

Badania na poziomie pojedynczych komórek zrewolucjonizowały kilka ostatnich lat badań w wielu dziedzinach biologii. Najbardziej popularnym eksperymentem jest sekwencjonowanie RNA, które dostarcza informacji o aktywności komórki i jej stanie fizjologicznym w danej chwili. Analiza RNA, czyli analiza transkryptomu komórki, na poziomie pojedynczych komórek pozwala na otrzymanie precyzyjnego opisu fizjologii grup komórek, który jest szczególnie wartościowy dla analizy struktury oraz funkcji złożonych tkanek i procesów takich jak rozwój nowotworów i mechanizmy terapii, odpowiedź immunologiczna czy różnicowanie się komórek. Na podstawie informacji z sekwencjonowania RNA pojedynczych komórek, naukowcy są w stanie precyzyjnie określić skład komórkowy danej tkanki, funkcje i role poszczególnych grup komórek oraz badać komunikację pomiędzy komórkami. Obecnie najbardziej popularną metodą analiz transkryptomów pojedynczych komórek jest wykorzystanie mikoprzepływów kropelowych. W czasie tego oznaczenia pojedyncza komórka zamykana jest wraz z niezbędnymi odczynnikami w mikrokropeli o ultra-małej objętości kilkuset pikolitrowej tj. mniej niż jedno-miliardowej część litra. Następnie wewnątrz kropki każda z cząsteczek RNA jest łączona ze specjalnym znacznikiem molekularnym, unikalnym dla każdej z dziesiątek tysięcy komórek, a następnie molekuly RNA są przepisywane na bardziej stabilne cząsteczki cDNA. W kolejnym etapie, produkty reakcji mogą być uwolnione z kropel, a sekwencje setek milionów cząsteczek cDNA są analizowane przez metody sekwencjonowania nowej generacji. Następnie wyniki sekwencjonowania pojedynczych komórek są analizowane metodami bioinformatycznymi i tworzone są mapy ukazujące grupy komórek w danych tkankach oraz profile ekspresji genów każdej z nich. Na tej podstawie budowane są nowe hipotezy badawcze oraz tworzone są bazy referencyjne będące częścią tzw. atlasu ludzkich komórek (ang. Human Cell Atlas).

W ramach tego projektu proponujemy pójść jeden krok dalej i opracować oraz przetestować metody, nie tylko do analiz pojedynczych komórek, ale też do badania ekspresji genów w komórkach, które są ze sobą fizycznie połączone. Taki typ oddziaływania jest bardzo często spotykany w żywych organizmach – np. komórki prezentujące antygen łączą się z limfocytami i aktywują je do odpowiedzi immunologicznej. Innym przykładem są komórki nowotworowe, które poprzez łączenie się z komórkami układu odpornościowego, dezaktywują je, niestety dzięki czemu nowotwór może się rozwijać w organizmie. Dokładniejsze zbadanie tych procesów na poziomie pojedynczych komórek oraz ich oddziaływających par pozwoliłoby na poznanie nowych mechanizmów zarówno w zdrowych jak i chorych tkankach, oraz mogłoby przysłużyć się opracowywaniu nowych terapii.

W celu opracowania metody analiz oddziaływających komórek, w ramach tego projektu opracujemy nowe technologie mikoprzepływowe do selekcji i izolacji par komórek na podstawie wielokolorowego pomiaru fluorescencji oraz ultraszybkich analiz obrazu. Dodatkowo, opracujemy nowe układy mikoprzepływowe oraz metody molekularne w celu znakowania RNA pochodzących nie tylko z jednej, ale też z kilku komórek zamkniętych w mikrokropeli. W kolejnych etapach projektu, zoptymalizujemy model oddziaływających komórek tkanki łącznej (fibroblastów) z komórkami nowotworowymi. Komórki te będą tak zaprojektowane, że w momencie oddziaływania będzie aktywowany sygnał fluorescencyjny oraz nowo wyprodukowane RNA będzie miało nieco inną strukturę molekularną. Takie rozwiązanie pozwoli nie tylko na lepsze zrozumienie fizjologii i dynamiki zmian ekspresji genów w wyniku oddziaływania pomiędzy komórkami, ale też będzie dobrą strategią oceny możliwości badawczych nowo opracowanej metody.

Bezpośrednie oddziaływania komórkowe są jednym z najczęstszych sposobów komunikacji i przekazywania sygnałów pomiędzy komórkami w organizmie, więc w przyszłości nasza metoda może stać się elementem arsenału technologii do badań pojedynczych komórek. Wierzymy, że nowo opracowana metoda do badań zarówno pojedynczych komórek jak i ich par, będzie wykorzystana do wielu projektach biomedycznych i klinicznych, szczególnie z zakresu immunologii, onkologii czy też chorób zakaźnych.