



Pracownia Inżynierii Molekularnej i Zastosowań Grafenu

SITA MOLEKULARNE DO DIAGNOSTYKI I TERAPII CHORÓB NOWOTWOROWYCH

dr hab. inż. Zdzisław Bogdanowicz, prof. WAT
dr inż. Andrzej Górka



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI FUNDUSZ
ROZWOJU REGIONALNEGO



Projekt „Rozwój Klastra Centrum Inżynierii Biomedycznej”
współfinansowany ze środków Unii Europejskiej w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka

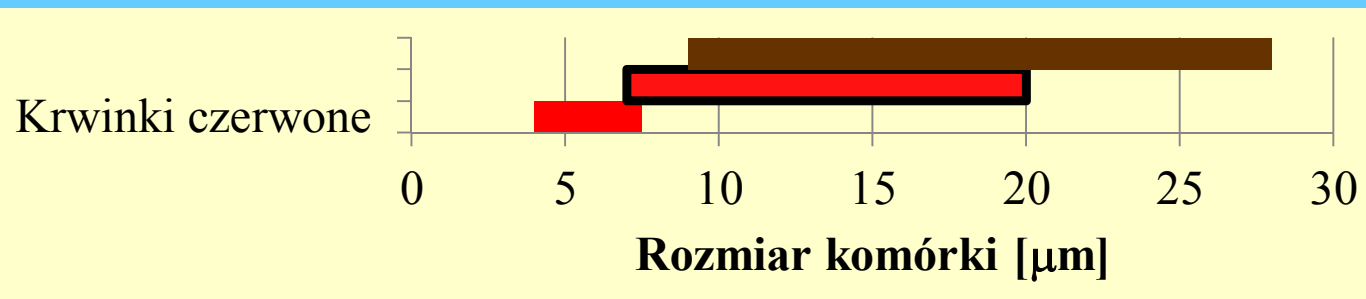


Pracownia inżynierii molekularnej i zastosowań grafenu Priorytety badawcze



Głównym celem działalności zespołu naukowego pracowni inżynierii molekularnej jest opracowanie i wytworzenie „sit molekularnych” do izolacji oraz wzbogacania krążących komórek nowotworowych (KKN) z diagnozowanej porcji krwi onkologicznej. **Wydzielenie KKN oraz ich wzbogacenie stanowi nowoczesne źródło materiału do diagnostyki i monitorowania leczenia chorób nowotworowych.**

Choroby nowotworowe są obecnie jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie. Większość z nich spowodowana jest przerzutami za które odpowiedzialne są KKN. Guz nowotworowy każdego dnia uwalnia do krwioobiegu tysiące komórek stających się KKN. Większość z nich ulega apoptozie, te co pozostają to w ilości 1 KKN w 1 ml krwi o wielkości 9 –30 mikrometrów. Ze względu na ich małą ilość należy prowadzić proces ich wzbogacania. Wzbogacanie prowadzimy w oparciu o filtrację na sitach molekularnych





Pracownia inżynierii molekularnej i zastosowań grafenu Zespół badawczy



- Centrum Inżynierii Biomedycznej
- dr inż. Andrzej GÓRKA
- Wydział Mechaniczny
- dr hab. inż. Zdzisław BOGDANOWICZ prof.
- mgr inż. Paweł PASTUSZKO (doktorant)
- Świętokrzyskie Centrum Onkologii Kielce
- dr hab. n. med. Stanisław GÓŹDŹ
- dr n. med. Artur KOWALIK
- mgr Małgorzata CHŁOPEK
- mgr Krzysztof GRUCZYŃSKI
- Instytut Optoelektroniki WAT
- dr hab. inż. Jan MARCZAK prof. WAT
- dr inż. Antoni SARZYŃSKI
- dr inż. Marek STRZELEC
- mgr inż. Antoni RYCYK





Sito molekularne



Przedmiotem prac i zgłoszonego wniosku patentowego (numer P.406164 z dnia 21.11.2013r.) jest sito molekularne do diagnostyki i terapii chorób nowotworowych umożliwiające wykrywanie i izolowanie krążących komórek nowotworowych (KKN) podczas analizy krwi pacjentów onkologicznych jak również na wczesnym etapie rozwoju choroby w badaniach przesiewowych.

Sito molekularne, według przykładu wykonania posiada wymiar średnicowy 25mm z obrzeżami o szerokości 1mm. Otwory w siatce górnej o wielkości referencyjnej $8\mu\text{m}$ z odstępem $50\mu\text{m}$, w siatce dolnej otwory o wielkości $10\mu\text{m}$ o analogicznej podziałce, w siatce środkowej otwory o wielkości $500\mu\text{m}$. Grubość siatek górnej i dolnej wynosi $10\mu\text{m}$, a siatki środkowej $20\mu\text{m}$. Materiały sita –miedź, nikiel.

