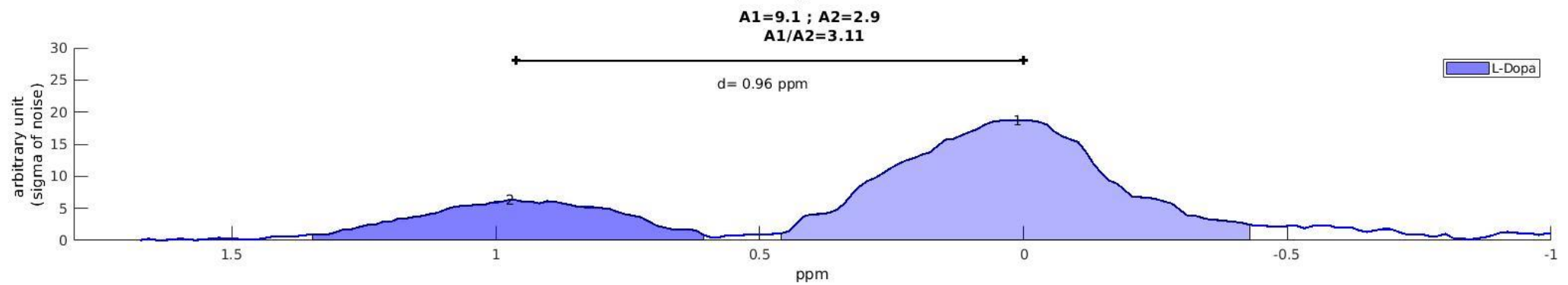
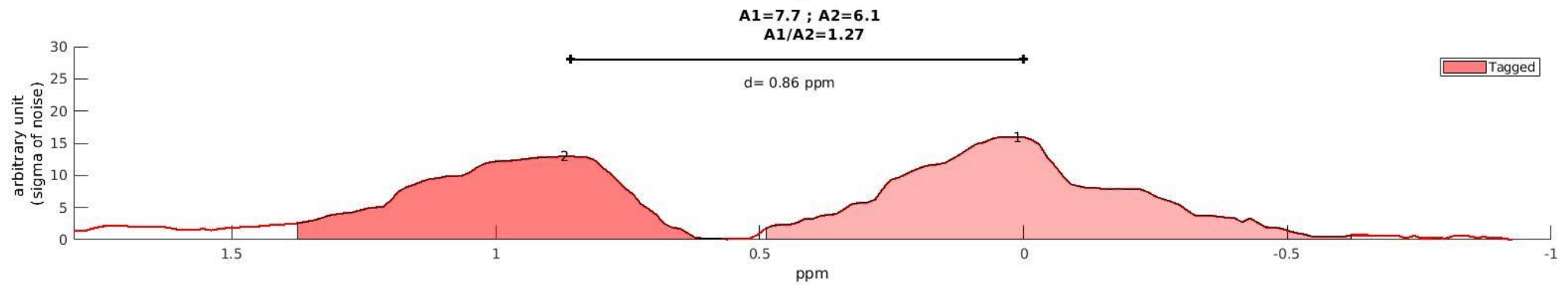
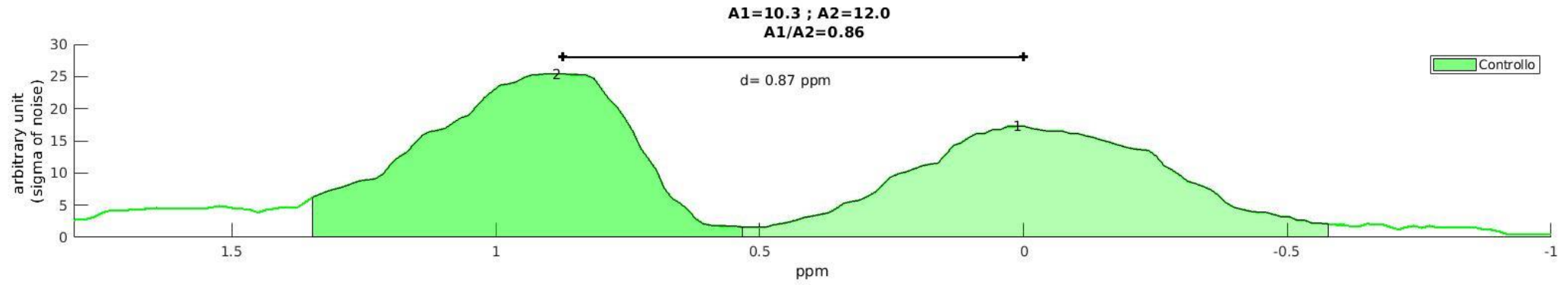
# Short T

