

Praca dyplomowa inżynierska

Emulsje wielokrotne jako mikrośrodowisko do badań biologii komórki

Autor: Patrycja Matysiak

Nr albumu: 244548

Promotor: dr hab. inż. Ewa Dłuska

Rok akademicki: 2014/2015

Wprowadzenie

Mianem emulsji określa się układ zdyspergowany przynajmniej dwóch niemieszających się ze sobą cieczy, w którym w jednej cieczy stanowiącej fazę ciągłą lub zewnętrzną zawieszono są kropelki drugiej fazy będącej fazą rozproszoną bądź wewnętrzną. Podziału emulsji można dokonać ze względu na rozmiar kropelek fazy wewnętrznej, stabilność emulsji (trwałość emulsji) oraz ze względu na strukturę układu emulsyjnego, co jest najczęściej przyjmowanym kryterium. Stosując, jako wyznacznik strukturę emulsji można wyróżnić emulsje: proste, podwójne oraz wielokrotne.

Cel i zakres pracy

Celem pracy była analiza możliwości wykorzystania emulsji podwójnych, do enkapsulacji (zamykania) żywych komórek oraz możliwości prowadzenia badań ich funkcji życiowych i aktywności. Zakres pracy obejmował przegląd i analizę danych literaturowych, na podstawie, których:

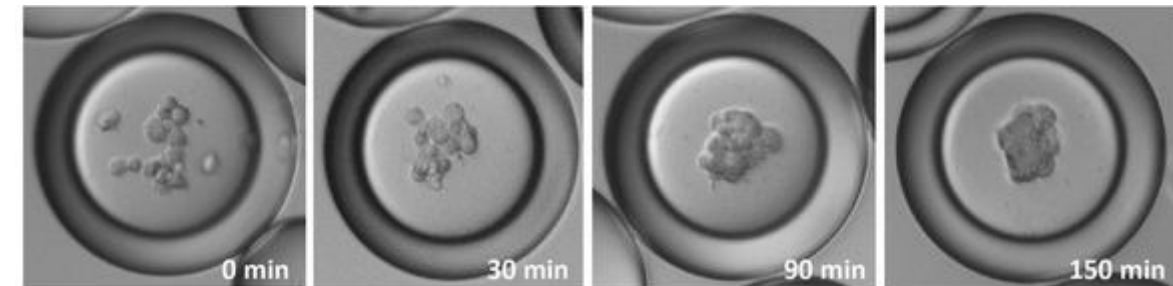
- zdefiniowano i sklasyfikowano emulsje do zastosowań biologicznych
- wytypowano metody ich wytwarzania szczególnie przydatne w badaniach biologii komórki.
- omówiono techniki, stosowane w badaniach aktywności biologicznej komórek
- scharakteryzowano wybrane przypadki enkapsulacji bakterii i komórek macierzystych w aspekcie badań biologii komórki

Emulsja podwójna jako środowisko dla komórki węzła chłonnego

Zastosowanie emulsji typu woda w oleju zostało zapoczątkowane w 1958 roku przez Nossala i Ledeburga, którzy wyizolowali pojedynczą komórkę węzła chłonnego i utrzymywali ją kilka godzin w środowisku indywidualnych mikrokropli. Badania te stanowiły przełomowe osiągnięcie pod względem biologicznym, ponieważ stwierdzono, że jeden limfocyt nie musi produkować tylko jednego antyciała, jak uważano dotychczas.

Emulsje podwójne, jako środowisko do przechowywania komórek macierzystych

W ostatnich latach coraz bardziej rozwija się inżynieria tkankowa, zajmująca się wytwarzaniem funkcjonalnych zamienników tkanek lub narządów w oparciu, o wykorzystanie żywych komórek, zwłaszcza macierzystych.



Rys.1. Zdjęcia pokazujące proces tworzenia sferoidy w czasie 150 minut

W wielu przypadkach wytworzenie *in vitro* funkcjonalnej struktury tkankowej wymaga ścisłych warunków hodowli, co w przypadku powiększania skali hodowli staje się kłopotliwe. Dlatego atrakcyjną metodą w inżynierii tkankowej stało się użycie wielokomórkowych kuleczek tak zwanych mikrokanek, utworzonych z komórek macierzystych. Okazało się, że najlepszą metodą ich otrzymywania jest enkapsulacja w emulsjach podwójnych, stanowiących kontrolowane mikrośrodowisko. Sferyczne krople umożliwiają lepszy kontakt komórka - komórka, a więc i skuteczniejszą regulację procesów biologicznych. W takim rozwiązaniu procesu enkapsulacji zwiększa się żywotność komórek, która często jest niska w hodowlach jednowarstwowych. Dodatkowo jest to bardzo szybka metoda, ponieważ sferoidy tworzą się już w czasie 150 minut. Tak zamknięte komórki macierzyste mają wiele zastosowań między innymi w regeneracji chrząstek i wątroby, a także w testowaniu niektórych leków.

Wnioski

Krople emulsji podwójnych reprezentują doskonały mikroinkubator, ponieważ faza olejowa emulsji W/O/W stanowi selektywną przepuszczalną barierę, umożliwiającą przepływ małych cząsteczek składników odżywczych, oraz zapewnia możliwość zamknięcia wewnątrz kropelek kontrolowanej liczby komórek. Z tego względu emulsja wielokrotna stanowi doskonałe środowisko do badań nad komórkami bakteryjnymi, czy komórkami macierzystymi, enzymami lub genami wykorzystywanymi do syntezy kwasów nukleinowych. Rozwój badań nad emulsjami podwójnymi w tym aspekcie wskazuje, że to nowy początek i obszar ich wykorzystania obok wcześniej udokumentowanego zakresu zastosowań do kontrolowanego uwalniania leków, czy innych substancji aktywnych, a także w ochronie środowiska do separacji zanieczyszczeń typu rozpuszczalniki organiczne i metale ciężkie oraz do wytwarzania alternatywnych paliw emulsyjnych.