

## 2 MATERIAL

Falls nicht anders vermerkt, wurden alle Materialien aus Deutschland bezogen.

### 2.1 Antikörper

#### 2.1.1 Polyklonale Antikörper

Antikörper	Vertreiber
Thymoglobulin Serum immunisierter Kaninchen Antigen: humane Thymozyten	Mérieux, Leimen
Lymphoglobulin Serum immunisierter Pferde Antigen: humane Thymozyten	Mérieux, Leimen
ATG-Fresenius S Serum immunisierter Kaninchen Antigen: humane T-Lymphoblasten (Jurkat-Zelllinie)	Fresenius AG, Bad Homburg
Tecelac Serum immunisierter Kaninchen Antigen: humane Thymozyten	Biotest Pharma GmbH, Dreieich
Kaninchen-Anti-Human-PARP-cleavage-site- (214/215)-FITC	BIOSource International, Ratingen
Kaninchen-Anti-Human-Aktivierte- Caspase-3-PE	BD PharMingen, Heidelberg

#### 2.1.2 Monoklonale Antikörper

Antikörper	Klon	Vertreiber
Maus-IgG <sub>1</sub> -Anti-Human-CD3-FITC	SK7	BD Biosciences, Heidelberg
Maus-IgG <sub>1</sub> -Anti-Human-CD34-PE	8G12	BD Biosciences, Heidelberg
Maus-IgG <sub>1</sub> -Anti-Human-CD34-FITC	8G12	BD Biosciences, Heidelberg

Maus-IgG <sub>1</sub> -Anti-Human-CD45-FITC,	2D1	BD Biosciences, Heidelberg
Maus-IgG <sub>2b</sub> -Anit-Human-CD95	SM 1/23	Alexis, Grünberg
Maus-IgM-Anti-Human-CD95	7C11	Coulter Immunotech, Hamburg
Maus-IgG <sub>1</sub> -Anti-Human-CD95-FITC	DX2	BD PharMingen, Heidelberg

### 2.1.3 Isotypenkontrolle

Antikörper	Vertreiber
Humanes-IgG (Venimmun, 12 mg/mL)	Baxter, München
Pferde-IgG	SIGMA, Deisenhofen,
Kaninchen-IgG	SIGMA, Deisenhofen
Maus-IgG <sub>1</sub> -PE, Klon X40	BD Biosciences, Heidelberg
Maus-IgG <sub>1</sub> -FITC, Klon X40	BD Biosciences, Heidelberg
Maus-IgG <sub>2b</sub> ., Klon MOPC-141	SIGMA, Deisenhofen
Maus IgM, Klon MOPC-104E	SIGMA, Deisenhofen

### 2.1.4 Sekundäre Antikörper

Antikörper	Vertreiber
Ratte-Anti-Maus-IgG <sub>2b</sub> -FITC, Klon R12-3	BD PharMingen, Heidelberg

## 2.2 Weitere Reagenzien

### 2.2.1 Systeme (Kits)

Kits	Hersteller
CD34 Multisort Kit	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach
Dako IntraStain Fixierungs- und Permeabilisierungskit	DAKO, Hamburg
PhiPhiLux-G <sub>2</sub> D <sub>2</sub> (GDEV DGI) Kit	OncoImmunin/MobiTec, Göttingen
PKH26 <i>red fluorescent cell linker kit</i>	SIGMA, Deisenhofen

### 2.2.2 Proteine und Peptide

<b>Proteine/Peptide</b>	<b>Hersteller</b>
Annexin V-FITC	BD PharMingen, Heidelberg
BSA	SIGMA, Deisenhofen
CaspACE™ FITC-VAD-FMK	Promega Deutschland GmbH, Mannheim
G-CSF, Neupogene	Amgen Europe B.V., Breda, Niederlande
Z-DEVD-FMK	Alexis, Grünberg