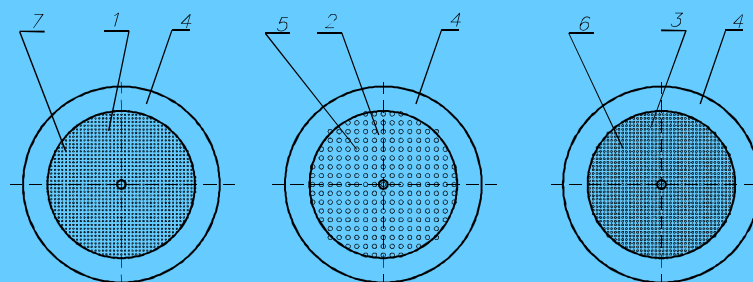


Fig. 1

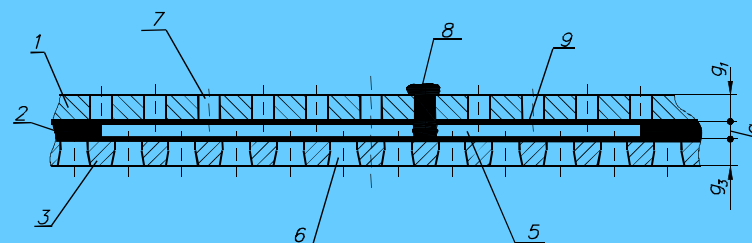
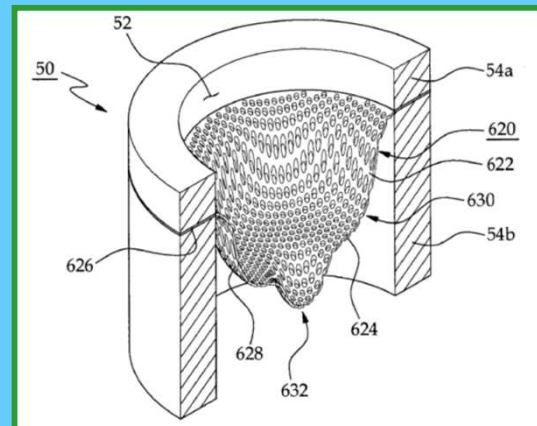
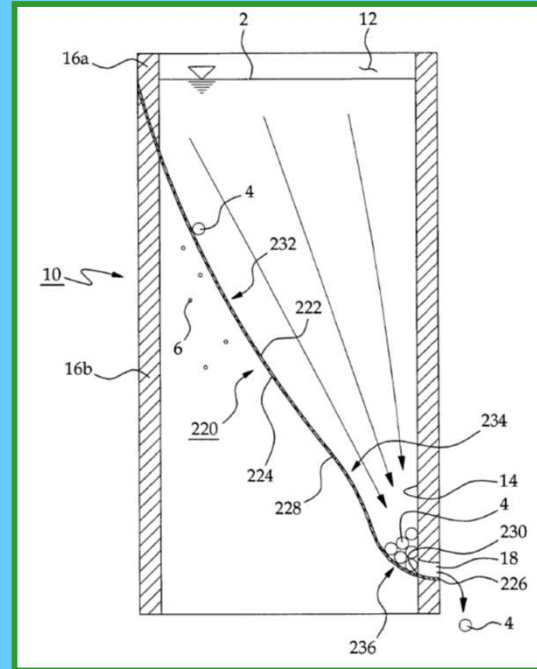
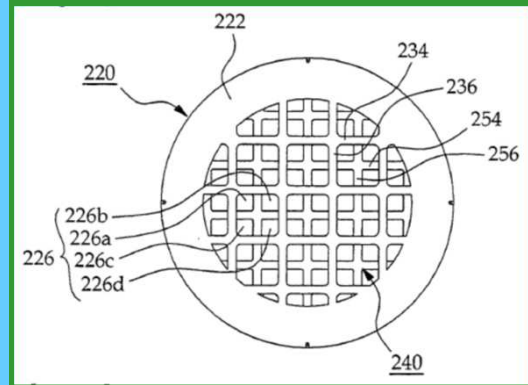
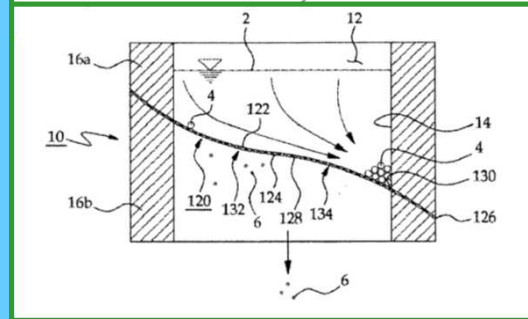
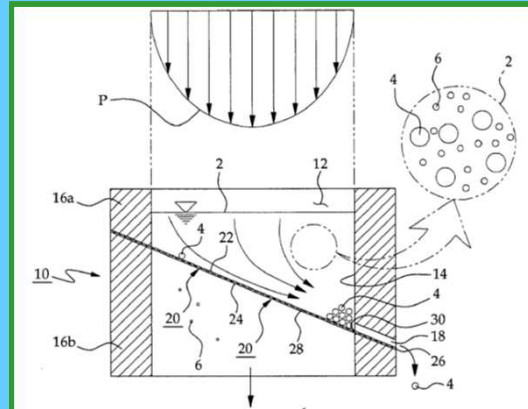


