

Neue labortechnische Möglichkeiten

Signaltransduktion und zelluläre Diagnostik

Dr. Jörn Schnepel

Seminar IV

Molekulare Onkologie 2009

Praxisklinik Dr. Kübler, München

Überblick

- **Signalwege zur Steuerung der Proliferation einer gesunden Zelle**
- **Störungen der Signaltransduktion in einer Tumorzelle**
- **Schaltstellen und Schlüsselfaktoren der Signaltransduktion**
- **Sicherheits-PCR als Einstiegsdiagnostik**
- **Quantifizierung und Charakterisierung von zirkulierenden Tumorzellen mittels ELISA und FISH Techniken**
- **Kultivierung von Killerzellen für die autologe Immuntherapie**

Signaltransduktion

extrazellulärer
Stimulus

Verstärkung des Signales
durch Second-Messenger

Aufnahme und Weiterleitung
durch Membran-Rezeptoren

intrazelluläre Umsetzung
des Reizes

Stimuli :

- Wachstumsfaktoren
- Cytokine
- Hormone (Bsp.: Insulin)
- Nährstoffe (Aminosäuren, Glucose, etc.)
- Zell-Zell-Interaktionen
- Zell-Matrix-Interaktionen

Effekte :

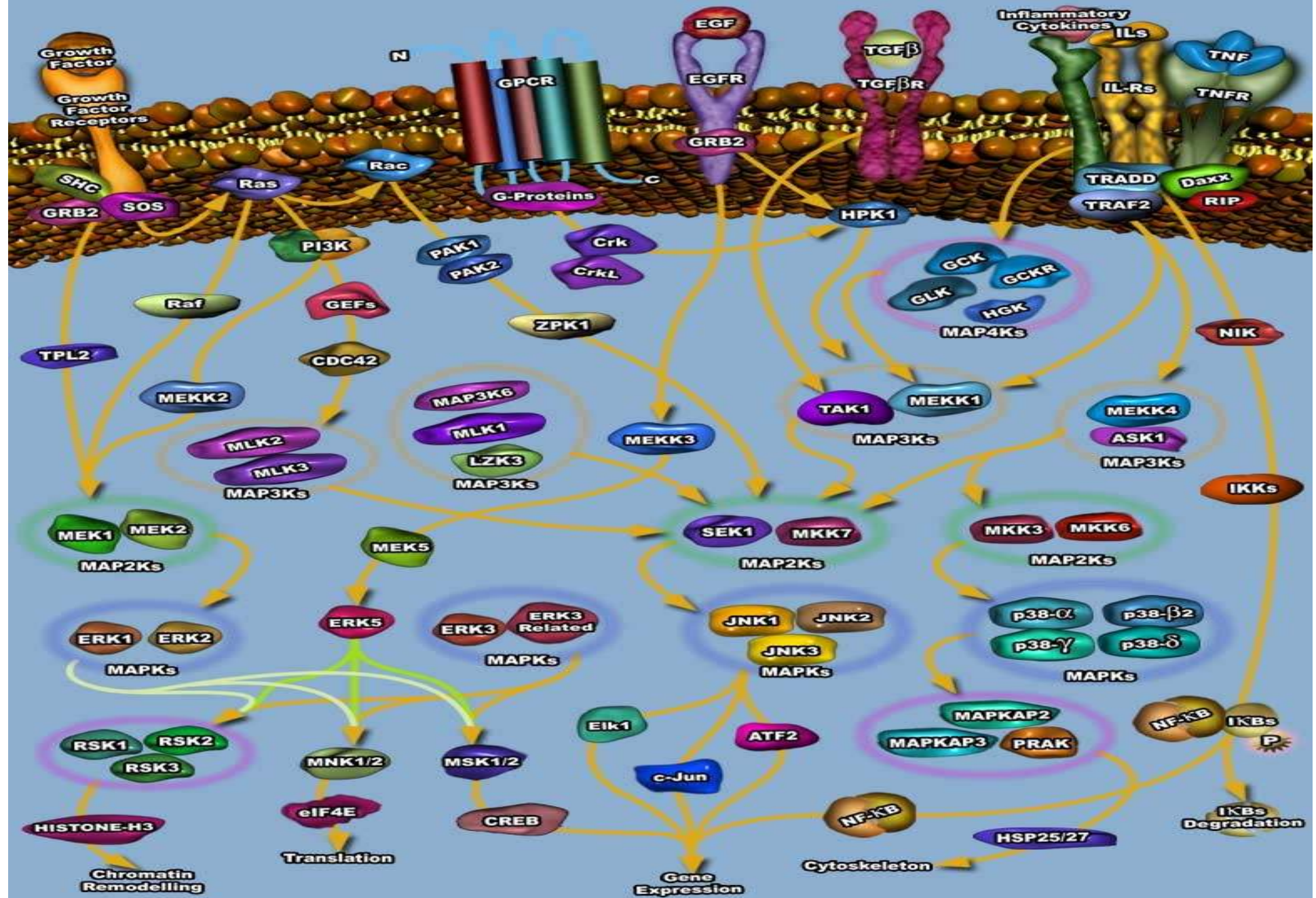
- Proliferation
- Mitose
- Migration
- Genexpression
- Survival-Effekte
- Apoptose
- etc.

Signalwege

Wichtige Signalwege zur Steuerung von Proliferation, Mitose, Apoptose, Differenzierung, etc. :

- Akt/RTKs/NF- κ B-Signaling
- Ras/Integrin-Signaling
 - mTOR-Signaling
 - p53-Pathway
 - PI3K-Signaling
 - GPCR-Signaling
 - MAPK-Signaling
 - VEGF-Signaling
 - wnt-Signaling
 - notch Pathway
- hedgehog Signaling
- Death Receptor Signaling
 - etc.