### 2.2.3 Chemikalien

<b>Chemikalien</b>	<b>Hersteller</b>
7-AAD	SIGMA, Deisenhofen
Annexin V-Binde-Puffer (ABP)	BD PharMingen, Heidelberg
Aqua bidest.	Delta Pharma GmbH, Pfullingen
Arsentrioxid	SIGMA, Deisenhofen
Cyclosporin A	SIGMA, Deisenhofen
DMSO	Merck, Darmstadt
Durchflusszytometrie-Wasch-Puffer (DFZWP)	OncoImmunin/MobiTec, Göttingen
EDTA	SIGMA, Deisenhofen
Etoposid (VP-16-213)	SIGMA, Deisenhofen
Ficoll-Trennlösung	Biochrom, Berlin
Formaldehyd	SIGMA, Deisenhofen
PBS ohne Ca <sup>2+</sup> /Mg <sup>2+</sup>	GIBCO BRL Life Technologie, Eggenstein-Leopoldshafen
Propidiumiodid	SIGMA, Deisenhofen
Trypanblau-Lösung 0,4%	SIGMA, Deisenhofen
Türks-Lösung	Merck, Darmstadt
Verapamil	SIGMA, Deisenhofen

### 2.2.4 Seren

Seren	Hersteller
FBS	GIBCO BRL Life Technologie, Eggenstein-Leopoldshafen
Kaninchenserum	SIGMA, Deisenhofen
Pferdeserum	GIBCO BRL Life Technologie, Eggenstein-Leopoldshafen

### 2.2.5 Puffer und Lösungen

Die 7-Amino-Aktinomyzin D (7-AAD) Stammlösung wurde, wie bei Philpott (Philpott, 1996) beschrieben, in Aceton gelöst und anschließend mit PBS auf 10 mg/mL verdünnt.

Arsentrioxid wurde zunächst in 10%-iger NaOH aufgenommen, anschließend mit Wasser auf 100 mM verdünnt und sterilfiltriert.

Annexin V-Binde-Puffer (ABP): 10 mM HEPES; pH 7,4; 140 mM NaCl; 2,5 mM CaCl<sub>2</sub>.

Einfriermedium: RPMI 1640; 20% FCS; 10% DMSO.

Etoposid (VP-16): 50 mM VP-16 in DMSO gelöst; Aufbewahrung bei Raumtemperatur.

MACS Puffer: PBS ohne Mg<sup>2+</sup>/ Ca<sup>2+</sup> mit 0,5% BSA und 2 mM EDTA.

Phosphat gepufferte Salzlösung: (PBS ohne Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup>): 140 mM NaCl; 2,7 mM KCl; 6,5 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1,5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; pH 7,4.

### 2.2.6 Substanzen zur Wartung und Reinigung des Durchflusszytometers

Reagenzien	Vertreiber
FACSFlow	BD Biosciences, Heidelberg
FACSRinse	BD Biosciences, Heidelberg
FACSSafe	BD Biosciences, Heidelberg

### 2.3 Zellkulturmedien und Zusätze

Medium /Zusätze	Hersteller
FBS	GIBCO BRL Life Technologie, Eggenstein-Leopoldshafen
Glutamax I (100x)	GIBCO BRL Life Technologie, Eggenstein-Leopoldshafen
HEPES-Lösung, 1M	GIBCO BRL Life Technologie, Eggenstein-Leopoldshafen
MethoCult H4431	Cell Systems, Biotechnologie Vertrieb GmbH, St. Katharinen
Natriumbikarbonat (7,5%)	GIBCO BRL Life Technologie, Eggenstein-Leopoldshafen
Penicillin-Streptomycin: 1000 Einheiten/mL Pen. G, 10.000 µg/mL Streptomycin	GIBCO BRL Life Technologie, Eggenstein-Leopoldshafen
Phenolrot-Lösung: 0,5% in DPBS	SIGMA, Deisenhofen
QBSF 51-Medium, serumfrei	SIGMA, Deisenhofen
RMPI 1640	GIBCO BRL Life Technologie, Eggenstein-Leopoldshafen

