

Allgemeine Diskussion und Zusammenfassung zur Nachfolgenden Studie

Geschrieben von: _Ian Mitchell, CSA 4-4-2023

Nachdem ich den unten stehenden Bericht von Dr. Sheaff erhalten hatte, bestand meine Aufgabe als wissenschaftlicher Chefberater von Leela Quantum Tech darin, die Daten zu bewerten und zu sehen, welche Schlussfolgerungen und Auswirkungen daraus abgeleitet werden können.

Alle drei genannten Experimente wurden in Doppelblindstudien durchgeführt. Dr. Sheaff wusste nicht, welche Zellen mit der fortschrittlichen Technologie von Leela Quantum Tech aufgeladen wurden und welche nicht, ebenso wenig wie die Experimentatoren, die die Quantenaufladung aus über 500 Meilen Entfernung durchführten.

Die Daten zeigen deutlich, dass die erwartete stochastische Verteilung der ATP-Produktionsraten nicht durchgängig in allen Ergebnissen zu beobachten ist. Mit dem Fortschreiten der Experimente und der Eliminierung von Variablen und Quellen möglicher Komplikationen ergibt sich nach der Analyse der Datensätze ein klareres Bild.

Bei Experiment Nr. 3 ist deutlich zu erkennen, dass die vorübergehende Verschiebung hin zu einer Hochregulierung der ATP-Produktionsraten eine konsistente Funktion in allen quantengeladenen Zellen darstellt - im starken Gegensatz zu den ungeladenen Zellen steht.

Die ATP-Produktionsraten stiegen in allen behandelten Gruppen konsistent um 20-29 %.

Dies zeigt nachweislich, dass die Auswirkungen auf die zelluläre Energieproduktion durch Quantenaufladung tiefgreifende Veränderung bewirken kann und dass es in biologischen Systemen definitiv nicht lokale Wechselwirkungen gibt.

Eine Steigerung der zellulären Energieleistung um mehr als 20 % gegenüber dem Ausgangswert ermöglicht es einer Person, in allen Bereichen mehr biologische Ressourcen zur Verfügung zu haben. Sie kann Menschen helfen, Verletzungen besser zu regenerieren, Krankheiten abzuwehren, eine bessere geistige Verarbeitung zu ermöglichen und sportliche Leistung erheblich zu steigern.

_Ian Mitchell

Bericht zur "ATP-Studie", erstellt von Dr. Robert Sheaff, 4-10-23

Qualifikationen

Ich bin Biochemiker mit über 30 Jahren Erfahrung in diesem Bereich. Ich habe einen B.A. von der University of North Carolina (mit Auszeichnung in Biologie und Philosophie), einen Dokortitel von der University of Colorado in Boulder (Chemie) und war als Postdoktorand am Fred Hutchinson Cancer Research Center (Zellbiologie) tätig.

Derzeit bin ich außerordentlicher Professor für Biochemie an der University of Tulsa. Die Kunden haben sich an mich gewandt, um eine Reihe von Experimenten zur Bewertung von Quanteneffekten auf verschiedene Zellparameter zu planen und durchzuführen.

Disclaimer

Diese Veröffentlichung, die ihr zugrundeliegende Arbeit und alle darin enthaltenen Meinungen werden ausschließlich in meiner persönlichen Eigenschaft als Berater durchgeführt und abgegeben und sind keine formellen oder informellen Erklärungen oder Meinungen, die von der Universität Tulsa oder in ihrem Namen abgegeben werden.

Ziel

Kunden haben die Hypothese aufgestellt, dass sich zwei oder mehr biologische Systeme trotz räumlicher Trennung über einen Quanten- oder Äthereffekt gegenseitig beeinflussen können.

In der Physik ist die Quantenverschränkung ein unerwartetes, kontraintuitives Phänomen, das zu erklären versucht, wie zwei subatomare Teilchen miteinander verbunden sein können, auch wenn sie durch große Entfernungen getrennt sind. Das Äthermodell geht von der Existenz eines raumfüllenden Feldes als Übertragungsmedium aus, das sich buchstäblich hinter und innerhalb der Materie befindet. Dieses Feld ist überall, und man kann darauf zugreifen, es bündeln und nutzen - zum Beispiel, um (biologische) Systeme über die Entfernung zu beeinflussen. Trotz der physischen Trennung durch die Entfernung gibt es experimentelle Hinweise darauf, dass Veränderungen über die Distanz hinweg durch "**Verschränkung**" oder eine "**Feldverbindung**" hervorgerufen werden können. Die Kunden schlagen vor, dass ein ähnliches Phänomen auf biologischer Ebene existiert und dass unter bestimmten Bedingungen ein biologisches System (wie eine Zelle) aus der Ferne beeinflusst werden kann.

