

7 Anhang

7.1 Verwendete Abkürzungen

AFM	Rasterkraftmikroskopie (engl. Atomic Force Microscopy)
APC	Antigen präsentierende Zellen
B1	1. Boosterung
B2	2. Boosterung
BA	Benzalkoniumchlorid
CPC	Cetylpyridiumchlorid
CQ	Chloroquinphosphat
CTAB	Cetrimid
DDAB	Dimethyldioctadecylammoniumbromid
DMEM	Dulbecco's modified eagle medium
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOPE	Dioleoylphosphatidylethanolamin
DOTAP	1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-trimethylammoniumpropan
DSC	Dynamische-Differenz-Kalorimetrie (Differential Scanning Calorimetrie)
ELISA	Enzyme linked immuno sorband assay
EQ1	Esterquat 1, N,N-Di-(stearoylethyl)-N,N-dimethyl-ammoniumchlorid
FCA	Freunds komplettes Adjuvans (Freund's Complete Adjuvant)
FCS	Fetales Kälberserum

FDA	Food and Drug Administration
FIA	Freunds inkomplettes Adjuvans (Freund's Incomplete Adjuvant)
GI	Grundimmunisierung
GMDP	N-Acetylglucosaminy-N-acetylmuramy-Dipeptid
GRAS	Generally accepted as safe
h	Stunden
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-ethansulfonsäure
HIV	Humanes Immunschwäche Virus
Ig	Immunglobulin
LD	Laserdiffraktometrie
LDH	Laktatdehydrogenase
MDP	Muarmyldipeptid syn. N-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamin
min	Minuten
NLS	Kernlokalisationssequenz (Nuclear localization signal)
OPD	o-Phenylendiamin
PBS	Phosphatgepufferte Natriumchloridlösung (Phosphatbuffered Saline)
PCS	Photonenkorrelationsspektroskopie
pEI	Polyethylenimin
PI	Polydispersitätsindex
pLA	Poly-L-Arginin
RLU	relative Lichteinheiten (relative light units)
RNA	Ribonukleinsäure

SBA	Stabilitäts- und Biokompatibilitäts-optimiertes Adjuvans
SLN	Feste Lipid Nanopartikel (Solid Lipid Nanoparticles)
TAT ₂	Dimer des arginin-reichen Motivs des HIV-1 TAT-Proteins
Th1/Th2	T-Helferzell-Reaktion Typ 1 bzw. 2
TMB	Tetramethylbenzidin
WST	(4-[3-(4-Idophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3 benzene disulfonat)

7.2 Liefernachweise der Geräte und Materialien

7.2.1 Geräte

Gerät	Hersteller	Ort	Land
Agargel Maxi Kammer	Biometra blomed Analytic GmbH	Göttingen	D
Coulter LS 230	Coulter Electronics	Krefeld	D
Durchreichsterilisator DRS1, INS-S-A2000	Münchener Medizin Mechanik GmbH	München	D
EmulsiFlex®-B3	Avestin Inc.	Ottawa	CAN
Hühner Käfig	EBECO	Castrop-Rauxel	D
LAB 60	APV Deutschland GmbH	Lübeck	D
Lumineszenzcounter Wallac Micro Beta Trilux 1450-024	Wallac Oy	Turku	FIN
Mettler Toledo DSC 821e	Mettler Toledo	Gießen	D
Micron LAB 40	APV Deutschland GmbH	Lübeck	D
Mikrotiterplattenreader EAR 4000	SLT Labinstruments	Overath	D
Mikrotiterplattenreader SLT Spectra	Tecan Deutschland GmbH	Crailsheim	D
Transluminator GelDoc 2000	Bio-Rad	München	D
Ultraturrax T 25	Jahnke & Kunkel	Staufen	D
Zetasizer 4	Malvern Instruments	Malvern	UK

7.2.2 Materialien

Material	Hersteller	Ort	Land
16HBE14o-Zellen	DSMZ	Braunschweig	D
96-Well Mikrotiterplatten Greiner Cellstar flacher Boden	Greiner Labortechnik	Solingen	D
96-Well Mikrotiterplatten Greiner F	Greiner Labortechnik	Solingen	D
Anit-Huhn IgG	Dianova	Hamburg	D
Benzalkoniumchlorid	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
beta-Galactosidase	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Bicinchoninsäure-Reagenz	Pierce	Rockford	USA
Cetrimid	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Cetylpalmitat Cutina CP	Henkel	Düsseldorf	D
Cetylpyridiumchlorid	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Compritol ATO 888	Gattefossé	Weil am Rhein	D
Cos-1 Zellen	DSMZ	Braunschweig	D
Cytotoxicity detection kit LDH	Roche Diagnostic GmbH	Mannheim	D
DDAB	Clairant GmbH	Frankfurt Main	D
DMEM Medium	Promocell	Heidelberg	D
DOPE	Northern Lipids	Alabaster	CAN

