

Warszawa, ...30.01.2026.....

Autor rozprawy doktorskiej:**Debjita Mukherjee**.....

Promotor: **dr hab. ...Jan Guzowski**.....

*Drugi promotor (*ewentualnie, tylko w przewodach doktorskich):

.....

Streszczenie

Technologie oparte na mikroprzepływach kroplowych do hodowli komórek 3D i inżynierii mikrotkanek cieszą się rosnącym zainteresowaniem w dziedzinie inżynierii biomedycznej, biotechnologii, a nawet przedklinicznego rozwoju leków. Jednym z głównych wyzwań pozostaje jednak zrównoważenie wydajności produkcji, monodispersyjności kropli oraz efektywności sieciowania. W pracy dyplomowej przedstawiam system eksperymentalny umożliwiający wytwarzanie ponad 50 000 usieciowanych kropeł hydrożelu (na bazie żelatyny) o średnicy około 200 μm w ciągu minuty, ze średnią liczbą 50 komórek na kroplę. Tak wysokie tempo produkcji kropeł było dotychczas wykorzystywane wyłącznie do enkapsulacji niewielkiej liczby komórek (<10 komórek/kropla) lub pojedynczych komórek, przy znacznie mniejszych średnicach kropeł. Dzięki wysokiej liczbie komórek, uzyskane mikrosfery hydrożelowe były odpowiednie do zastosowań w inżynierii mikrotkanek. Ponadto przedstawiam również złożone struktury hydrożelowe typu „kropla w kropli”, które umożliwiają współhodowlę różnych typów komórek w oddzielnych komorach. Zoptymalizowano parametry procesu, takie jak: natężenie przepływu, długość fali światła sieciującego, natężenie promieniowania, czas ekspozycji, odległość od źródła światła i temperatura podczas procesu sieciowania.

Opracowano dwuchipowy system mikroprzepływowy. W pierwszym chipie wyposażonym w równoległe kanały generowane były mikrokrople zawierające komórki, które następnie przepływały do drugiego chipa, gdzie były sieciowane w przepływie i ostatecznie zbierane. W pracy pokazuję, jak różne projekty chipów mogą wpływać na wytwarzanie kropeł, także przedstawiam finalny projekt umożliwiający uzyskanie wysoce monodispersyjnych kropeł niezależnie od wysokich prędkości przepływu, z równomiernym rozkładem komórek w każdej kropli.

Następnie zbadano skuteczność sieciowania przy różnych długościach fal światła sieciującego i natężeniach promieniowania przy stałym czasie ekspozycji na promieniowanie UV w celu sieciowania na chipie. W przypadku słabo usieciowanych kropeł przy niskim natężeniu promieniowania, zaobserwowano interesujące zjawisko dobrze usieciowanego rdzenia kropli z częściowo usieciowaną powłoką. Zidentyfikowano „punkt optymalny” pod względem warunków usieciowania, który pozwala na wytwarzanie całkowicie usieciowanych kropeł bez znaczącego wpływu na żywotność zamkniętych w nich komórek. W przypadku złożonego systemu „kropla w kropli”, „rdzenie” mikrokropeł zostały wyprodukowane w zoptymalizowanych warunkach, a

następnie zamknięte w drugiej warstwie hydrożelu („powłoce”). Przeprowadzono analogiczną optymalizację parametrów przepływu oraz intensywności światła w warunkach stacjonarnych w celu zapewnienia skutecznego ponownego zamknięcia kropli.

W dalszej części pracy przetestowano różne hydrożele na bazie żelatyny, wykorzystując oba opisane systemy, w kontekście ich zastosowania w modelowaniu chorób oraz terapii komórkowej. Przeprowadziłam enkapsulację i koenkapsulację komórek białaczkowych i komórek zrębu szpiku kostnego w celu oceny oporności na leki w modelu mikrośrodowiska białaczki. Ponadto zaprezentowałam również enkapsulację komórek nowotworowych w „rdzeniach” i fibroblastów w „powłoce” w celu wykorzystania systemów „kropla w kropli” do modelowania chorób i testowania leków. W kolejnym etapie przeprowadzono enkapsulację komórek β -trzustki uzyskując żywotność $>85\%$, co wskazuje na możliwość ich zastosowania w terapii komórkowej cukrzycy typu 1. Dodatkowo, mezenchymalne komórki macierzyste (MSC) zostały przeprogramowane wewnątrz kropeł zawierających macierz zewnątrzkomórkową pochodzącą z trzustki świni (ppECM), tak aby pełniły funkcję komórek przypominających komórki wysp trzustkowych. Podjęto próby wykorzystania systemu „kropla w kropli” w celu inicjowania rozwoju naczyń krwionośnych w sztucznych wyspach trzustkowych.

Praca ta pokazuje ogromny potencjał technologii mikrofluidycznych w biomedycynie – w szczególności w tworzeniu zaawansowanych, fizjologicznie istotnych systemów do badań przedklinicznych, modelowania chorób oraz rozwoju terapii komórkowych.