

Evaluation de l'adsorption de l'ADN et des protéines ainsi que de la cytotoxicité de tubes de stockage d'échantillons en polypropylène au format 96

Par Alexis MacLeod : responsable mondiale des produits consommables et instruments chez Azenta Life Sciences

Vous pouvez la contacter à l'adresse : alexis.maccleod@azenta.com - www.azenta.com

Résumé

L'adsorption des biomolécules et la cytotoxicité induite par les matériaux constituant des paramètres de performance déterminants pour les consommables de laboratoire en plastique utilisés dans les flux de travail de biologie moléculaire et de culture cellulaire. Même de faibles niveaux de liaison non spécifique ou de substances relargables issues de ces plastiques peuvent entraîner une perte d'échantillon, une altération des concentrations ou des effets biologiques non souhaités, en particulier dans les applications à faible volume ou à haute sensibilité. Il est, par conséquent, essentiel de caractériser les interactions entre les tubes en polypropylène (PP), les acides nucléiques, les protéines et les cellules vivantes afin de garantir la justesse et la reproductibilité des résultats expérimentaux.

La présente étude examine l'adsorption de l'ADN double brin (dsDNA), l'adsorption des protéines et les effets cytotoxiques associés à des tubes de stockage d'échantillons en PP au format 96 couramment employés en laboratoire. À l'aide d'essais quantitatifs fondés sur la fluorescence et d'un test de viabilité cellulaire, les performances d'un tube à filetage interne au format 96 commercialisé par Azenta Life Sciences (FluidX™) ont été évaluées en parallèle avec celles de tubes provenant d'autres fabricants, afin d'analyser les interactions matériau-échantillon et la compatibilité biologique. Les résultats obtenus mettent en évidence l'influence des propriétés matérielles des tubes sur la rétention des biomolécules et les réponses cellulaires, et fournissent ainsi des éléments utiles à une sélection éclairée des consommables de stockage destinés aux flux de travail biologiques sensibles.

1. Introduction

Les consommables de laboratoire en plastique sont susceptibles d'influencer significativement les résultats expérimentaux, en raison de l'adsorption non intentionnelle des acides nucléiques et des protéines, ainsi que de la libération de substances relargables pouvant perturber les systèmes biologiques. Ces effets revêtent une importance particulière dans les applications à faible volume et à haute sensibilité, telles que la quantification de l'ADN, l'analyse des protéines et les essais cellulaires. La présente étude avait pour objectif d'examiner l'adsorption du dsDNA et des protéines dans des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène, ainsi que d'évaluer leur impact cytotoxique sur des cellules en culture au cours de périodes d'incubation définies.

2. Matériels et méthodes

2.1 Essai d'adsorption du dsDNA

L'adsorption du dsDNA a été évaluée à l'aide d'ADN de sperme de saumon, selon le protocole suivant :

• Préparation :

2 µL d'ADN de sperme de saumon à 100 mg/mL ont été dilués dans 10 mL de solution.

• Incubation :

Les échantillons ont été incubés dans des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène au format 96 pendant 24 heures.

• Mesure :

Un volume de 20 µL de solution a été mélangé à 180 µL de solution de travail Qubit dsDNA HS, vortexé, incubé pendant 2 minutes, puis quantifié au moyen d'un fluorimètre Qubit.

Ce protocole a permis d'établir une comparaison quantitative de l'adsorption du dsDNA entre des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène issus de plusieurs fabricants. Par souci de clarté, les tubes des différents fournisseurs sont désignés numériquement (Fabricant 1 à 4) tout au long de l'étude ; cette numérotation est utilisée exclusivement à des fins d'anonymisation et ne traduit ni classement ni hiérarchie de performance.

2.2 Essai d'adsorption des protéines

L'adsorption des protéines a été évaluée à l'aide de sérum fœtal bovin (FBS), selon le protocole suivant :

• Préparation :

1 µL de FBS a été dilué dans 99 µL de PBS.

Incubation :

Les échantillons ont été conservés dans les tubes pendant 24 heures.

• Mesure :

Un volume de 5 µL de solution a été mélangé à 195 µL de solution de travail Qubit Protein, vortexé, incubé pendant 15 minutes, puis analysé à l'aide du système Qubit.

Les niveaux d'adsorption des protéines ont ensuite été comparés entre les différents tubes évalués.

2.3 Évaluation de la cytotoxicité

La cytotoxicité a été évaluée au moyen d'un test de prolifération cellulaire WST-1, selon les modalités suivantes :

• Lignée cellulaire : fibroblastes murins 3T3

• **Densité d'ensemencement** : 5×10^3 cellules/puits dans des plaques à 96 puits (n = 3)

• **Temps d'incubation**: 4, 24, 48 et 52 heures

• Méthode d'essai :

10 µL de réactif WST-1 ont été ajoutés à chaque puits, puis incubés pendant 2 heures.

• Mesure :

L'absorbance a été mesurée à 450 nm (dilution au dixième).

Les courbes de croissance cellulaire ont été comparées à un témoin afin d'évaluer la cytotoxicité induite par le matériau.

3. Résultats

3.1 Adsorption du dsDNA

Comme l'illustre la **Figure 1**, le tube FluidX et un tube provenant d'un autre fabricant ont présenté les niveaux d'adsorption du dsDNA les plus faibles parmi les échantillons évalués, tandis qu'un second fabricant a montré une adsorption légèrement plus élevée. Ces résultats indiquent une perte minimale d'ADN lors du stockage et de la manipulation dans les tubes à faible adsorption, ce qui revêt une importance majeure pour une quantification précise des acides nucléiques.

3.2 Adsorption des protéines

Les résultats relatifs à l'adsorption des protéines ont suivi une tendance comparable à celle observée pour l'adsorption du dsDNA (**Figure 2**). Le tube FluidX a présenté une faible adsorption des protéines par rapport aux autres tubes évalués, confirmant ainsi une interaction limitée entre la surface du tube et les échantillons contenant des protéines.

3.3 Évaluation de la cytotoxicité

Les résultats de viabilité cellulaire ont montré que le tube FluidX générait une courbe de croissance étroitement superposable à celle du témoin pour l'ensemble des temps d'incubation évalués (**Figure 3**). Après environ 50 heures, l'échantillon témoin et les échantillons FluidX ont tous deux présenté une diminution physiologique de la croissance cellulaire, ce qui indique l'absence de cytotoxicité induite par le matériau.

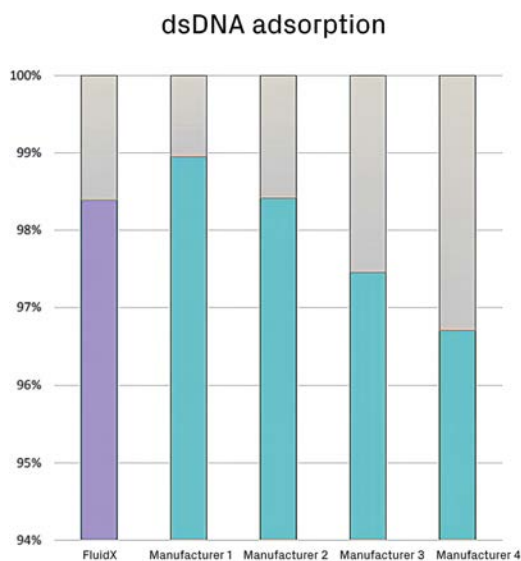
En revanche, les tubes provenant d'autres fabricants ont présenté des profils de croissance cellulaire modifiés :

• **Le fabricant 3** a présenté une inhibition de la prolifération cellulaire ainsi qu'une incapacité à atteindre la confluence, suggérant la présence de substances relargables altérant la viabilité cellulaire.

• **Les fabricants 1 et 2** ont présenté des taux de croissance réduits sur l'ensemble de la période d'incubation, indiquant une interférence potentielle avec la prolifération cellulaire malgré un apport nutritif suffisant dans le milieu de culture.

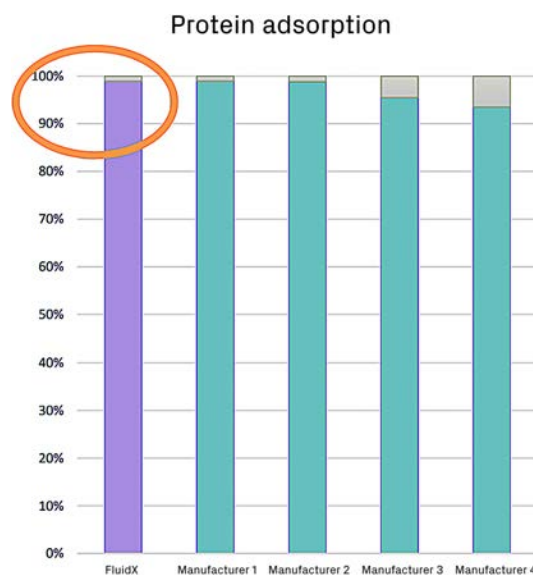
La forte concordance entre la courbe de croissance du tube FluidX et celle du témoin confirme sa biocompatibilité dans les conditions expérimentales évaluées.

>>>



dsDNA adsorption (FluidX 0.48ml 2D-Coded Tube, 96-format, Internal Thread)
After Manufacturer 1, FluidX & Manufacturer 2 shows the lowest dsDNA adsorption.

Figure 1. Adsorption du dsDNA dans des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène au format 96. Comparaison de l'adsorption de l'ADN double brin (dsDNA) entre des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène au format 96 disponibles dans le commerce après 24 heures d'incubation. Le tube FluidX correspond à un volume utile de 0,48 mL, tandis que les autres tubes sont généralement désignés par un volume nominal de 0,5 mL



Protein low adsorption (FluidX 0.48ml 2D-Coded Tube, 96-format, Internal Thread)
Same as the DNA adsorption, FluidX tube has the second best excellent data with the protein adsorption.

Figure 2. Adsorption des protéines dans des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène au format 96. Comparaison de l'adsorption des protéines entre des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène au format 96 disponibles dans le commerce après 24 heures d'incubation, à l'aide de sérum fœtal bovin (FBS). La concentration protéique a été quantifiée au moyen d'un test Qubit Protein. Le tube FluidX correspond à un volume utile de 0,48 mL

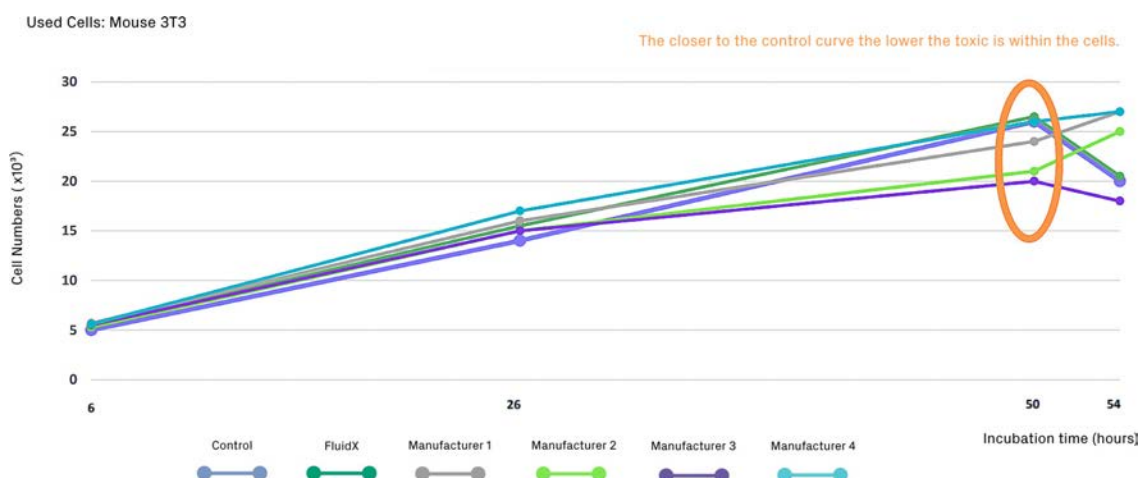


Figure 3. Evaluation de la cytotoxicité à l'aide du test WST-1. Évaluation de la viabilité de fibroblastes murins 3T3 cultivés dans un milieu ayant été exposé à des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène au format 96. La prolifération cellulaire a été évaluée au moyen d'un test WST-1, avec mesure de l'absorbance à 450 nm, sur des périodes d'incubation allant jusqu'à 54 heures. Le tube FluidX correspond à un volume utile de 0,48 mL.

4. Discussion

Une faible adsorption de l'ADN et des protéines permet de limiter la perte d'échantillon et la variabilité analytique, tandis qu'une faible cytotoxicité est indispensable à la compatibilité avec les essais cellulaires. Les résultats de cette étude montrent que la qualité de fabrication et la formulation des matériaux des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène peuvent influencer de manière significative tant la rétention des biomolécules que la réponse biologique. Le tube FluidX à filetage interne a présenté des performances constamment favorables pour l'ensemble des paramètres évalués, ce qui témoigne de procédés de fabrication maîtrisés et d'une sélection rigoureuse des matériaux.

5. Conclusion

La présente étude montre que les performances des tubes de stockage d'échantillons en polypropylène sont fortement conditionnées par la formulation des matériaux et la qualité de fabrication, avec des effets mesurables sur la rétention des biomolécules et la compatibilité biologique. À l'aide d'essais quantitatifs fondés sur la fluorescence et d'un test de viabilité cellulaire, il a été démontré que le tube interne en polypropylène FluidX présentait une interaction minimale avec les acides nucléiques comme avec les protéines, tout en préservant sa compatibilité avec des cellules en culture pendant toute la période d'incubation évaluée.

Plus précisément, le tube FluidX s'est caractérisé par :

- Une faible adsorption de l'ADN double brin (dsDNA), favorisant une récupération et une quantification précises des acides nucléiques
- Une faible adsorption des protéines, réduisant la perte d'analytes et la variabilité des essais fondés sur les protéines
- L'absence d'effet cytotoxique détectable sur les fibroblastes murins 3T3, indiquant l'absence de substances relargables nocives

Ces résultats soulignent à quel point la maîtrise des procédés de fabrication et le choix des matériaux peuvent influencer directement sur la fiabilité expérimentale. Une faible adsorption des biomolécules contribue à améliorer la reproductibilité des flux de travail en biologie moléculaire et en analyse protéique, tandis que l'absence d'effets cytotoxiques revêt une importance particulière pour les applications impliquant une exposition cellulaire, l'utilisation de milieux conditionnés ou la mise en œuvre d'essais biologiques en aval. Dans l'ensemble, les résultats confirment la pertinence du tube de stockage d'échantillons en polypropylène FluidX pour les applications de biologie moléculaire, d'analyse des protéines et d'essais cellulaires, lorsque l'intégrité de l'échantillon et la compatibilité biologique constituent des exigences majeures.

Remarque : les volumes des tubes sont indiqués conformément aux conventions des fabricants. FluidX spécifie le volume utile (0,48 mL), tandis que de nombreux fabricants indiquent la classe nominale du tube (0,5 mL). Tous les tubes évalués appartiennent à la même catégorie de format 96.