Bildbasierte Sortierung von phagozytierenden Makrophagen

Robin, Spack, 22-25

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

DBMR, FCCS

1. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wird ein Experiment durchgeführt, bei dem phagozytierende Makrophagen mittels bildunterstützter Durchflusszytometrie sortiert werden. Das Ziel ist, dank der Bildunterstützung Makrophagen, die ein fluoreszierendes Partikel phagozytiert haben, von jenen Makrophagen zu unterscheiden, bei welchen keine Phagozytose stattgefunden hat. Dazu werden die Makrophagen mit Celllight™ Lysosomes-GFP markiert. Da die Beads in einer anderen Wellenlänge fluoreszieren als die markierten Makropagen, kann das Signal bei der Durchflusszytometrie unterschieden werden.

2. Einleitung

Ein Durchflusszytometer ist ein Gerät, welches Partikel in Suspension mithilfe von Lichtsignalen analysieren kann. Dazu werden Partikel mithilfe eines fluoreszierenden Farbstoffs markiert. Die Partikel werden dann mit einem Mantelstrom einzeln durch einen Laserstrahl geführt, welcher den Farbstoff anregt. Das emittierende Licht wird von einem Detektor erfasst. Die Tropfen, welche die Partikel umhüllen, können anschliessend positiv oder negativ aufgeladen werden. Mit einer gegensätzlich geladenen Platte können die Tropfen in eine Richtung gelenkt und so sortiert werden. Abbildung 1 zeigt schematisch den Aufbau eines solchen Durchflusszytometers. [1]

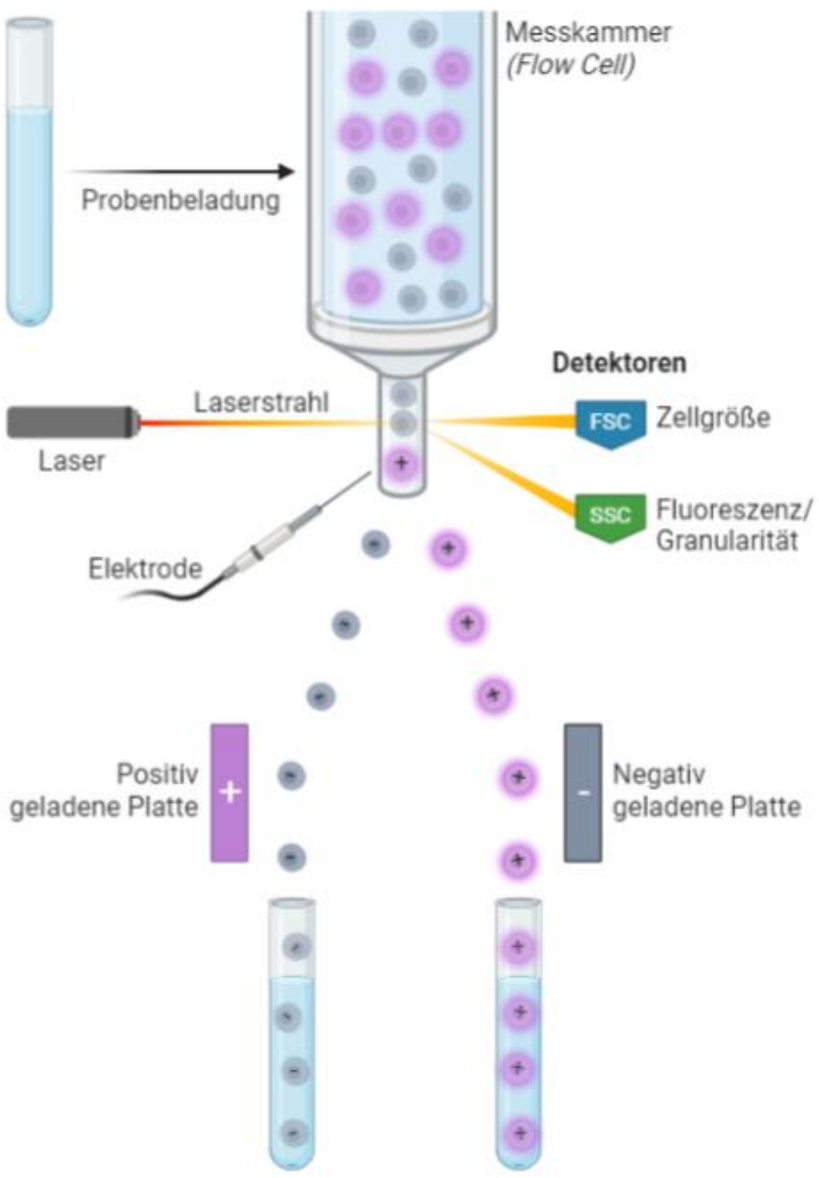


Abb. 1 Schematischer Aufbau eines Durchflusszytometers (Biomol, o. J.) - adaptiert

