

EAGER IMPRESS-U:
High Throughput Agile Interfaces for Cell Sorting (HiTACS)

Starzenie się społeczeństwa, zaburzenia genetyczne i inne choroby, a także rozległe konflikty zbrojne stawiają poważne wyzwania przed skuteczną medycyną regeneracyjną. Współczesna medycyna regeneracyjna wymaga masowej produkcji specyficznych komórek terapeutycznych w celu pokrycia lub uzupełnienia ubytku w miejscu uszkodzenia, aż do konieczności odbudowy całego uszkodzonego narządu lub jego części. Rewolucyjny postęp w tej dziedzinie nastąpił wraz z odkryciem procedury przeprogramowania dorosłych komórek, w wyniku której powstają indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPS). Przy właściwym, ściśle kontrolowanym kierowaniu różnicowania komórki iPS mogą potencjalnie przekształcić się w każdy typ komórki i utworzyć narządy, a nawet ludzkie embriony. Wymagane komórki docelowe i typy komórek o właściwościach i możliwościach leczniczych powinny być szybko i łatwo hodowane do wystarczających ilości. Jednak najważniejszym problemem jest skuteczne wyselekcjonowanie komórek terapeutycznych spośród innych komórek, przede wszystkim od potencjalnie niebezpiecznych, uszkodzonych lub przekształconych (nowotworowych). Główne metody sortowania żywych lub martwych komórek ssaków i drobnoustrojów oraz wirusów wykorzystują unikalny mechanizm rozpoznawania przeciwciał. Przeciwciało może rozpoznawać specyficzne motywy w cząsteczkach (białkach, gliko/lipoproteinach, polisacharydach) eksponowanych na błonie komórkowej lub macierzy zewnątrzkomórkowej i wiązać się z powierzchnią komórki. Mechanizm taki służy do znakowania komórek barwnikami fluorescencyjnymi lub przyłączania ich do kulek magnetycznych pokrytych przeciwciałem. Dwie metody sortowania, sortowanie komórek aktywowanych fluorescencyjnie (FACS) i sortowanie komórek immunomagnetycznych (MACS), opierają się na wysoce specyficznych interakcjach antygen-przeciwciało. Metody te są dokładne, ale nie pozwalają na rozróżnienie odmiennych poziomów ekspresji antygenu, a na sortowanie mogą mieć również wpływ niespecyficzne interakcje. Ponadto metody te są drogie, mogą prowadzić do uszkodzeń mechanicznych i częściowej utraty komórek docelowych i nie są skalowalne w przypadku produkcji komórek na dużą skalę.

W naszym programie badawczym proponujemy zwiększenie desorpcji komórek za pomocą dynamicznych interfejsów szczotek polimerowych lub hydrożeli polimerowych przeznaczonych do systemów o dużej wydajności. Siła wystarczająca do desorpcji komórek będzie generowana poprzez osmozę na granicy faz, która ulega przemianie fazowej w środowisku wodnym. Spośród różnych mechanizmów, które mogą powodować takie przejście fazowe, wybraliśmy termoindukowane odwracalne rozdzielanie faz w układzie polimer-woda, które zachodzi w pobliżu temperatury hodowli komórkowej. Oscylując w temperaturach poniżej i powyżej niskiej krytycznej temperatury roztworu, możemy zmieniać stan materiału polimerowego pomiędzy jego stanem spęczniałym i skondensowanym.

Dynamiczne interakcje powierzchni polimeru z komórkami umożliwiają sortowanie na podstawie powinowactwa bez stosowania kosztownych naturalnych lub syntetycznych przeciwciał, polipeptydów, DNA itp. Nieswoiste sortowanie komórek na podstawie powinowactwa nie jest jeszcze znane i należy do kategorii „high risk, high reward”. Jeśli się powiedzie, opracowana technologia zapewni nową możliwość rozróżniania komórek na podstawie wyraźnych motywów funkcjonalnych, rozmiaru, kształtu i właściwości mechanicznych. Ta rewolucyjna technologia doprowadzi do tanich i łatwo skalowalnych procesów separacji komórek, potencjalnie ujawniając nowe fenotypy komórek, których nie można rozróżnić przy użyciu obecnie dostępnych przeciwciał.

Cel: Ten program badawczy obarczony wysokim ryzykiem i wysokim zyskiem ma na celu wprowadzenie, badanie i eksplorację nowej koncepcji separacji, sortowania i analizy komórek bez użycia przeciwciał i innych rodzajów drogich lub nawet niedostępnych cząsteczek biologicznych do rozróżniania komórek.

Aby zweryfikować nasze hipotezy i osiągnąć nasz główny cel, planujemy wykonać następujące **zadania**:

1. Stworzenie teoretycznych i komputerowych modeli symulacyjnych inteligentnych powierzchni ukierunkowanych na adsorpcję/desorpcję komórek zawierających zestaw parametrów wpływających na mikroskopową i obszarową strukturę styku szczotek polimerowych, interakcje pomiędzy komórkami i polimerami, kształt i rozmiar ogniw, reżimy temperaturowe.
2. Wykonywanie analiz teoretycznych i badań symulacji komputerowej opracowanych modeli, których efektem jest wyjaśnienie optymalnej architektury molekularnej, gęstości i układu przestrzennego inteligentnych powierzchni ukierunkowanych na efektywną selektywność komórek ze złożonych mieszanin;
3. Stworzyć inteligentne powierzchnie na podstawie poli(N-izopropylakryloamid) (PNIPAAm) o precyzyjnie dostosowanej architekturze powierzchniowej, temperaturze, hydrofilowości i pęcznieniu, z uwzględnieniem wyników badań teoretycznych i symulacji komputerowych; sprawdzić eksperymentalnie ich właściwości;
4. Walidacja i dostosowanie specyficzności i skuteczności procedury sortowania wygenerowanych inteligentnych powierzchni przy użyciu mieszanin znakowanych fluorescencyjnie komórek różnych typów hodowanych *in vitro* oraz porównanie wydajności metody z tradycyjnym sortowaniem komórek MACS i FACS.

Główny cel badawczy wpisuje się w potrzeby wzmocnienia międzynarodowej współpracy interdyscyplinarnej i zaangażowania współpracowników z Ukrainy i Polski we wspólny program badawczy z amerykańskimi naukowcami i studentami. Nasze interakcje wzmocnią wysiłki na rzecz kształcenia nowych pokoleń naukowców i inżynierów, dysponujących najnowocześniejszą wiedzą i umiejętnościami, globalną wizją problemów społecznych, zrównoważonym podejściem i podstawowymi wartościami ludzkimi. Studenci i młodzi badacze wchodzący w skład współpracujących zespołów wzbogacą się o wiedzę nt. łączenia interdyscyplinarnych metod, wiedzy specjalistycznej oraz różnorodności kulturowej i etnicznej.