

Immunkomplexek által elindított gyulladásos folyamatok követésére alkalmas mikrofluidikai rendszer fejlesztése



Fürjes Péter

MTA Természettudományi Kutatóközpont

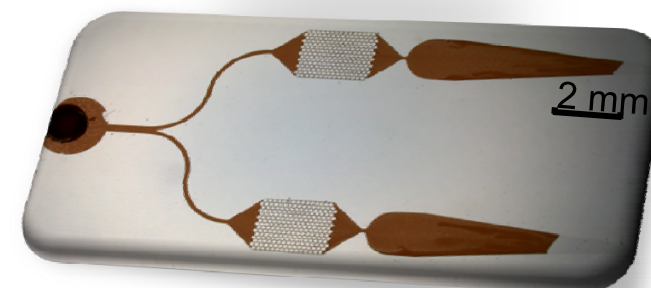
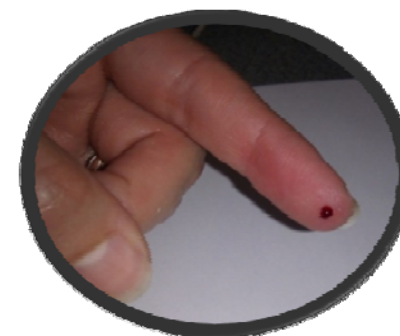
MEMS Lab

és



Papp Krisztián

MTA-ELTE Immunológia Kutatócsoport





Immunkomplexek által elindított gyulladásos folyamatok követésére alkalmas mikrofluidikai rendszer fejlesztése

Fürjes Péter – Papp Krisztián

A kooperáció lényege egy olyan komplex **autonóm mikrofluidikai eszköz és immunológiai módszer kidolgozása**, amely a **gyulladásban központi szerepet játszó neutrofil granulociták aktivációjának mérésére** alkalmas. A kooperáció a mérnöki, anyagmegmunkálási folyamatokat egyesíti a biológiai ismeretekkel: az MTA-TTK munkacsoportja a mikrotechnológiai tudást, az MTA-ELTE munkacsoport az immunológiai szakértelmet biztosítja az együttműködésben. **A mikro- és biotechnológia eszközparkját innovatívan használva és fejlesztve, a hagyományos anyagszerkezetek köréből kilépve olyan komplex Lab-on-a-Chip rendszereket hozunk létre**, amelyek integrálva alkalmazzák az érzékelő és mintapreparációs lehetőségeket.

Immunkomplex indukált gyulladás

gyulladás

Komplement
fragmentumok

Cikk:

- Papp et al. *MOLECULAR AND CELLULAR PROTEOMICS* 6:(1) pp. 133-140. (2007)
- Papp et al. *PROTEOMICS* 8:(14) pp. 2840-2848. (2008)
- Papp et al. *JOURNAL OF IMMUNOLOGY* 181:(11) pp. 8162-8169. (2008)
- Papp et al. *RHEUMATOLOGY* 49:(12) pp. 2273-2280. (2010)
- Prechl et al. *TRENDS IN IMMUNOLOGY* 31:(4) pp. 133-137. (2010)

Cikk:

- Szittner et. al. *PLOS ONE* 8:(9) Paper e72401. 9 p. (2013)
- Papp et. al. *CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES* 69:(16) pp. 2717-2725. (2012)

Szabadalom:

