

COLLAGEN MODIFICATION BY ENZYMATIC TECHNOLOGIES (COMET)

BMW iGf 11 EBG | Laufzeit: 08.2008 – 10.2010 | Michael Meyer, FILK Freiberg; Wolfgang Frieß, LMU München; Georg Gübitz, TU Graz
Kategorien: Biomaterialien Kollagen Leder

PROJEKTZIEL & ERGEBNISSE

Zur Herstellung kollagen-basierter Biomaterialien muss das Kollagen ausreichend stabilisiert werden. Dafür stehen bisher entweder chemische oder physikalische Verfahren zur Verfügung. Während chemische Vernetzer aufgrund ihrer potentiellen Toxizität zunehmend in die Kritik geraten, erfordern physikalische Verfahren meist sehr lange Behandlungszeiten. Hier würde die enzymatische Vernetzung von Kollagen eine effektive und toxikologisch unbedenkliche Methode zur Stabilisierung kollagenhaltiger Biomaterialien, insbesondere im Hinblick auf ihren Einsatz im medizinischen Bereich, darstellen. Innerhalb des vorliegenden Forschungsvorhabens sollte Kollagen daher mit Hilfe enzymatischer Verfahren modifiziert bzw. vernetzt und die derartig behandelten Materialien hinsichtlich ihrer Eignung als Drug Delivery Systeme getestet werden.

Die erzielten Ergebnisse zeigen, dass sowohl Oxidoreduktasen als auch Transferasen für die Modifizierung von kollagen-basierten Materialien geeignet sind. Für die Untersuchungen wurde säurelösliches Kollagen sowie unlösliche Kollagendispersion mit Tyrosinase, Laccase und mikrobieller Transglutaminase behandelt. Mittels spektroskopischer Methoden konnte gezeigt werden, dass sowohl Gelatinehydrolysat als auch lösliches Kollagen Substrate für diese Enzyme darstellen. Um die Anzahl reaktiver Seitenketten während der Reaktion mit Tyrosinase bzw. Laccase zu erhöhen, wurde die enzymatische Behandlung zum Teil unter Zugabe phenolischer Komponenten durchgeführt. Dies führte zu einer verstärkten Gelbildung in den Proben. Zudem wurde festgestellt, dass ein Großteil der Proben nach enzymatischer Behandlung nicht mehr solubilisiert werden konnte. Eine solche Bildung unlöslicher Kollagenstrukturen deutet auf eine intensive Vernetzung hin. Chromatografische Untersuchungen unterstützten diese Aussage. Hier konnte die Bildung hochmolekularer Verbindungen sowohl nach Behandlung mit Tyrosinase als auch nach Behandlung mit Transglutaminase nachgewiesen werden. Ergebnisse aus LC-MS/MS-Messungen belegen, dass zwischen unbehandeltem und enzymatisch behandeltem Kollagen kaum Sequenzunterschiede auftreten. Der Gehalt

an Tyrosin-Resten nahm jedoch in den enzymatisch behandelten Proben im Vergleich zur Kontrolle leicht ab.

Die thermische Stabilität sowie die mechanische Belastbarkeit der Kollagenmaterialien wurde durch die enzymatische Behandlung verbessert. In dieser Hinsicht zeigten vor allem die Ansätze mit Tyrosinase und Laccase unter Zusatz von Catechin sehr gute Resultate. Darüber hinaus ist das enzymatisch modifizierte Kollagen weniger anfällig gegenüber einer Degradation mit mikrobieller Collagenase. Versuche zur Freisetzung von PVP-Iod aus enzymatisch behandelten und lyophilisierten Kollagen-Scaffolds haben zudem gezeigt, dass die modifizierten Kollagenmaterialien für die Anwendung als Drug Delivery Systeme geeignet sind. Zur Bestimmung der Restenzymaktivität wurde ein ELISA-Verfahren etabliert mit dessen Hilfe gezeigt wurde, dass der Gehalt an restlicher Transglutaminase durch Waschen des Kollagenmaterials auf Werte unterhalb der Nachweisgrenze gesenkt werden kann. Damit belegen die durchgeführten Untersuchungen, dass die enzymatische Behandlung von Kollagen mit Oxidoreduktasen, insbesondere in Gegenwart von phenolischen Substanzen, eine potentielle Alternative zur bisherigen chemischen Vernetzung darstellen.

Bericht anfragen

DANKSAGUNG

Das IGF-Vorhaben 11 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.