Aligned to first peak

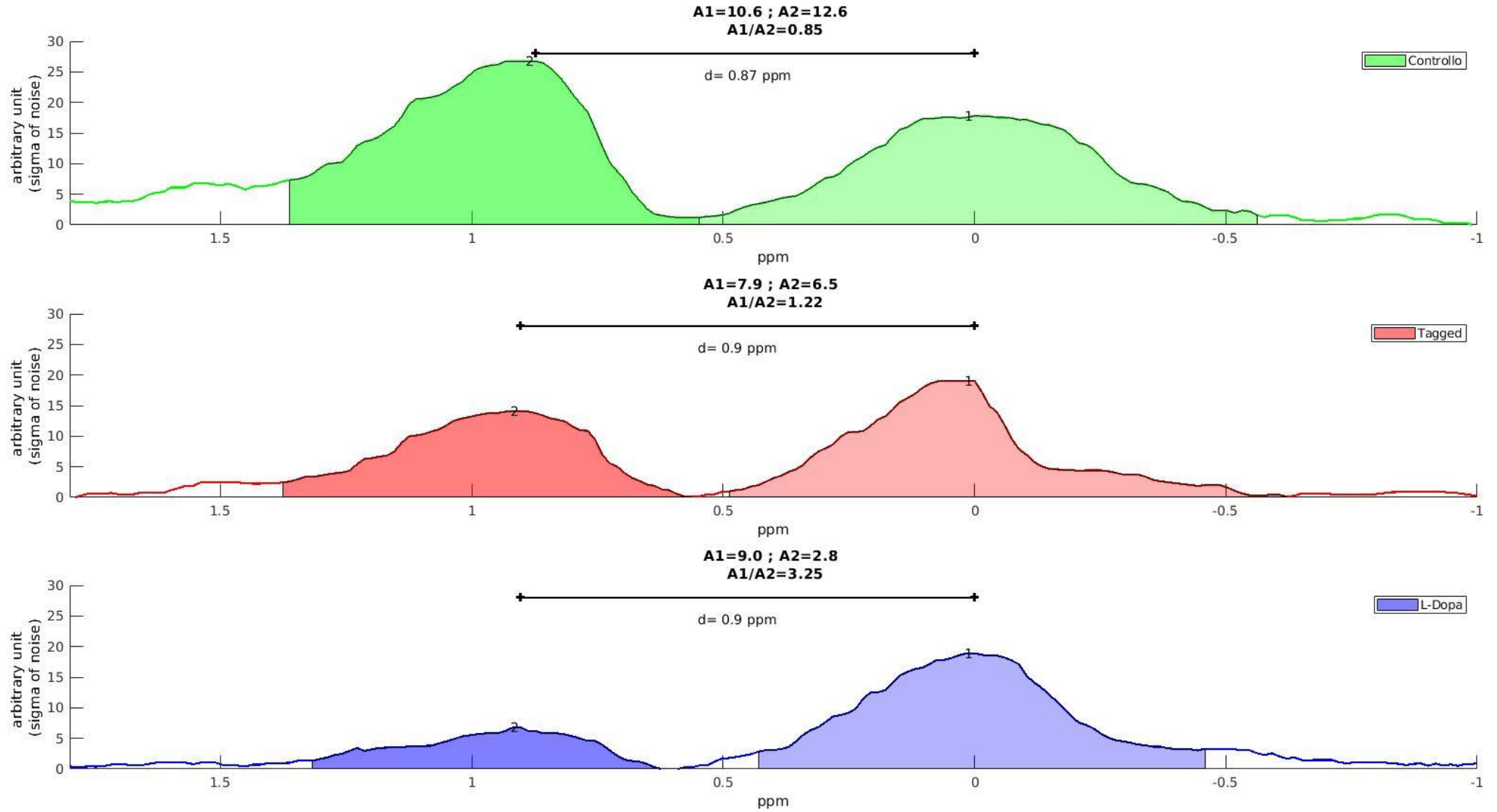




# Long T



# Short T



| T Long        | Controllo | F-BPA | L-Dopa + F-PBA |              |
|---------------|-----------|-------|----------------|--------------|
| Peak 1 (mag)  | 17.3      | 16.0  | 18.7           | $\sigma$     |
| Peak 2 (mag)  | 25.4      | 13.0  | 6.3            | $\sigma$     |
| $\Delta$ Peak | 0.87      | 0.86  | 0.96           | ppm          |
| Area 1        | 10.3      | 7.7   | 9.1            | $\sigma$ ppm |
| Area 2        | 12.0      | 6.1   | 2.9            | $\sigma$ 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  $\sigma$

Per le posizioni → 0.5 taglia del filtro: 0.1 ppm

Per le aree: 1  $\sigma$  ppm

| T short       | Controllo | F-BPA | L-Dopa + F-PBA |              |
|---------------|-----------|-------|----------------|--------------|
| Peak 1 (mag)  | 17.1      | 19.1  | 18.9           | $\sigma$     |
| Peak 2 (mag)  | 26.7      | 14.1  | 6.8            | $\sigma$     |
| $\Delta$ Peak | 0.87      | 0.90  | 0.90           | ppm          |
| Area 1        | 10.6      | 7.9   | 9.0            | $\sigma$ ppm |
| Area 2        | 12.6      | 6.5   | 2.8            | $\sigma$ 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  $\sigma$

