

Koncepcją projektu jest znalezienie modyfikacji tlenku grafenu (GO) lub jego zredukowanej formy (rGO), która zapewni uzyskanie przez te związki silnych właściwości cytotoksycznych jedynie w stosunku do komórek nowotworowych.

Projekt będzie składać się z dwóch podstawowych etapów. Pierwszym z nich będzie synteza i fizykochemiczna charakterystyka tlenku grafenu (GO), zredukowanej formy (rGO) i jego zmodyfikowanych pochodnych. Tlenek grafenu (GO) będzie syntetyzowany poprzez intensywne utlenianie płatków grafitu różnymi metodami: Staudenmaiera, Hummersona, metody zaproponowanej przez grupę prof. Toura oraz poprzez utlenianie w niskotemperaturowej plazmie lub ozonie. Natomiast zredukowany tlenek grafenu będzie przygotowany przez intensywną redukcję tlenku grafenu (GO) z użyciem silnych środków redukujących. Przeprowadzone modyfikacje GO i rGO, będą polegały na kowalencyjnym bądź niekowalencyjnym dołączeniu różnych związków chemicznych. Związki te będą wybierane pod względem jak najmniejszej toksyczności w stosunku do zdrowych komórek ludzkiego organizmu. Przygotowane próbki będą w pierwszej kolejności analizowane pod względem fizykochemicznym w celu określenia jakości zastosowanej modyfikacji.

Drugim etapem będą badania cytotoksyczności oraz mechanizmu działania otrzymanych materiałów. Ten etap badań będzie przeprowadzony na dwóch typach hodowli: dwuwymiarowej (2D) oraz trójwymiarowej (3D), na czterech liniach komórkowych: HepG2 (komórki raka wątroby), HT-29 (komórki raka jelita grubego) oraz odpowiadającym im liniom komórek prawidłowych. **Hodowla 2D** będzie przeprowadzona na standardowych płytkach hodowlanych (hodowla w postaci monowarstwy). Ten etap badań będzie miał na celu określenie najbardziej toksycznej zsyntetyzowanej formy grafenu oraz jej stężenia i czasu inkubacji, która jednocześnie nie będzie negatywnie wpływała na zdrowe komórki pochodzące z tych samych części organów. **Hodowla 3D** będzie prowadzona w postaci sferoidów komórkowych, które są najpowszechniejszym rodzajem hodowli przestrzennych, zawężających barierę jaka istnieje między warunkami *in vitro* (warunki laboratoryjne) a *in vivo* (warunki naturalne). Dowiedziono, że komórki rozwijające się w postaci sferoidów są bardziej odporne na badane substancje, niż komórki budujące monowarstwę. Ten etap badań będzie przeprowadzony we wcześniej zaprojektowanych mikrosystemach typu *Lab-on-a-Chip*. Mikrosystemy te dzięki materiałowi z jakiego są wykonane (poli(dimetylosiloksan)-PDMS) oraz dzięki specjalnej konstrukcji umożliwiają przeprowadzenie w nich długoterminowej hodowli komórkowej w postaci sferoidów. Ponadto umożliwiają obserwację zmian zachodzących w pojedynczym sferoidzie. W pierwszej kolejności sferoidy złożone z komórek badanych linii zostaną poddane wpływowi tlenku grafenu, jego formy zredukowanej oraz zmodyfikowanym formom obu pochodnych grafenu o parametrach ustalonych w pierwszym etapie badań. W przypadku braku efektu, stężenie, oraz czas inkubacji będą zmienione. **Innowacyjnością planowanych badań będzie określenie czasu działania grafenu na sferoidy w trakcie długoterminowej hodowli.**

Do analizy wpływu zsyntetyzowanych form grafenu na nowotworową oraz zdrową hodowlę *in vitro* zarówno w postaci monowarstwy jak i sferoidów, planowane jest wykorzystanie różnych technik mikroskopowych połączonych z metodami wybarwiania komórek, w tym szczególnie mikroskopii konfokalnej (zmiany morfologiczne komórek). Ponadto zostanie określona cytotoksyczność oraz mechanizm działania badanych próbek z wykorzystaniem handlowo dostępnych testów toksyczności badanych związków oraz cytometrii przepływowej.

Zespół podejmuje daną tematykę badawczą ze względu na interesujące właściwości biologiczne jakie posiadają tlenek grafenu oraz jego zredukowana forma. Pomysł wykorzystania owych form grafenu w terapii przeciwnowotworowej związany jest z ich małą toksycznością (węglowa budowa), lokalnym działaniem, niewielką zdolnością do przemieszczania, dobrym przewodnictwem cieplnym oraz możliwością indukowania apoptozy – naturalnej śmierci komórki. Ponadto łatwe sfunkcjonalizowanie tych form rozszerza zakres ich zastosowania w badaniach przeciwnowotworowych. W związku z rosnącą ilością zachorowań na raka materiały te mogą wnieść nowe możliwości w diagnostyce i terapiach tego typu chorób.