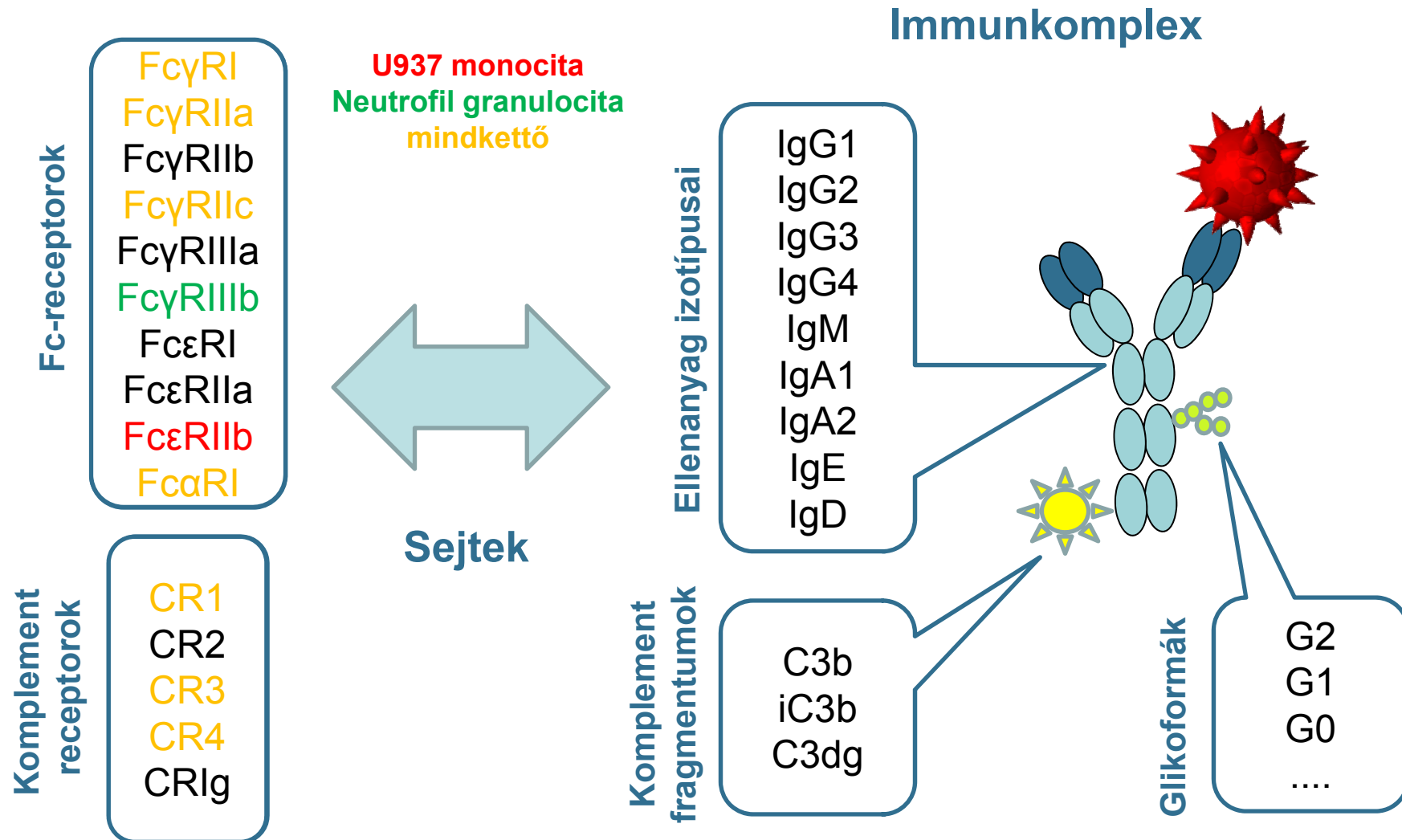
- Method for the analysis of immunoreactivity and a device suitable for carrying out the method Lajstromszám: HU1400068/1

DS 375: pp. 75-

05. (2012)

