

Philine Kaukel  
Dr. med.

## **Validierung der Genexpressionsanalyse-Daten für Zyklin D1 und Zyklin D2 beim Multiplen Myelom mittels quantitativer real-time PCR**

Geboren am 15.10.1980 in Hamburg  
Staatsexamen am 11.12.07 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. H. Goldschmidt

Inhalt dieser Arbeit ist, die Daten aus der GEP-Analyse mit der quantitativen real-time PCR (TaqMan-PCR) zu validieren. Neben klassischen Prognosefaktoren werden sowohl die Genexpressionsanalyse sowie die Zytogenetik verwendet. Anhand dessen werden im Rahmen der EC-Klassifikation vier Gruppen von Patienten zusammengefasst. Es erfolgt eine individuelle Beurteilung und Einschätzung der Prognose.

Folgende Punkte sind besonders wichtige Abschnitte für das Resultat dieser Arbeit:

- die qRT-PCR wird unter Verwendung eines Kalibrators (18S RNA) sowie einer Referenz-Zelllinie (XG1 und XG13) etabliert,
- auf der Basis der eigenen Ergebnisse und der aktuellen Literatur wird die Korrelation der Ergebnisse der qRT-PCR und der GEP-Analyse, sowie das Potential der qRT-PCR zur Validierung von GEP-Daten diskutiert,
- die Korrelation der mittels qRT-PCR ermittelte quantitativen Expressionshöhe für die Gene CCND1 und CCND2 mit der durch GEP ermittelten ist hochsignifikant,
- der in der GEP gefundene signifikante Unterschied in der Expressionshöhe für CCND1 zwischen EC1.1 und EC1.2 sowie die nicht signifikant unterschiedliche Expressionshöhe zwischen EC2.1 und EC2.2 mittels qRT-PCR wird mittels t-Test bestätigt.

Die qRT-PCR ist präferentiell zu verwenden, wenn selektiv nur ein oder wenige Gene untersucht werden sollen. In dieser Arbeit werden zwei Gene (CCND1 und CCND2) untersucht. In Übereinstimmung mit den Arbeitsgruppen Bergsagel et al., Morgan et al. und Klein et al. ist die qRT-PCR gut geeignet zur Verifikation der GEP-Daten. Die hohen Korrelationskoeffizienten zwischen beiden Methoden für CCND1 ( $r = 0,92$ ) bzw. CCND2 ( $r = 0,62$ ) belegen eine hochsignifikante bzw. gute Übereinstimmung.

Die qRT-PCR bestätigt das CCND-Expressionsmuster, welches aus den Genexpressionsdaten bekannt ist.

Die Gruppe EC 1.2 ist charakterisiert durch eine t(11;14), Gruppe EC 1.1 durch das Nicht-Vorhandensein einer t(11;14) bzw. einen Zugewinn der chromosomalen Region 11q13. Gruppe EC 1.2 zeigt gegenüber EC 1.1 ein signifikant höheres CCND1-Expressionsniveau ( $p = 0,01$  für GEP-Daten,  $p = 0,0059$  für qRT-PCR-Daten), was mit der unterschiedlichen Zytogenetik korreliert.

Die Gruppen EC 2.1 und EC 2.2 sind durch eine CCND2 Expression charakterisiert. Die Gruppe EC 2.2 ist außerdem durch eine t(4;14) charakterisiert, Gruppe EC 2.1 durch das Nicht-Vorliegen einer t(4;14). Beide Gruppen unterscheiden sich trotz unterschiedlicher Zytogenetik (t(4;14) betrifft den CCND2-Lokus (12q13) nicht) erwartungsgemäß nicht signifikant in ihrem CCND2-Expressionsmuster ( $p = 0,73$  für GEP-Daten,  $p = 0,42$  für qRT-PCR-Daten). Die Ergebnisse der GEP-Analyse und der qRT-PCR korrelieren auch hier gut.