Fig. 2



Przykłady zagranicznych patentów na sита molekularne



- EP2634245A2
- US2006254972A1
- US2007026381A1
- US2009053749A1
- US2009136982A1
- US2009188864A1
- US2011065181A1
- US2011244443A1
- US2012006760A1
- US2013264272A1
- WO2008008515A2
- WO2010124227A2
- WO2010135603A2
- WO2011109762A1
- WO2012139209A1
- WO2013109749A1
- WO2013116696A1

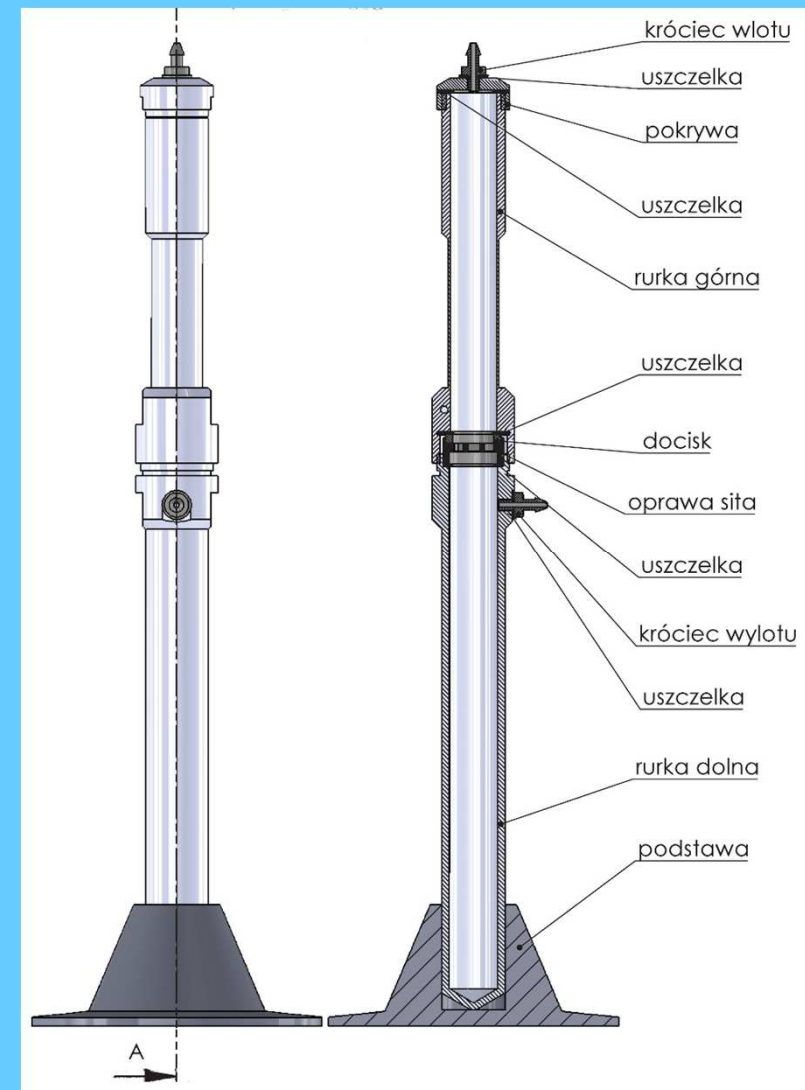


Urządzenie przesiewowe



Pomimo bardzo dużego zainteresowania na świecie tematem KKN to jak do tej pory brak jest urządzenia klinicznego mogącego spełniać wymagania dotyczące wykrywania i izolowania do diagnostyki oraz dalszych badań heterogennej populacji KKN we krwi obwodowej pacjentów onkologicznych, którego dodatkowo obsługa byłaby łatwa, a eksploatacja tania.

Laboratoryjne urządzenie przesiewowe będące naszym zgłoszeniem patentowym P.408760 z dn.4.07.2014r. przedstawiono na rysunku.



