

RamanSense: Metabolomika oparta na wzmocnionej wymuszonej mikroskopii ramanowskiej

Motywacja: Wyobraź sobie, że siedzisz w pojedynczej komórce, aby obserwować jej wewnętrzne działanie, wizualizować organelle i złożoną interakcję cząsteczek sygnałowych i odpowiadające im zmiany metaboliczne. Wyobraź sobie, jaką miałbyś moc w diagnostyce chorób cywilizacyjnych, a tym samym w ich leczeniu.



RamanSense to interdyscyplinarny projekt, w ramach którego opracowywana jest nowa technika spektroskopowa. Jest to połączenie nowej ulepszonej stymulowanej mikroskopii ramanowskiej (ang. *Enhanced Stimulated Raman Microscopy, E-SRM*) i nowo zaprojektowanych sond (znaczników) ramanowskich, ukierunkowanych na określone struktury subkomórkowe i ich funkcje, które mają być stosowane do badania stanu metabolicznego komórek.

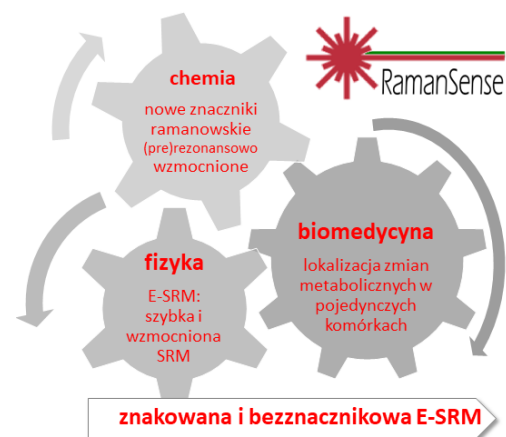
Nowe podejścia omiczne, oparte na genomice, transkryptomice, proteomice i metabolomice, mogą pomóc w określeniu wielu interakcji komórkowych i humoralnych, które regulują prawidłowy i nieprawidłowy rozwój komórek oraz ich reakcję na stres lub patogeny, które charakteryzują choroby. Podczas gdy genomika ujawnia możliwości komórki, transkryptomika daje pogląd na to co planuje zrobić, metabolomika pokazuje, co faktycznie robi komórka. Jednym z ważnych elementów trafnej diagnozy lub skutecznej identyfikacji biomarkerów do spersonalizowanej terapii, których nie można dostarczyć standardowymi metodami diagnostycznymi, jest ocena stanu metabolicznego komórek, tj. ich funkcji czy fenotypu.

Spektroskopia ramanowska to metoda o znaczącym potencjale w rozwoju innowacyjnych technologii omicznych. Spektroskopia ramanowska jest jednym z fundamentów analizy molekularnej, zwłaszcza od czasu pojawienia się pierwszego mikroskopu ramanowskiego w latach 70-tych, po czym nastąpiła możliwość pomiarów wysokiej rozdzielczości w 2 i 3 wymiarach. Jest to jedno z najpotężniejszych obecnie dostępnych narzędzi do analizy *in situ* organizacji molekularnej żywych komórek. Pozwala na określenie ilości różnych grup molekularnych, które łącznie składają się na widmo ramanowskie próbki. Wymuszona spektroskopia ramanowska jest o kilka rzędów wielkości bardziej czuła niż mikroskopia ramanowska oparta na spontanicznym rozpraszaniu, ale wciąż nie jest wystarczająco czuła i specyficzna do badania złożonych procesów zachodzących wewnątrz komórek. Dlatego głównym celem RamanSense jest przezwyciężenie ograniczeń metodologicznych i technicznych obrazowania optycznego w wykrywaniu małych organeli i określonych cząsteczek w komórkach poprzez wykorzystanie fizyki, chemii, medycyny, farmakologii, biologii, inżynierii i analizy danych, aby zastosować te zaawansowane technologie w naukach o życiu. Proponuję przełamać stereotyp: obrazowanie ramanowskie nie musi być bezznacznikowe. Ponadto można wymusić wzmocnienie sygnału poprzez dodanie do próbki wybranych barwników. Dzięki temu pomiary mogą być wykonywane zarówno w sposób znakowany jak i bezznacznikowy, za pomocą E-SRM.

Badania będą prowadzone na dwóch typach komórek układu naczyniowego w warunkach *in vitro*: adhezyjnych komórkach śródbłonna i nieadhezyjnych leukocytach. Dysfunkcja śródbłonna wiąże się z rozwojem wielu chorób cywilizacyjnych, a fenotypowanie leukocytów ma kluczowe znaczenie dla prawidłowego rozpoznania chorób rozrostowych układu krwiotwórczego.

W ramach tego multidyscyplinarnego projektu badania łączą:

i) *chemię*: projektowanie i syntezę nowych znaczników ramanowskich do wysoce specyficznej i czulej detekcji subkomórkowej (dzięki specyficznemu wiązaniu do poszczególnych cząsteczek wewnątrz komórek i zawierającemu reporter ramanowski), ii) *fizykę*: opracowanie nowej techniki E-SRM, do szybkich pomiarów w warunkach (przed)rezonansowych, a więc o realnym potencjale diagnostycznym (poprzez zastosowanie specyficznych barwników o absorpcji elektronowej bliskiej długości fali wzbudzenia), iii) *biomedycynę*: opracowanie metodologii badania metabolizmu pojedynczych komórek (śródbłonna i leukocytów) w wybranych modelach (dysfunkcja, stres, fenotypowanie) w celu śledzenia metabolizmu komórkowego, a tym samym zrozumienia komórkowego pochodzenia chorób cywilizacyjnych, także białaczki, i poprawy ich leczenia.



Nowatorska technika ramanowska, którą opracuję, jest nie tylko lepsza niż obecnie stosowane, ale umożliwi analizę żywych komórek w celu śledzenia procesów metabolicznych, i jest niezbędna do lepszego zrozumienia podstaw rozwoju chorób, i opracowania ulepszonych strategii leczenia.

[1] <https://www.scientistlive.com/sites/scientistlive/files/amsbiopr187-image.png>; https://pl.freepik.com/premium-zdjecie/czlowiek-z-lupa_5443460.htm.