

7. ANHANG

7.1 Tabelle 1: Patientencharakteristika und Versuchsergebnisse

Patient	Geschlecht	Alter in Jahren	Erkrankungsstufe des Patienten	Ig Typ	Anzahl Therapien	Viabilität in %	IHC phospho-Akt	Veränderung MFI Durchflußzytometrie
1	m	53	III A	IgG kappa	4	11	Positiv	n.a.
2	w	45	III A	IgG kappa	6	60	n.a.	n.a.
3	w	74	III B	IgG lambda	1	96	Positiv	n.a.
4	m	56	III A	IgG lambda	4	55	Negativ	n.a.
5	m	41	III B	kappa	2	78	Negativ	n.a.
6	m	67	III A	IgG kappa	11	7	Positiv	1,38
7	w	85	n.a.	n.a.	n.a.	62	Negativ	n.a.
8	w	55	III A	IgD lambda	4	96	Negativ	1,19
9	m	78	III A	IgA kappa	7	9	Positiv	1,36
10	m	67	III A	IgA lambda	2	5	Positiv	1,35
11	m	53	III A	IgG kappa	0	76	Negativ	0,94
12	w	68	MGUS	IgA lambda	0	15	Positiv	3,30
13	m	51	III A	kappa	6	66	Negativ	0,95
14	w	63	III A	IgG lambda	0	8	Positiv	1,31
15	m	67	III A	IgA kappa	0	29	Positiv	1,30
16	w	67	III A	IgA kappa	4	73	Positiv	4,70
17	w	73	III A	IgG lambda	1	74	Negativ	1,10
18	w	60	III A	IgA lambda	1	93	Negativ	n.a.
19	m	61	III A	kappa	0	16	Positiv	2,07
20	m	68	III B	IgG kappa	3	49	Negativ	0,88
21	m	63	III A	lambda	2	5	n.a.	n.a.
22	m	64	III A	IgG kappa	6	78	n.a.	n.a.
23	w	73	III A	IgG lambda	4	28	n.a.	1,46

Patient	Geschlecht	Alter in Jahren	Erkrankungs- stufe des Patienten	Ig Typ	Anzahl Therapien	Viabilität in %	IHC phospho- Akt	Veränderung MFI Durchfluß- zytometrie
24	m	74	III B	IgG kappa	6	13	n.a.	n.a.
25	w	70	n.a.	n.a.	n.a.	20	n.a.	1,84
26	m	74	III A	IgG lambda	0	15	n.a.	1,96
27	m	71	n.a.	n.a.	n.a.	54	n.a.	1,06
28	w	53	III B	IgG lambda	0	68	n.a.	1,12
29	w	55	III B	kappa	0	5	n.a.	1,60
30	m	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	16	n.a.	1,35

Tabelle 1: Patientencharakteristika und Versuchsergebnisse

Zu den einzelnen Patienten ist das Geschlecht, Alter, Erkrankungsstufe zum Zeitpunkt der Knochenmarkpunktion (Erkrankungsstufe), die Art des von den Tumorzellen sezernierten Immunglobulins (Ig Typ) und die Anzahl an durchgeführten Therapien angegeben (Anzahl Therapien). Diese Informationen wurden den Patientenakten entnommen. Desweiteren ist die Anzahl viabler Tumorzellen in % nach 5 Tagen Behandlung mit Akti-1/2 [10 µM] bezogen auf die DMSO-Kontrolle angegeben (Viabilität in %). In den beiden letzten Spalten finden sich die Ergebnisse zur immunhistochemischen Analyse von phospho-Akt und zur intrazellulären phospho-Akt Färbung (IHC phospho-Akt) und Durchflusszytometrie (Veränderung MFI Durchflusszytometrie). "Positiv" bedeutet, dass in der IHC eine geringe bis deutliche Färbung auf phospho-Akt sichtbar war, wohingegen bei Schnitten, die mit "Negativ" bewertet wurden, keine Färbung sichtbar war. Die Veränderung der MFI drückt die Vervielfachung des Fluoreszenzsignals in der unbehandelten Probe gegenüber der mit Akti-1/2 behandelten Probe aus. m=männlich; w=weiblich; MGUS=Monoklonale Gammopathie unbestimmter Signifikanz; Ig=Immunglobulin; IHC=Imunhistochemie; MFI= Mediane Fluoreszenz Intensität; n.a.=nicht verfügbar.

