

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 4: Etapa finală de dezvoltare și testare, verificare și validare model experimental platformă microfluidică integrată

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 IV-1: *Demonstrarea finală a funcționalității dispozitivului. Corelarea parametrilor cu tehnicile clasice de analiză și platforma microfluidică.*

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

Etapa IV-2: *Elaborarea documentației tehnice – varianta finală.*

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

Etapa IV-3: *Demonstrarea finală a funcționalității dispozitivului și a performanțelor de detecție.*

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

Etapa IV-4: *Caracterizarea finală tehnologică a platformei microfluidice. Demonstrarea finală a funcționalității dispozitivului. Corelarea parametrilor cu tehnicile clasice de analiză și cu platformele microfluidice cu senzor cu electrozi interdigitați multiplexați integrat.*

Cuprins

REZUMAT	3
DESCRIEREA ȘTIINȚIFICĂ ȘI TEHNICĂ	5
Proiect 1: “Model experimental avansat de izolare și identificare a celulelor tumorale primare în vederea validării platformei microfluidice integrate destinate identificării CTC”	5
1.1. Tehnici clasice de detecție a CTC-urilor	5
1.2. Demonstrarea funcționalității dispozitivului.....	5
Proiect 2: “ Proiectarea și dezvoltarea unui dispozitiv dielectroforetic cu microelectrozi interdigitati multiplexati pentru sortarea celulelor tumorale circulante și analiză pe baza spectroscopiei dielectrice de bandă largă”	11
2.1. Determinate proprietățile dielectrice caracteristice membranei celulare unor linii de celule canceroase cu ajutorul dielectroforezei.....	11
2.2. Elaborarea documentației tehnice – varianta finală.....	15
Proiect 3: “Lab-on-a-chip pentru sortarea celulelor tumorale circulante bazat pe focalizare magnetoforetică și detecție spintronică”	17
3.1. Dispozitiv magnetoforetic	17
3.2. Detecția NPM cu senzori bazați pe efectul de magnetorezistență gigantică (GMR) – simulări micromagnetice și alegerea setup-ului de măsură.....	20
Bibliografie.....	29
Proiect 4: “Lab-on-a-chip pentru detecția celulelor tumorale circulante bazat pe focalizare dielectroforetică și analiza impedanței electrochimice”	30
4.1. Caracterizarea finală tehnologică a platformei microfluidice.....	30
4.2. Demonstrarea finală a funcționalității dispozitivului. Corelarea parametrilor cu tehnicile clasice de analiză și cu platformele microfluidice cu senzor cu electrozi interdigitati multiplexati integrat.....	31
4.2.1. Spectroscopia de impedanță a celulelor tumorale aderate	32
4.2.2. Interpretarea variației permitivității dielectrice complexe cu frecvența	34
Concluzii	38
PREZENTAREA STRUCTURII OFERTEI DE SERVICII DE CERCETARE ȘI TEHNOLOGICE	39
DISEMINAREA REZULTATELOR LA NIVELUL PROIECTULUI COMPLEX	40
PREZENTAREA VALORIFICARII RESURSELOR EXISTENTE LA NIVELUL CONSORTIULUI (CECURI)	41
LOCURI DE MUNCA SUSTINUTE	42

REZUMAT

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

În această etapă finală, în cadrul proiectului component 1, partenerul P2 - INCD Cantacuzino, a finalizat activitatea de optimizare a metodologiei de izolare a celulelor tumorale primare. De asemenea, a fost optimizată metodologia de cultivare a unor linii de celule tumorale precum HeLa și HT-29 fapt ce a permis elaborarea unor soluții cu conductivități și pH potrivite pentru electromanipularea optimă a celulelor targetate și pentru a facilita optimizarea funcționării platformei microfluidice integrate, folosind linii celulare tumorale. Nu în ultimul rând, pentru *corelarea parametrilor cu tehnicile clasice de analiză și rezultatele obținute cu ajutorul platformei microfluidice* au fost folosite și analizate linii celulare cu diverse concentrații: SW-403, HT-29, HeLa în comparație cu THP-1.

În cadrul proiectului 2, coordonat de CO - TUIASI, s-a urmărit realizarea unor teste la nivelul unor linii celulare tumorale precum THP-1, HeLa și HT-29 în sensul demonstrării versatilității tehnologiei dezvoltate pentru electromanipularea CTC-urilor. A fost de asemenea studiată dependența frecvențelor specifice DEP de conductivitatea soluției pentru diferite tipuri de linii celulare în sensul facilitării discriminării mai ușoare a celulelor tumorale față de celulele sănătoase pe baza proprietăților dielectrice caracteristice membranei celulare. Rezultatele proiectului au permis elaborarea unei cereri de brevet de invenție ce a fost înregistrată la OSIM în septembrie 2021.

În cadrul proiectului component 3, coordonat de P3 – UTBv, s-a finalizat activitatea de integrarea a senzorului magnetic integrat pentru concentrarea magnetică a celulelor tumorale în paralel cu investigații dedicate electrochimice la nivelul unor diverse linii celulare. S-au realizat o serie de teste de detecție în DC și detecție în AC – magnetorelaxometrie. Nu în ultimul rând, a fost determinat răspunsul sistemului de măsură în câmp magnetic alternativ pentru frecvența centrală și prima armonică atunci când pe senzorul GMR2 se regăsesc 2,5 μl apă sau soluție cu NPM; la frecvențe de 1000, 5000 Hz.

În cadrul proiectului component 4, coordonat de P1 – IMT București, a fost realizată integrarea finală a dispozitivului experimental microfluidic pentru detecția și separarea celulelor tumorale circulante. Astfel, au fost realizate o serie de analize comparative între rezultatele obținute cu ajutorul platformei microfluidice dezvoltate și cele obținute cu ajutorul microelectrozilor independenți dezvoltati in-house și care prezintă caracteristici similare cu microelectrozii comerciali fapt ce a permis optimizarea finală funcționalității dispozitivului. Experimentele realizate au demonstrat că platforma dielectroforetică cu senzor electrochimic integrat și platforma magnetoforetică cu senzor magnetic integrat concentrează și separă tipuri diferite de celule tumorale de concentrații diferite.

Diseminarea rezultatelor s-a realizat prin: **1 - Articol** acceptate pentru publicare în reviste **indexate ISI** sau **BDI**, **1 - Comunicare științifică** susținută la conferințe, seminarii, simpozioane în anul 2020 și **3 cereri de brevet**.

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.

Documentul integral este protejat, la cerere poate
fi transmis.

Persoana de contact: Marius Olariu email de
contact: molariu@tuiasi.ro