Material	Hersteller	Ort	Land
DOTAP	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Dotap liposomales Transfektionsreagenz	Roche Diagnostic GmbH	Mannheim	D
Dynasan 112, 114	Condea	Witten	D
Edetinsäure	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
EQ1	Gerbu Biotechnik GmbH	Gaiberg	D
Escort TM	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Ethidiumbromid	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Fetales Kälberserum	Invitrogen	Karlsruhe	D
Freunds Adjuvantien	Difco	Detroit	USA
Galacto-Star [®] System	Tropix	Bedford/MA	USA
Hartparaffin	Schümann Sasol GmbH	Hamburg	D
Hepes-Puffer Substanz	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Ladepuffer	peqLAB Biotechnologie GmbH	Erlangen	D
Lipofundin [®] MCT 10%	Braun Melsungen	Melsungen	D
Miglyol 812	Caesar & Lorentz	Hilden	D
Murines IgG	INC Biomedicals	Aurora	USA
o-Phenylendiamin	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D

7 Anhang

Material	Hersteller	Ort	Land
pCMVbeta	ATTC	Manassas	USA
peqGOLD Universalagarose	peqLAB Biotechnologie GmbH	Erlangen	D
Polyethylenimin (25000)	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Poly-L-Arginin (5000-15000)	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Schwarze Mikrotiterplatte Fluotrac 2000	Greiner Labortechnik	Solingen	D
Span 85	ICI Surfactants	Eversberg	B
Tetramethylbenzidin	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
TRIS-Acetat	Sigma-Aldrich	Dreisenhofen	D
Tween 80	ICI Surfactants	Eversberg	B
WST-1	Roche Diagnostic GmbH	Mannheim	D

7.3 Verwendete Puffersubstanzen und Lösungen

Alle Puffer wurden mit Millipore-Wasser hergestellt. Die Mengenangaben beziehen sich auf einen Liter.

Carbonatpuffer (pH 9)

- 5,6 g Natriumhydrogencarbonat (Merk, Darmstadt, Deutschland)
- 3,8 g Natriumcarbonat (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deutschland)

ELISA-Puffer (pH 7,2-7,4)

- 8,6 g Natriumchlorid (Fluka Chemika, Neu Ulm, Deutschland)
- 0,4 g Natriumhydrogenphosphat Monohydrat (Sigma-Aldrich, s.o.)
- 2,6 g Dinatriumhydrogenphosphat Dodekahydrat (Fluka, s.o.)
- 0,5 ml Tween 80 (ICI Surfactants, Eversberg, Belgien)

Phosphat-Puffer (pH 7,2-7,4)

- 0,1 g Natriumhydrogenphosphat Monohydrat (s.o.)
- 0,8 g Dinatriumhydrogenphosphat Dodekahydrat (s.o.)

Phosphat-Citrat-Puffer (pH 5,0)

- 18,4 g Dinatriumhydrogenphosphat Dodekahydrat (s.o.)
- 5,1 g Zitronensäure Monohydrat (Fluka, s.o.)

Phosphatgepufferte Natriumchloridlösung (PBS, pH 7,4)

- 21,4 g Dinatriumhydrogenphosphat Heptahydrat (Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe, Deutschland)
- 80 g Natriumchlorid (Carl Roth, s.o.)
- 1,9 g Kaliumchlorid (Carl Roth, s.o.)
- 2,0 g Kaliumdihydrogenphosphat (Carl Roth, s.o.)

HEPES-Puffer (pH 7,4)

5,99 g 4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-ethansulfonsäure (syn. Hepes, Sigma, s.o.)

TAE-Puffer (pH 7,4)

7,2 g Tris(hydroxymethyl)amminomethan Acetat (TRIS Acetat, TAE)

0,3 g EDTA

100µg Ethidiumbromid

7.4 Publikationen und Kongreßbeiträge

7.4.1 Publikationen

Schöler, N., Olbrich, C., Tabatt, K., Müller, R.H., Hahn, H., Liesenfeld, O., Surfactant, but not the size of solid lipid nanoparticles (SLN) influences viability and cytokine production of macrophages. *Int. J. Pharm.* 221, 57-67, 2001.

Olbrich, C., Tabatt, K., Kayser, O., Schade, R., Schulze, C., Müller, R.H., SBA - A new type of adjuvant based on solid lipid nanoparticles: Study on cytotoxicity, compatibility and effectivity in chicken. *ATLA* 30(4), 443-458, 2002.

Olbrich, C., Schöler, N., Tabatt, K., Müller, R. H., Kayser, O., Cytotoxicity studies of the colloidal drug carrier system Solid Lipid Nanoparticles (SLN) on RAW 264.7 macrophages. *In Vitro and Mol. Tox.* Im Druck.