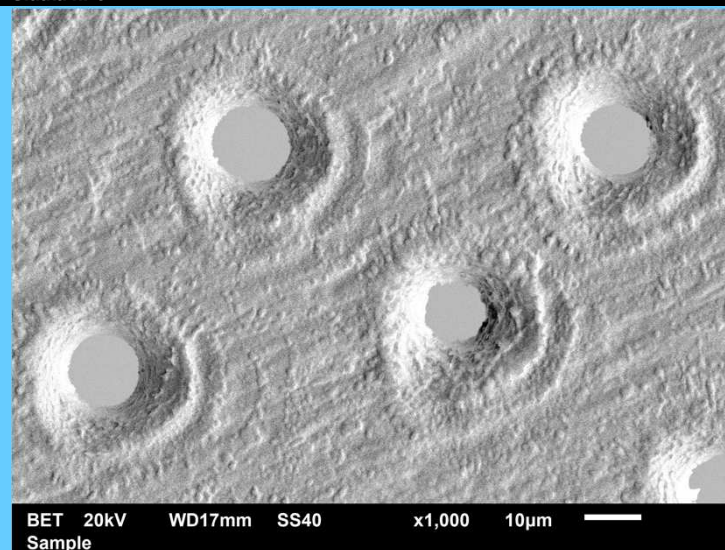
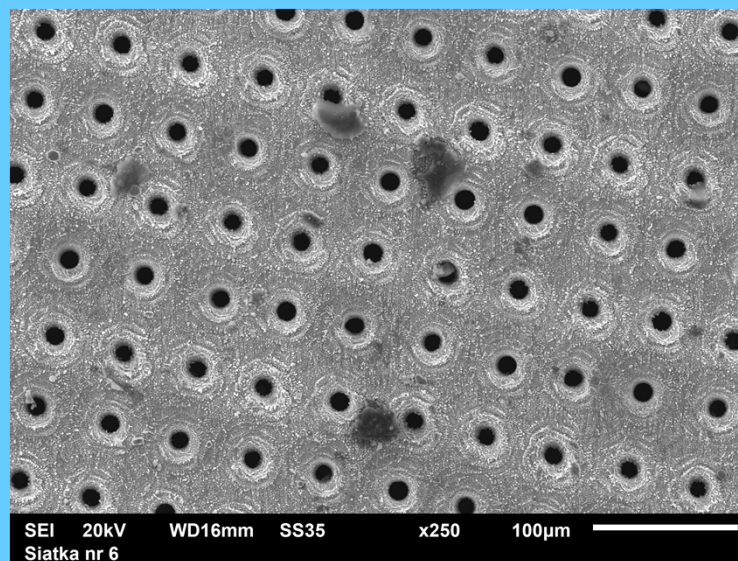
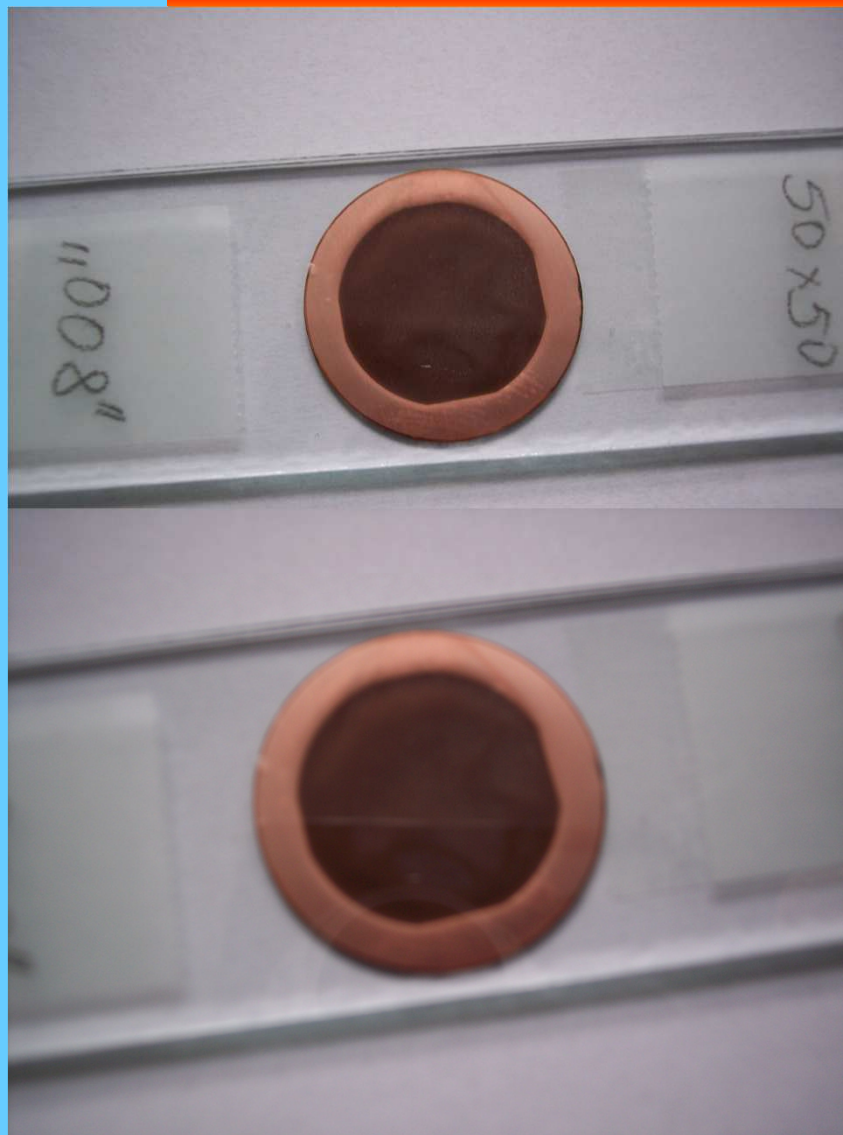


