

Terapia genowa czyli wprowadzenie informacji genetycznej do komórek w postaci kwasów nukleinowych (DNA, siRNA) o działaniu terapeutycznym może stać się jednym z najpotężniejszych środków leczących zaburzenia genetyczne takie jak mukowiscydoza, choroba Parkinsona, hemofilia, cukrzyca oraz nowotwory.

W terapii genowej kwasy nukleinowe mogą być dostarczane samodzielnie lub w postaci skompleksowanej - za pomocą wirusowych i niewirusowych (syntetycznych) nośników tzw. wektorów. Aby zapoczątkować ekspresję zakodowanego genu, czyli proces odczytania i przepisania informacji genetycznej, kwas nukleinowy musi oddysocjować z kompleksu i dotrzeć do jądra komórkowego.

Wydajność dostarczania nieskompleksowanych kwasów jest mała, ponieważ są one bardzo szybko niszczone we wnętrzu komórki. Wśród testowanych wektorów syntetycznych obiecującą grupą są nośniki polimerowe. Wykazują one mniejszą immunogenność niż nośniki wirusowe i są relatywnie łatwiejsze w otrzymywaniu. Wiele problemów związanych z efektami terapeutycznymi nośników polimerowych wciąż pozostaje nierozwiązanych. Obecnie najważniejszym kryterium w terapii genowej jest otrzymanie wydajnego i specyficznego nośnika genów niewprowadzającego szkodliwych efektów ubocznych. Dla zwiększenia wydajności transfekcji kwasy nukleinowe lub ich kompleksy np. z polimerami są osadzane na podłożu stałym. Stosowane do tego celu podłoża wspomagają organizację i różnicowanie komórek, podczas gdy osadzony kwas nukleinowy ma za zadanie dostarczyć istotną dla komórek informację genetyczną.

Celem projektu jest opracowanie nowych termoczułych powierzchni polimerowych o topologii gwieździstej, jako układów dostarczających terapeutyczne kwasy nukleinowe do wnętrza komórek oraz umożliwiających hodowlę i odczepienie transfekowanych komórek bez uszkodzenia.

Ze względu na brak w literaturze doniesień na temat otrzymywania, charakterystyki i zastosowania gwieździstych powierzchni (warstw) polimerowych tego typu, niniejszy projekt stawia sobie za zadanie wniesienie wkładu do wiedzy na ten temat poprzez:

- syntezę termoczułych warstw gwieździstych metodą "szczepienia do" oraz ich charakterystykę
 - otrzymywanie i charakterystykę polipleksów polimerów gwieździstych
 - osadzanie polipleksów na termoczułych warstwach polimerowych
- ? badania adhezji, proliferacji, transfekcji i odczepiania wybranych komórek

W projekcie zostaną otrzymane termoczułe powierzchnie gwieździste poli(metakrylanów glikoli oligoetylenowych). Polimery gwieździste o zdefiniowanej strukturze (liczbie i długości ramion) zostaną otrzymane metodą kontrolowanej polimeryzacji rodnikowej z przeniesieniem atomu (ATRP) metodą „rdzeń najpierw”. Odpowiednio zmodyfikowane ramiona gwiazdy (wprowadzenie grup epoksydowych) zostaną kowalencyjnie przyłączone do sfunkcjonalizowanych podłoży szklanych i krzemowych metodą szczepienia „do”. Tak otrzymane powierzchnie zostaną scharakteryzowane nowoczesnymi metodami pomiarowymi (mikrowaga kwarcowa, elipsometria, FTIR, AFM, TEM). W projekcie zostaną przygotowane kompleksy kwasów nukleinowych z polikationowymi polimerami gwieździstymi tzw. polipleksy. Gwiazdy użyte do kompleksowania będą zawierały w ramionach segmenty polikationowego poli(metakrylanu N,N-dimetyloaminoetylu). Otrzymane polipleksy zostaną następnie osadzone na powierzchniach gwieździstych z wykorzystaniem termoczułości warstw i/lub polipleksów. Ostatnim zadaniem projektu będą badania adhezji, proliferacji i transfekcji wybranych komórek na otrzymanych powierzchniach polimerowych. Po etapie transfekcji warstwy polimerowe zapewnią wydajne odczepienie komórek, sterowane jedynie zmianą temperatury układu. Co najważniejsze, wyhodowane komórki zostaną dzięki temu odczepione bez żadnych uszkodzeń, co ma miejsce przy odczepianiu enzymatycznym lub mechanicznym.

Nowatorskie rozwiązanie proponowane w projekcie obejmuje otrzymanie gwieździstych powierzchni zdolnych do immobilizacji polipleksów oraz wykorzystanie termoczułości otrzymanego w ten sposób narzędzia do hodowli i nieinwazyjnego odczepienia transfekowanych komórek.

Badania zaplanowane w projekcie wpisują się w najnowszy nurt badań światowych z zakresu terapii genowej i ich potencjalnego wykorzystania w medycynie.