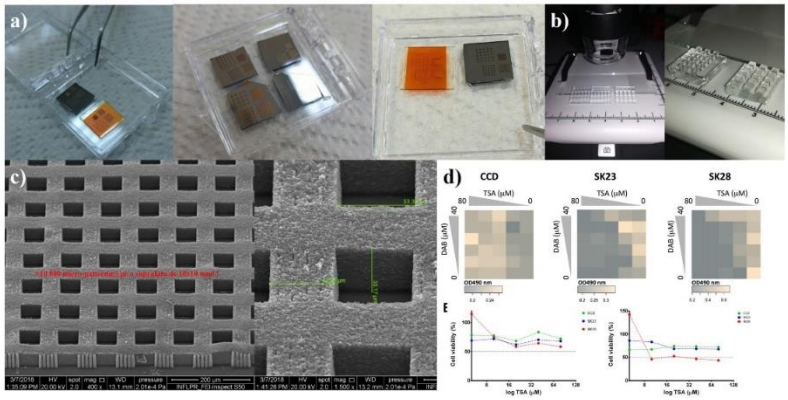
Context: Melanomul este cel mai periculos cancer de piele, fiind cauzat de transformarea melanocitelor ca urmare a unor modificari genetice. Melanomul malign este o tumoare heterogena ce poate fi tratata daca este descoperita devreme, dar care odata ajunsa in noduli limfatici sau alte organe, face ca supravietuirea medie a pacientilor sa scada sub 9 luni, doar 15% dintre ei traind mai mult de 3 ani. Principalele terapii s-au dovedit ineficiente pentru cresterea ratei de supravietuire deoarece celulele tumorale, dezvoltand o subpopulatie rezistenta la medicamente, se comporta ca o „tinta miscatoare". Cercetarile recente din domeniu, au evidentiat ca doar o terapie combinata reprezinta solutia pentru tratarea melanomului cu rezistenta ridicata.

Scop: Echipa proiectului MiniBioLab a propus designul, dezvoltarea si testarea performantelor unei bio-platforme miniaturizate pentru investigarea simultana a: *i) efectului sinergistic al unui amestec combinatorial dintre un inhibitor de cai de semnalizare (Dabrafenib) si un modulator epigenetic (Tricostatin A - TSA) asupra celulelor de melanom; si ii) evaluarea tumorigenicitatii celulelor de melanom ghidata de caracteristicile geometrice ale patternurilor asamblate pe substraturi solide*. In studiile noastre au fost testate celule de melanom amelanotice (SKmel28 $BRAF^{V600E}$), celule de melanom pigmentate (SKmel23 $BRAF^{wt}$), iar melanocite normale, pigmentate (NHEM, Lonza CC-2504) si fibroblaste dermale umane au fost utilizate ca si control.

Rezultate: Pentru realizarea obiectivelor propuse, proiectul MiniBioLab a avansat ideea utilizarii unor procedee laser avansate pentru realizarea de micro-structuri prin tehnici substractive si aditive inovative. Am elaborat astfel un protocol pentru fabricarea laser a unor masti din sticla fotosensibila ce contin micro-patternuri cu forme, dimensiuni si periodicitati prestabilite. In continuare, am dezvoltat un montaj experimental al unei tehnici laser noi, denumita « ADD-MAPLE » si am realizat seturi de micro-structuri cu forme, dimensiuni si periodicitati specifice (Figura 1.a). Au fost astfel sintetizate seturi de bio-platforme miniaturizate constand in 100 de patternuri pe suprafete de 10×10 mm^2, ce au fost caracterizate prin diverse metode *ex-situ* ca microscopia optica si de fluorescenta, microscopie de forta atomica (AFM), microscopie electronica de baleiaj (SEM), profilometrie, udabilitate, dar si teste biologice si biochimice specifice. Am realizat si caracterizat multiple bioplatforme miniaturizate din PDMS (Figura 1.b) constand in micro-godeuri cu forme, dimensiuni si periodicitati diferite pentru reducerea semnificativa a cantitatilor de inhibitori si reactivi necesari experimentelor si implicit pentru reducerea costurilor. Am demonstrat posibilitatea microfabricarii laser a pana la 10.000 de structuri pe suprafete de 10×10 mm^2 pentru monitorizarea si investigarea celulara pe scara larga, cu rezolutie de pana la o singura celula (Figura 1.c).

Am investigat *in-vitro* dozarea inhibitorilor si raspunsul celular fata de caracteristicile suprafetelor (tumorigenicitate), atat pentru micro-patternuri cat si micro-godeuri pe linii celulare de melanom in faza si primara dar si metastatice in timp ce celule fibroblaste dermale au fost utilizate ca si control (Figura 1.d). Au fost crescute si investigate mini-tumorete (sferoizi 3D cuprinzand 50-100 de celule) pentru a simula comportamentul *in vivo* si a evalua eficienta inhibitorilor (expresia pERK si acumularea histonilor in nuclei), dar si alte teste biochimice.



Am realizat si testat dispozitivul MiniBioLab si am creat premisele pentru fabricarea cu costuri reduse si a altor tipuri de micro-patternuri pentru investigatii si terapia avansata a unor alte tipuri de cancer sau boli degenerative.