Urządzenie przesiewowe



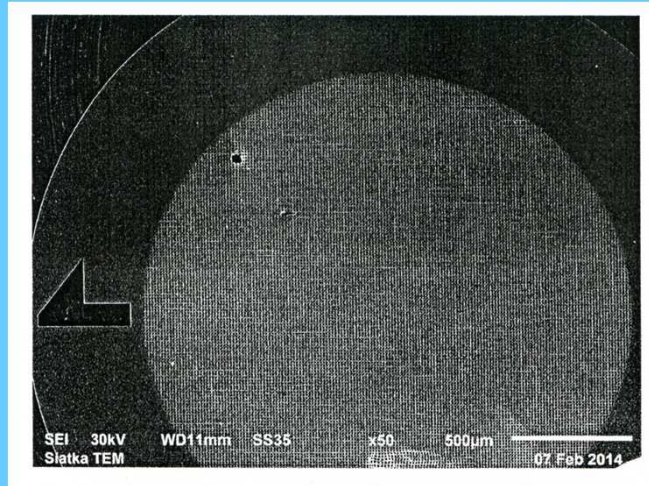


Urządzenie przesiewowe

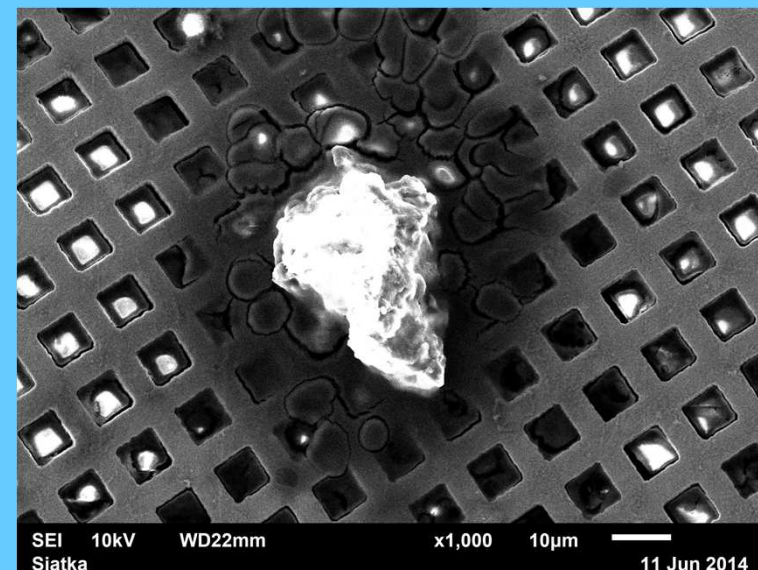
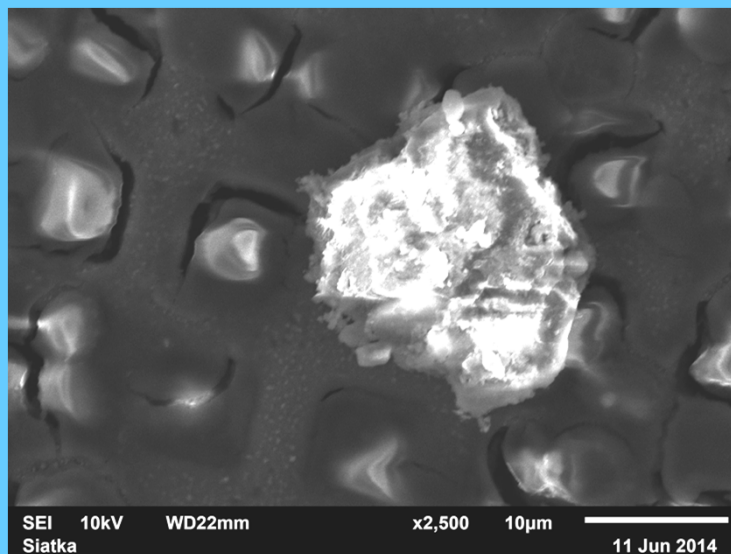
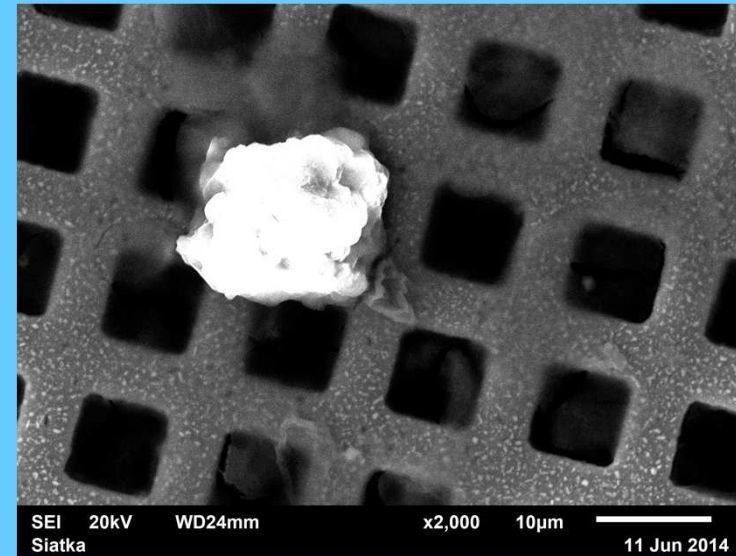