tigen arrays

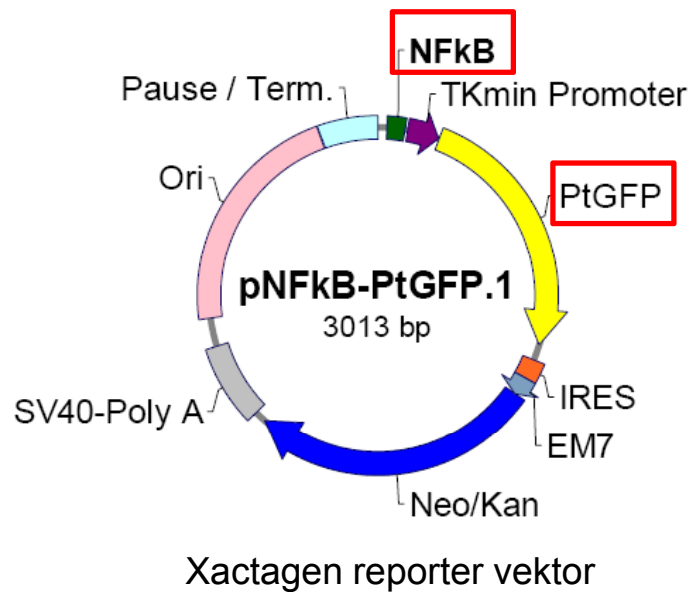
Sejtek immunkomplex felismerése



Sejtaktivációt jelző rendszerek

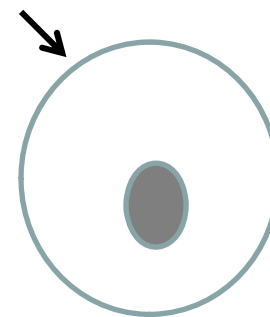
U937 monocita sejtvonal

NFκB irányított GFP termelés



Neutrofil granulocita

Dihydrorhodamine 123
 ROS indikátor feltöltés

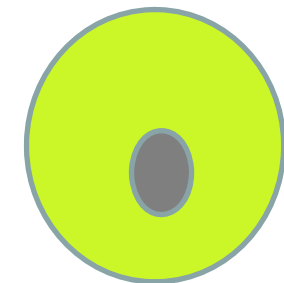


Neutrofil granulocita



Aktiváció és
 reaktív oxigén
 gyök képződés

Rhodamine 123 zöld
 fluoreszcens termék

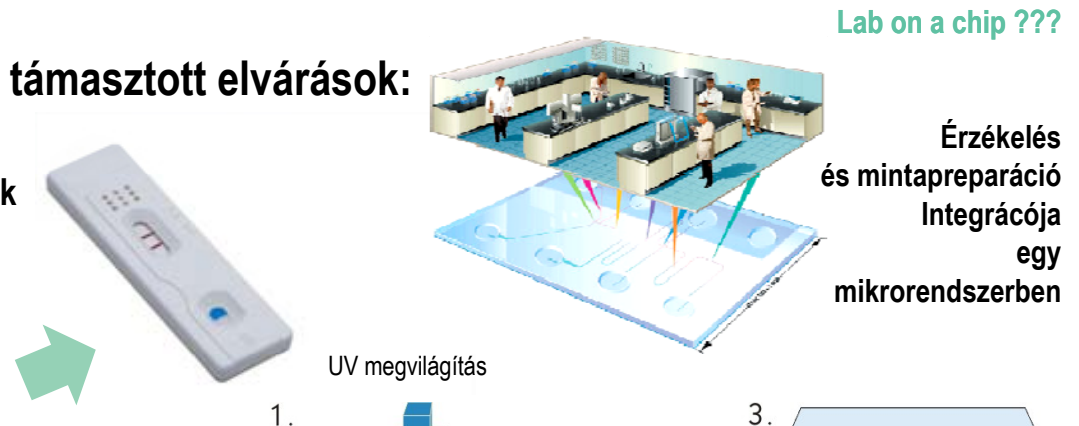


Biológiai minták kezelése mikrométerben

- diagnosztikai tesztek, kevés mintából, gyorsan, olcsón

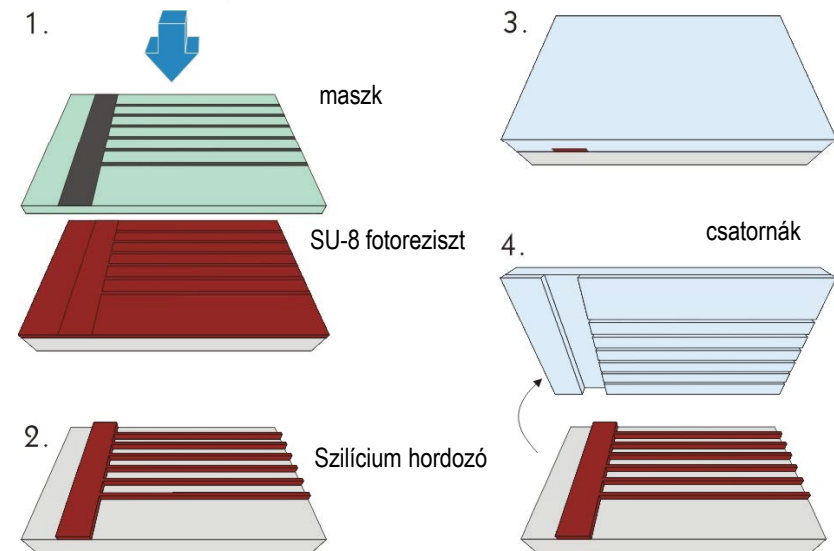
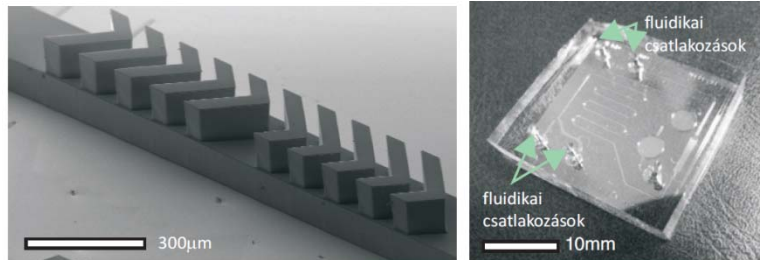
A mikrofluidikai rendszerrel szemben támasztott elvárások:

- Csatlakozás a makroszkopikus világhoz
- Szivárgásmentes nagy oldalarányú csatornák
- Integrálhatóság az érzékelő rendszerrel
- Biokompatibilitás
- Minimális protein kikötődés a felületeken
- Autonóm mintaszállítás? (hidrofil felület)



Mikrofluidika kialakítása PDMS polimerben

- biokompatibilis, rugalmas, transzparens
- olcsó, gyors és egyszerű felhasználás
- kovalens kötés önmagával, Si és üveg felülettel