Zusammenfassung

Dieser Bericht beschreibt die Ergebnisse von drei ersten Experimenten zur Analyse von Quanten- oder Feldeffekten auf den zellulären ATP-Spiegel. ATP wurde als biologische Messgröße ausgewählt, da es die Energiewährung der Zelle ist und eine wesentliche Rolle bei allen Aspekten der Zellfunktion, Aktivität und allgemeinen Gesundheit spielt. Darüber hinaus wird ATP ständig verbraucht und neu synthetisiert, um optimale Werte aufrechtzuerhalten. Sein dynamischer Umsatz bedeutet, dass jede (positive oder negative) Beeinflussung des ATP-Verbrauchs oder der ATP-Produktion eine beobachtbare und quantifizierbare Auswirkung auf seine Werte haben kann. Mein Labor verfügt über extrem empfindliche experimentelle Techniken, die routinemäßig zur Messung des zellulären ATP-Spiegels eingesetzt werden,

Bericht zur "ATP-Studie", erstellt von Dr. Robert Sheaff, 4-10-23

in der Regel um festzustellen, ob und wie er sich als Reaktion auf chemische Wirkstoffe verändert, die biologische Prozesse beeinflussen könnten (z. B. Chemotherapeutika oder Stoffwechsellanreger).

Versuch 1 (8262)

Um diese Hypothese zu testen, wurden im ersten Versuch zehn identische Zellkulturplatten (60 mm) mit A549-Zellen gemäß dem in Abbildung 1 dargestellten Schema hergestellt. A549 sind eine adhärenente humane nicht-kleinzellige Lungenkrebszelllinie, die 1972 von D. J. Giard und Kollegen durch Entnahme und Kultivierung von Lungenkarzinomgewebe aus dem Tumor eines 58-jährigen weißen Mannes hergestellt wurde. Die A549-Zelllinie besteht aus hypotriploiden alveolären Basalepithelzellen und wird häufig sowohl in der Grundlagenforschung als auch in der Arzneimittelforschung eingesetzt.

Frühere Arbeiten in meinem Labor haben gezeigt, dass A549-Zellen ATP über dieselben Stoffwechselwege erzeugen, die auch in anderen Zelltypen evolutionär konserviert sind, und dass diese ATP-Konzentrationen durch die Zugabe von Stoffwechsellinhibitoren manipuliert werden können. Daher eignen sie sich als Modellsystem für die vorgeschlagenen Experimente.

Die Zellen wurden in Standard-DMEM-Medien mit 10 % FBS gehalten und über Nacht bei 37°C und 5 % CO₂ bebrütet, damit sie sich am Plattenboden festsetzen konnten. Am nächsten Tag wurden fünf Platten zufällig mit "A" und fünf Platten zufällig mit "B" beschriftet. Beide Sätze wurden dann an einen Kollegen übergeben, der den Quantenaspekt des Experiments in Zusammenarbeit mit den Kunden in Deutschland durchführte.

In diesem Teil des Experiments wurde eine Zellgruppe mit dem Quanteneffekt "behandelt", während die andere unbehandelt blieb. Dieser Prozess wurde in meiner Abwesenheit durchgeführt. Die Zellkulturplatten wurden mir innerhalb von 5 Minuten zurückgegeben und in den Inkubator gestellt, ohne dass ich wusste, welcher Satz behandelt worden war. Zu den in Abbildung 2 angegebenen Zeitpunkten wurde eine Zellkulturplatte aus jeder Zellgruppe aus dem Inkubator genommen und das Medium abgesaugt. Die Zellkulturplatte wurde dann mit 2,5 ml PBS gewaschen, abgesaugt und die angehefteten Zellen vom Plattenboden durch Behandlung mit 0,5 ml Trypsin bei 37°C für 5 Minuten entfernt. Die Zellen wurden durch Zentrifugation pelletiert und in 500 Mikrolitern DMEM resuspendiert. Der ATP-Gehalt in 50 Mikrolitern der Zellsuspension wurde dann durch Zugabe von CellTiterGlo gemessen, einem im Handel erhältlichen Reagenz, das ATP in Abhängigkeit von der Lichtemission der Luziferase misst. Die Lumineszenz wurde mit einem Cystation-Plattenlesegerät und einem Luminometer gemessen. Alle Zeitpunkte wurden als Duplikate ausgewertet, so dass die Standardabweichung bestimmt werden konnte. Die Identität der behandelten Gruppe wurde erst bekannt gegeben, nachdem alle Daten gesammelt, aber noch nicht ausgewertet worden waren.

