

1. Hauptprojekt: Induktion von embryonalen Transkriptionsfaktoren in adulten Zellen

Transfektion von Zellen mit den Genen für Oct4, Sox2 und Estrogen Related Rezeptor Beta

Die im Sommer 2007 begonnenen Untersuchungen über die mögliche Expression bzw. Transfektion der embryonalen Transkriptionsfaktoren Nanog, Oct4 und Sox2 in verschiedenen Zellen wurden fortgesetzt. Ziel ist die Reprogrammierung differenzierter Zellen zu möglichst undeterminierten Zellen ohne Einsatz viraler Vektoren.

Im einzelnen wurden die Kulturbedingungen für humane Fibroblasten und HEK293-Zellen standardisiert und gut funktionierende Kultursysteme etabliert. Die Zellen wurden dann mit kommerziellen Plasmiden für Oct4, Sox2 und Esrrb (Estrogen Related Rezeptor Beta) mittels Transfectin (Biorad®) transfiziert und die Expression der entsprechenden Proteine intrazellulär mittels Immunfluoreszenz verifiziert; dabei zeigte sich, dass die Transfektion von HEK293-Zellen mit allen 3 Plasmiden erfolgreich war (Bild 1-3).

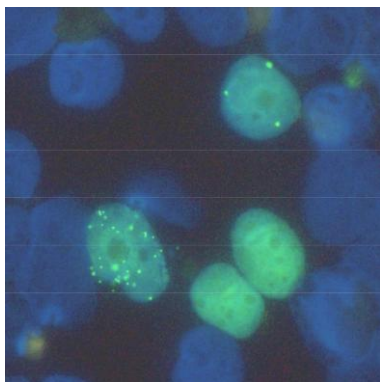


Bild 1: Oct4

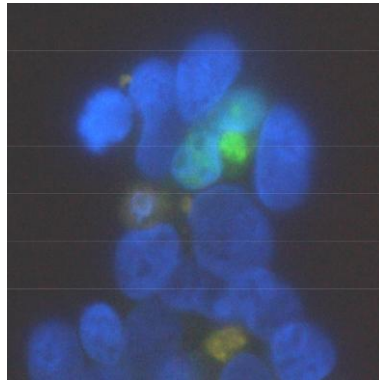


Bild 2: Sox2

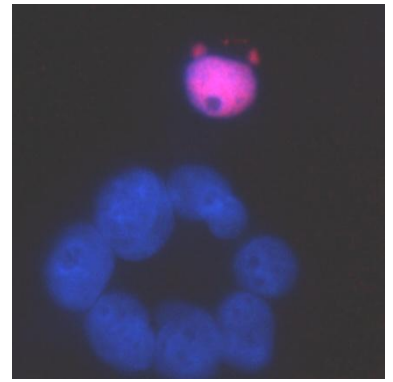


Bild 3: Esrrb

Bei Fibroblasten gelang die Transfektion mit Oct4 und Esrrb (Bild 4-5).

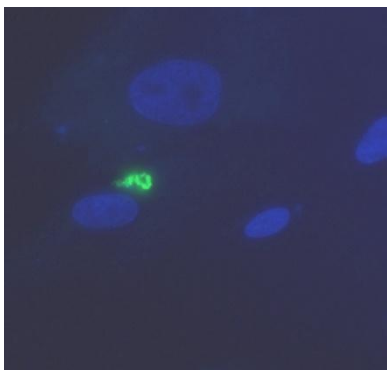


Bild 4: Oct4

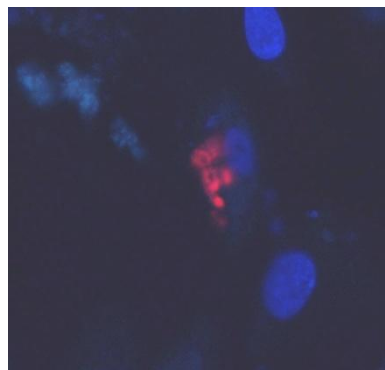


Bild 5: Esrrb

In der Folge ist einerseits geplant, die Transfektionsbedingungen dahingehend zu optimieren, dass die gleichzeitige Transfektion einer Zelle mit allen 3 Plasmiden ermöglicht wird, und weiters, die zu erwartende Modifikation der RNA-Expressionsmuster zu untersuchen.

2. Untersuchungen zum Gerinnungsfaktor XI

Ein Mangel an Gerinnungsfaktor XI (FXI) kann mit einer verstärkten Blutungstendenz assoziiert sein, und es sind zahlreiche Mutationen beschrieben (http://www.wienkav.at/kav/kar/texte_anzeigen.asp?ID=7137), die mit einem FXI-Mangel

verbunden sind. Allerdings ist im Gegensatz zur Hämophilie A oder B (Mangel an Gerinnungsfaktor VIII oder IX) die mögliche Blutungsneigung in weit geringerem Maße von der tatsächlichen Konzentration des im Blut nachweisbaren FXI abhängig; deshalb ist das individuelle Blutungsrisiko eines Patienten mit FXI-Mangel schwer abschätzbar.

Die seit dem Vorjahr laufenden Untersuchungen an Patienten-DNA mit Faktor XI-Mangel wurden fortgesetzt, eine Reihe von DNA-Nachweissystemen etabliert und vorliegende Mutationen bei Patienten aufgeklärt.

3. Diplom-/Bachelorarbeiten

Es wurden 2 Diplomarbeiten am Institut durchgeführt und erfolgreich abgeschlossen:

Babette Maleiner, Etablierung eines Assays zur Detektion von Calsyntenin bei Patienten mit Morbus Alzheimer und Diabetes Mellitus Typ II

Claudia Schwarz, Evaluierung einer Assoziation von Genpolymorphismen in den Genen KIBRA und Calsyntenin 2 mit der Gedächtnisleistung älterer Personen (praktische Umsetzung)

Eine weitere Arbeit über die Charakterisierung von Präadipozyten im Vergleich zu Adipozyten und über die Möglichkeit einer weiteren Entdifferenzierung von Präadipozyten ist im Laufen. Zurzeit ist es gelungen, die Kulturbedingungen für Präadipozyten zu standardisieren und die Zellen über mehrere Passagen zu vermehren.