



### Détermination de la pluripotence des cellules souches par spectroscopie Raman

Au cours des dernières décennies, les cellules souches pluripotentes (CSP) ont fait l'objet d'un intérêt massif de la part des pharmaceutiques en tant que solution thérapeutique future pour le traitement des maladies chroniques. La recherche dans ce domaine s'est largement concentrée sur la façon d'augmenter la production de ces CSP. Il est donc nécessaire d'assurer une surveillance et un contrôle robuste des procédés lors du passage de l'échelle du laboratoire à celle de la production.

### Objectif : Évaluation rapide at-line de la pluripotence des cellules souches

Pour réussir à cultiver des cellules souches, il est essentiel de maintenir leur état de pluripotence tout en stimulant leur prolifération. Actuellement, les méthodes disponibles pour évaluer rapidement la pluripotence des cellules souches au cours de leur expansion sont limitées.

La plupart d'entre elles reposent sur des analyses « à postériori » chronophages qui présentent des variations significatives dues à l'opérateur. Afin d'évaluer cet attribut critique, nous proposons d'utiliser la spectroscopie Raman comme outil d'analyse pour classer la pluripotence des CSP.

### Viserion : la solution d'analyse in/at-line des paramètres critiques

Indatech fournit une solution d'inspection unique, capable de contrôler à la fois des caractéristiques physiques et chimiques des liquides. Le viserion permet d'effectuer des analyses rapides et non destructives, en ligne. Il est capable de :

- Réaliser des mesures simultanées en utilisant jusqu'à quatre canaux.
- Apporter des informations relatives à la composition chimique des liquides complexes
- Faire des acquisitions très rapides (< 0.5 s dans l'isopropanol)
- Analyser des produits finis au travers d'un emballage plastique ou de verre

### Mesure at-line de la pluripotence des cellules souches : comment ?

Les échantillons de milieu de culture mesurés proviennent de six expériences différentes.

L'expansion des cellules souches s'effectue avec un renouvellement quotidien des milieux de culture, ensuite l'échantillon de ce milieu de culture utilisé (sans cellules) est prélevé pour analyse par spectroscopie Raman (Cf. Figure 01). Au total, 158 échantillons ont été mesurés dont 51 qui étaient de mauvaise pluripotence.

Les spectres Raman ont été recueillis à l'aide de l'analyseur multivoie Viserion® 785 nm, couvrant une gamme spectrale de 250 à 3200  $\text{cm}^{-1}$ . Les échantillons ont été analysés avec le « Vial Analyzer » en utilisant des cuvettes en quartz de 10 mm.

La conception de ce dernier permet une analyse robuste et reproductible de l'échantillon, car la tête de la sonde est fixée au support contenant l'échantillon. Les spectres ont été enregistrés en utilisant un temps d'intégration de 100 s, avec trois accumulations.

L'utilisation de  $\geq 3$  accumulations permet un filtrage automatique des pics issus des rayons cosmiques dans les spectres. Cette fonction est implémentée dans le logiciel Viserion ready®.

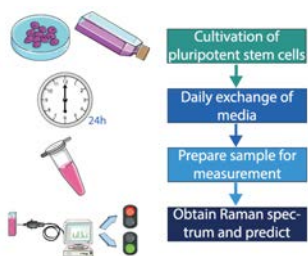


Figure 1 :

Le setup expérimental pour la détermination de la pluripotence des cellules souches par spectroscopie Raman

Tableau 1 :  
Matrice de confusion pour le modèle SVM-DA

|              |      | Predicted |      |
|--------------|------|-----------|------|
|              |      | Bad       | Good |
| Actual (CV)  | Bad  | 30        | 7    |
|              | Good | 8         | 66   |
| Actual (Val) | Bad  | 11        | 2    |
|              | Good | 0         | 22   |

CV= Cross-Validation ; Val=Validation

## Résultats et discussion

Toutes les analyses de données ont été effectuées à l'aide de MATLAB R2021b et PLS\_Toolbox de chez Eigenvector. Des modèles de classification supervisée ont été développés (PLS-DA, SVM-DA) afin de discriminer les échantillons en bonne et mauvaise pluripotence.

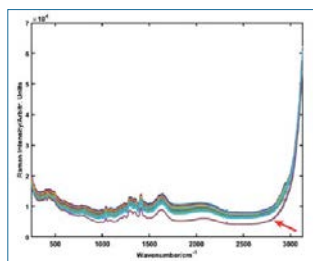


Figure 2 :

Spectres bruts de N = 153 milieu utilisé d'échantillons. La flèche rouge indique les spectres outliers. Ces spectres ont été supprimés avant l'analyse chimiométrique.

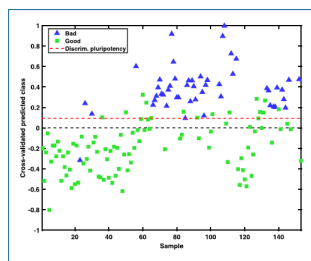


Figure 3 :

Prédiction de la pluripotence par validation-croisée avec le modèle PLS-DA à 8 composantes. Les échantillons sont colorés en fonction des classes.



Nos équipes INDATECH  
seront ravis de répondre à vos questions  
par téléphone +33 4 80 78 01 40

## Avantages du spectromètre Raman Viserion



La technologie Raman propose une solution flexible pour le contrôle in/at-line de procédés de culture cellulaire :

- Mesure rapide qui permet de suivre l'état des cellules souches pluripotentes
- Un ensemble de sondes, flow-cells et vial analyseurs qui permettent une mesure fiable et reproductible
- Une spectroscopie Raman associée à la chimiométrie permettant la caractérisation physico-chimique du produit d'intérêt afin de prendre des décisions en temps réel.

Pour plus d'informations, nous vous invitons à consulter le document de recherche : Hagedorn, J., Halloin, C., Skibsted, E., Poulsen, L., & Hedegaard, M. A. (2023). Determination of stem cell pluripotency in spent cultivation media by Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*. <https://doi.org/10.1002/jrs.6532>