Abbildung 2 vergleicht die ATP-Konzentrationen in unbehandelten und behandelten Zellen im Zeitverlauf. Man beachte, dass der ATP-Gehalt in der behandelten Probe bereits nach 10 Minuten höher ist und mindestens 2 Stunden lang höher bleibt.

Dieser Unterschied wird deutlich, wenn man die gleichen Daten als prozentualen Unterschied zwischen behandelten und unbehandelten Zellen darstellt (Abbildung 3). Dieser Unterschied könnte einfach durch kleine Abweichungen in der Anzahl der plattierten Zellen erklärt werden, aber wenn dies der Fall wäre, hätte der Unterschied im ATP zu jedem Zeitpunkt konstant sein müssen. Beachten Sie, dass die ATP-Werte nach 3 Std. wieder auf dem Niveau der unbehandelten Kontrollgruppe liegen, was darauf hindeutet, dass der vorübergehende Anstieg real ist. Um diese Möglichkeit auszuschließen (und um andere potenzielle Komplikationen mit dem ursprünglichen Versuchsaufbau zu verringern oder zu beseitigen), wurde Versuch 2 durchgeführt.

Bericht zur "ATP-Studie", erstellt von Dr. Robert Sheaff, 4-10-23

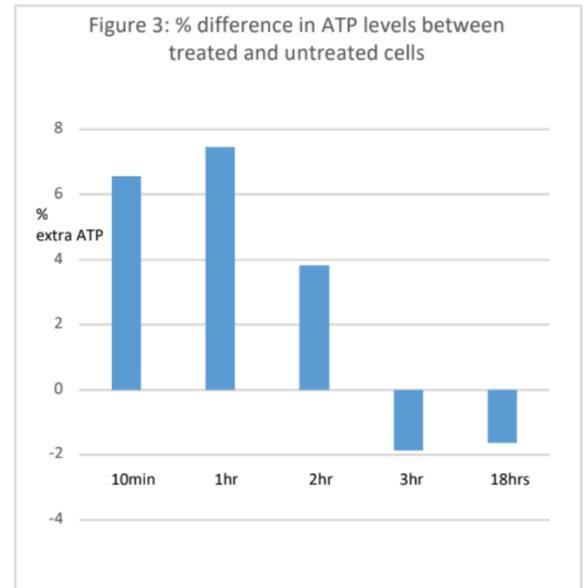
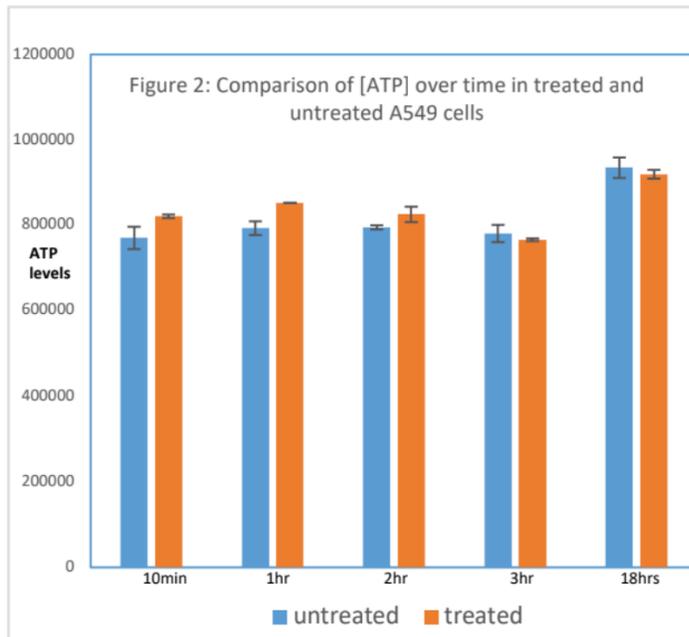


Abbildung 2: Vergleich von [ATP] im Laufe der Zeit in behandelten und unbehandelten A549-Zellen

Abbildung 3: Unterschied im ATP-Spiegel zwischen behandelten und unbehandelten Zellen

Versuch 2 (8311)

1. N
2. Dieses Versuchsschema ermöglicht es, die Medien, in denen die Zellen gehalten werden, zu variieren, was wiederum Einfluss darauf hat, welche Stoffwechselwege zur Erzeugung von ATP genutzt werden. Diese Methode wird in meinem Labor häufig verwendet, um festzustellen, auf welche Stoffwechselwege ein Medikament wirkt. DMEM minimal enthält keine Nährstoffe, L15 enthält Aminosäuren, aber keine Glukose, DMEM enthält sowohl Aminosäuren als auch Glukose, und DMEMF ist dasselbe wie DMEM, enthält aber zusätzlich 10 % FBS.