7.2 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
<i>a. dest.</i>	bidestilliertes Wasser
APS	Ammoniumpersulfat
ATP	Adenosintriphosphat
bp	Basenpaare
BPB	Bromphenolblau
BSA	Bovines Serum Albumin
β-ME	β-Mercaptoethanol
CaCl ₂	Kalziumchlorid
CD	"Cluster of Differentiation"
cDNA	„copy“-DNA
CT	Computertomographie
DMEM	„Dulbecco’s Modified Eagle’s“ Medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleotidtriphosphate
DTT	Dithiothreitol
ECL	„Enhanced-Chemoluminescence“
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetraacetat
EGTA	Ethylen-Glykol-Tetraacetat
F	Farad (nach M. Faraday)
FACS	"Fluorescence Activated Cell Sorting"
FCS	Fötales Kälberserum
FGFR3	"Fibroblast Growth Factor Receptor 3"
FoxO1	"Forkhead Box Class O 1"
g	Gramm
GFP	"GreenFluorescenceProteine"
IGF-1	"Insulin-like Growth Factor-1"
IgH	Schwere Kette des Immunglobulins
IgL	Leichte Kette des Immunglobulins
IL-6	Interleukin-6
KMSZ	Knochenmarkstromazellen
l	Liter

LB	Luria-Bertani
μ	mikro
m	milli
M	Mol
MFI	Mediane Fluoreszenz Intensität
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MGUS	Monoklonale Gammopathie unbestimmter Signifikanz
MM	Multiples Myelom
mm	Millimeter
mRNA	„messenger“-RNA
MRI	Magnetresonanztomographie
n	nano
NaCl	Natriumchlorid
NP-40	Nonidet-P40
p	piko
PBS	"Phosphate-buffered saline"
PCR	"polymerase chain reaction"; Polymerase-Ketten-Reaktion
PDK	"3'-phosphoinositide-dependent kinase"
Pefabloc SC	4-(2-Aminoethyl)-Benzylsulfonylfluorid
PH	"pleckstrin homology"
pH	potentia Hydrogenii
PI3K	Phosphatidylinositol 3-Kinase
PIP	Phosphoinositid Phosphat
PKB	Proteinkinase B
PTEN	"phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten"
RAS	Homolog des "rat sarcoma virus"-Onkogens
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	"revolutions per minute"
RT	Reverse Transkriptase
SAP	"Shrimp Alkaline Phosphatase"
SDS	Sodium Dodecylsulfat
siRNA	"small interfering" RNA

TBS	"Tris-buffered saline"
TEMED	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethyldiamin
TGS	Tris-Glycin-SDS
Tris	a,a,a,-Tris-(hydroxymethyl)-methylamin
Tween-20	Polyoxyethylen-(20)-sorbitan-monolaurat
U	Unit; Einheit
V	Volt

7.3 Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

7.4 Vorab veröffentlichte Teilergebnisse dieser Arbeit

Angela Zöllinger, Thorsten Stühmer, Manik Chatterjee, Stefan Gattenlöhner, Eugenia Haralambieva, Hans-Konrad Müller-Hermelink, Mindaugas Andrusis, Axel Greiner, Carmen Wesemeier, Jörg C. Rath, Hermann Einsele and Ralf C. Bargou

Combined functional and molecular analysis of tumor cell signaling defines two distinct myeloma subgroups: Akt-dependent and Akt-independent multiple myeloma. *Blood*. 2008;112(8):3403-11.

A. Zöllinger, T. Stühmer, M. Chatterjee and R.C. Bargou

Akt dependent and Akt independent Multiple Myeloma: heterogeneity in tumor cell signaling
Jahrestagung der American Society of Hematology (2007), *Posterpräsentation*

A. Zöllinger, T. Stühmer, M. Chatterjee and R. C. Bargou

Functional analysis of the STAT3, MAPK and Akt pathways in primary myeloma cells:
heterogeneity in tumour cell signalling

11. International Multiple Myeloma workshop, Kos/Griechenland (2007), *Posterpräsentation*

A. Zöllinger, T. Stühmer, M. Chatterjee, S. Gattenlöhner, M. Kortüm, C. Unzicker, H. Einsele
and R. C. Bargou

Akt dependent and Akt independent Multiple Myeloma: heterogeneity in tumor cell signaling.
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (2007),
Posterpräsentation

A. Zöllinger

Signaling analysis in primary Multiple Myeloma cells by intracellular (phospho) epitope
staining for flow cytometry

Klinische Forschergruppe Berlin: Wachstumskontrolle neoplastischer B - Zellen:
Tumorbiologie und molekulare Therapieansätze (2006), *Vortrag*

A. Zöllinger, T. Stühmer, M. Topp, S. Knop and R. C. Bargou

Functional and molecular analysis of oncogenic pathways in primary myeloma cells
Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (2006),
Posterpräsentation

7.4 Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Angela Zöllinger

Würzburg, den 01.03.08