

Neue Optionen dank Hightech-Polymeren

Dr. Monika Burbach, Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf; Bettina Weber, Lipocalyx GmbH, Halle (Saale)

Eine neue Generation von Reagenzien erhöht die Transfektionseffizienz bei einer Vielzahl von Zelltypen. Daten für mehr als 160 verschiedene Zelltypen sind bereits verfügbar.

Die Transfektion beschreibt eine Reihe unterschiedlichster Methoden, mit denen man fremde Nukleinsäuren in eukaryotische Zellen einbringen kann. Die Lipocalyx GmbH, ein in Deutschland ansässiger Spezialist auf dem Gebiet des Nukleinsäure-Delivery, hat eine neue Generation synthetischer Transfektionsreagenzien entwickelt, die auf Hightech-Polymeren basieren. Der Transfektionsmechanismus imitiert die Aufnahme des Influenzavirus und damit einhergehend auch das aktive Ausschleusen der Transfektionspartikel aus den Endosomen. So wird die Transfektionseffizienz bei Nutzung des sogenannten Viromer® bei einer Vielzahl schwer transfizierbarer primärer Zellen wie beispielsweise Makrophagen oder Kardiomyozyten, aber auch Zelllinien wie RAW 264.7 Makrophagen oder C2C12 Myoblasten deutlich erhöht. Da sich alle Zelltypen auf ihre Weise unterschiedlich verhalten, kann eine geplante Transfektion auch schnell zu einer Herausforderung werden. In den meisten Fällen ist das optimierte Protokoll für einen bestimmten Zelltyp nicht zwangsläufig ohne Adaption übertragbar. Um überhaupt Partikel aus der Umgebung aufnehmen zu können, ist zunächst einmal für alle zu transfizierenden Zellen das Vorhandensein von ungerichteter Endozytose die Grundvoraussetzung. Die Optimierung der In-vitro-Transfektion erfolgt dann in vier Schritten:

- I Fokus auf das Wachstum der betreffenden Zellen: Optimale Voraussetzungen ergeben sich bei einer Zellkonfluenz von 60–80% am Tag der Transfektion.
- I Variation der Menge an Transfektionskomplexen, die auf die Zellen gegeben werden: Das Verhältnis von Viromer zu Target (DNA oder RNA) bleibt hierbei immer konstant.
- I Variation des Verhältnisses von Viromer zu Target: Das ermöglicht bei beispielsweise größeren Plasmiden (>8kb) eine bessere „Verpackung“ durch mehr Transfektionsreagenz.
- I Variation der Inkubationszeit: Ausschlaggebend hierfür ist vor allem der Turnover des betreffenden Proteins – sowohl bei Expressions- als auch bei Knock-down-Studien – der den optimalen Zeitpunkt der Analyse bestimmt. Der Standardwert beträgt zwischen 24–72h (abhängig von der Readout-Methode).

Bei Einsatz eines neuen Zelltyps oder Targets ändern sich die Transfektionsbedingungen zwangsläufig, so dass es immer empfehlenswert ist, eine neue Optimierungsrunde durchzuführen. Weitere Informationen zur Transfektion von mehr als 160 verschiedenen Zelltypen sind auf www.viromer-transfection.com zu finden.



www.laborwelt.de