A459- und HDF-Zellen wurden mit Trypsin aus einer 100-mm-Kulturplatte gelöst, in einem minimalen DMEM-Medium (ohne Nährstoffe) resuspendiert und dann in einzelne Röhrrchen mit verschiedenen Medienzusammensetzungen aliquotiert. Jedes Röhrrchen wurde dann auf 12 Vertiefungen von zwei 96-Well-Platten verteilt (von denen eine bewertet wird und die andere als Kontrolle dient), wodurch sichergestellt wird, dass jede Vertiefung die gleiche Anzahl von Zellen enthält (siehe Abbildung 4). Die Zellen wurden bei 37°C + CO₂ für 1 Stunde bebrütet, damit sie sich an die Medienzusammensetzung gewöhnen und ihre Stoffwechselwege entsprechend anpassen können. Es ist wichtig zu beachten, dass die Zellen während dieser Zeit keine Möglichkeit zur Zellteilung haben, sodass dieser Faktor als störende Variable ausgeschlossen werden kann.

Nach 1 Stunde wurde der ATP-Gehalt in zwei Vertiefungen der beiden Platten gemessen. Dies ist wichtig, weil es die ATP-Werte in unbehandelten Zellen für beide Platten (behandelt und unbehandelt) liefert. Wie oben wurden die Platten nach dem Zufallsprinzip mit "A" und "B" beschriftet. Beide Platten wurden dann

Bericht zur "ATP-Studie", erstellt von Dr. Robert Sheaff, 4-10-23

an einen Kollegen übergeben, der den Quantenaspekt des Experiments in Zusammenarbeit mit den Kunden in Deutschland durchführte. Dieser Teil des Experiments, bei dem ein Satz von Zellen mit dem Quanteneffekt "behandelt" wurde, während der andere nicht behandelt wurde, wurde in meiner Abwesenheit durchgeführt. Die Platten wurden mir innerhalb von 5 Minuten zurückgegeben und in den Inkubator gestellt, ohne dass ich wusste, welcher Satz behandelt worden war. Zu den in Abbildung 5 angegebenen Zeitpunkten wurde ATP analysiert, indem CTG direkt in jede Vertiefung pipettiert wurde (in doppelter Ausführung). Diese Änderung war wichtig, da mögliche Fehlerquellen durch das Entfernen der Zellen von einer Platte vermieden werden.

Die Daten in Abbildung 5 mit A549-Zellen stimmen qualitativ mit denen in Abbildung 2 überein und zeigen einen vorübergehenden Anstieg des ATP-Spiegels in Zellen, die dem Quanteneffekt ausgesetzt sind.

Die Medienvariationen liefern zusätzliche Informationen. Man beachte, dass in DMEM minimal kein signifikanter Unterschied zwischen den Sets A und B besteht und dass der ATP-Gehalt mit der Zeit sogar abnimmt. Dies ist zu erwarten, da das Minimalmedium nicht die für die ATP-Produktion erforderlichen Nährstoffe enthält. Im Gegensatz dazu zeigen L15, DMEM und DMEMF - die verschiedene für die ATP-Produktion erforderliche Nährstoffe enthalten - alle einen vorübergehenden Anstieg des ATP-Spiegels im Vergleich zur Kontrolle.

Dieser Effekt scheint jedoch nicht so lange anzuhalten wie in Versuch 2, und einige der Datensätze weisen eine etwas größere Streuung auf. Letzteres spiegelt wahrscheinlich den Versuch wider, kürzere Zeitpunkte zu messen, was technisch anspruchsvoller ist.

Im Gegensatz dazu zeigen die Daten mit HDF-Zellen keinen Anstieg des ATP-Spiegels der behandelten Zellen; in einigen Fällen (z. B. L15 und DMEM) sinkt der ATP-Spiegel im behandelten Zellensatz sogar.

A priori ist unklar, warum der Quanteneffekt zelltypspezifisch sein und/oder entgegengesetzte Auswirkungen haben könnte.