MAPK Family Pathway



GPCR Pathway

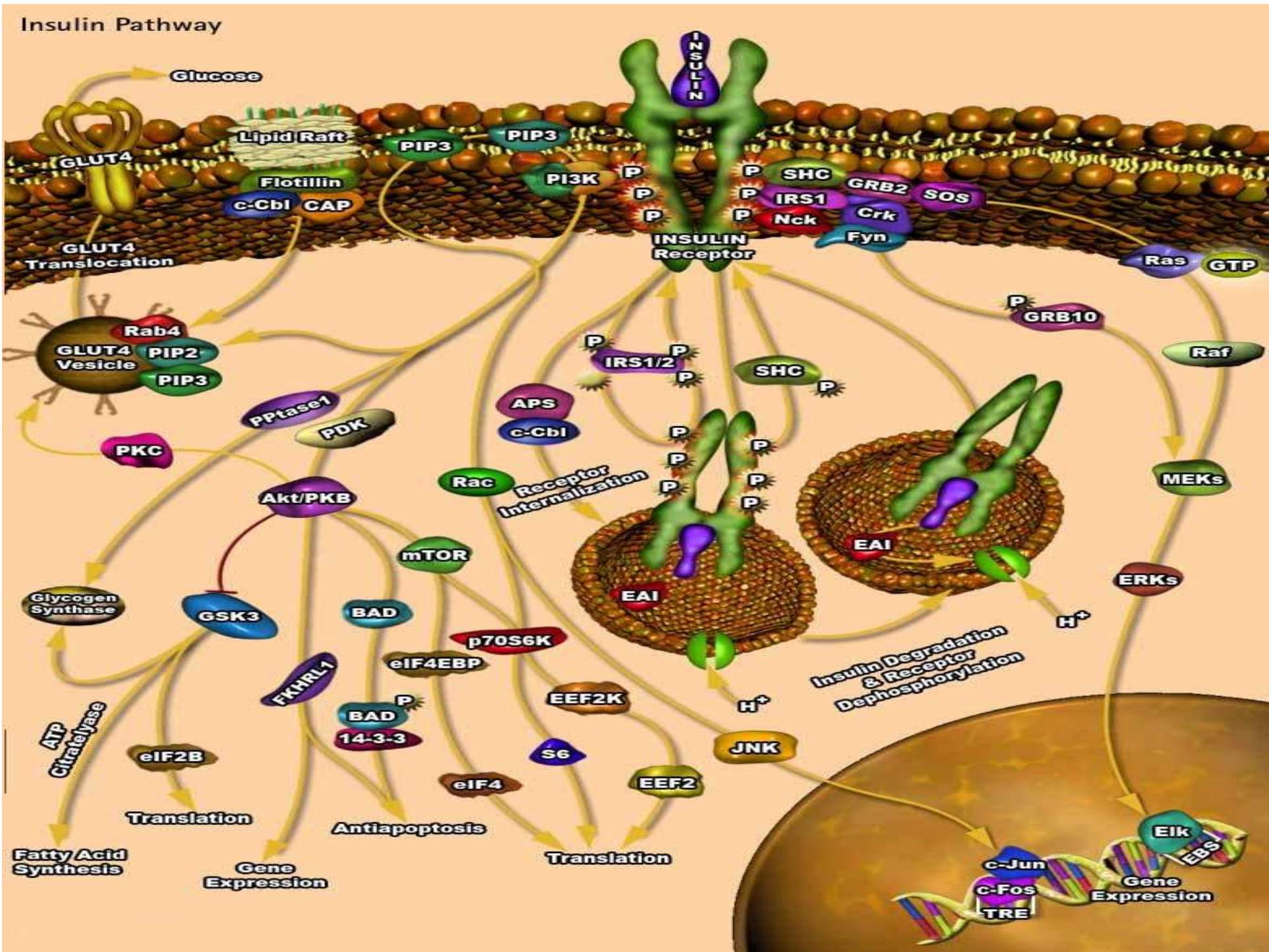


Insulin Pathway

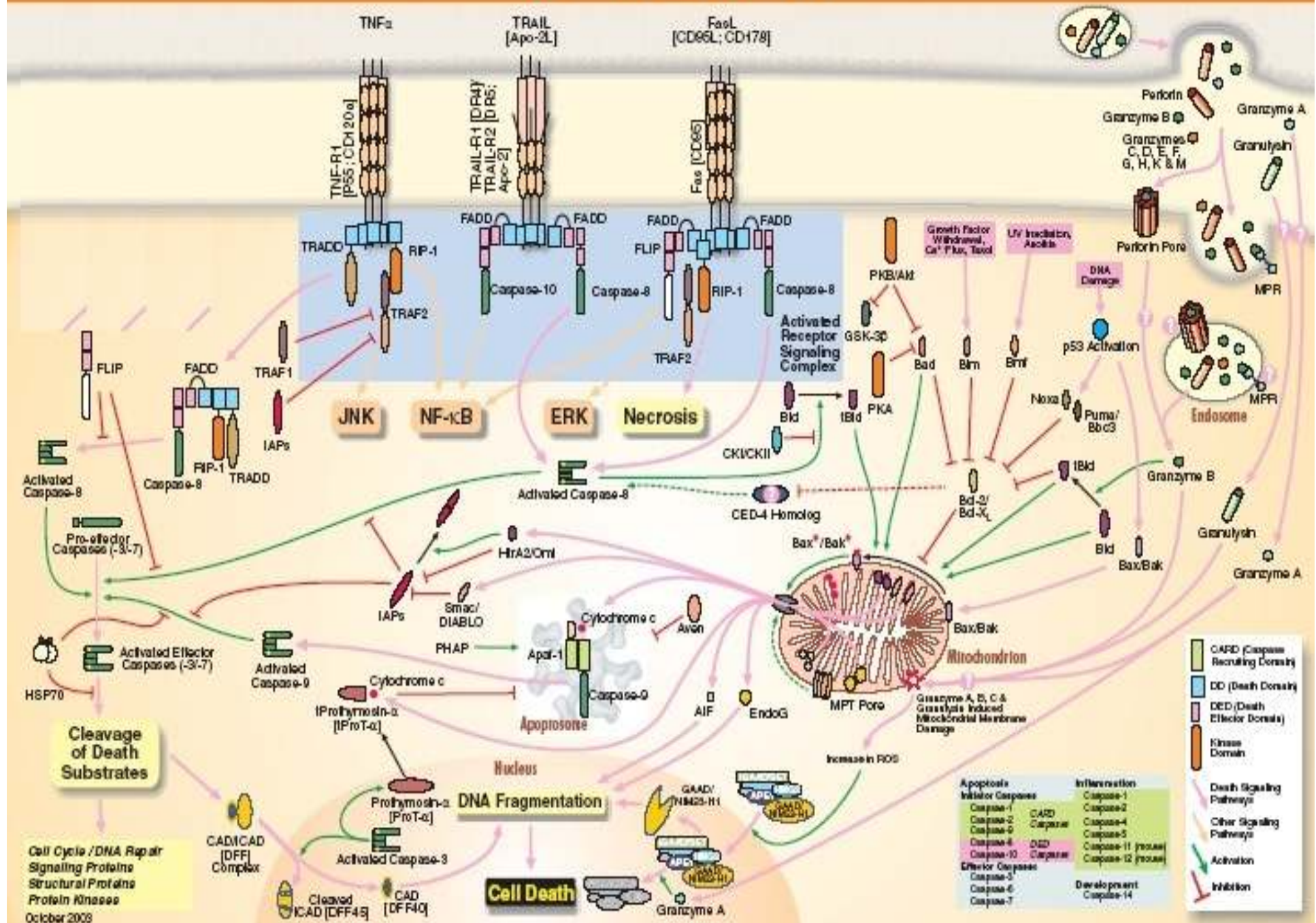
The diagram illustrates the signaling pathways initiated by insulin binding to its receptor. The Insulin Receptor, a tyrosine kinase, is activated by insulin, leading to its autophosphorylation and the phosphorylation of Insulin Receptor Substrate 1/2 (IRS1/2). This triggers two main downstream pathways:

- PI3K/Akt Pathway:** IRS1/2 phosphorylation activates Phosphoinositide 3-kinase (PI3K), which produces Phosphatidylinositol (3)-phosphate (PIP3). PIP3 recruits and activates Phosphoinositide-dependent kinase-1 (PDK1). PDK1 phosphorylates and activates Akt/PKB. Akt/PKB then inhibits GSK3, leading to GLUT4 translocation and glycogen synthesis. Akt/PKB also promotes translation and fatty acid synthesis.
- Ras/MAPK Pathway:** The Insulin Receptor also activates the Ras/MAPK pathway via SHC, GRB2, SOS, and Ras. Ras activates Raf, which activates MEKs, which activate ERKs. ERKs enter the nucleus to promote gene expression.

Other components involved in the pathway include Rac, mTOR, and various transcription factors like c-Jun, c-Fos, and Ets. The Insulin Receptor also undergoes internalization via EAI, leading to degradation and dephosphorylation.



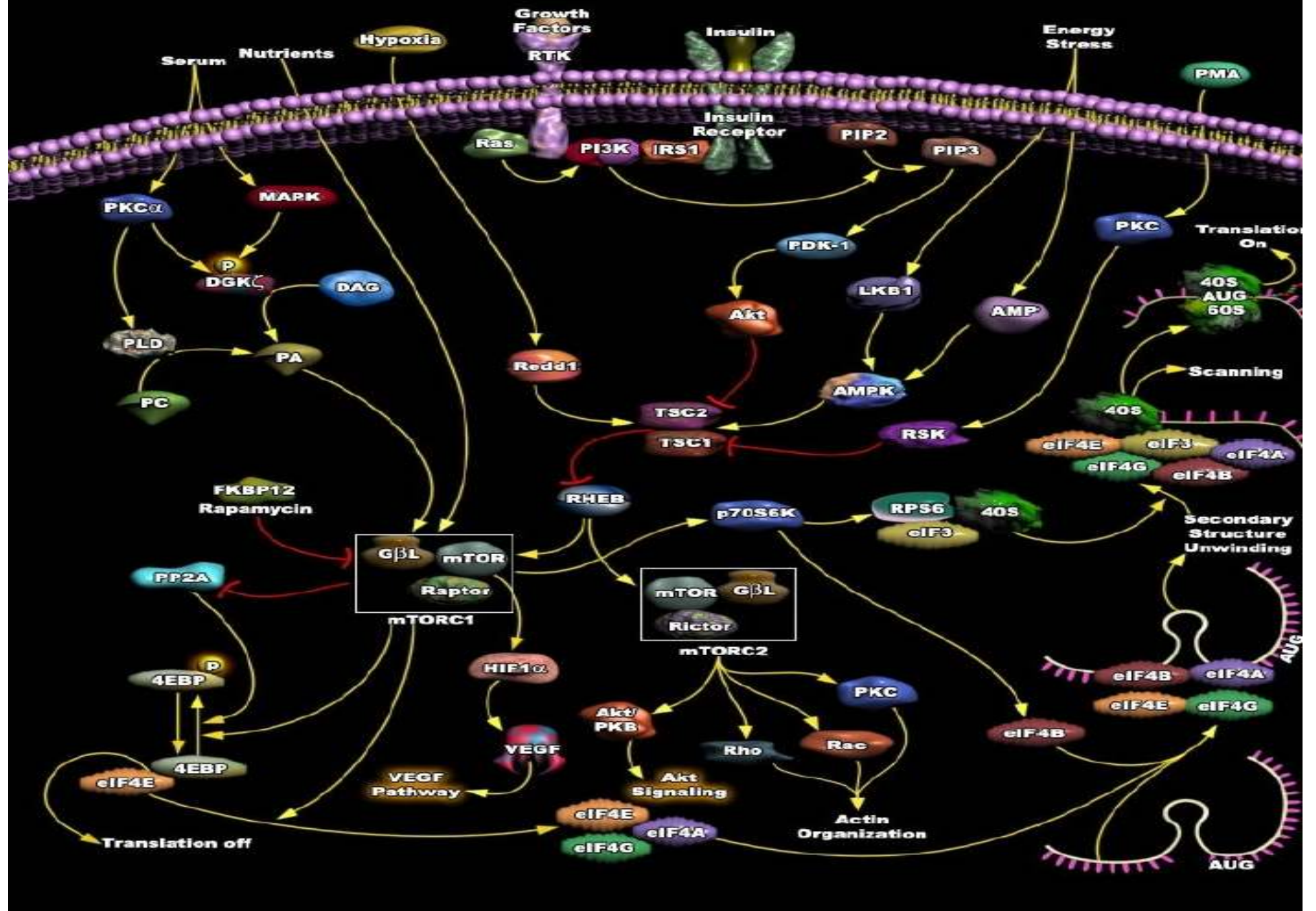
Death Cascades



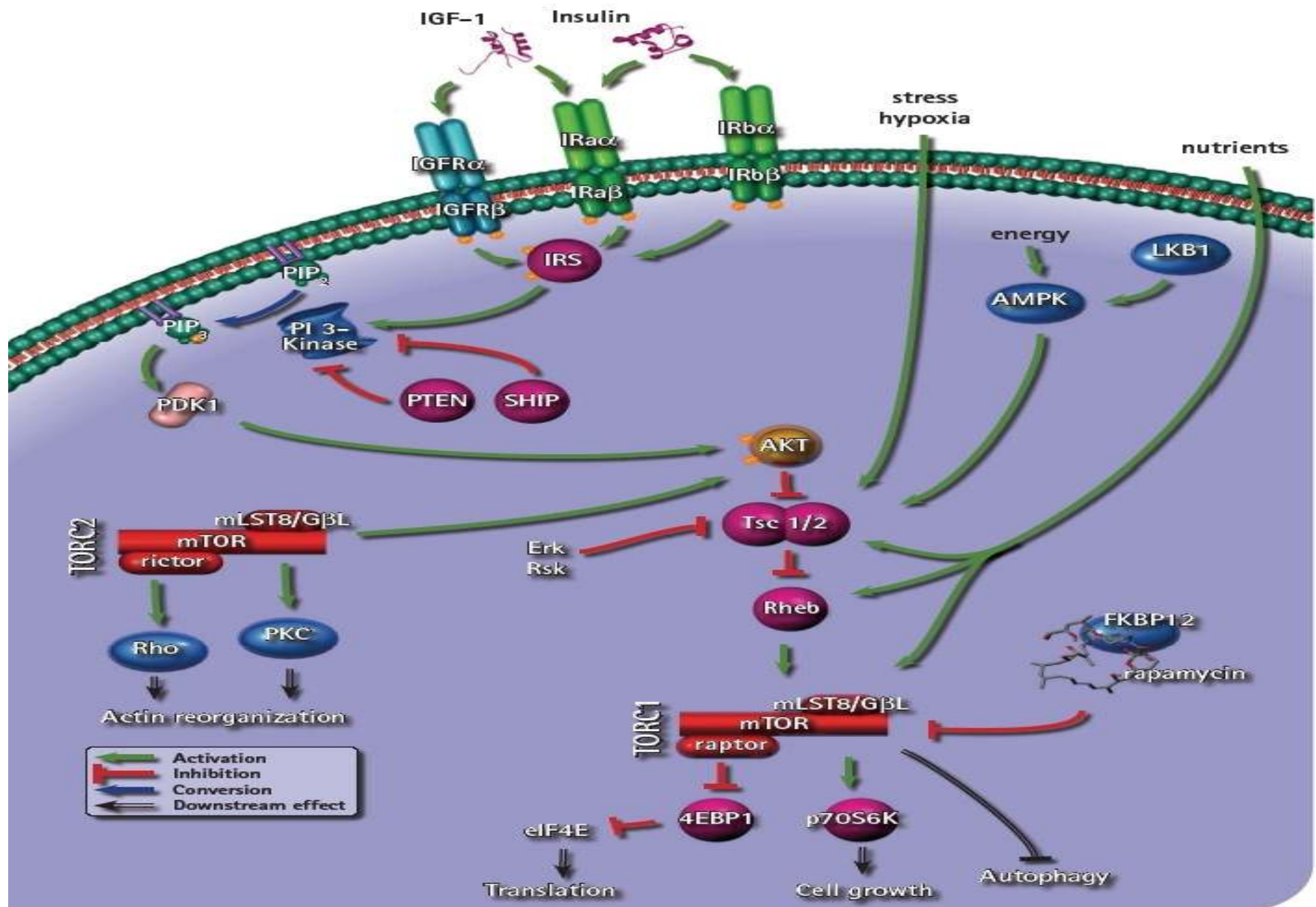
VEGF Pathway



mTOR Pathway



mTOR Signaling

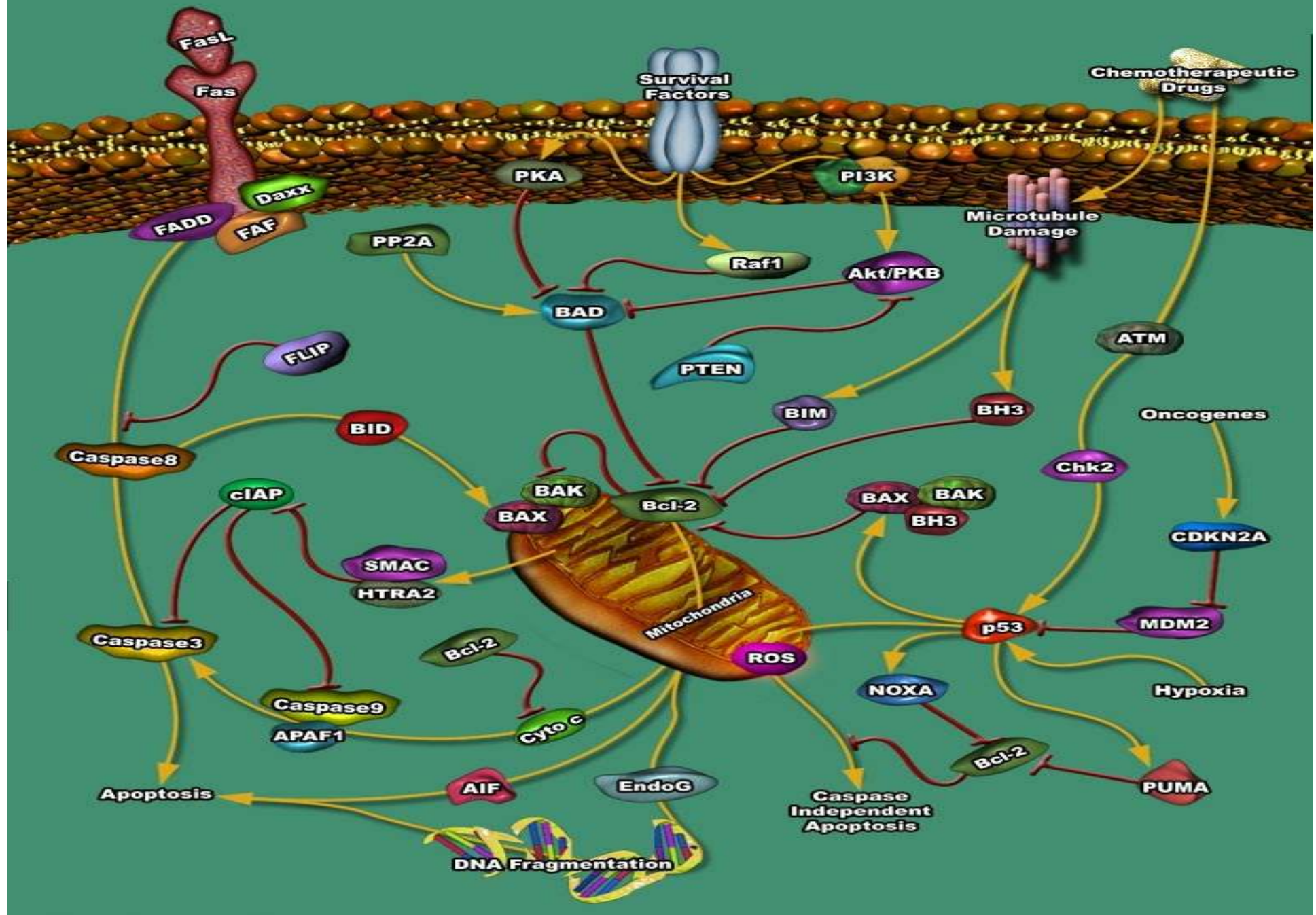


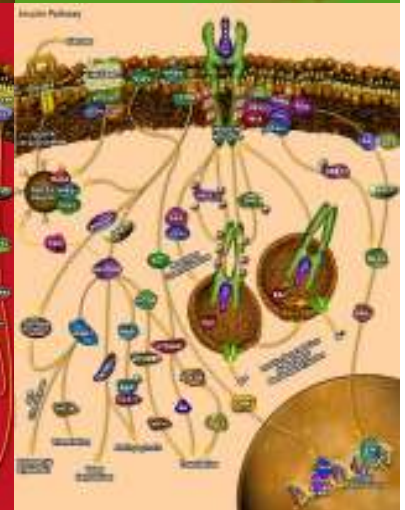
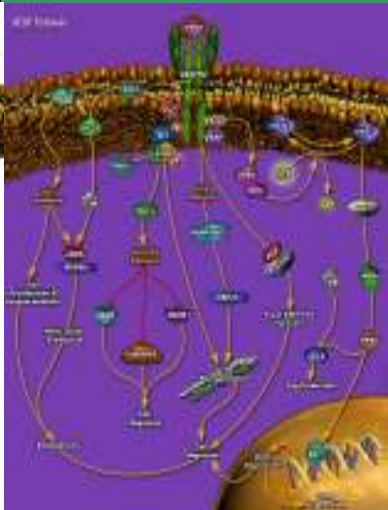
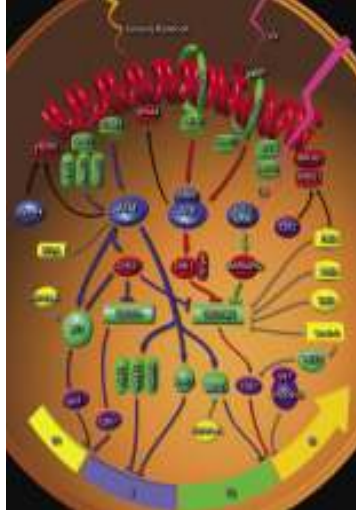
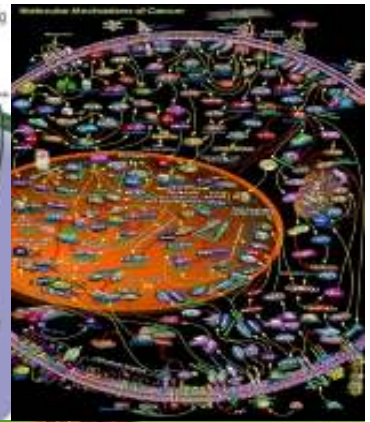
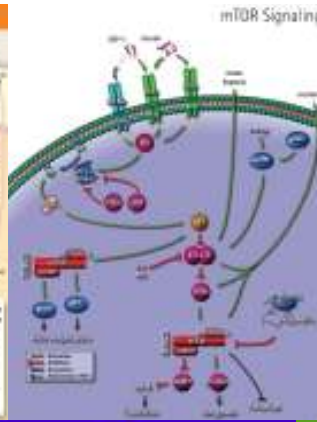
Nucleus