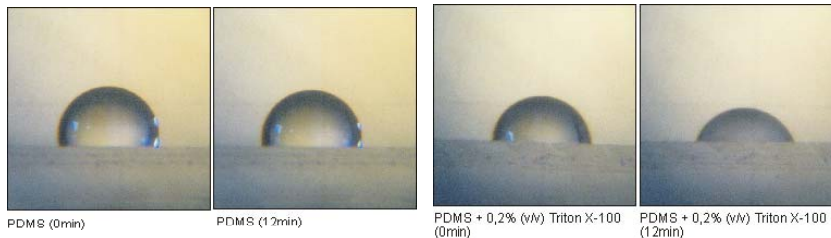


Hátrány: hidrofób: hidrofób ligandumok adszorpciója, alacsony áramlási sebesség

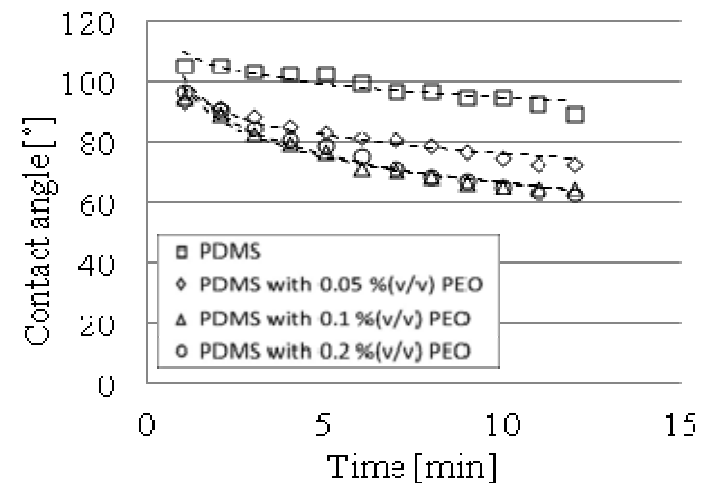
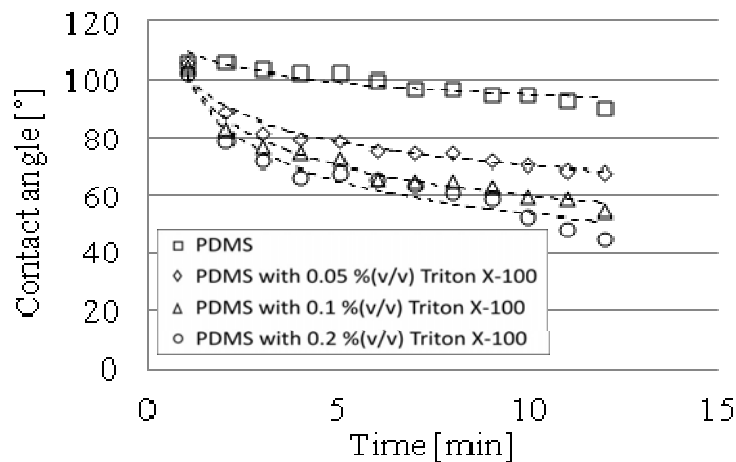
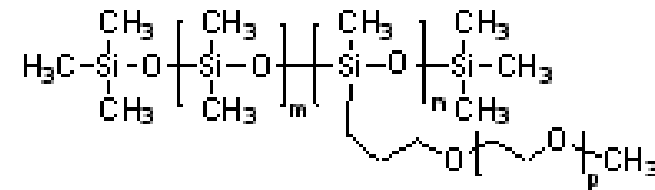
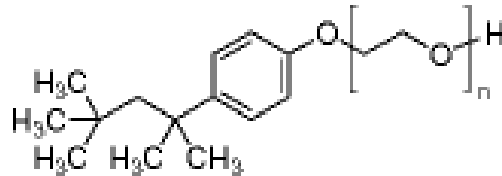
PDMS felületmódosítása TENZIDEK oltásával

Triton X-100 (TX-100) vagy **PDMS-b-PEO felületaktív molekula** (Seo, Luke P. Lee, Sens. Act. B 2006)