Badania laboratoryjne wykrywania i izolacji KKN z wykorzystaniem urządzenia przesiewowego

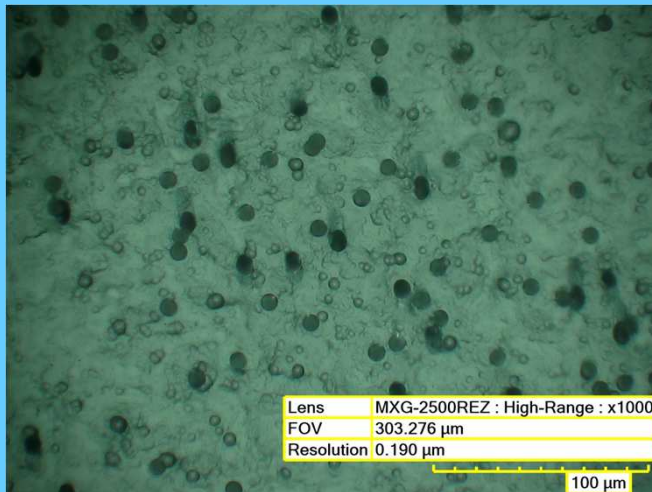


Sito : liczba oczek sita 2000, wymiar oczka 7,5x7,5µm, średnica sita 3mm, siatka TEM

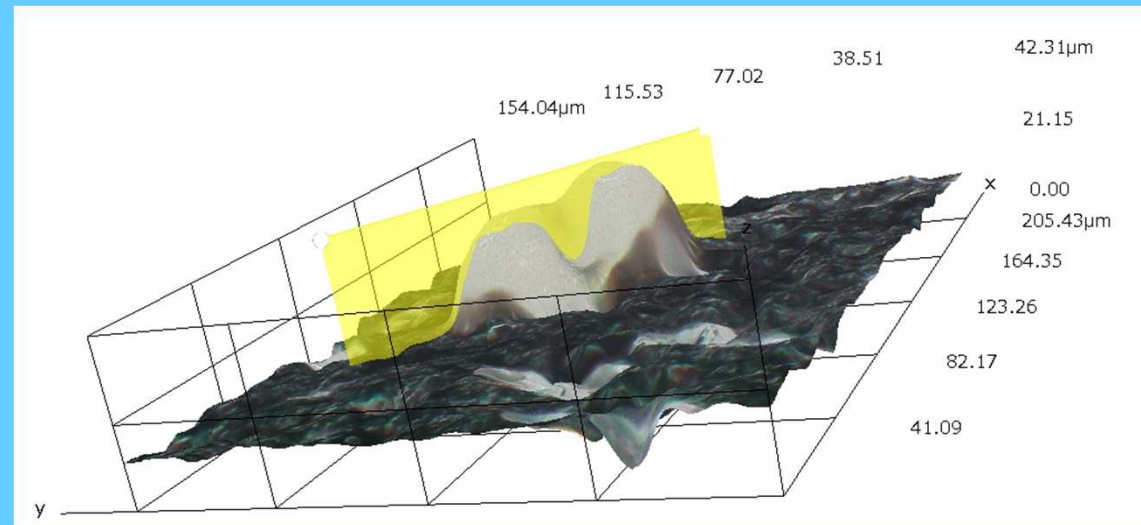




Badania laboratoryjne wykrywania i izolacji KKN z wykorzystaniem urządzenia przesiewowego



Sita wykonane z folii azotku celulozy. Średnica zewnętrzna 25mm, otwory 5, 8,10,12 mikrometrów. Rozmieszczenia otworów: losowe na całej powierzchni sita

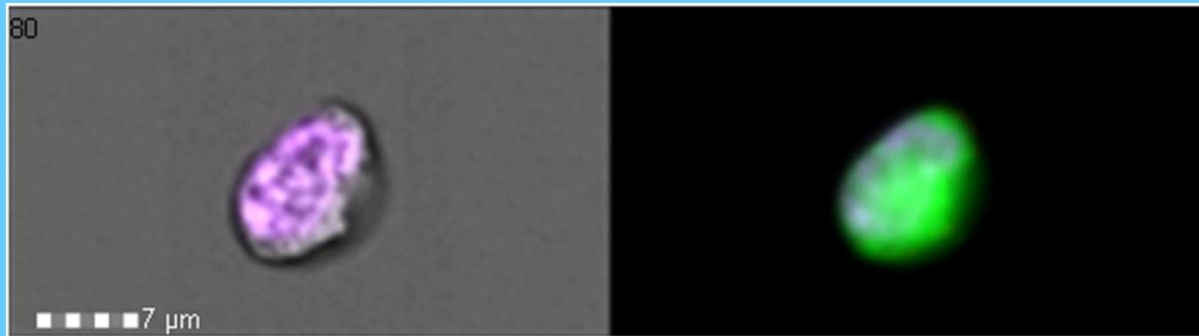




Badania laboratoryjne wykrywania i izolacji KKN z wykorzystaniem urządzenia przesiewowego



