

# RAPORTARE STIINTIFICA

## PROIECT

**“PLATFORMĂ MICROFLUIDICĂ PENTRU DETECȚIA CELULELOR TUMORALE CIRCULANTE (CTC) CONCENTRATE PRIN DIELECTROFOREZĂ – MAGNETOFOREZĂ ȘI ANALIZATE PRIN SPECTROSCOPIE DIELECTRICĂ ȘI DE IMPEDANȚĂ ELECTROCHIMICĂ” (uCellDetect)**

**Etapa 3: Dezvoltare și testare, verificare și validare model experimental platformă microfluidică integrată - preliminar**

### Contract Nr. 3PCCDI/2018

**Proiect 1:** *“Model experimental avansat de izolare și identificare a celulelor tumorale primare în vederea validării platformei microfluidice integrate destinate identificării CTC”.*

**Etapa III-1:** *Optimizarea metodologiei de pregătire a celulelor tumorale primare izolate din tumori solide în vederea testării pe platforma microfluidică*

**Proiect 2:** *„Proiectarea și dezvoltarea unui dispozitiv dielectroforetic cu microelectrozi intedigitați multiplexați pentru sortarea celulelor tumorale circulante și analiză pe baza spectroscopiei dielectrice de bandă largă”.*

**Etapa III-2:** *Caracterizare tehnologică a platformei microfluidice obținute*

**Proiect 3:** *“Lab-on-a-chip pentru sortarea celulelor tumorale circulante bazat pe focalizare magnetoforetică și detecție spintronică”.*

**Etapa III-3:** *Caracterizarea tehnologica si functionala a componentelor si a platformei microfluidice cu sistem magnetoforetic integrat*

**Proiect 4:** *“Lab-on-a-chip pentru detecția celulelor tumorale circulante bazat pe focalizare dielectroforetică și analiza impedanței electrochimice”.*

**Etapa III-4:** *Realizarea platformei microfluidice integrate. Optimizare tehnologică*

## CUPRINS

REZUMAT	3
DESCRIEREA ȘTIINȚIFICĂ ȘI TEHNICĂ	4
Proiect 1: “Model experimental avansat de izolare și identificare a celulelor tumorale primare în vederea validării platformei microfluidice integrate destinate identificării CTC”	4
1.1. Optimizarea funcționării platformei microfluidice integrate, folosind linii celulare tumorale	4
1.2. Optimizarea metodologiei de izolare a celulelor tumorale primare din tumori solide	5
1.3. Optimizarea metodologiei de cultivare a celulelor tumorale primare izolate din tumori solide	7
Proiect 2: „Proiectarea și dezvoltarea unui dispozitiv dielectroforetic cu microelectrozi intedigitați multiplexați pentru sortarea celulelor tumorale circulante și analiză pe baza spectroscopiei dielectrice de bandă largă”	10
2.1. Diferențierea celulelor tumorale de cele sănătoase prin spectroscopia dielectrică de bandă largă	10
2.2. Determinarea frecvențele specifice DEP utilizate pentru sortarea celulelor tumorale circulante	11
2.3. Compararea platformei microfluidice obținute cu cele raportate în literatura de specialitate	13
Proiect 3: “Lab-on-a-chip pentru sortarea celulelor tumorale circulante bazat pe focalizare magnetoforetică și detecție spintronică”	15
3.1. Proiectare și realizare set-up experimental	15
3.2. Teste privind detecția în câmp magnetic continuu si alternativ a nanoparticulelor magnetice	19
Proiect 4: “Lab-on-a-chip pentru detecția celulelor tumorale circulante bazat pe focalizare dielectroforetică și analiza impedanței electrochimice”	22
4.1. Fabricarea dispozitivului dielectroforetic	22
4.2. Simularea numerică a sistemului dielectroforetic	23
<b>PREZENTAREA STRUCTURII OFERTEI DE SERVICII DE CERCETARE ȘI TEHNOLOGICE</b>	<b>28</b>
<b>DISEMINAREA REZULTATELOR LA NIVELUL PROIECTULUI COMPLEX</b>	<b>29</b>
<b>PREZENTAREA VALORIFICARII RESURSELOR EXISTENTE LA NIVELUL CONSORTIULUI (CECURI)</b>	<b>31</b>
<b>LOCURI DE MUNCA SUSTINUTE</b>	<b>31</b>