- a polimerhez keverve: 0 - 0,05 - 0,1 - 0,2% (v/v) konc.
- vizes közeg

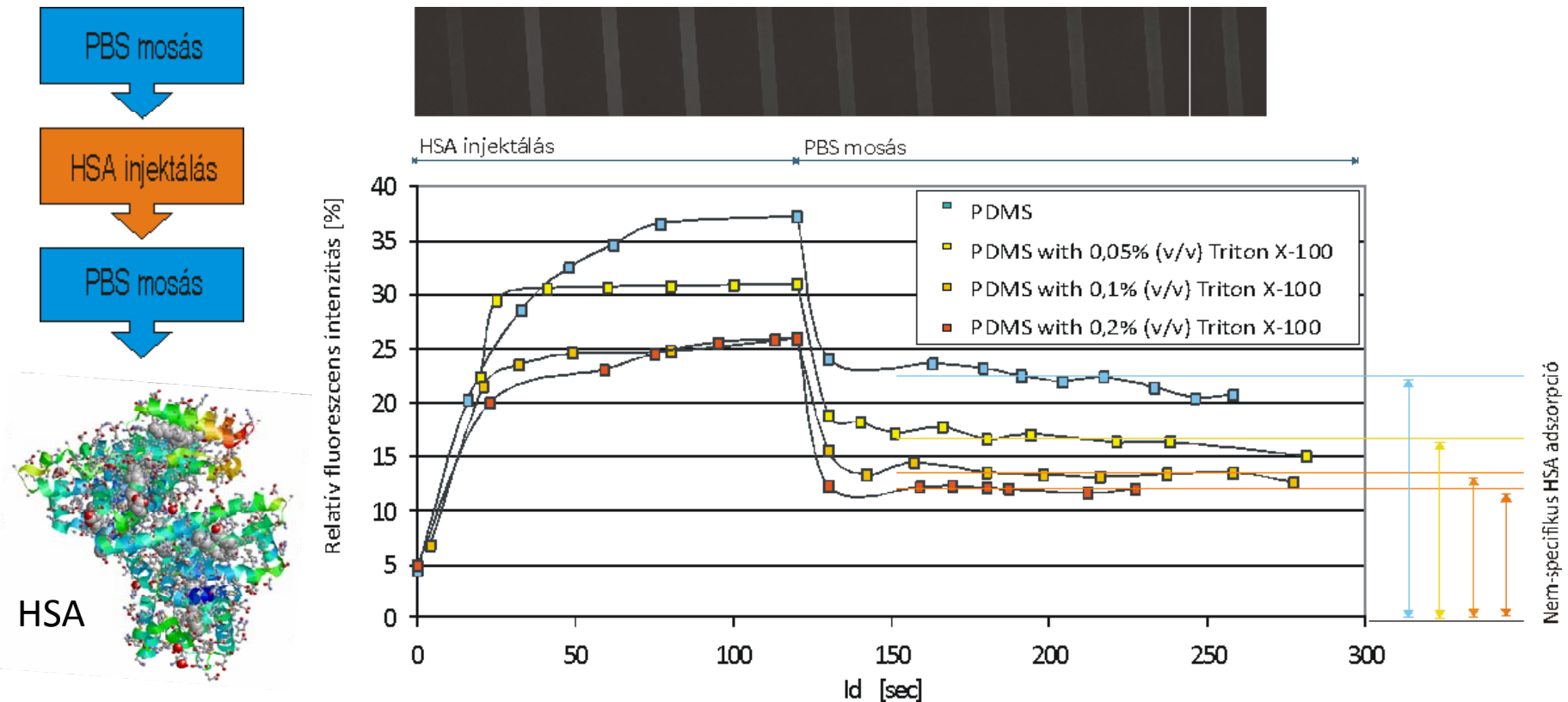


$$P_C = -\gamma \left(\frac{\cos\alpha_b + \cos\alpha_t}{h} + \frac{\cos\alpha_l + \cos\alpha_r}{w} \right)$$



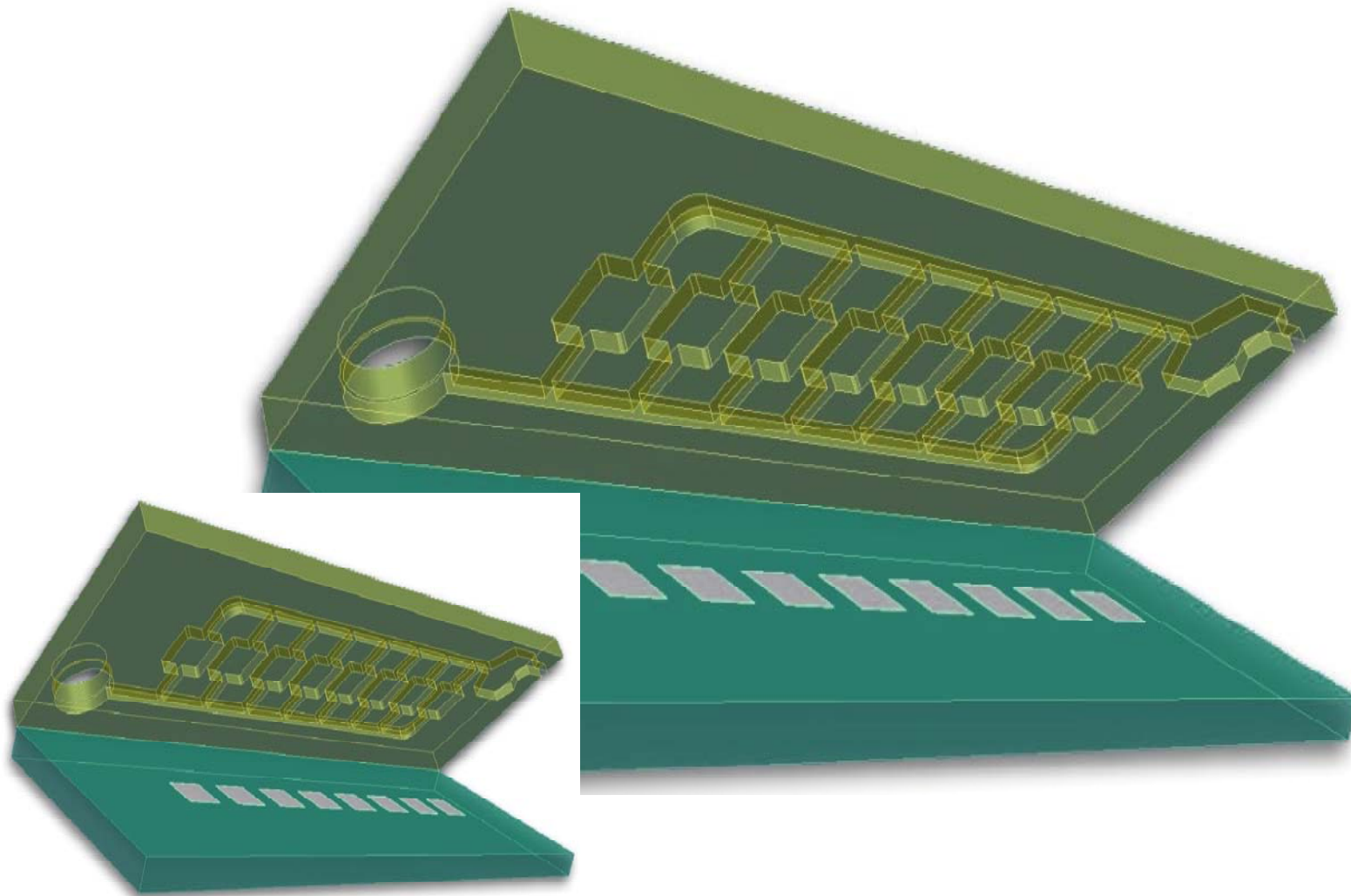
Nem-specifikus fehérjebekötődés a csatornafelületeken

