

RAPORT KOŃCOWY

z wykonania Etapu VI. Przygotowanie testów ELISA, ich walidacja i wykonanie dla wybranych czynników wzrostu z otrzymanych frakcji homogenatu oraz supernatantu komórek macierzystych MIC-1.

projektu pn. „Pozyskiwanie farmaceutyków drogą analizy chemicznej i ich izolacji do badań podstawowych”.

W ramach niniejszego zadania planowano przygotowanie testów ELISA, ich walidację oraz wykonanie dla wybranych czynników wzrostu, z otrzymanych frakcji homogenatu z komórek macierzystych MIC-1 oraz supernatantu pochodzącego. Zbadano stężenie czynników odpowiadających m.in. za regenerację naskórka i skóry, kości czy nerwów: czynnik wzrostu fibroblastów 2 (FGF2), białko morfogenetyczne kości 2+4 (BMP2+4), czynnik wzrostu keratynocytów (KGF), czynnik wzrostu nerwów (NGF), insulino-podobny czynnik wzrostu 2 (IGF2), czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego alpha (VEGF-A).

Wyniki przeprowadzonej analizy sekwencyjnej dla czynników wzrostowych człowieka (*Homo sapiens*), jelenia (*Cervus elaphus hispanicus*, *Cervus nippus*) oraz krowy (*Bos taurus*), wykazały homologię sekwencji na poziomie 88-100%, w zależności od białka.

W celu oznaczenia stężenia czynników wzrostu: FGF2, BMP4, KGF, NGF, IGF2, VEGF-A w homogenacie oraz supernatacie po hodowli komórek MIC-1, zagęszczonym 25- oraz 50-krotnie, opracowano i wykonano testy ELISA z użyciem komercyjnych przeciwciał monoklonalnych, rozpoznających ludzkie, rekombinowane czynniki wzrostu. Poprawność testu zwalidowano używając kontroli pozytywnych w postaci izolowanych, rekombinowanych czynników wzrostowych o oznaczonym stężeniu.

W badanych warunkach (25-krotnie oraz 50-krotnie zagęszczone preparaty z komórek MIC-1), nie wykazano obecności testowanych czynników wzrostu w homogenacie jak i supernatacie po hodowli komórek MIC-1. Uzyskano wartości absorbancji na poziomie kontroli negatywnych. Najprawdopodobniej, stężenie czynników wzrostu w badanych materiałach jest zbyt niskie, aby mogło być wykrywalne metodami immunologicznymi.

Szczegółowe wyniki analizy znajdują się w załączniku.