## REZUMAT

**Toate obiectivele etapei cuprinse în Planurile de activități ale celor patru proiecte componente au fost realizate.**

În această etapă, în cadrul proiectului component 1, coordonat de P2 - INCD Cantacuzino, s-a optimizat metodologia de izolare și procedura de cultivare a celulelor tumorale primare pornind de la piese tumorale prelevate de la pacienți. De asemenea, a fost optimizată metodologia de cultivare a unor linii de celule tumorale SW-403 (linie celulară tumorală derivată din adenocarcinomul colorectal) și JURKAT (linie celulară de limfocite T) pentru a facilita optimizarea funcționării platformei microfluidice integrate, folosind linii celulare tumorale.

În cadrul proiectului 2, coordonat de CO - TUIASI, s-au realizat o serie de teste pentru caracterizarea tehnologică a platformei microfluidice realizate atât pe baza unor teste asupra unor linii celulare consacrate și prin comparație cu alte dispozitive din literatură pentru care au fost furnizate informații cu privire la arhitectură. Testele comparative și rezultatele cu privire la evoluția parametrilor dielectrici au vizat o serie de linii celulare precum THP-1, SW403, JURCAT și celule tumorale izolate din tumori solide T2 și T3. Pentru interpretarea caracteristicilor impedanței electrice ale electrozului interdigitat acoperit cu celule, datele experimentale au fost analizate utilizând un model de circuit electric echivalent simplificat de tip Randles.

În cadrul proiectului component 3, coordonat de P3 – UTBv, au fost utilizate rezultatele și concluziile desprinse în urma activităților desfășurate în etapele anterioare pentru a realiza un dispozitiv experimental ce permite (i) focalizarea nanoparticulelor magnetice (NPM) utilizate pentru marcarea celulelor biologice pe zona de detecție, (ii) detecția atât în DC cât și în AC a NPM cât și (iii) condiționarea semnalelor provenite de la senzorii de măsură și de referință. Au fost efectuate teste în câmp magnetic variabil ce au pus în evidență posibilitatea focalizării NPM deasupra joncțiunii de măsură, stabilitatea termică foarte bună a senzorilor spintronici și a circuitului de condiționare, sensibilități ale semnalului de ieșire mai bune de 16 mV/Oe și obținerea unui semnal a cărui formă de undă este dependentă de prezența NPM deasupra senzorului.

În cadrul proiectului component 4, coordonat de P1 – IMT București, a fost dezvoltat experimental dispozitivul microfluidic pentru detecția și separarea celulelor tumorale circulante. Dispozitivul este fabricat pe două substraturi: primul substrat conține electrozii din aur interdigați, iar al doilea substrat este reprezentat de canalul microfluidic. Au fost realizate o serie de teste de funcționalitate și s-a realizat o corelare a parametrilor funcționali cu tehnicile clasice de analiză și cu platformele microfluidice cu senzor cu electrozi interdigați multiplexați integrat și respectiv dispozitivul magnetoforetic.

Diseminarea rezultatelor s-a realizat prin: **5 - Articole** acceptate pentru publicare în reviste **indexate ISI** sau **BDI**, **9 - Comunicări științifice** susținute la conferințe, seminarii, simpozioane în anul 2020.

Valorificarea resurselor existente la nivelul consorțiului s-a realizat astfel:

- Valorificarea resursei umane prin cecuri de mobilitate la nivelul consorțiului (1 Cec de tip B)

Toate cele 9 poziții vacante au fost ocupate, astfel: 2 asistenți cercetare la TUIASI, un cercetător științific și un asistent cercetare la IMT, 3 asistenți cercetare la INCD Cantacuzino și 2 asistenți de cercetare la UTBv.

# PREZENTAREA STRUCTURII OFERTEI DE SERVICII DE CERCETARE ȘI TEHNOLOGICE

Coordonator proiect complex (CO) - UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" IAȘI

<http://erris.gov.ro/Centrul-METROS>

- electromanipularea nanoparticulelor; (dielectroforeza)
- caracterizarea comportamentului dielectricilor solizi și lichizi; (spectrometru dielectric de bandă largă);
- servicii de caracterizare a proprietăților materialelor din punct de vedere electrochimic; (Electrochemical Test Station OT/GAL)
- efecte biologice a câmpurilor electromagnetice;
- caracterizarea capacității electrice și a factorului de disipație.