Fluoreszcensen jelölt teszt molekulákkal (HSA: human serum albumin)



Az irreverzibilis fehérje adszorpció majdnem 100%-kal csökkenthető a PDMS felületeken a felületmódosítási eljárásnak köszönhetően.

Lab-on-a-Chip



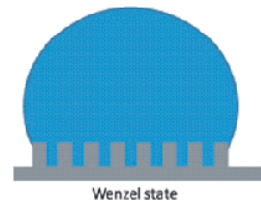
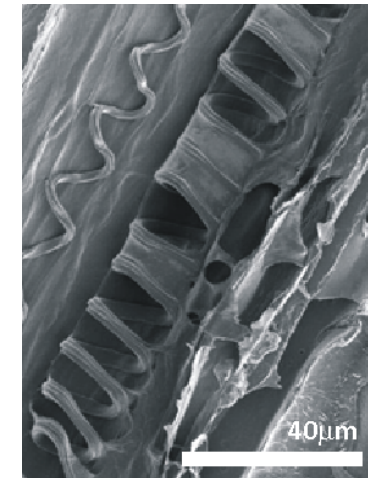
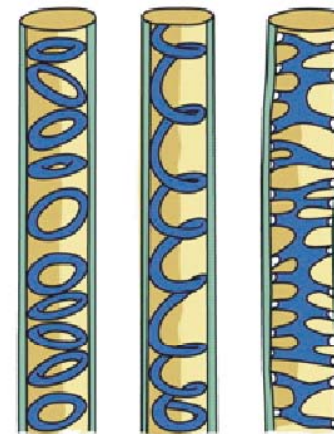
Szabályozott mintatranszport mikrofluidikai rendszerekben (terv)

- Bioinspirált kapilláris rendszerek: szárazságtűrő növények vízszállító szöveteinek (xylem) utánzása
- Másodlagos mikroszerkezetek befolyásolják a vízszállítási tulajdonságokat a látható kontaktszög módosításával

KAPILLÁRIS PUMPA

Tipikus másodlagos szerkezetek a xylemekben:

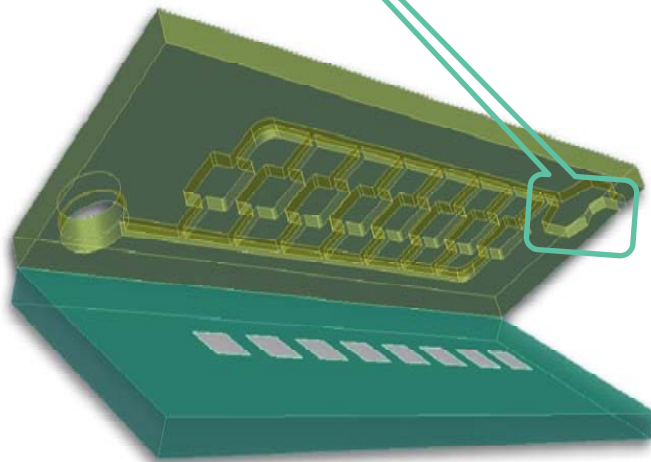
- (1) gyűrűs
- (2) spirális / helikális
- (3) pöttyezett



Látszólagos kontaktszög: $\cos\theta_a = r_W \cos\theta$

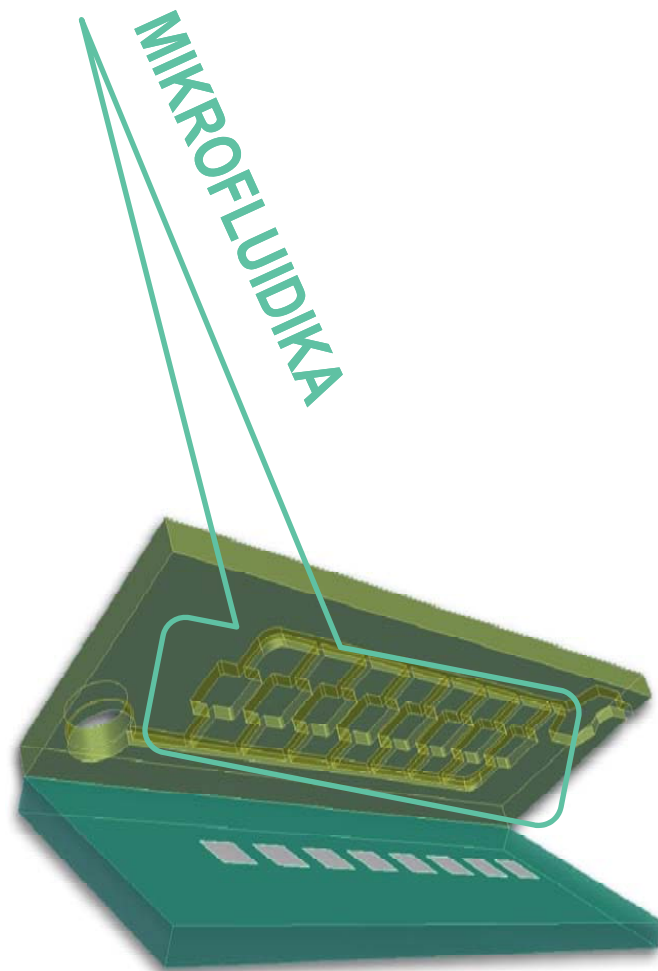
\uparrow érdesség \leftarrow eredeti kontaktszög