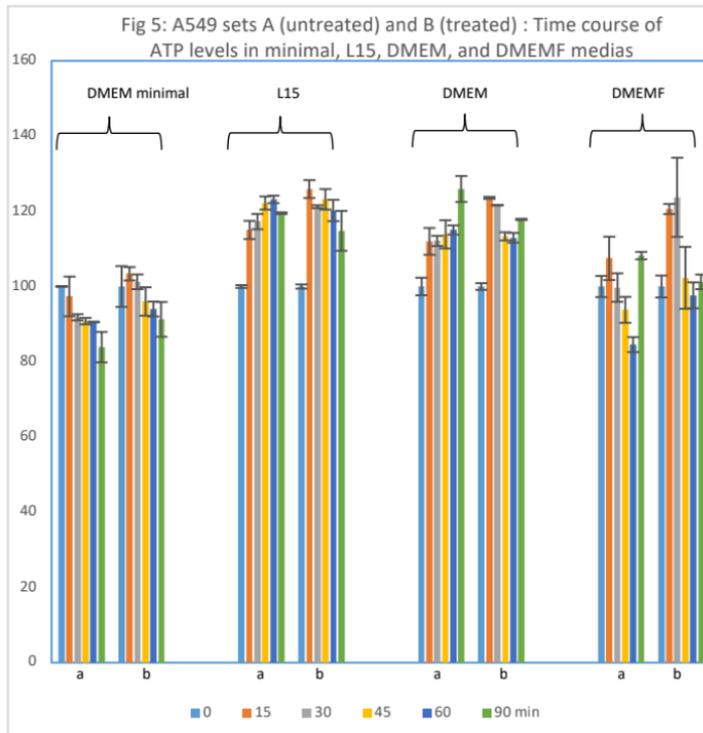


Figure 5: ATP levels over time in A549 cells exposed to quantum effects (set B) and untreated (set A). Cells were incubated in different medias to alter metabolic pathways involving ATP synthesis and/or use. Time zero is ATP levels in untreated cells before initiating the experiment. After treatment ATP levels were determined at the times indicated. Data are plotted as a % of the t=0 control.

Abbildung 5:

Abb. 5: A549 Sets; A (unbehandelt) und B (behandelt): Zeitverlauf von ATP-Spiegel in minimalen, L15-, DMEM- und DMEMF-Medien

ATP-Spiegel im Laufe der Zeit in A549-Zellen, die Quanteneffekten ausgesetzt waren (Samme B) und unbehandelt (Samme A). Zellen wurden in verschiedenen Medien inkubiert, um die Stoffwechselwege zu verändern, die die ATP-Synthese und/oder -Nutzung beinhalten. Zeit Null ist der ATP-Spiegel in unbehandelten Zellen vor Beginn des Experiments. Nach der Behandlung wurden die ATP-Spiegel zu den angegebenen Zeiten bestimmt. Die Daten werden als % des t=0-Steurelements aufgetragen.

Bericht zur "ATP-Studie", erstellt von Dr. Robert Sheaff, 4-10-23

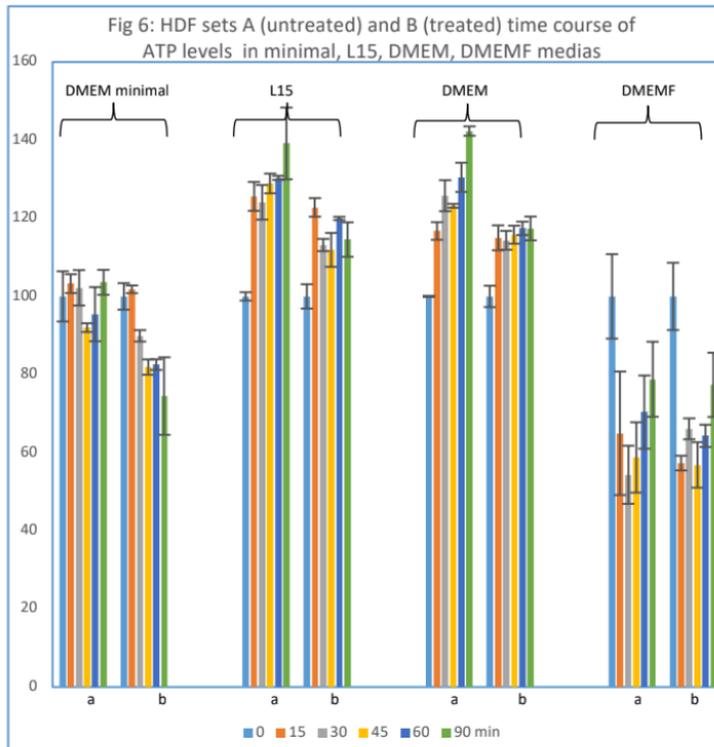


Figure 6: ATP levels over time in HDF cells exposed to quantum effects (set B) and untreated (set A). Cells were incubated in different medias to alter metabolic pathways involving ATP synthesis and/or use. Time zero is ATP levels in untreated cells before initiating the experiment. After treatment ATP levels were determined at the times indicated. Data are plotted as a % of the t=0 control.