### 2.4 Zelllinien

Zelllinie	Beschreibung	Vertreiber
HL-60	akute Promyelozyten-Leukämie	Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkultur (DSMZ), Braunschweig
Jurkat	humane T-Zell-Leukämie	DSMZ, Braunschweig
K-562	chronische myelogene Leukämie	DSMZ, Braunschweig
KG-1a	humane akute myelogene Leukämie	DSMZ, Braunschweig
NB-4	humane akute Promyelozyten-Leukämie	DSMZ, Braunschweig
U-937	Histiozyten-Lymphom	American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, USA

Alle Zellen wurden gemäß den Angaben der Vertreiber kultiviert.

## 2.5 Weitere Materialien

<b>Verbrauchsmaterialien</b>	<b>Hersteller</b>
1,5 mL Polypropylen-Reaktionsgefäße	Eppendorf, Hamburg
Einmal-Spritzenvorsatzfilter (0,45µm)	Carl ROTH GmbH, Karlsruhe
Gewebekulturflaschen, steril 7 mL, 30 mL, 75 mL	NUNC GmbH & CoKG, Wiesbaden
Gewebekultur-Petrischalen, steril, ohne Gitter 145/20 mm, 35/10 mm	GREINER, Frickenhausen
Gewebekulturröhrchen PP 14 mL, steril	GREINER, Frickenhausen
Gewebekulturschalen, steril, mit Gitter 35/10 mm	GREINER, Frickenhausen
Injektionskanüle 20G	Braun, Melsungen
Kryoröhrchen	NUNC GmbH & CoKG, Wiesbaden
MS+-Trennsäulen	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach
Omnifix F 1 mL Tuberkulin-Spritze	Braun, Melsungen
Pasteur-Pipetten	MERCK Eurolab GmbH, Darmstadt
Probenröhrchen mit Schraubverschluss, steril	Biozym, hess.Oldendorf
Reagenzröhrchen 15 mL, 50 mL	GREINER, Frickenhausen
Rundbodenröhrchen, 5 mL, Polystyrol	BD FALCON, Heidelberg
Serologische Pipetten, steril 5 mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL	BD FALCON, Heidelberg
Sterile Pipettenspitzen (Safe Seal-Tips) 2,5 µL, 10 µL, 20 µL, 100 µL, 200 µL, 1000 µL	Biozym, hess.Oldendorf
Vacutainer System CPT-Röhrchen	BD Biosciences, Heidelberg
Zellkulturschalen (6, 12, 24, 48 Napf)	NUNC GmbH & CoKG, Wiesbaden

## 2.6 Geräte

<b>Gerät</b>	<b>Hersteller</b>
Biofuge A	Haereus Sepatech, Berlin
Brutschrank: Heraeus CO <sub>2</sub> -Auto-Zero	Kendro Laboratory Products GmbH, Berlin
Centrifuge 5804R	Eppendorf, Hamburg
FACS	BD Biosciences, Heidelberg
GPR Centrifuge	Beckmann Instruments GmbH, München
Magnet	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach
Magnetwand	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach
Mikroskop	ZEISS, Göttingen
Sterilbank (GELAIRE BSB 6A)	Flow Laboratories, Opera, Italien
Vortex Genie 2	Scientific Instruments/Merk Eurolabs, Berlin
Zählkammer	Carl ROTH GmbH, Karlsruhe

## 2.7 Patientenproben

Untersuchungen an den Blut- und Knochenmarkproben von 15 MDS-Patienten wurden im Rahmen einer, von den jeweils zuständigen Ethikkommissionen positiv begutachteten, klinischen Studie der Deutschen MDS-Studiengruppe durchgeführt. Die Materialentnahme erfolgte nach Information und Einwilligung der Patienten.