Per le posizioni → 0.5 taglia del filtro: 0.1 ppm

Per le aree: 1  $\sigma$  ppm

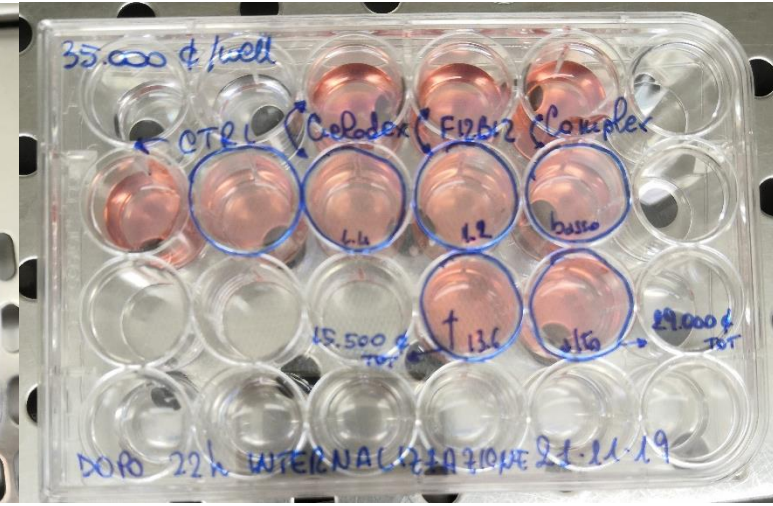
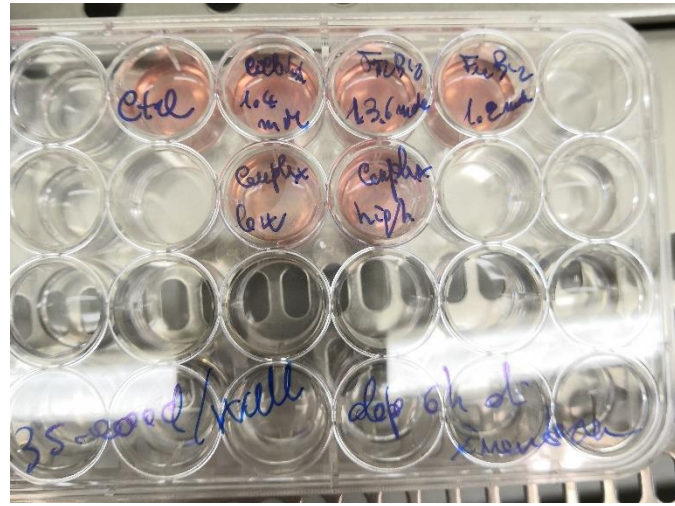
# Test Tossicità per F12B12

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)

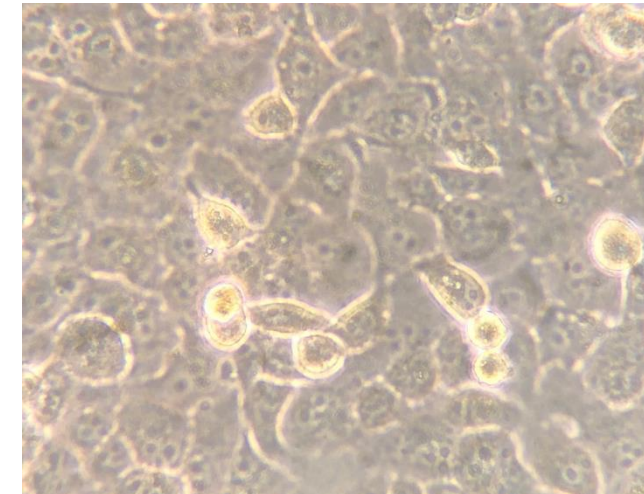


## Alta Concentrazione

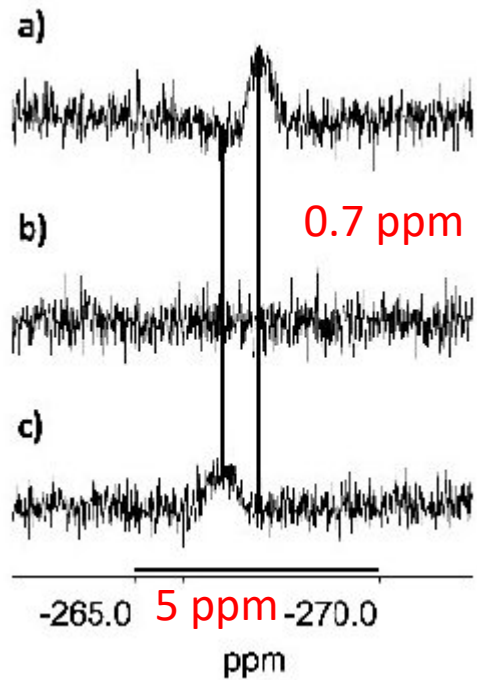
- Ad alta concentrazione le ciclodestrine e il complesso uccidono buona parte delle cellule a 7 ore
- Le cellule sopravvissute sono vitali dopo 48 ore
- Ci sono stati problem di solubilità → la concentrazione testata potrebbe essere inferiore al dichiarato

## 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