Abbildung 6: HDF Sets; A (unbehandelt) und B (behandelt); Zeitverlauf von ATP-Spiegel in minimalen, L15-, DMEM-, DMEMF-Medien

ATP-Spiegel im Laufe der Zeit in HDF-Zellen, die Quanteneffekten ausgesetzt sind B) und unbehandelt A). Zellen wurden in verschiedenen Medien inkubiert, um die Stoffwechselwege zu verändern, die die ATP-Synthese und/oder -Nutzung beinhalten. Zeit Null ist der ATP-Spiegel in unbehandelten Zellen vor Beginn des Experiments. Nach der Behandlung wurden die ATP-Spiegel zu den angegebenen Zeiten bestimmt. Die Daten werden als % des t=0-Steurelements aufgetragen

Bei der Betrachtung des Versuchsaufbaus für Experiment 2 stellten wir fest, dass der Versuch, die Variablen zu reduzieren, eine weitere eingeführt hatte. Im Experiment wurde ein Zellsatz plattiert und über Nacht an der Plattenoberfläche anhaften gelassen. Der Quanteneffekt wurde also an den anhaftenden Zellen bewertet. In Versuch 2 wurden die Zellen jedoch direkt von einer Platte auf 96-Well-Platten verteilt, die nicht für die Anhaftung von Zellen ausgelegt waren. Darüber hinaus wurde das Experiment unmittelbar nach der Verteilung der Zellen durchgeführt, so dass sichergestellt war, dass wir das Experiment an unverbundenen Zellen durchführten. Dies könnte ein Problem darstellen, insbesondere bei HDFs. Zur Erinnerung: HDFs sind humane diploide Fibroblasten, die immortalisiert, aber nicht transformiert sind. Daher ist ihr natürlicher Zustand für ein ordnungsgemäßes Funktionieren, dass sie an einer Oberfläche befestigt sind. In Anbetracht dieser möglichen Komplikation wurde Experiment drei durchgeführt.

Bericht zur "ATP-Studie", erstellt von Dr. Robert Sheaff, 4-10-23

Versuch 3 (8549)

In diesem Experiment werden Aspekte der beiden vorherigen Versuche kombiniert. A549- und HDF-Zellen wurden wieder auf zwei getrennte 96-Well-Platten verteilt, aber dieses Mal wurden Platten verwendet, die speziell für die Anheftung von Zellen ausgelegt sind. Außerdem beschlossen wir, die Inkubationsbedingungen vom 37°C-Inkubator +CO₂ zu einem 37°C-Inkubator in Abwesenheit von CO₂ zu ändern. Die Gründe für diese Entscheidung basierten auf früheren Arbeiten im Labor, die zeigten, dass die wiederholte Entnahme von Zellplatten aus einem CO₂ Inkubator den pH-Wert beeinflussen kann, was wiederum den ATP-Gehalt und/oder die genutzten Stoffwechselwege beeinflussen kann. Für diese Versuchsbedingungen verwendeten wir L15-Medium mit und ohne Glukose, die speziell für die Kultivierung von Zellen in Abwesenheit von CO₂ entwickelt wurden. Nach dem Ausplattieren wurden die Zellen 7 Stunden lang bei 37°C (ohne CO₂) bebrütet, was ausreicht, um eine Zelladhäsion an die Platte zu ermöglichen (durch Mikroskopie bestätigt), aber nicht ausreicht, um eine Zellvermehrung zu ermöglichen.

