

Modyfikacje pęcherzyków zewnątrzkomórkowych dla przyszłych systemów dostarczania leków

Cel projektu: W moim projekcie będę dążyć do opracowania zmodyfikowanych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (**eEV**), które będą w całości wytwarzane przez mezenchymalne komórki macierzyste (**MSC**), a następnie będą modyfikowane metodami **glikoinżynierii**. Głównym celem jest zaprojektowanie **eEV** (egzosomów) o właściwościach biomimetycznych dla systemów dostarczania leków (**DDS**), takich które byłyby w stanie lepiej rozpoznawać komórkę docelową.

Chcę dokonać postępu w inżynierii biomedycznej i materiałowej w stronę nanomedycyny i teranostyki

Przyczyny podjęcia proponowanego tematu badawczego: Aby dostarczyć leki, geny lub szczepionki w leczeniu raka lub innych chorób, proponuje się różne nośniki leków (**DDS**), najczęściej stosowane są **liposomy**. Jednak liposomy mają szereg wad, w tym główną z nich nieselektywne kierowanie do pożądanego komórki. Znanych jest kilka strategii stosowanych w opracowaniu nowych materiałów biomimetycznych dla **DDS**, większość z nich opiera się na budowie struktur podobnych do liposomów, które naśladują naturalne biomembrany, ozdobione białkami osocza w celu zapewnienia lepszej stabilności. Po przeciwnej stronie znajdują się bardzo odporne nanonośniki, takie jak dendrymery czy nanorurki, które gromadzą się wewnątrz komórki wywołując często efekt cytotoksyczny. Aby uniknąć mankamentów wynikających z niestabilności liposomów i cytotoksyczności nanomateriałów, proponuję naturalnie występujące **egzosomy** jako **DDS**. W swoich badaniach zapoczątkowałam w Polsce badania nad pęcherzykami zewnątrzkomórkowymi jako biomarkerami różnych patologii i znacząco przyczyniłam się do poszerzenia wiedzy na temat budowy, właściwości i aktywności **EVs** w cukrzycy, chorobach układu krążenia i nowotworach, głównie czerniakach. Wraz ze współpracownikami odkryłam, że **EVs** pochodzące z czerniaka mają inny profil **glikoizolacji**. **Glikoizolacja** to proces, w którym cukry są przyłączane do białek lub lipidów pod kontrolą enzymów. Proces ten zachodzi w komórce i odgrywa kluczową rolę w funkcjonowaniu glikoprotein i kontrolowaniu procesów biologicznych, takich jak rozpoznawanie komórka-komórka. Znaczenie **glikoizolacji** białek dla przemysłu biotechnologicznego podkreśla fakt, że około 70% białek terapeutycznych, zatwierdzonych lub w badaniach (przed)klinicznych, to glikoproteiny. Jako pierwsza w Polsce zajęłam się też wykorzystaniem białka fuzyjnego - **laktadheryny** do rozpoznawania **EVs** w celu opracowania systemów do wychwyty **EVs**.

Opis badań: Moja hipoteza badawcza zakłada, że enzymatyczne i biochemiczne modyfikacje **EVs** (**egzosomów**) ułatwią celowane dostarczanie umieszczonych w nich składników bioaktywnych do chorych komórek, a mianowicie do dwóch rodzajów komórek zaangażowanych w proces wzrostu guza: komórek nowotworowych i komórek śródbłonna. Badania będą prowadzone na Uniwersytecie Jagiellońskim (UJ) w nowopowstałym Centrum Teranostyki. Użyję **egzosomów** o średnicy od 50 do 100 nm, które są nanometrycznymi dwuwarstwowymi strukturami błonowymi wytwarzanymi przez większość typów komórek i uwalnianymi do płynów biologicznych w celu przenoszenia bioaktywnych cząsteczek między komórkami. **Egzosomy** będą wytwarzane przez mezenchymalne komórki macierzyste, a następnie modyfikowane technikami inżynierii genetycznej aby uzyskać exosomy zawierające białko **laktadherynę**, a następnie przez trawienie enzymatyczne w celu usunięcia **glikanów**. Proces ten nazywa się **glikoizolacją**. Takie glikozymodyfikowane **eEV** będą wybiórczo izolowane i charakteryzowane do określenia ich wielkości, znalezienia określonego wzorca **glikoizolacji**, ładunku i gęstości cząsteczkowej. Następnie zostaną przeprowadzone biologiczne testy *in vitro*, mające na celu zbadanie jak pomorska pobiera **eEVs** i co się z nimi dzieje w komórce. Testy te zostaną wykonane na liniach komórek raka pierwotnego i przerzutowego (komórki czerniaka) oraz na komórkach śródbłonna mikronaczyń.

Oczekiwane wyniki: W moim projekcie spodziewam się wykazania roli **laktadheryny** w wychwyty exosomów przez komórki oraz ujawnienia wzoru **glikanów** powierzchniowych jako potencjalnego nowego wskaźnika niejednorodności **EV**. Chcę, aby **glikoizolacja** stała się użyteczną próbą badania oddziaływań komórka-pęcherzyk zewnątrzkomórkowy do zastosowań biomedycznych, zwłaszcza do projektowania nowego systemu dostarczania leków (**DDS**). Spodziewam się uzyskania zwiększonej produkcji inżynieryjnych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych do dalszych badań nad materiałami biomimetycznymi opartymi na modyfikacjach **glikanów**.