În cadrul P1-IMT Bucuresti, domeniile de activitate tehnologice specifice sunt definite astfel: (a) Cercetare științifică și dezvoltare tehnologică în domeniul următoarelor patru tehnologii generice esențiale (TGE): (1) micro-nanoelectronica, cu precădere în micro - și nanosisteme (MNEMS) și micro – nano - biosisteme (BioMNEMS), micro - și nanosenzori, sisteme inteligente, sisteme de inspirație biologică; (2) micro – nanofotonica; (3) materiale avansate; (4) nanotehnologie; (b) Cercetare aplicativă, dezvoltare tehnologică și inovare , pe lantul valoric material – proces tehnologic – componenta/dispozitiv – sistem/subsistem.

Pe scurt, în cadrul IMT Bucuresti principalele categorii de servicii oferite sunt: servicii tehnologice pentru dezvoltare micro-nano dispozitive și sisteme: - micro și nano-litografie, micro și nano-structurare 3D în materiale semiconductoare, straturi metalice pentru tehnologia Lift-off, corodare în plasma, proiectare și realizare masti la comanda, dezvoltarea de sisteme integrate și nanomateriale avansate pe baza de carbon, servicii de caracterizare tehnologică și fiabilitate, servicii de simulare, proiectare și modelare, servicii de transfer tehnologic și diseminare. Servicii oferite în cadrul centrelor existente în cadrul IMT Bucuresti: IMT MINAFAB, CENASIC, CINTECH, CNT-IMT, MIMOMEMS, CTT Baneasa, MINATECH-RO. Mai multe detalii pe: <http://www.imt.ro> și <https://erris.gov.ro> (<http://erris.gov.ro/MINAFAB>, <http://erris.gov.ro/CENASIC>, <http://erris.gov.ro/Micro-Nanostructuring> ).

Servicii de cercetare în platforma erris Partenerul P2 -": **Institutul National de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militara „Cantacuzino”**

- Criosectionare și identificare populații celulare prin microscopie de fluorescență.
- Tissue cryosectioning and identification of cell populations by fluorescence microscopy
- Infrastructura : Research Infrastructure în Microbiology, Immunology and Biotechnology

link:

<https://erris.gov.ro/index.php?&ddpN=1693097241&we=d3cdf3482aed0446e2532b946e1769a8&wf=dGFCall&wtok=b609c00aca61adccad8d98df0c3ebef5da4860fc&wtkps=dY+5DslwEET/ZXsi20mEs+mRqKiokXEOGUyc+CACxL9j1BS7WjeHrMCKcGXwxJh9lftoFZIC8qqitcOcwSnGkiKlzCmvcsdMfl9tqW98N6Uqqj45hlc2cwbc b2wgaRuFre1i6AIN9ME3WziHDNj+2wMZ61kgpFNS41CisELGZ5qMMmqELRy/jSKvk2RSPS2Py+GbJDWS+gptPbxZ0l07r/hBXcH2x8H5ffrSwh0y7/XZLcTUumVFJEQQqF+fwA=&wchk=f8e37c39d1a5c401d3164cd1a408c2592a3063c1#s>

Servicii de cercetare în platforma erris **Partenerul P3 – Universitatea Transilvania Brașov:** Modelarea unor sisteme electrice și magnetice macroscopice, modelări micromagnetice a structurilor magnetice micro(nano)metrice;

Investigarea proprietăților electrice și magnetice (DC&AC) în domeniul 2 -400 K, 0-7 T, pentru structuri spintronice, semiconductoare, grafenă și structuri biologice.

Link: <https://erris.gov.ro/UNIVERSITATEA-TRANSILVANIA-B>

La aceasta se pot adăuga sistemele achiziționate în decursul acestei faze: Lock-în-amplifier, COMSOL și simulatorul Llg Micromagnetics 4 (necuprins încă în lista erris).

Documentul integral este protejat, la  
cerere poate fi transmis.

Persoana de contact: Marius Olariu email  
de contact: [molariu@tuiasi.ro](mailto:molariu@tuiasi.ro)