

Susanne Kerstin Weißert
Dr. med.

Charakterisierung eines monoklonalen, IDH1 R132H- mutationsspezifischen Antikörpers sowie die Herstellung eines zellkulturbasierten Tumormodells für IDH1 -mutierte Gliome

Promotionsfach: Pathologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas von Deimling

Gliome sind die am häufigsten auftretenden primären Tumore des zentralen Nervensystems. Sie werden in erster Linie anhand ihrer histologischen Merkmale weiter unterschieden, jedoch gibt es auch genetische Merkmale die eine Abgrenzung ermöglichen. Insbesondere finden sich Mutationen an Position R132 der Isocitrat-Dehydrogenase 1 (IDH1) nahezu ausschließlich in Astrozytomen und Oligodendrogliomen sowie sekundären Glioblastomen. Vor Beginn dieser Arbeit wurde in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. von Deimling ein monoklonaler IDH1 R132H-spezifischer Antikörper entwickelt, der in der Lage ist mutiertes IDH1 R132H Protein sowohl im Western Blot als auch in der Immunhistochemie zu erkennen.

Der erste Teil dieser Arbeit bestand aus der genauen Charakterisierung dieses mutationsspezifischen IDH1 R132H-Antikörpers mittels Immunhistochemie in einer Vielzahl von Hirntumoren. Es gelang die Eignung des Antikörpers für die Differentialdiagnostik von Gliomen zu demonstrieren und damit eine Basis für die Anwendung des Antikörpers in der neuropathologischen Routinediagnostik zu schaffen. Es konnte zudem gezeigt werden, dass der Mutationsstatus des Tumorgewebes (aufgrund seiner höheren Sensitivität und Spezifität) zuverlässiger durch den generierten Antikörper bestimmte werden kann als durch die bisher verwendete Methode der DNA-Sequenzierung. Aus diesem Teil der Arbeit ging eine Publikation hervor.

Der zweite Teils dieser Arbeit bestand aus der Generierung eines zellkulturbasierten Tumormodells für IDH1-mutierte Gliome. Zellkulturmodelle sind essentiell für die funktionelle Tumorforschung. Vor Beginn dieser Arbeit war es jedoch noch keiner Arbeitsgruppe gelungen ein Gliom mit nativer IDH1-Mutation, unter Beibehaltung dieser Mutation, in eine Zellkultur zu überführen. Aus diesem Grund entschloss man sich zur Entwicklung stabil transfizierter, monoklonaler Zelllinien. Dazu wurden mittels Lipofektion Vektoren mit mutiertem IDH1 in bereits etablierte Gliomzelllinien geschleust und durch monoklonale Selektion verschiedene stabile Linien generiert.

Diese generierten, stabilen Linien wurden im Anschluss auf ihre Eignung als Modell für IDH1-mutante Gliome hin untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass die generierten Zelllinien ihren durch Transfektion erlangten Mutationsstatus über mehrfache Zellkulturpassagen beibehielten. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass diese generierten Zellklone eine vermehrte Bildung von D-2-Hydroxylglutarat aufweisen und somit eine der wichtigsten Eigenschaften IDH1-mutierter Gliome imitieren. Die generierten Zelllinien wurden in mehreren Projekten sowohl der eigenen als auch kooperierender Arbeitsgruppen verwendet. Hieraus ging bisher eine Publikation hervor.