p53 Signaling

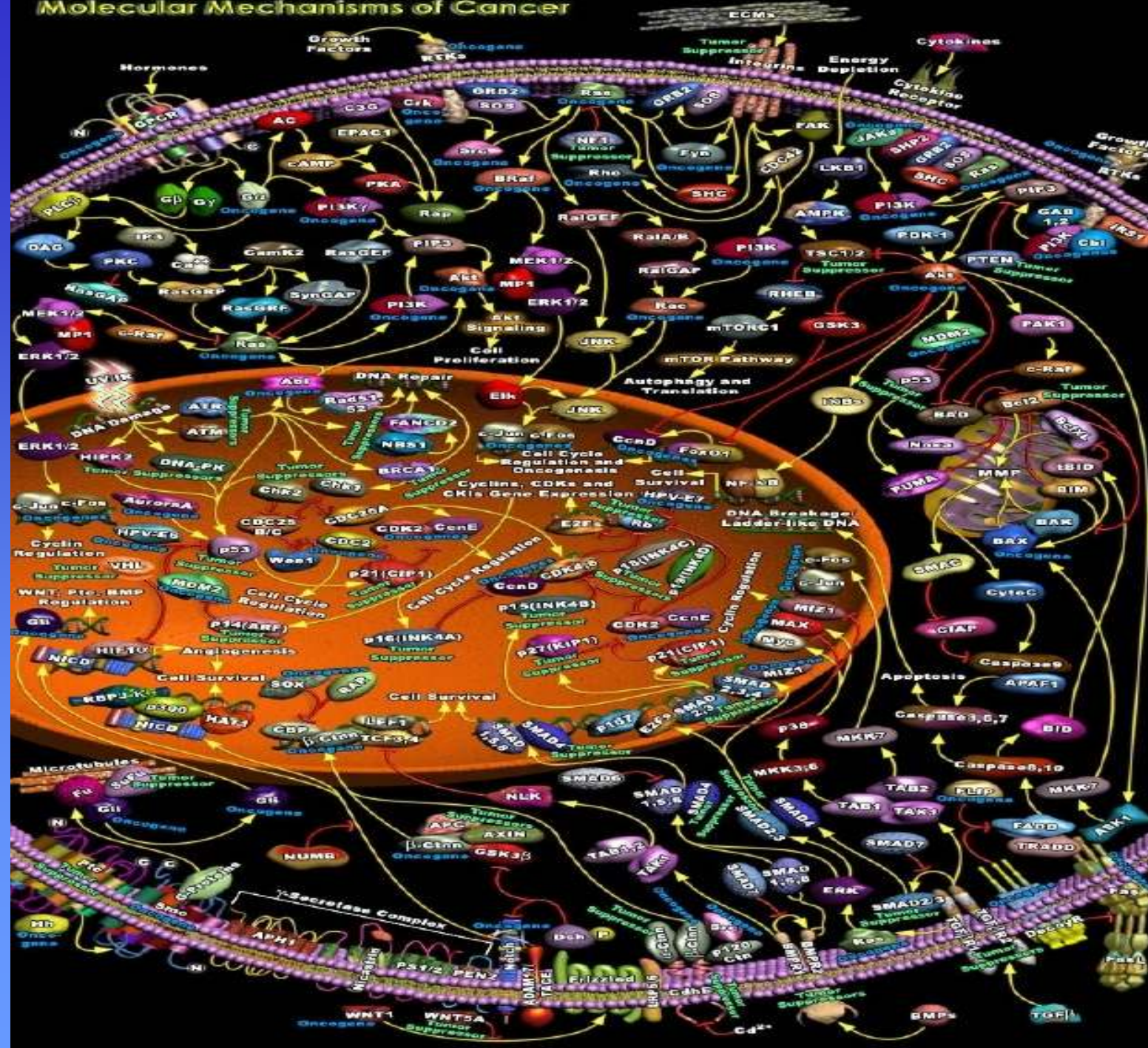


Mitochondrial Apoptosis Pathway





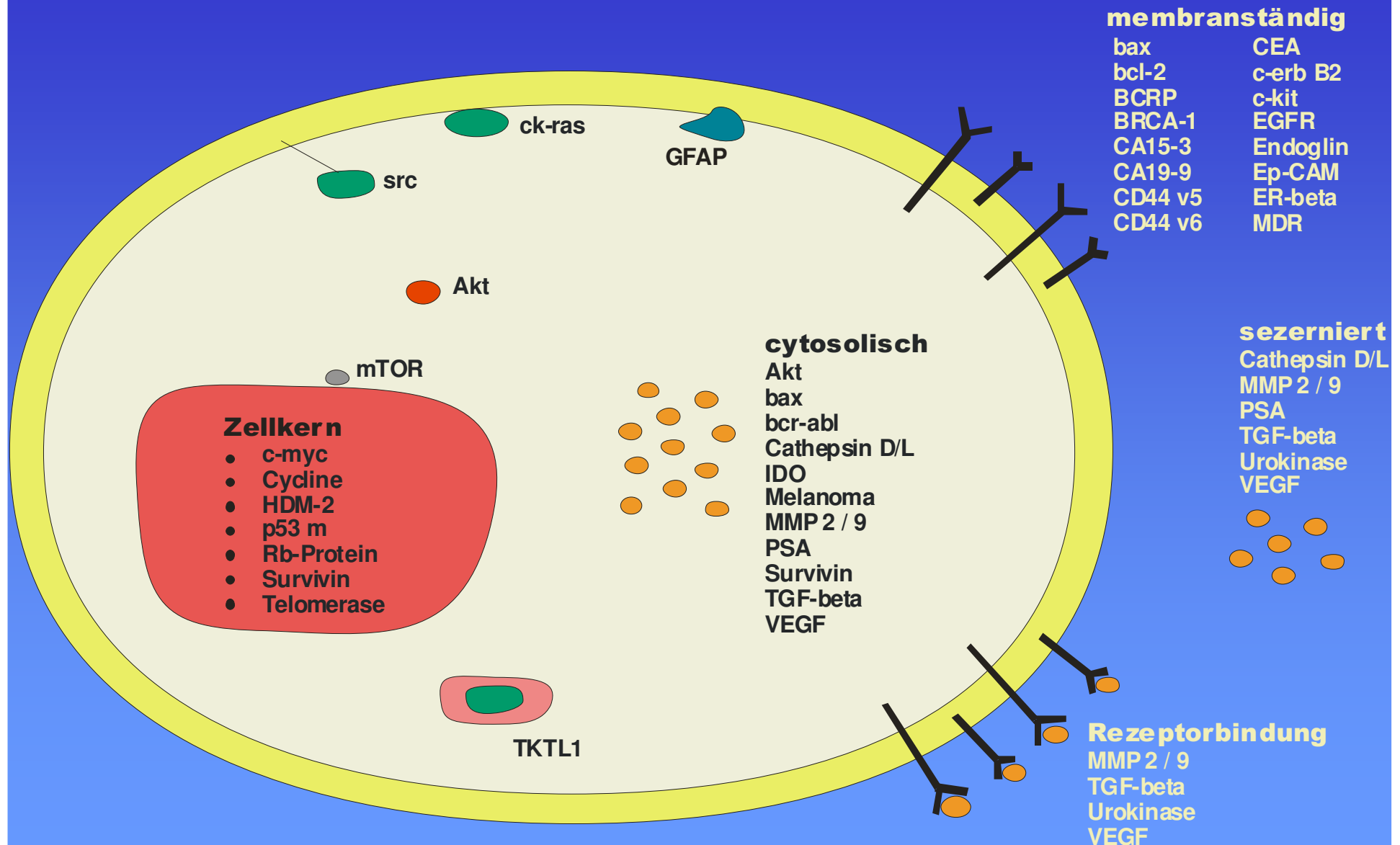
