

Progetto di Ricerca e il Piano di Attività

TITOLO: Sviluppo di piattaforme analitiche separative basate su FFF accoppiata a Sample On-chip detection per la caratterizzazione e sorting di vescicole extracellulari

Progetto di Ricerca

La biopsia liquida e la possibilità di utilizzare biomarcatori scelti da fluidi biologici potrebbero contribuire fortemente al miglioramento di metodi sempre più specifici al paziente, evitando di ricorrere a test invasivi e biopsie su tessuti. Tra le specie più importanti coinvolte nell'interazione cellulare ci sono le vescicole extracellulari (EVs) che risultano di particolare interesse in quanto potenziali biomarcatori, sebbene la loro completa conoscenza ed utilizzo siano ostacolati dalla mancanza di procedure standard. Le tecniche disponibili per il loro isolamento, arricchimento e separazione spesso risultano dispendiose sia a livello di strumentazione utilizzata che a livello di tempo richiesto e in più necessitano di grandi quantità di campione. Inoltre, la caratterizzazione delle EVs richiede numerosi step di pretrattamento del campione, come la centrifugazione, che può influenzare la stabilità, la dimensione e il rilascio del loro contenuto. La mancanza di tecnologie per l'analisi di questo tipo di campione, nella sua complessità ed eterogeneità, non permette di ottenere tutte le informazioni possibili, sia in applicazioni diagnostiche che di ricerca medica. RESOLVE mira a risolvere l'eterogeneità delle EVs superando le limitazioni imposte dai metodi di analisi standard. In particolare, usando il frazionamento in campo flusso (AF4) e una rivelazione "on-chip" per la completa caratterizzazione, il Progetto punta a costruire un dispositivo integrato in grado di identificare una serie di biomarker associati alla dimensione e alle differenti funzioni delle sottoclassi di EVs, personalizzabile in base alle esigenze cliniche. Un punto chiave sarà l'impegno nell'eliminare tutte le procedure di trattamento del campione ad alto impatto per operare nelle condizioni più native possibili, riducendo il tempo e i costi, preservando la morfologia e le proprietà delle vescicole.

IL progetto si realizza in collaborazione con CNR NANOTEC e Ospedale San Raffaele (OSR) all'interno degli obiettivi del progetto PRIN RESOLVE - innovative platform based on field-flow-fractionation and Sample On-chip detection to unravel extracellular Vesicles heterogeneity (cod: 202233FTW8).

Piano di Attività

L'obiettivo ultimo del progetto è lo sviluppo di un sensore accoppiato ad una piattaforma analitica separativa AF4-multidetector per identificare in maniera rapida, veloce e semi automatica biomarcatori associati alle dimensioni e alle diverse funzioni delle sottoclassi di vescicole extracellulari.

In particolare le attività dell'assegnista saranno dedicate allo sviluppo di metodiche basate sulla tecnica AF4 accoppiata a rivelazione spettrofotometrica, a fotoluminescenza, ad indice di rifrazione e scattering laser multiangolo (UV-FL-RI-MALS). Le metodiche sviluppate dovranno essere in grado di identificare, caratterizzare e separare vescicole extracellulari provenienti da campioni di secretoma di diversa origine e trattamento. In aggiunta dovranno consentire un efficace accoppiamento della piattaforma AF4-UV-FL-RI-MALS ai sistemi di Sample On-chip detection senza significative perdite in termini di separazione e caratterizzazione dei campioni.

Obiettivi

- 1) Sviluppo e ottimizzazione di metodi AF4-UV-FL-RI-MALS per la caratterizzazione delle sub popolazioni vescicolari da campioni di secretoma di crescente complessità forniti da OSR (es. da campioni purificati ed arricchiti per ultracentrifugazione a secretoma non trattato)
- 2) Interpretazione dei segnali analitici nell'ottica della profilazione vescicolare e del controllo qualità dei campioni

- 3) Raccolta di frazioni in coda alla separazione da indirizzare ad analisi off line tramite i dispositivi sensoristici sviluppati dai partner
- 4) Partecipazione attiva all'accoppiamento on line della piattaforma AF4-UV-FL-RI-MALS ai dispositivi sopra indicati.
- 5) Design e prototipazione di varianti per facilitare l'accoppiamento strumentale.