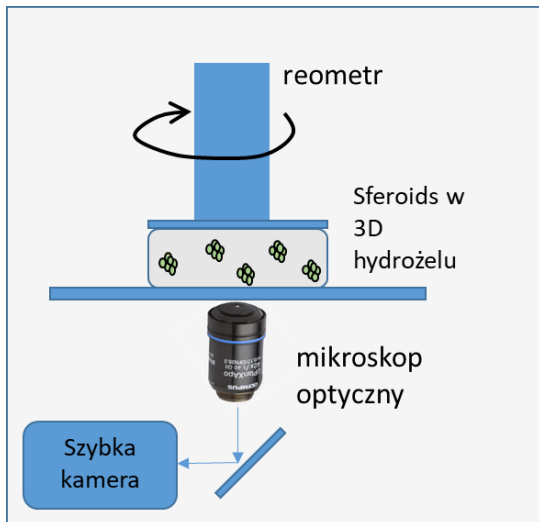


1. Cel badań

Ostatnie odkrycia dotyczące własności mechanicznych pojedynczych komórek rakowych oraz znaczenia otaczającej ich macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) wykazały ścisły i silny związek między właściwościami fizykochemicznymi a biologicznymi/molekularnymi układu komórka-ECM. Odkrycia te pozwoliły sformułować hipotezę, że zmiana własności mechanicznych i reologicznych w tym układzie jest jedną z kluczowych cech decydujących o tym, które komórki zaczynają się rozprzestrzeniać tworząc przerzuty. Celem proponowanych badań jest opracowanie i scharakteryzowanie trójwymiarowych (3D) hydrożeli kolagenowo-hialuronowych modyfikowanych białkami ECM jako środka do badania wpływu środowiska na sferoidy zbudowane z komórek raka pęcherza moczowego i trzustki.

2. Opis badań

Celem badań jest zrozumienie, w jaki sposób siły ścinające i ściskające wpływają na właściwości genetyczne, morfologiczne i mechaniczne sferoid nowotworowych. W ramach tego projektu zastosowane zostaną hydrożele kolagenowo-hialuronowe 3D o określonych właściwościach fizykochemicznych jak własności lepkosprężyste hydrożeli, skład i stężenie białek ECM (ryc. 1).



Rysunek 1. Idea projektu. Reometr zostanie wykorzystany do wywołania sił ścinających i ściskających w hydrożelach 3D naśladujących ECM z osadzonymi sferoidami nowotworowymi (raki pęcherza moczowego i trzustki). Przyłożone siły odkształcą sferoidy. Ich deformacja będzie rejestrowana przez szybką kamerę, w czasie rzeczywistym.

3. Spodziewane efekty

Projektowanie i dostosowywanie 3D hydrożeli kolagenowo-hialuronowych z osadzonymi wewnątrz sferoidami nowotworowymi stanowi ważne narzędzie do badania zależności między właściwościami mechanicznymi i morfologicznymi sferoid w warunkach przyłożonych sił ścinających i ściskających. Sprzężenie reometru z technikami uzupełniającymi takimi jak mikroskopia optyczna/fluorescencyjna, umożliwi skorelowanie zależnej od czasu mikrostruktury komórek/tkanek z właściwościami reologicznymi. Ta rozszerzona funkcjonalność zapewni badania odpowiedzi mechanicznej sferoid w czasie rzeczywistym na przedłużone działanie sił mechanicznych. Dzięki temu możliwe będzie zrozumienie mechanizmów zaangażowanych w rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych. Wyniki projektu dostarczą narzędzie do oceny potencjału inwazyjności nowotworów co może być zastosowane do badania ich lekooporności.

Jako że komórki w swoich naturalnych warunkach podlegają ciągłej ekspozycji na siły mechaniczne prowadzące do odkształceń ścinających lub ściskających założeniem projektu jest, że siły ścinające mogą znacząco przyczynić się do procesu ucieczki komórki z powierzchni sferoidy.

W przeciwieństwie do standardowych warunków hodowli komórek na powierzchniach dwuwymiarowych, środowisko 3D pozwala komórce na jednoczesną interakcję z otaczającą ECM na całej powierzchni, nie tylko w jej dolnej części. W proponowanym projekcie reometr zostanie zastosowany do badania właściwości lepkosprężystych dwóch klas próbek, tj. hydrożeli i hydrożeli z osadzonymi sferoidami. Próbkę będą poddane odkształceniu ścinającemu w zakresie naśladującym fizjologicznie warunki. Poprzez monitorowanie właściwości mechanicznych hydrożeli z sferoidami i bez nich, możliwe będzie ustalenie, w jaki sposób komórki oddziałują z ECM. Jednoczesna, niezależna odkształcenia sferoid za pomocą mikroskopu optycznego pozwoli na zbadanie zmian właściwości mechanicznych i integralności sferoid w funkcji przyłożonego naprężenia ścinającego w czasie rzeczywistym. Wyniki badań pomogą to zrozumieć, jakie warunki są potrzebne, aby komórka rakowa mogła uciec z powierzchni sferoidy do środowiska hydrożelowego naśladującego ECM. Sferoidy zostaną zatopione w hydrożelach o regulowanych właściwościach mechanicznych o różnym składzie (kolagen, kwas hialuronowy) oraz wbudowane białka ECM, takie jak laminina, tenascyna C.