Tabatt, K., Sameti, A., Olbrich, C., Müller, R.H., Lehr, C.-M., Effect of Cationic Lipid and Matrix Lipid on SLN-mediated Gene Transfer. *Pharm. Res.* Eingereicht.

Olbrich, C., Tabatt, K., Müller, R.H., Studies on the biodegradation and cytotoxicity of nanostructured lipidcarriers (NLC). *J. Microencapsulation.* In Vorbereitung.

Tabatt, K., Bakowsky, U., Sameti, A., Müller, R.H., Lehr, C-M., Olbrich, C., Cationic SLN for Gene Delivery: Comparison to Liposomes. In Vorbereitung.

Rudolph, C., Tabatt, K., Müller, R.H., Rosenecker, J., Transfection with ternary gene vector complexes made from SLN, the arginine rich motif of HIV-1 TAT peptide (TAT₂) and DNA. In Vorbereitung.

7.4.2 Kongreßbeiträge

Tabatt, K., Olbrich, C., Müller, R.H., Cytotoxicity testing of Solid Lipid Nanoparticles on RAW 264.7 macrophages. 4th World Meeting on Pharm. Techn., Biopharm. and Pharm. Biotechn., Florence, 699-700, 2002.

Tabatt, K., Olbrich, C., Schade, R., Müller, R.H., Tissue tolerability of the Stable Biocompatible Adjuvant (SBA). 4th World Meeting on Pharm. Techn., Biopharm. and Pharm. Biotechn., Florence, 863-864, 2002.

Müller, R.H., Tabatt, K., TransoPlex[®] – novel transfection agents based on solid lipid nanoparticles (SLN). Abstract Annual Meeting of AAPS 10.-14. November, Toronto 2002.

Tabatt, K., Müller, R.H., Novel transfection agents based on solid lipid nanoparticles: terminal sterilization by autoclavation. Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft 9.-12. Oktober, Berlin 2002.

7.5 Danksagung

Meinem akademischen Lehrer Prof. Müller gebührt ein großes Dankeschön für die Gelegenheit, die vorliegende Arbeit am Institut für Pharmazeutische Technologie der Freien Universität Berlin anfertigen zu können. Prof. Müller hat mir jeglichen zeitlichen, materiellen und inhaltlichen Spielraum gewährt. Hierfür bin ich ihm zu großem Dank verpflichtet. Ohne seinen großen persönlichen Einsatz wäre die vorliegende Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen.

Das Land Berlin hat diese Arbeit mit dem Promotionsstipendium nach dem Nachwuchsförderungsgesetz (NaFöG) unterstützt. Ohne diese finanzielle Unterstützung wäre die Arbeit nicht in so kurzer Zeit möglich gewesen. Hierfür möchte ich meinen besonderen Dank aussprechen.

Danken möchte ich ebenfalls Dr. Carsten Olbrich (Schering AG Berlin), der mir die Themenstellung vermittelt hat und jeder Zeit für eine wissenschaftliche Diskussion offen war.

Ich danke Prof. Claus-Michael Lehr, Amir Sameti, Heike Stumpf und dem gesamten Arbeitskreis am Institut für Pharmazeutische Technologie der Universität des Saarlandes für die gute Zusammenarbeit und für die Möglichkeit die Transfektionsversuche im Hause durchzuführen. Ein besonderes Dankeschön gebührt hierbei Heike Pfundstein für die Einarbeitung in die Zellkulturtechnik.

Corinna Schmidt möchte ich für die Aufarbeitung von unzähligen Eiern danken.

Ein Dankeschön gilt auch den Mitgliedern des gesamten Arbeitskreises für ihr kollegiales Verhalten und die angenehme Atmosphäre.

7.6 Lebenslauf

Name:	Kerstin Tabatt
Geburtsdatum:	23.09.1976
Geburtsort:	Berlin
07/82 - 07/88:	Evangelische Grundschule Berlin
08/88 - 06/95:	Hermann-Ehlers-Oberschule Berlin
10/95 – 10/99:	Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin
April 98	Erstes Staatsexamen
Januar 00	Zweites Staatsexamen
Mai 01	Drittes Staatsexamen
01/00 – 07/00:	Pharmaziepraktikum im Arbeitskreis von Prof. R.H. Müller am Institut für Pharmazeutische Technologie, Biopharmazie und Biotechnologie der Freien Universität Berlin
01/00	Beginn der Promotion im Arbeitskreis von Prof. R.H. Müller am Institut für Pharmazeutische Technologie, Biopharmazie und Biotechnologie der Freien Universität Berlin
08/00 – 02/01:	Pharmaziepraktikum in der Cäcilien-Apotheke in Berlin
seit 06/01	Vertretungen in der Mohren Apotheke, Herford
seit 07/01:	Stipendiatin nach dem Berliner Nachwuchsförderungsgesetz (NaFöG)
11/01, 02-03/02, 07/02:	Forschungsaufenthalte am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie bei Professor Dr. C.-M. Lehr