Molecular Mechanisms of Cancer



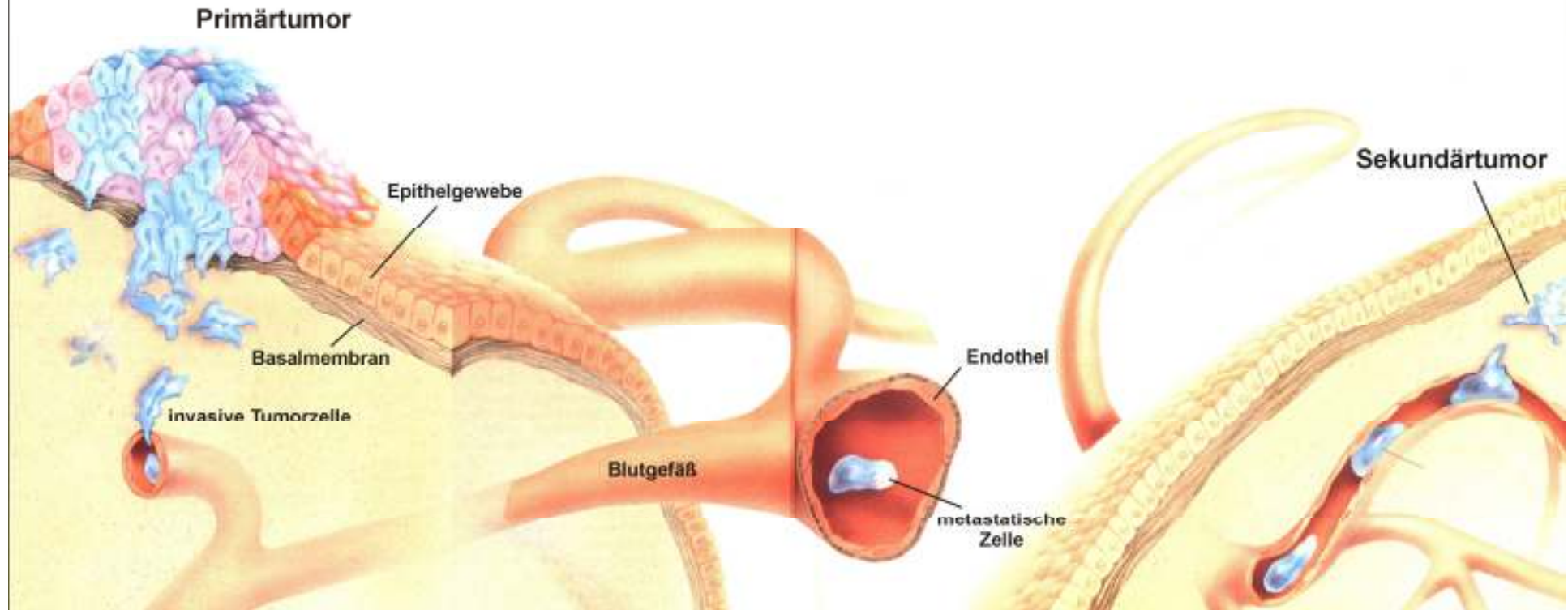
Veränderungen der Zellphysiologie einer Tumor-Stammzelle