Mikroszerkezetek + felületmódosítás:
szabályozott autonóm mintaszállítás (kapilláris pumpa)

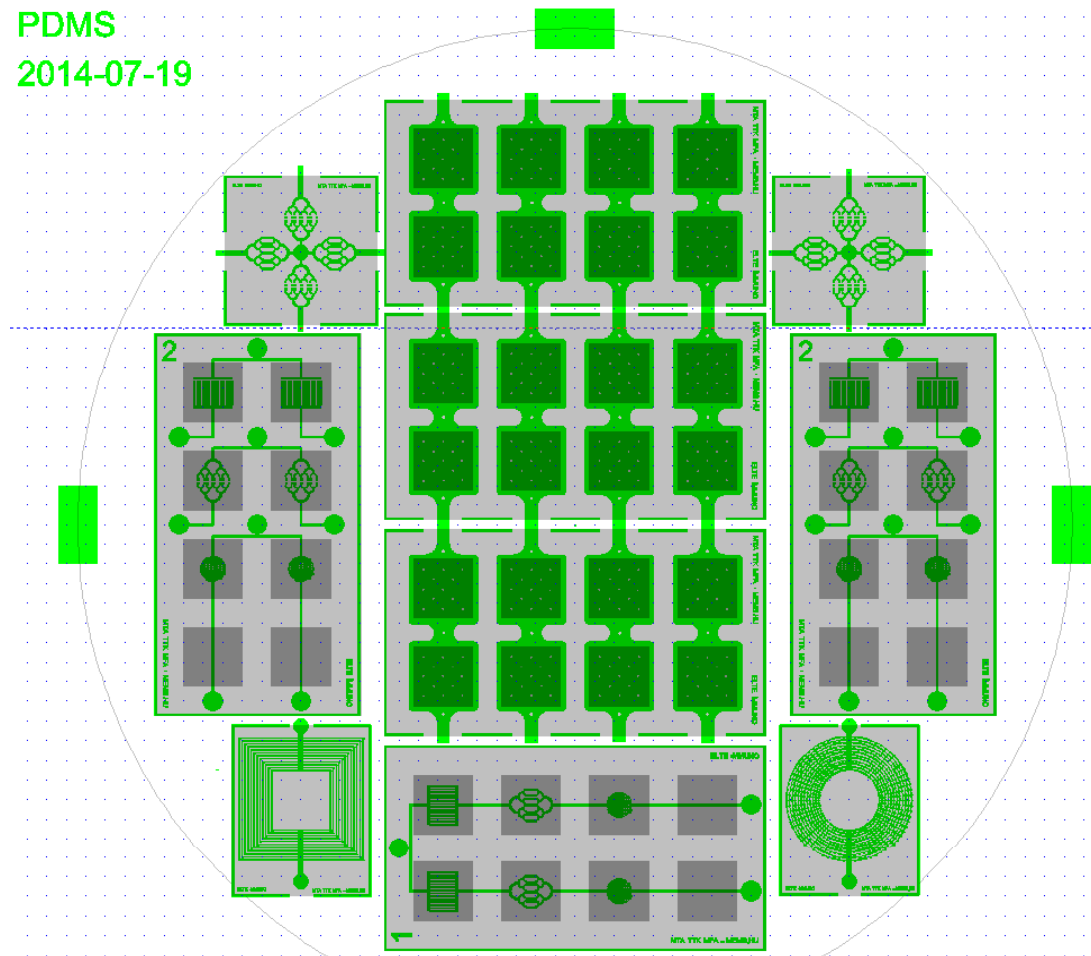


Előzetes mikrofluidikai kísérletek

- Layout szintű tervek

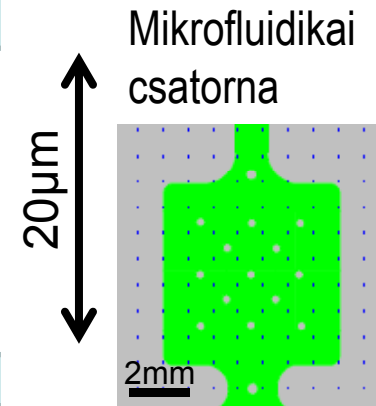
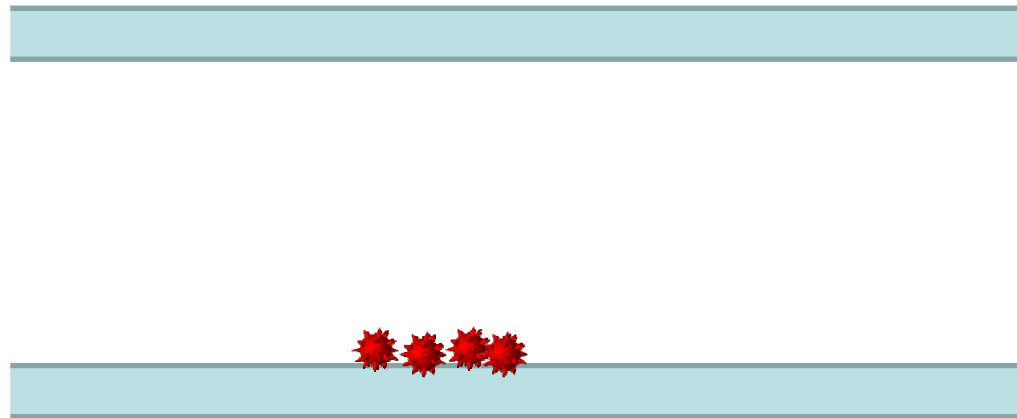


IMMUNO fluidics
PDMS
2014-07-19

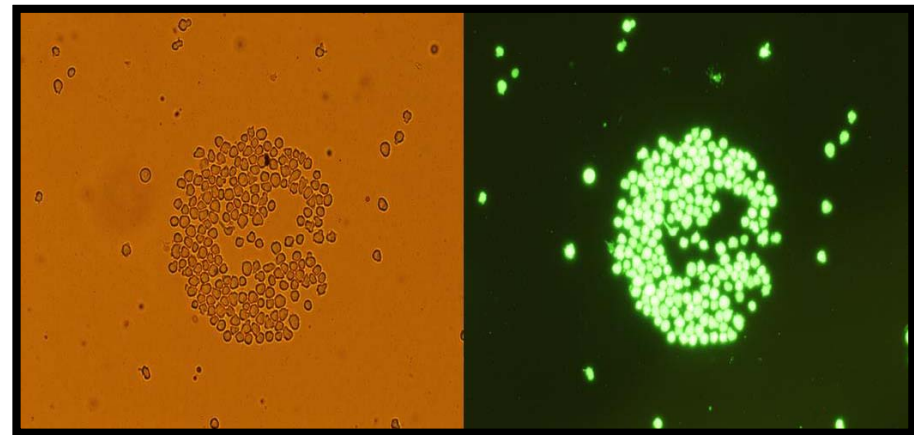
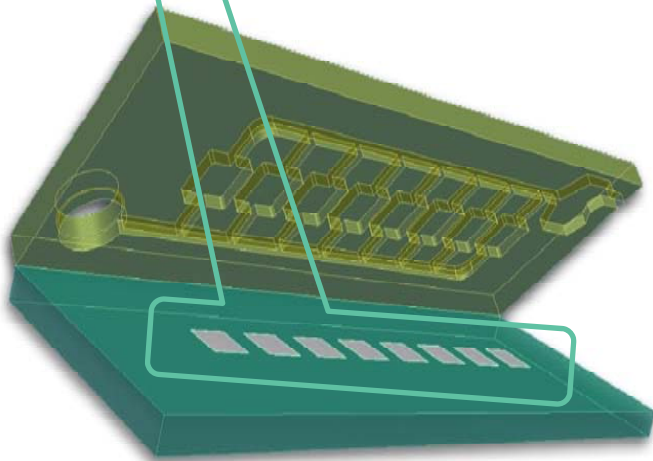


Sejtes kísérletek

IMMUNOLÓGIA



U937 monocita sejt vonal:



U937 sejtek kötődnek a kinyomtatott IgG3 ellenanyagokhoz



Köszönetnyilvánítás

**MTA-Természettudományi Kutatóközpont
MEMS Laboratórium**

Holczer Eszter

**MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoport
ELTE-Immunológiai Tanszék
Immunológiai Mikrotechnológia Labor**

**Prechl József
Szittner Zoltán
Kecse-Nagy Csilla
Erdei Anna**

Támogatók

- Mikrocatornák készítése protonnyalábos mikromegmunkálással és alkalmazásuk Lab-on-a-chip eszközökben (OTKA K 108366)
- Particle Matter sensors for indoor air quality – PAMIAQ, (EURIPIDES 13-1610),
- Intelligent Catheters in Advanced Systems for Interventions – INCITE, (ENIAC JTI – 2013-1)
- Immunkomplexek hatásainak jellemzése bioszenzorokkal, fehérje mikromátrixokon (OTKA K 109683)
- Védőoltás hatására termelődött ellenanyagok mennyiségének és komplement rendszert aktiváló képességének vizsgálata microarray technikával (OTKA 104779)
- MediInProt
- Rheumatoid Arthritis Point-of-care ImmunoDiagnostics by functional Anti-Citrullinated Protein Antibody testing – RAPIDACPA (H2020-PHC-2014-two-stage) bejutott a 2. lépcsőbe