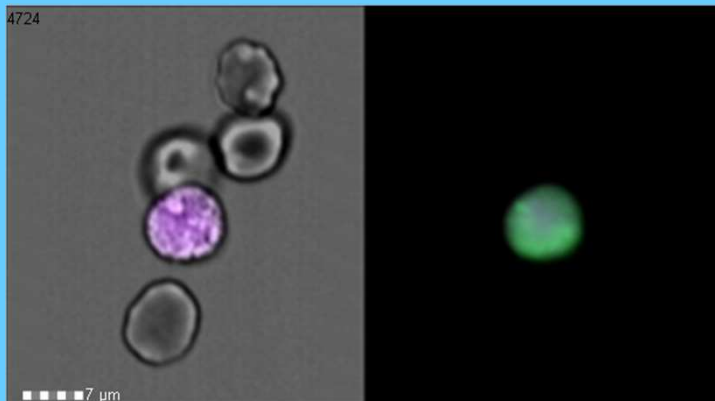
Zdjęcia wykonane w Świętokrzyskim Centrum Onkologicznym na cytometrze



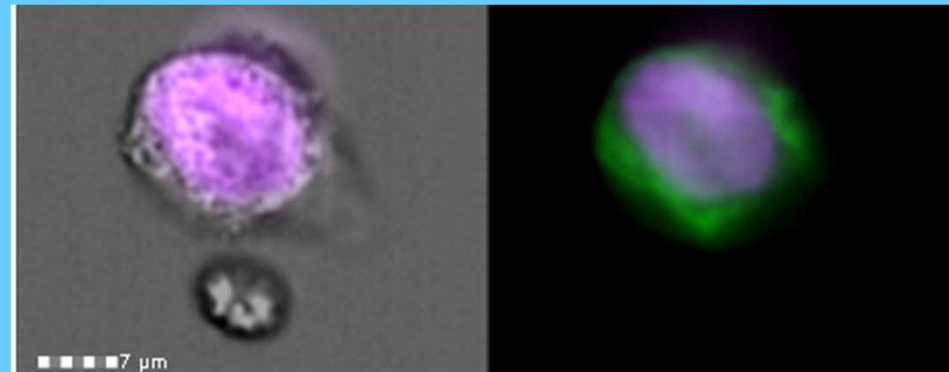
Komórki osiadłe na sicie

Komórka nowotworowa (zielony barwnik Ep-CAM)

Komórki zaobserwowane w przesączu sita



Komórka nowotworowa ok. 5 μm



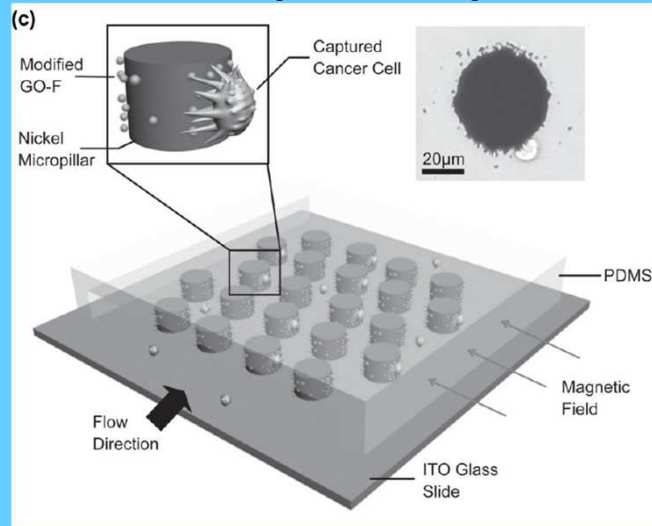
Komórka nowotworowa ok. 10 μm (powyżej średnicy otworu w sicie)