1. Selbstversorgung mit Wachstumssignalen
2. Unempfindlichkeit gegenüber wachstumsinhibierenden Signalen
3. Umgehung des programmierten Zelltodes (Apoptose)
4. grenzenloses Replikationspotential
5. verstärkte Angiogenese
6. Gewebe-invasiv und somit metastasierend

Lokalisierung der Tumorzell-Onkogene



Metastasierung

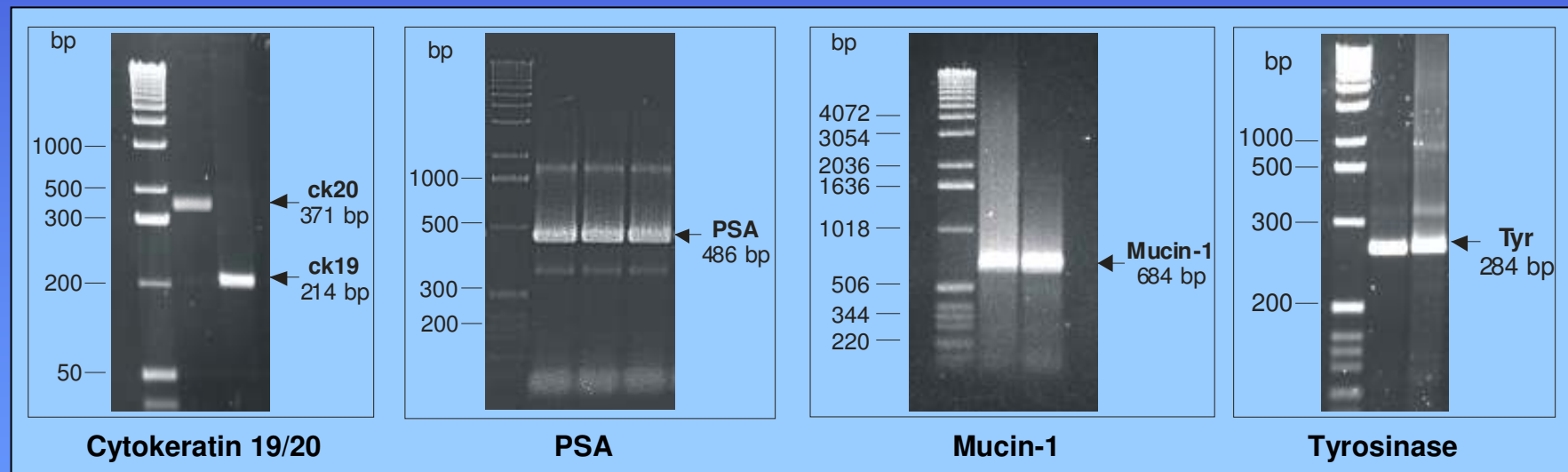
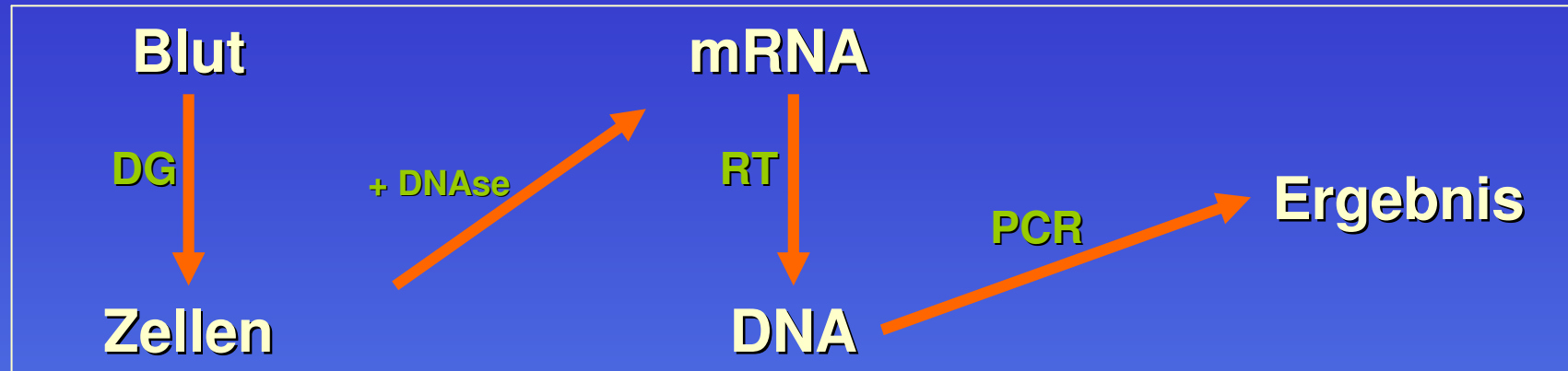


Ruoslathi, E.; 1996

Ausschüttung von Proteasen
Veränderung der Zelladhäsion
Stimulierung der Neoangiogenese
Fehlregulierung des Zellzyklus
Beeinflussung umliegenden Gewebes

RT-PCR

Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction



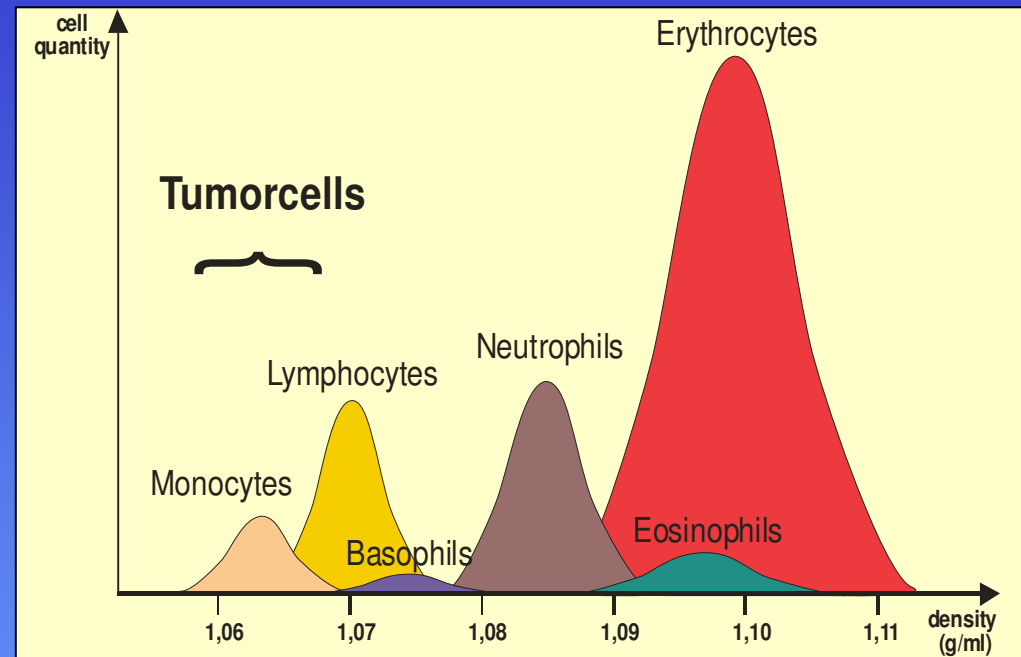
Frühdiagnostik durch biopsiefreien Tumorzellnachweis.
PCR ist der Einstieg in die biopsiefreie Onkologie.