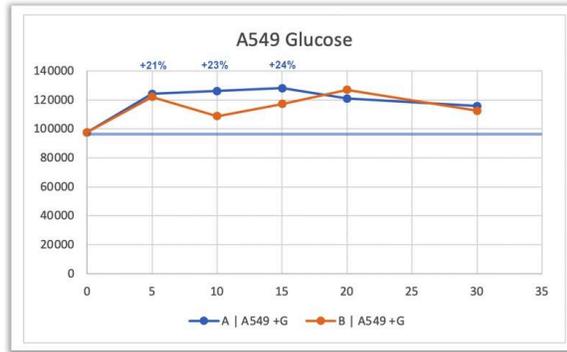
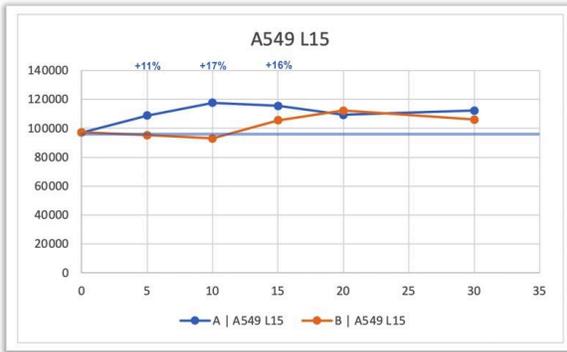
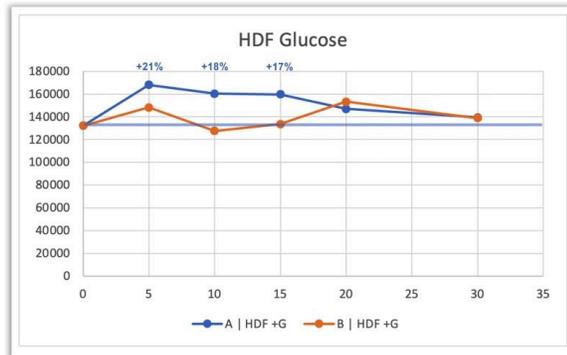
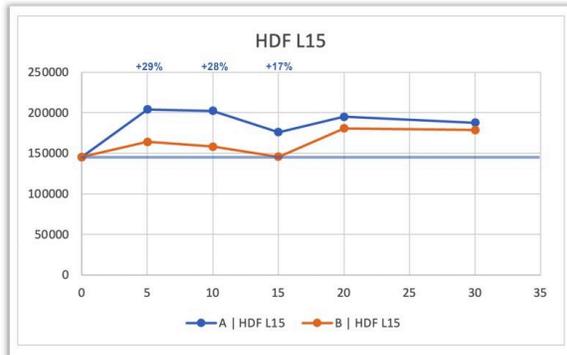
Nach der Bebrütung wurden die Platten wieder zufällig mit "A" oder "B" gekennzeichnet und einem Kollegen übergeben, der den Quantenaspekt des Experiments zusammen mit den Kunden aus über 500 Meilen Entfernung durchführte. Wie zuvor wurde dieser Teil des Experiments - bei dem eine Gruppe von Zellen über die Entfernung mit Quantenenergie "behandelt" wurde, während die andere nicht behandelt wurde - in meiner Abwesenheit durchgeführt, um eine doppelblinde Grundlage zu schaffen.

Die Platten wurden mir innerhalb von 5 Minuten zurückgegeben und in den Inkubator gestellt, ohne dass ich wusste, welche Gruppe behandelt worden war. Zu den in Abbildung 7 angegebenen Zeitpunkten wurde ATP analysiert, indem CTG (Celltiter-Glo) direkt in jede Vertiefung pipettiert wurde. Um qualitativ hochwertigere Daten zu erhalten, wurden die Zeitpunkte nun in vierfacher statt in doppelter Ausführung gemessen.

Auch hier wurde ein vorübergehender, aber statistisch signifikanter Anstieg des ATP-Spiegels in den behandelten Zellen beobachtet. Dieser Anstieg war sowohl in Abwesenheit als auch in Anwesenheit von Glukose zu beobachten, was darauf hindeutet, dass die Wirkung nicht auf einen bestimmten Stoffwechselweg beschränkt war.

Abbildung 8 zeigt das gleiche Experiment mit HDF-Zellen. Die Daten sind zwar nicht ganz so eindeutig wie bei den A549-Zellen, aber ein vorübergehender Anstieg des ATP-Spiegels in der behandelten Gruppe ist deutlich zu erkennen, insbesondere in der Gruppe mit Glukose. Ein weiterer wichtiger Aspekt, der zu erwähnen ist, ist, dass die Kunden in Experiment 3 den Spill-over-Effekt, der in den Experimenten 1 und 2 von den geladenen Zellen auf die nicht geladenen Zellen stattfand, entfernt haben. Wenn das der Fall ist, macht es Sinn, warum die ersten Experimente "nur" einen Anstieg der ATP-Produktion um bis zu 8 % (immer noch signifikant) zeigten, im Gegensatz zu den 20-29 % im dritten Experiment, in dem die nicht geladenen Zellen wirklich nicht geladen waren.