Das in dieser Arbeit verwendete Durchflusszytometer funktioniert identisch, nur mit dem Unterschied, dass aus dem detektierten Lichtstrahl zusätzlich ein Bild generiert wird. Mithilfe dessen kann die Lokalisation des Signals bestimmt werden. Dabei wird der Lichtstrahl in mehrere Strahlen aufgeteilt. Diese passieren den Partikel und werden vom Detektor aufgefangen. Die gemessenen Signale werden dann zu einem Bild zusammengefügt. [2]

3. Ziel der Arbeit

Das Ziel dieser Diplomarbeit ist es zu zeigen, dass der BD FACSDiscover™ S8 Makrophagen anhand der Lokalisation von Fluoreszenzsignalen von fusionierten Phagolysosomen und Beads in der Zelle sortieren kann.

4. Material, Methodik, Vorgehen

THP-1 Zellen wurden mit dem RPMI 1640 Medium kultiviert und anschliessend mit einem Fluoreszenzfarbstoff, welcher Lysosomen anfärbt und Beads, welche mit einem anderen Fluoreszenzfarbstoff markiert sind, inkubiert. Die Zellen phagozytierten die Beads und wurden anschliessend mit dem Durchflusszytometer sortiert. Dabei wurde die Bildgebung verwendet, um mithilfe der Lokalisation von Fluoreszenzsignale nur Zellen in ein Tube zu sortieren, welche die Beads phagozytiert haben.

5. Ergebnisse/ Resultate

In Abbildung 2 Ist ein Streudiagramm dargestellt, in welchem ersichtlich ist, dass ca. 12% der sortierten Zellen eine Korrelation von >=0.5 aufweisen.

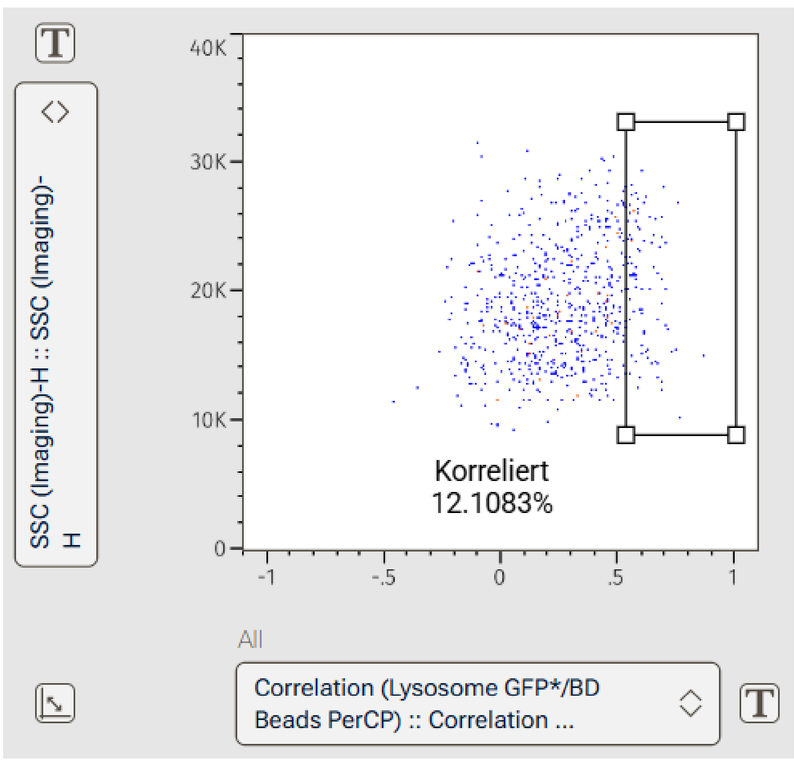


Abb. 2 Streudiagramm der sortierten Zellen (Spack, 2025)

6. Diskussion

Da nur ein kleiner Teil der sortierten Zellen eine hohe Korrelation der beiden Fluoreszenzsignale aufweist, funktioniert das Sortieren der Zellen noch nicht so wie gewünscht. Verbesserungspotential besteht in der Gatingstrategie, der Handhabung der Zellkulturen und dem Versuchsaufbau.

Referenzen

[1] Biomol. (o. J.). *Durchflusszytometrie*. https://www.biomol.com/de/ressourcen/anwendungen/durchflusszytometrie/

[2] Becton, Dickinson and Company. (o. J.). *BD Cellview ™ Image Technology.* https://www.bdbiosciences.com/en-at/learn/campaigns/cell-view-image-technology?tab=Technology

Abbildungen

Abb. 1 Biomol. (o. J.). *Durchflusszytometrie*. https://www.biomol.com/de/ressourcen/anwendungen/durchflusszytometrie/

Abb. 2 Spack, R. (2025). *Streudiagramm der sortierten Zellen.* Medi