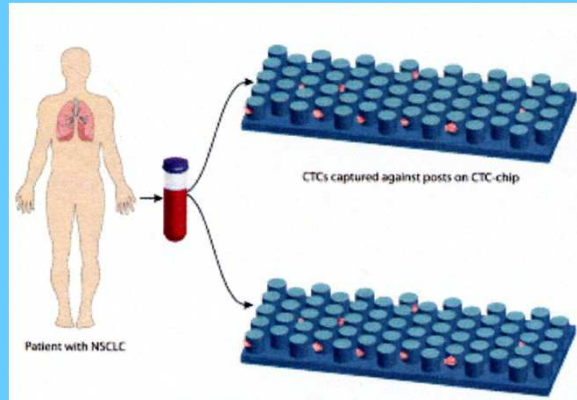
Sito molekularne 3D i adhezyjne

- opracowanie sita molekularnego 3D i adhezyjnego,

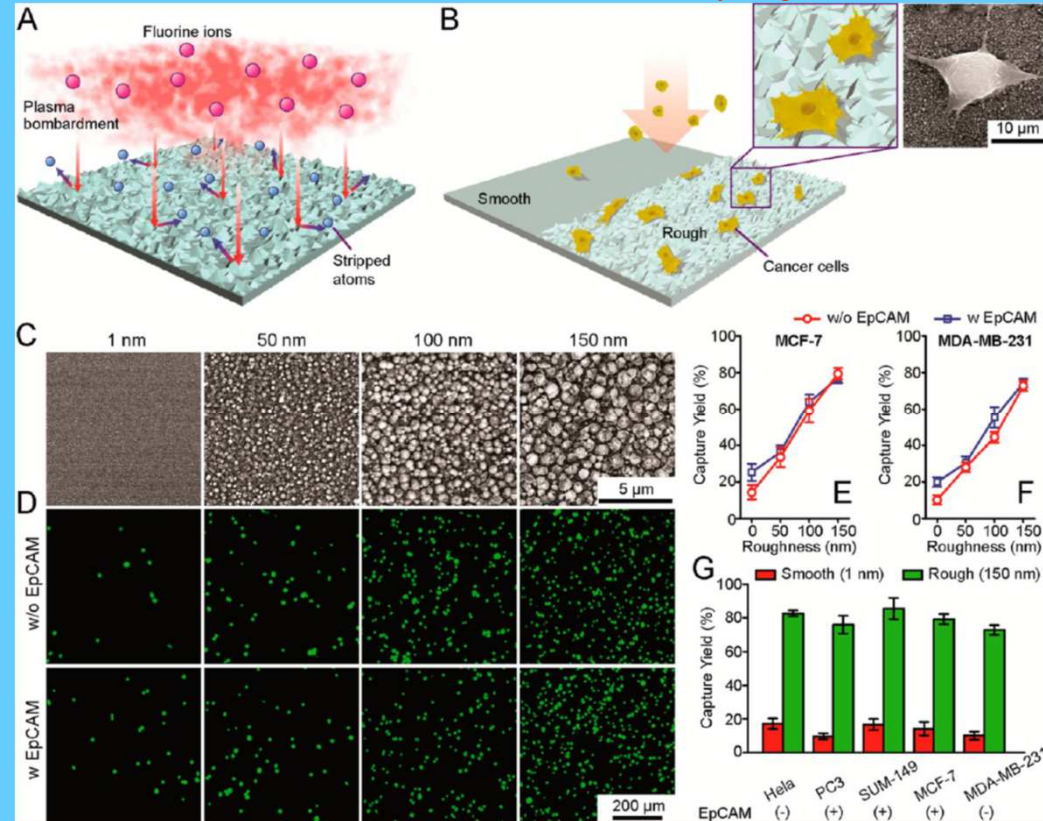
Zastosowanie tlenku grafenu do wzbogacania KKN



Filtr mikroprzepływy (tzw. chip)



Powierzchnie do efektywnego zbierania KKN



Nanoroughened Surfaces for Efficient Capture of Circulating Tumor Cells without Using Capture Antibodies

Weiqliang Chen, Shinuo Weng, Feng Zhang, Steven Allen, Xiang Li, Liwei Bao, Raymond H. W. Lam, Jill A. Macoska, Sofia D. Merajver, and Jianping Fu
Journal ACS NANO, NO XX/2012



Pracownia inżynierii molekularnej i zastosowań grafenu Aparatura



Urządzenie do fotolitografii laserowej – Laser
Writer



Urządzenie do utwardzania cieplnego powłok fotorезystorowych



Mikroskop optyczny transmisyjno-odbiciowy



Powlekaniec warstw
do formowania
cienkich powłok
fotorезystorowych



Pracownia inżynierii molekularnej i zastosowań grafenu Aparatura



Urządzenie do głębokiego trawienia DIRE (Deep Reactive Ion Etching) foli metalowych, podłoży półprzewodnikowych, ceramiki i szkła

Mikroskop elektronowy SEM do obserwacji cząstek biologicznych





Kliniczne urządzenie przesiewowe 2D i 3D



Uzyskane informacje z prowadzonych badań filtracyjnych przy wykorzystaniu laboratoryjnego urządzenia przesiewowego będą wykorzystane do zbudowania klinicznego profesjonalnego urządzenia przesiewowego

Wymagania medyczne – ustala Świątokrzyskie Centrum Onkologiczne

Wymagania techniczne

1. Stabilność warunków badań dotycząca:

- temperatury i wilgotności otoczenia,
- ciśnienia wspomagającego przepływ diagnozowanej porcji krwi.

2. Monitoring prowadzonego procesu:

- wskaźnik temperatury w przestrzeni wewnętrznej urządzenia,
- wskaźnik ciśnienia wspomagającego przepływ,
- lampki sygnalizacyjne np.: gotowości do badań, zakończenia procesu, awarii.



DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