Relative to baseline cells



ATP Anstieg relativ zu den unbehandelten Zellen

Die fortschrittliche Leela Quantum Tech ATP-Produktionsrate Experimente 1-3

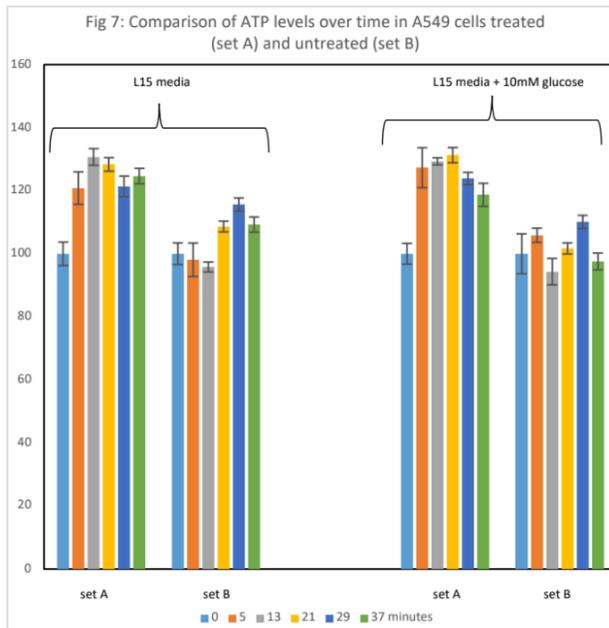


Figure 7: ATP levels over time in A549 cells exposed to quantum effects (set A) and untreated (set B). Cells were incubated in different medias to alter metabolic pathways involving ATP synthesis and/or use. Time zero is ATP levels in untreated cells before initiating the experiment. After treatment ATP levels were determined at the times indicated. Data are plotted as a % of the t=0 control.

Abbildung 7: Vergleich der AT-Spiegel im Laufe der Zeit in behandelten (Set A) und unbehandelten (Set B) A549-Zellen

ATP-Spiegel im Laufe der Zeit in A549-Zellen, die Quanteneffekten ausgesetzt sind (Set A) und unbehandelt (Set B). Zellen wurden in verschiedenen Medien inkubiert, um die Stoffwechselwege zu verändern, die die ATP-Synthese und/oder -Nutzung beinhalten. Zeit Null ist der ATP-Spiegel in unbehandelten Zellen vor Beginn des Experiments. Nach der Behandlung wurden die ATP-Spiegel zu den angegebenen Zeiten bestimmt. Die Daten werden als % des t=0-Steurelements aufgetragen.

Bericht zur "ATP-Studie", erstellt von Dr. Robert Sheaff, 4-10-23

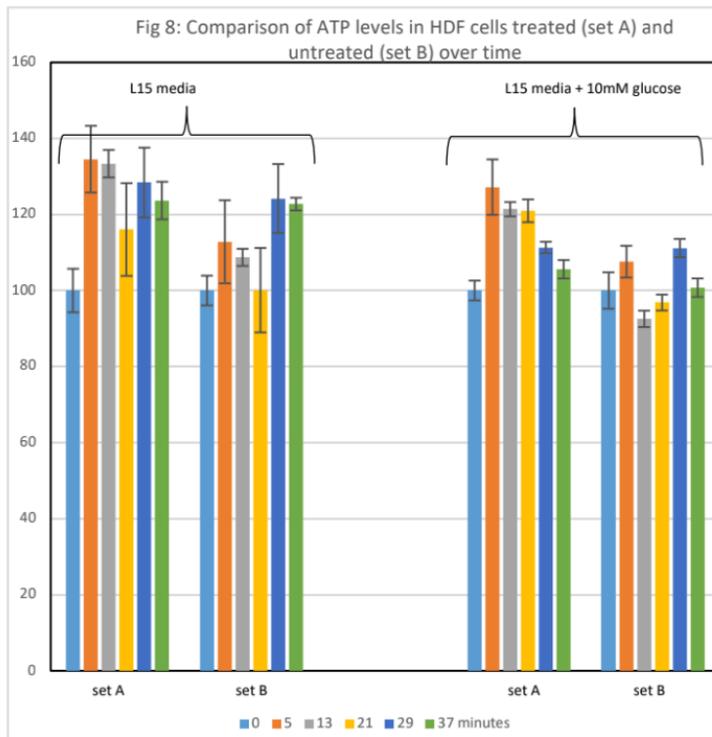


Figure 8: ATP levels over time in HDF cells exposed to quantum effects (set A) and untreated (set B). Cells were incubated in different medias to alter metabolic pathways involving ATP synthesis and/or use. Time zero is ATP levels in untreated cells before initiating the experiment. After treatment ATP levels were determined at the times indicated. Data are plotted as a % of the t=0 control.

Abbildung. 8: Vergleich der ATP-Spiegel in behandelten (Set A) und unbehandelten (Set B) HDF-Zellen im Laufe der Zeit

ATP-Spiegel im Laufe der Zeit in HDF-Zellen, die Quanteneffekten ausgesetzt sind (Samme A) und unbehandelt (Samme B). Zellen wurden in verschiedenen Medien inkubiert, um die Stoffwechselwege zu verändern, die die ATP-Synthese und/oder -Nutzung beinhalten. Zeit Null ist der ATP-Spiegel in unbehandelten Zellen vor Beginn des Experiments. Nach der Behandlung wurden die ATP-Spiegel zu den angegebenen Zeiten bestimmt. Die Daten werden als % des t=0-Steurelements aufgetragen.