



INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE
DOMENIUL PATOLOGIEI ȘI ȘTIINȚELOR BIOMEDICALE
"VICTOR BABEȘ"

Splaiul Independenței 99-101, Sector 5, București

Laborator Biochimie - Proteomică

FIȘA METODĂ ADAPTATĂ PENTRU EVALUAREA POTENȚIALULUI ANGIOGENIC AL BIOMATERIALELOR SUB FORMA DE PULBERI, PASTILE, FILME ȘI NANOPARTICULE

Denumire serviciu/metodă: Metodă adaptată/optimizată pentru evaluarea potențialului angiogenic al biomaterialelor (pulberi biomateriale, pastile biomateriale, filme biomateriale, nanoparticulelor).

Scurtă descriere: Este o metodă cantitativă bazată pe analiza multiplex ce permite determinarea potențialului angiogenic al biomaterialelor: pulberi biomateriale, pastile biomateriale, filme biomateriale, nanoparticulelor prin determinarea markerilor angiogenici produși de celulele cultivate în prezența biomaterialelor sau mediilor condiționate de incubarea cu biomateriale. Pastile de biomaterial (cu diametre de până la 15 mm) sau cupoane (de aprox. 4 cm²) acoperite cu filme de biomaterial, sunt sterilizate uscat și sunt transferate în hota de culturi celulare în godeuri ale plăcii cu 6 godeuri. Se însămânțează 10⁵ celule stem mezenchimale în fiecare godeu. Biomaterialele pulberi și cele sub formă de nanoparticule sunt incubate cu medii de cultură timp de 24 h la 37°C, după care sunt centrifugate la 1000xg, și supernatantul este incubat cu 10⁵ celule stem mezenchimale. Anumite biomaterialele sub formă de pulberi și nanoparticule pot fi sterilizate și introduse în godeurile plăcii de cultură cu suprafață de 10cm², apoi incubate cu celule stem mezenchimale. După timpi de cultivare de 7 sau 14 zile se recoltează supernatant iar celulele se lizează. Acestea se analizează prin tehnica multiplex utilizând dispozitivul Luminex 200™.

Echipe și materiale utilizate: unitate de culturi celulare, linii celulare, celule stem mezenchimale umane, medii de cultura adaptate liniei celulare, tampoane liză, kituri multiplex pentru factori angiogeneză, baie de ultrasonicare termostata, cititor Luminex 200™.

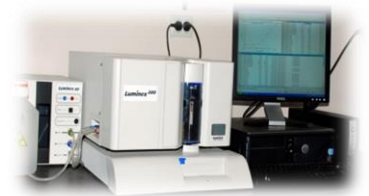
Principale caracteristici:

- Metoda se poate aplica pentru variate tipuri de biomateriale condiționate ca: pulberi biomateriale, pastile biomateriale, filme biomateriale, nanoparticule,
- Metoda se poate aplica pentru diferiți timpi de expunere a celulelor la biomateriale (optim 7 sau 14 zile),
- Metoda se poate aplica pentru diferite concentrații ale biomaterialelor pulbere sau nanoparticule (de la μg/mL la mg/mL),
- Rezultatele metodei sunt cantitative.

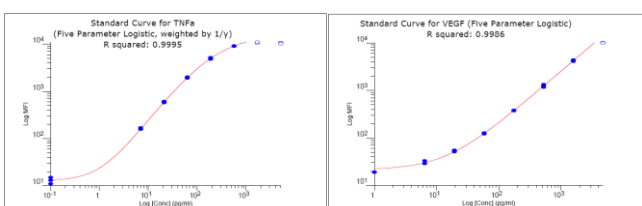
Informația dobândită: Potențialul angiogenic al biomaterialelor. Prin corelarea informațiilor obținute cu datele privind potențialul osteogenic, citotoxicitatea/viabilitatea celulară, activitatea antimicrobiană și datele privind degradarea se pot alege biomaterialele cu cele mai bune proprietăți pentru aplicația dorită (ex: proteze scaffold 3D, aplicații drug delivery etc).

Echipe și materiale utilizate:

- dispozitiv sterilizare adaptat tipului de biomaterial (autoclav, pupinel, sterilizare cu radiație gamma),
- incubator culturi celulare și hotă cu flux laminar pentru culturi celulare
- Baie ultrasonicare agitator orbital și pompă vid,
- cititor Luminex 200™ (imaginea alăturată).



Rezultate:



Factori angiogenici sunt determinați prin tehnica multiplex cu cititorul Luminex 200™, și prin analiza statistică se stabilește dacă biomaterialul studiat are activitate proangiogenică.