

## **En jämförande studie av akustisk- och centrifugeringsbaserad celltvätt**

I det biomedicinska området är provröret med celler i någon vätska en klassisk bild av vardaglig forskning. För att utföra cellförsök med celler behöver man ofta flytta cellerna mellan olika vätskor eller dela innehållet i flera provrör före analys. För dessa ändamål och mer behövs praktiska verktyg för hantering av cellerna, eftersom cellerna i mikrometer-storleken inte kan plockas upp för hand som mycket annat i vår ”makro-värld”. Det finns många olika verktyg som används för cellhantering, inklusive olika typer av kromatografi, mikropipetter, flödescytometrar, centrifuger och mer. Att välja vad som ska användas för laboratoriet eller ett specifikt experiment kan vara en svår uppgift, eftersom varje verktyg har sina egna fördelar och nackdelar, vilket kan skilja sig från olika typer av cellprover.

Mikrofluidik är ett av de nyaste fälten inom cellhantering, som använder sig av förutsägbara laminära flöden för att gynna automatisering, noggrannhet och reproducerbarhet. Specifikt är automatisering av cellhantering väldigt attraktiv för forskare, eftersom det mänskliga felet är en av de största bidragsgivarna till förlust av pengar och tid. Ju färre gånger ett cellprov behöver hanteras manuellt, till exempel genom pipettering, desto mer förutsägbart och kontrollerat kan ett experiment bli. En sidoförgrening av mikrofluidik har nyligen gjort framsteg inom området för cellhantering, så kallat akustofluidik. Akustofluidik samlar kontrollen av flytande media från mikrofluidik och kontrollen av celler i det flytande mediet från akustofores. Akustofores som ett ord betyder migration med ljud. Partiklar i en vätska utsatt för ett akustiskt stående vågfält kommer att påverkas av en kraft. Kraften kan leda till att partiklar rör sig i ljudfältet och på så sätt kan partiklar, eller celler, ”puttas” till den en önskvärd plats. Genom att applicera ett ljudfält till en mikrofluidisk kanal kan en akustofluidisk anordning flytta celler mellan de laminärt strömmande vätskorna, exempelvis för celltvätt, med användning av kraften som alstras av ljudet. Då cellerna ”puttas” in i ett annat flöde, kan cellerna i sin nya vätska åka ut genom en annan kanal än sin gamla vätska och på så sätt kan den gamla vätskan tvättas bort.

Speciellt celltvätt, ersättning av det vätskan i vilket cellerna är i med en annan vätska har studerats i denna avhandling. En akustofluidisk anordning kallad AcouWash, av AcouSort AB, utvärderades och jämfördes med en manuell tre-stegs centrifugerings-celltvätt. Genom att tvätta 5 µm stora polystyrenkuler i saltlösning med fluorescerande molekyler och cancerceller i saltlösning med protein uppmättes den bibehållna koncentrationen kulor/celler (kallat ”recovery”) och hur effektivt de fluorescerande molekyler/proteinet tvättades bort (tvätteffektivitet) med respektive celltvättningsmetod. Resultaten visade att AcouWash i recovery presterade på samma nivå som manuell centrifugering, med mycket nära 100% recovery av polystyrenkuler. Men med tvätteffektiviteten kunde AcouWash bara prestera likvärdigt en tvåstegs centrifugeringsvätt och var inte riktigt på samma nivå som trestegscentrifugeringen. När det gäller reproducerbarhet hittades ingen statistiskt signifikant skillnad mellan en enskild operatör och flera operatörer som utför den manuella centrifugeringstvätten. Det antas dock att detta kan förändras med en större mängd operatörer och fler upprepningar. Ett experiment med användning av vita blodceller, mer specifikt neutrofiler, utfördes. Det undersöktes huruvida AcouWash eller manuell centrifugeringstvätt skulle kunna orsaka oavsiktlig neutrofilaktivering (NET-bildning) eller celldöd. Ingen celldöd på grund av någon av celltvättningsmetoderna hittades. Resultaten tyder på att AcouWash inte har någon signifikant effekt på neutrofilaktivering. Det finns även indikationer på att

AcouWash kan separera aktiverade neutrofiler från icke-aktiverade neutrofiler. Detta kan indikera en ny möjlig applikation för akustofluidik, men ytterligare testning behövs för att bekräfta resultaten. Med utgångspunkt från det praktiska arbetet för denna avhandling i samband med granskningen av andra studieresultat kan man dra slutsatsen att automatiserade akustofluidiska plattformar, såsom AcouWash, har en enorm potential inom cellhantering jämfört med manuella centrifugeringsmetoder där mänskliga fel och potentiella problem med cell-viabilitet kan bli svårare att ignorera i framtiden.