

Ponad 400 milionów ludzi na całym świecie cierpi na **cukrzycę**, a ponad 1,5 miliona umiera rocznie z powodu powikłań wywołanych cukrzycą. Bezpośrednią przyczyną cukrzycy jest utrata lub nieprawidłowe funkcjonowanie **komórek β** trzustki, jedynych komórek w organizmie, które mogą wytwarzać insulinę, hormon odpowiedzialny za kontrolowanie poziomu cukru we krwi. Obecnie terapia wymaga regularnych zastrzyków insuliny, co niestety nie naśladuje idealnie naturalnej reakcji organizmu w zakresie stabilizacji poziomu cukru. Z tego powodu wkłada się ogromne wysiłki w opracowanie terapii zastępowania komórek, w ramach której komórki β otrzymane w laboratorium z **ludzkich pluripotencjalnych komórek macierzystych (hPSC)** mogłyby być przeszczepiane pacjentom. Jednak jak dotąd metody generowania komórek β nie dostarczają ich w liczbie i jakości potrzebnej do zastosowania w terapii na dużą skalę.

Ukierunkowane różnicowanie hPSC do komórek β trzustki ma na celu naśladowanie naturalnych szlaków rozwojowych poprzez hodowlę hPSC *in vitro* z czynnikami regulującymi ten proces. *In vivo* te czynniki są dostarczane przez **mikrośrodowisko** otaczające komórki trzustki. Nie jest jednak w pełni zrozumiane, w jaki sposób mikrośrodowisko reguluje rozwój i funkcjonowanie komórek β . Po pierwsze, mikrośrodowisko jest złożone i dynamicznie zmienia się w czasie; jego składniki, ich pochodzenie i funkcja pozostają niejasne. Dodatkowo, możliwości badania mikrośrodowiska trzustki u ludzi ograniczają się do badań z wykorzystaniem hPSC, których zastosowanie koncentruje się na produkcji komórek β do celów terapeutycznych, a zatem brakuje im komponentu mikrośrodowiska.

W tym projekcie stawiamy hipotezy, że: 1) Mezenchyma, główny składnik komórkowy mikrośrodowiska trzustki, ma wiele podtypów w obrębie trzustki i jest narządowo-specyficzna. Sugerujemy, że **podtypy mezenchymy** odgrywają różne role w rozwoju trzustki. **2)** Dodanie składników mikrośrodowiska do komórek trzustki podczas różnicowania hPSC przywróciłoby ich wzajemne oddziaływania w sposób lepiej odzwierciedlający rozwój *in vivo*.

Aby potwierdzić te hipotezy, najpierw zidentyfikujemy podtypy mezenchymy w mysiej embrionalnej trzustce za pomocą sekwencjonowania RNA pojedynczych komórek (scRNA-Seq), które umożliwi równoczesny wgląd w indywidualne profile ekspresji genów tysięcy komórek. Na tej podstawie przyjrzymy się różnicom między podtypami mezenchymów, aby wywnioskować, w jaki sposób komunikują się one z innymi komórkami i jaka jest ich funkcja. Ponadto stworzymy „**mapę drogową**” powstawania mezenchymy trzustki. Następnie, wykorzystując zaawansowaną mikroskopię fluorescencyjną arkusza świetlnego, stworzymy **trójwymiarową mapę relacji przestrzennych** między tymi typami komórek, aby potwierdzić przypuszczalne interakcje między nimi. Następnie zbadamy eksperymentalnie zidentyfikowane pochodzenie podtypów mezenchymy przy użyciu myszy transgeniczných. Na koniec wykorzystamy zebrane dane do zidentyfikowania podtypu będącego przodkiem trzustkowej mezenchymy, który wspomógłby generowanie w laboratorium komórek β pochodzących z hPSC. Następnie opracujemy metodę odtwarzania tego specyficznego podtypu mezenchymalnego przez różnicowanie hPSC. Co więcej, połączymy pochodzące z hPSC progenitory trzustkowe i mezenchymę, aby stworzyć wspólny system mininarządów, ściśle odzwierciedlający procesy rozwojowe *in vivo* kierujące wytwarzaniem funkcjonalnych komórek β . Przewidujemy, że w takim układzie komórki trzustki zorganizują się przestrzennie w struktury przypominające naturalny rozwój. Jako dowód koncepcji naszego systemu mininarządów skupimy się na pierwszych etapach rozwoju komórek β , tworzeniem tzw. półwyspów, który to proces nie został dokładnie zbadany. Korzystając z zaawansowanych technik mikroskopowych i scRNA-Seq, będziemy szczegółowo badać, w jaki sposób powstają półwyspy.

Nasze wyniki ułatwią udoskonalenie technologiczne tworzenia komórek β do celów terapeutycznych. Nasz system miniorganów będzie pierwszym systemem trzustkowym opartym wyłącznie na hPSC, który zawiera komórki mikrośrodowiska specyficzne dla danego narządu. Co ważne, system miniorganów byłby nieoceniony w **testowaniu leków i modelowaniu chorób**, ponieważ wierniej niż istniejące modele odzwierciedlały ludzką trzustkę endokrynną.