Leukozyten-Apherese

Apherese (*griechisch*) : Abtrennung, Wegnahme



**Haemonetics-Apherese-System
mit
Apherese-Glocke zur Erzeugung
des
Dichtegradienten**

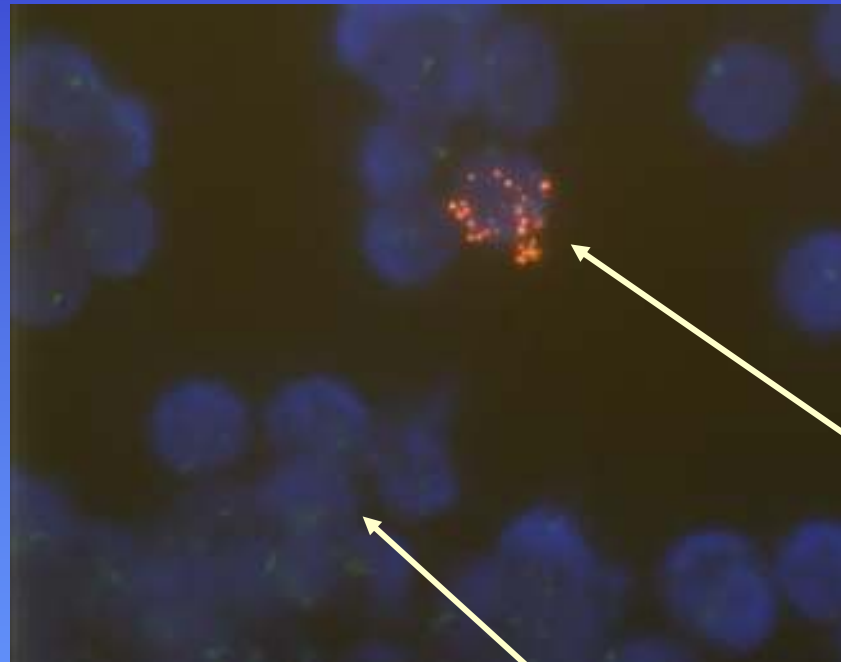


**Dichtegradienten-
Zentrifugation**

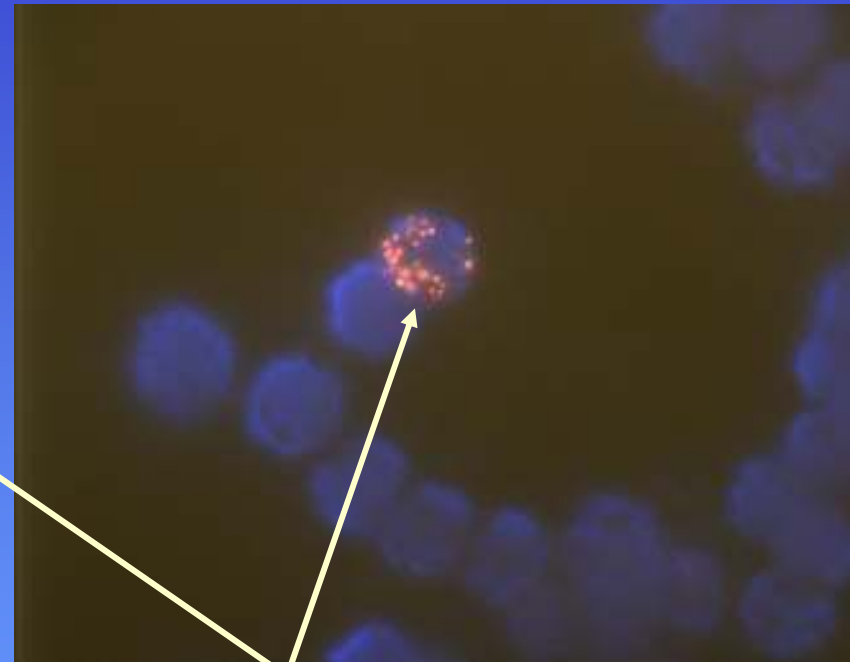
Diagnostik : FISH

FISH : Fluoreszenz in situ Hybridisierung

positive c-erb/B2- Amplifikation



normale Zellkerne



entartete Zellkerne

→ Einzelzellnachweis

→ Quantifizierung von zirkulierenden Tumorzellen

Diagnostik : ELISA

Enzyme Linked Immunosorbent Assay



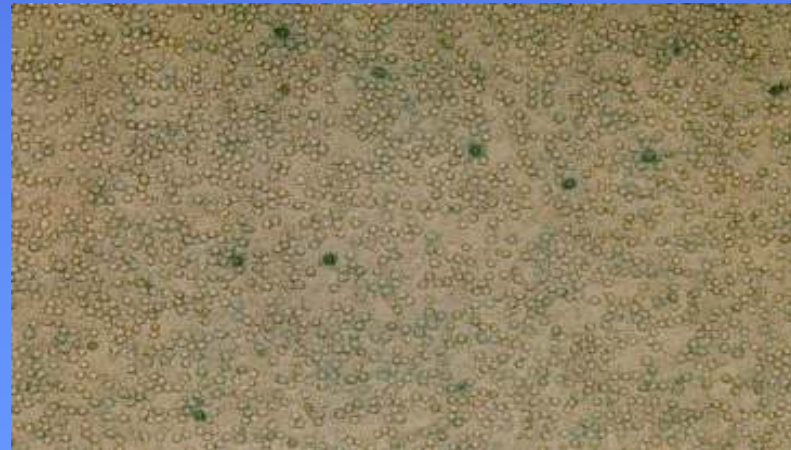
negativ



MDR-positive Zelle : Chemoresistenz



CD34+ Tumor-Stammzellen



c-erb/B3-positive Zellen

Ablauf

