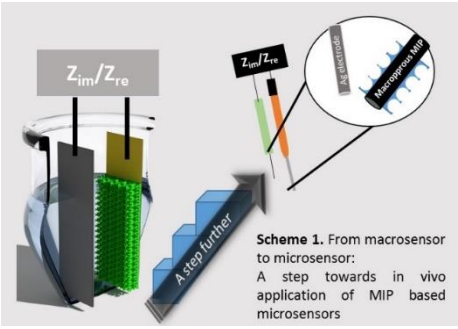
**Cel projektu.** W ramach proponowanego Projektu opracowane zostaną elektrochemiczne mikroczujniki, zmodyfikowane przewodzącymi wdrukowanymi molekularnie polimerami, zdolne do oznaczania różnych mediatorów zapalenia nerwów. W tym celu, planujemy zaprojektować mikroczujniki do wykrywania interleukiny 1β i interleukiny 6. Niewielkie rozmiary mikroelektrod pozwolą na zmniejszenie objętości celek elektrochemicznych oraz badanych próbek (Schemat 1). Planujemy wszczepić te mikroczujniki w tkankę mózgu myszy. Będzie to pierwszy krok na drodze opracowania metody wykrywania białkowych markerów zapalenia w żywym mózgu z zastosowaniem czujników MIP. Takie podejście nie było jeszcze raportowane w literaturze.



**Scheme 1.** From macrosensor to microsensor: A step towards in vivo application of MIP based microsensors

**Opis planowanych badań.** Syntetyczne receptory selektywne względem białek, markerów zapalenia układu nerwowego, zostaną uzyskane za pomocą wdrukowania molekularnego. Polimery wdrukowane molekularnie (molecularly imprinted polymers, MIPs) są uważane za syntetyczne analogi naturalnych układów przeciwciało-antygen. W celu zwiększenia czułości opracowywanych mikroczujników, zastosujemy stałe szablony do wytworzenia dodatkowych porów w osadzanych polimerach. Ponadto, na powierzchni tych szablonów unieruchomione zostaną białka - interleukina 1β i interleukina 6. Białka zostaną później wdrukowane kowalencyjnie w przewodzącym polimerze. Ostatnim etapem syntezy będzie makroporowatego wdrukowanego polimeru będzie usunięcie szablonów krzemionkowych. Porowata struktura polimerów nie będzie ograniczała dyfuzji dużych cząsteczek białek w kierunku odpowiednich luk molekularnych. Wiązanie cząsteczek wybranego białka przez makroporowate warstwy MIP będzie wykrywane za pomocą impedymetrii pojemnościowej (CI). Opracowane mikroczujniki oparte na syntetycznych receptorach zapewnią pierwszą metodę monitorowania zapalenia układu nerwowego in vivo. Niskie potencjały elektryczne pracy takiego czujnika sprawią, że zakłócenia spowodowane obecnością neurotransmiterów będą minimalne. Miroelektrody pokryte MIP-ami powinny wykrywać docelowe białka w piko-/femtomolowym zakresie stężeń, nawet w skomplikowanych mieszaninach.

**Powody podjęcia określonego tematu badawczego.** Opracowanie wydajnych biosensorów elektrochemicznych do pomiarów in vivo nadal stanowi wyzwanie, m.in., ze względu na złożone środowiska biologiczne. Dlatego proponujemy opracowanie selektywnych mikrosensorów elektrochemicznych do zastosowania w pomiarach in vivo. Możliwość monitorowania składu chemicznego płynu śródmiąższowego mózgu pozostaje ważnym wyzwaniem w chemii bioanalitycznej. Mikroelektroda modyfikowana polimerem wdrukowanym podoła tym wyzwaniom i umożliwi wykonywanie pomiarów elektrochemicznych w kroplach nierozcieńczonych próbek rzeczywistych. Dodatkowo, poprzez bezpośrednie wszczepienie mikroelektrod w określone obszary mózgu, w połączeniu z odpowiednimi elektrochemicznymi sygnałami wyjściowymi, na przykład pojemnością elektryczną, umożliwi szybki pomiar białek i biomolekuł.

Aby lepiej zrozumieć rolę zapalenia układu nerwowego w chorobach mózgu, potrzebne są skuteczne narzędzia do monitorowania zapalenia układu nerwowego in vivo. Reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR) oraz metody oparte na testach immunologicznych nie pozwalają na monitorowanie stężeń odpowiednich markerów w czasie. Obrazowanie mózgu technikami PET lub MRI także nie nadaje się do monitorowania stężenia cytokin w tkankach mózgowych, ponieważ brakuje odpowiednich kontrastów. Zaś rozwój wysokowydajnych biosensorów elektrochemicznych do badań in vivo stoi przed wyzwaniami związanymi ze złożoną matrycą środowiska biologicznego w mózgu. Proponowane mikroelektrody będą miały średnicę (7–8 µm) znacznie mniejszą niż średnia odległość między naczyniami krwionośnymi. Pozwoli to na pomiar lokalngo stężenia w określonych obszarach mózgu. Jest to bardziej pomocne w zrozumieniu funkcjonowania mózgu niż pomiary globalne, takie jak analiza płynu mózgowo-rdzeniowego. Pobieranie próbek płynu mózgowo-rdzeniowego jest techniką jednorazową, która nie dostarcza informacji kinetycznych o tym, kiedy i jak szybko cytokiny są uwalniane w mózgu. Co więcej, nie jest możliwe pobieranie próbek płynu mózgowo-rdzeniowego od tego samego zwierzęcia częściej niż w odstępie kilku dni.

**Wpływ wyników Projektu na rozwój dyscypliny naukowej.** Technologia mikroczujników opartych na syntetycznych receptorach będzie miała znaczący wpływ na przyszłe badania nad zapaleniami układu nerwowego i neurologią w ogóle. A zwłaszcza pozwoli na zrozumienie przyczyn i przebiegu chorób neurologicznych, w których podejrzewa się udział procesów neurozapalnych, np. choroby Parkinsona i Alzheimera. Mikrocujniki oparte na syntetycznych receptorach (MIP) mogą stać się popularnymi narzędziami w neurologii, ponieważ zapewnią lepszą selektywność i czułość. W związku z tym, dostarczają nowej wiedzy na temat przekazywania sygnałów w mózgu.