

Praca dyplomowa inżynierska

Biomarkery aktywności komórek śródbłónka w warunkach in vitro



Autor: Magdalena Malordy

Nr albumu: 271425

Promotor: dr inż. Beata Butruk-Raszeja

Opiekun pomocniczy: mgr inż. Aleksandra Kuźmińska

Rok akademicki: 2018/2019

Wprowadzenie

Śródbłonek pełni bardzo istotne funkcje w ludzkim organizmie. Odgrywa kluczową rolę w procesach krzepnięcia i utrzymaniu homeostazy ustroju. Te cechy, oraz fakt zajmowania przez śródbłonek strategicznego miejsca w układzie sercowo – naczyniowym, bezpośrednio między krwią, a mięśniami gładkimi budującymi naczynia krwionośne, powoduje duże zainteresowanie naukowców. Aktualnie prowadzonych jest wiele badań nad możliwym wykorzystaniem tych komórek w badaniach nad chorobami układu krwionośnego jak i w bioinżynierii, np. jako pokryć sztucznych naczyń krwionośnych.

Cel i zakres pracy

Celem pracy było sprawdzenie jaka suplementacja pożywki wpływa najkorzystniej na rozwój komórek śródbłónka. Markerem prawidłowego rozwoju komórek było wydzielane przez nie białko – czynnik von Willebranda. Zakres pracy obejmował:

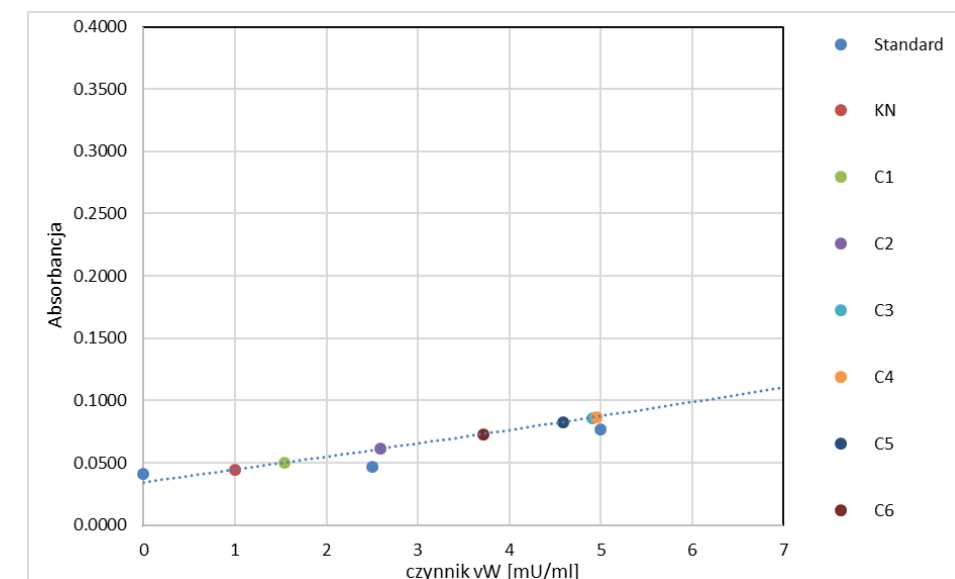
- hodowlę komórek śródbłónka z użyciem trzech sekwencji peptydowych zasuplementowanych w różnych stężeniach;
- wykonanie testu immunoenzymatycznego ELISA z wykorzystaniem supernatantów komórek;
- zbadanie absorbancji roztworów standardowych oraz wykonanie krzywej standardowej zależności absorbancji od stężenia;
- zbadanie absorbancji supernatantów i wyznaczenie stężeń czynnika von Willebranda dla każdego z roztworów.

Część teoretyczna

Ta część obejmowała charakterystykę komórek śródbłónka – ich budowę, funkcje pełnione w ludzkim organizmie oraz wykorzystanie w badaniach naukowych i bioinżynierii. Opisano również mechanizm działania i metodykę wykonania różnych typów testów ELISA.

Część doświadczalna

Pierwszym etapem tej części pracy było prowadzenie hodowli komórek śródbłónka z zastosowaniem suplementacji pożywki trzema sekwencjami peptydowymi – REDV, CAG oraz YIGSR. Peptydy te były zadane w sześciu stężeniach (kolejno – 0,05, 0,1, 0,5, 5, 10 i 50 mg/ml). Następnym krokiem było wykonanie testu ELISA dla supernatantów komórek. W wyniku jego wykonania uzyskiwano barwne roztwory, dla których mierzono absorbancję. Sporządzono krzywą standardową absorbancji od stężenia dla znanych stężeń czynnika von Willebranda. Na podstawie wykreślonej krzywej określano stężenia czynnika von Willebranda dla supernatantów komórek.



Rys.1. Stężenie czynnika von Willebranda dla sekwencji peptydowej REDV.

Wyniki i wnioski

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że peptydem przy którego użyciu dochodzi do wzmożonego wydzielania czynnika von Willebranda jest sekwencja REDV. W przypadku dwóch pozostałych peptydów nie stwierdzono obecności czynnika von Willebranda dla większości zadanych stężeń.

Wynik ten wskazuje, że peptyd REDV silniej oddziałuje na receptory błonowe komórek śródbłónka, co z kolei prowadzi do jego aktywacji i wzmożonego wydzielania czynnika von Willebranda. Sugeruje to możliwość wykorzystania tej sekwencji peptydowej do suplementacji pożywek, w których wzrasta śródbłonek, aby wspomóc rozwój komórek podczas hodowli.