

## ENZYMATISCHE FUNKTIONALISIERUNG VON KOLLAGENEN FÜR MEDIZINISCHE ANWENDUNGEN (ENCAMED)

BMW iGf 58 EBG | Laufzeit: 10.2011 – 09.2013 | Michaela Schröpfer, FILK Freiberg; Wolfgang Frieß, LMU München; Sarah Iglesias-Garcia, CENTEXBEL (Belgien); Georg M. Gübitz, TU Graz; Robert Gferer, HTS Graz  
Categories: Biomaterials Collagen Leather

---

### PROJEKTZIEL

Ziel des Projektes waren enzymatisch katalysierte Modifikationen an Kollagenmaterial für medizinische Anwendungen. Die Enzyme sollten dabei Quervernetzungen im Kollagen induzieren, die dem Material eine höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber thermischem, mechanischem und enzymatischem Abbau verleihen. Als zweites Ziel sollten globuläre Signalproteine, speziell Cytokine, kovalent an kollagenes Material gekoppelt werden, um die Funktionalität des Kollagens als Implantatmaterial zu erhöhen. Die kovalente Anbindung sollte dabei eine verzögerte Freisetzung der Cytokine gegenüber einer rein physikalischen Adsorption bewirken.

### LÖSUNGSWEG

Für die Reaktivierung des Kollagens wurden Enzyme aus der Klasse der Oxidoreduktasen, speziell Mono- und Polyphenoloxidasen, ausgewählt. Diese katalysieren die Oxidation bestimmter Aminosäuren im Kollagen, z. B. Tyrosin, die zu reaktiven Gruppen, z. B. o-Chinonen, oxidiert werden, die dann mit nucleophilen Aminosäuren zu kovalenten Quervernetzungen reagieren können. Des Weiteren wurden Substratmoleküle eingesetzt, die von den entsprechenden Enzymen zu reaktiven Substanzen oxidiert werden und als Quervernetzer fungieren können.

Ausgewählt wurden Tyrosinase, verschiedene Laccasen und Galactoseoxidase. Als Substratmoleküle wurden Catechin, Chlorogensäure und Galactose verwendet. Als kollagene Matrix wurde säurelösliches Rinderkollagen sowie gemahlene Schweinekollagen und intakte Schweinehaut verwendet.

### ERGEBNISSE

Eine kovalente Quervernetzung wurde nach Behandlung des Kollagens mit Tyrosinase Agaricus Bisphorus und Laccase Agaricus Bisphorus nachgewiesen. Die Aktivität der Enzyme ist dabei gegenüber säurelösli-

chem und gemahlenem Kollagen höher als gegenüber intakter Haut. Wesentlich stärkere Vernetzungseffekte konnten durch die Behandlung mit enzymatisch oxidierten Substratmolekülen detektiert werden.

Für die weitere Funktionalisierung wurde VEGF165, ein Wachstumsfaktor für Endothelzellen, an säurelösliches Kollagen gekoppelt. Die Kopplung wurde dabei mit Tyrosinase katalysiert. Es wurde nachgewiesen, dass eine kovalente Ankopplung stattfindet und dabei die biologische Aktivität des VEGF165 erhalten bleibt. Erste Survival- und Proliferationsexperimente mit humanen Endothelzellen (HUVECs) zeigen sowohl ein verbessertes Überleben von HUVEC-Zellen auf dem funktionalisierten säurelöslichen Kollagen als auch eine erhöhte Proliferation gegenüber unbehandeltem Kollagen.

## **Bericht anfragen**

## **DANKSAGUNG**

Das IGF-Vorhaben 58 EBG der Forschungsvereinigung „Verein zur Förderung des Forschungsinstitutes für Leder und Kunststoffbahnen (FILK) Freiberg/Sachsen e. V.“ wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert. Wir bedanken uns für die gewährte Unterstützung.

