

QUALITÄTSPRÜFUNG VON MATERIALIEN AUS EXTRAZELLULÄRE MATRIX

BMWK INNO-KOM 49MF200133 | Laufzeit: 02.2021 – 01.2023 | Carolin Großmann, Ines Stachel, Enno Klüver, FILK Freiberg

Categories: Biogenic Raw Materials Biomaterials Collagen

AUSGANGSSITUATION

Die extrazelluläre Matrix (EZM) ist der Teil des Gewebes von Tieren, der zwischen den Zellen liegt und diese geflechtartig umgibt. Sie besteht aus einem komplexen Gerüst an kollagenen und elastischen Fasern, das in die sogenannte Grundsubstanz eingebettet ist. Diese Grundsubstanz setzt sich aus verschiedenen Proteoglykanen und Glykoproteinen zusammen. Der Einsatz von EZM-Materialien in der Biomedizin erfordert die Entfernung zellulärer Bestandteile über einen oder mehrere Dezellularisierungsschritte. Die wesentlichen Bestandteile der EZM sowie deren mechanische und biochemische Eigenschaften sollten dabei jedoch so gut wie möglich erhalten bleiben.

Während die methodischen Grundlagen für die Analytik von Kollagen und daraus hergestellten Produkten im ASTM-Standard F2212-11 festgehalten sind, existiert für die Routineprüfung und Qualitätsbeurteilung biologischer Scaffoldmaterialien aus dezellularisierter EZM keine allgemein anerkannte Methode.

PROJEKTZIEL

Ziel des Projekts war daher die Entwicklung massenspektrometrischer Analyseverfahren zur Bestimmung der wesentlichen Inhaltsstoffe von medizinischen Gerüstmaterialien aus EZM. Die Verfahren sollten als Routineprüfungen etablierbar sein und für die Charakterisierung von EZM-basierten Produkten, die aus unterschiedlichen Geweben unter Variation der Herstellungsbedingungen gewonnen wurden, herangezogen werden.

LÖSUNGSWEG

Tierische Gewebe boviner, equiner und porciner Herkunft wurden über drei verschiedene Verfahren dezellularisiert und zunächst qualitativ massenspektrometrisch untersucht. Dabei konnten sowohl verschiedene Kollagentypen als auch diverse Proteoglykane und Glykoproteine identifiziert werden. Schwerpunkt des

Projektes war die Erstellung von Multiple-Reaction-Monitoring (MRM)-Assays zur quantitativen Analyse der Glykoproteine Fibronectin und Laminin mittels LC-MS. Die dafür geeigneten Peptide wurden identifiziert und beschafft. Nach Optimierung der Geräteparameter und Kalibrierung des Systems konnten die Laminin- und Fibronectingehalte der dezellularisierten Proben erfolgreich bestimmt werden. Andere relevante EZM-Komponenten, wie Kollagen, Elastin, sulfatierte Glykosaminoglykane und Hyaluronsäure, wurden prozessbegleitend zur Dezellularisierung mit herkömmlichen Methoden quantifiziert. Abschließend wurde die Anwendbarkeit der neu entwickelten Methoden an kommerziell erhältlichen, medizinischen Gerüstmaterialien aus EZM auf boviner, equiner und porciner Basis getestet.

Probe	Fibronectin [$\mu\text{g}/\text{mg TS}$]	Laminin [$\mu\text{g}/\text{mg TS}$]
Vlies bovin	$0,00 \pm 0,00$	$0,63 \pm 0,02$
Medizinprodukt bovin	$0,00 \pm 0,00$	$0,48 \pm 0,01$
Vlies equin	n.a.	$0,60 \pm 0,00$
Medizinprodukt equin	n.a.	$0,42 \pm 0,00$
Vlies porcine	$0,00 \pm 0,00$	$0,41 \pm 0,01$
Medizinprodukt porcine	$0,16 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01$

Abb. 1: Fibronectin- und Lamininergehalte der aus Hautspalten hergestellten Vliese im Vergleich mit kommerziell erhältlichen Medizinprodukten

ERGEBNISSE | NUTZEN

Das Ziel des Projektes, die Entwicklung von massenspektrometriebasierten Assays, die die quantitative Analyse wichtiger EZM-Bestandteile ermöglichen, wurde erreicht. Für die beiden Glykoproteine Fibronectin und Laminin wurde jeweils ein MRM-Assay erstellt, mit dem eine absolute Quantifizierung erfolgen kann. Diese Assays sind auf EZM-Proben boviner, porciner und equiner (nur Laminin) Herkunft anwendbar.

Durch die Projektergebnisse können den Herstellern von Medizinprodukten neue Analysemethoden zur Quantifizierung von EZM-Bestandteilen angeboten werden. Zusätzlich konnten Informationen zur Wirksamkeit verschiedener Dezellularisierungsstrategien generiert werden, anhand derer die Anwender entscheiden können, wie sie zukünftig bei der Prozessierung ihrer Materialien vorgehen wollen.

Bericht anfragen



DANK

Das Forschungsvorhaben Reg.-Nr.: 49MF200133 „Qualitätsprüfung von Materialien aus extrazellulärer Matrix“ wurde anteilig vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz (BMWK) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages innerhalb des Förderprogramms „FuE-Förderung gemeinnütziger externer Industrieforschungseinrichtungen – Innovationskompetenz (INNO-KOM) – Modul Marktorientierte Forschung und Entwicklung (MF)“ über den Projektträger EuroNorm GmbH gefördert. Wir bedanken uns für die gewährte Unterstützung.

Gefördert durch:



INNO-KOM

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages