

Stefanie Greschner  
Dr. med.

## **Genstruktur des Krankheitsgens für Dyskeratosis congenita und Mutationsanalysen**

Geboren am 11.01.1975 in Aachen.  
Reifeprüfung am 17.06.1994 in Bad Wimpfen.  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1994 bis SS 2001.  
Physikum am 13.09.1996 an der Universität Heidelberg.  
Klinisches Studium in Heidelberg.  
Praktisches Jahr in Ludwigsburg.  
Staatsexamen am 09.05.2001 an der Universität Heidelberg.

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum, Abteilung für molekulare Genomanalyse.  
Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. Annemarie Poustka

Dyskeratosis congenita ist eine seltene Genodermatose, die durch die Trias reticuläre Pigmentierungen, Nagelveränderungen und muköse Leukoplakien gekennzeichnet ist. Zudem geht Dyskeratosis congenita mit einer erhöhten Inzidenz von Malignomen und progredienter Knochenmarksinsuffizienz in 90% der Fälle einher. Für den X-rezessiven Vererbungsmodus konnte das in der Bande Xq28 lokalisierte Gen DKC1 als ursächlich identifiziert werden. DKC1 codiert für ein 2.6 kb langes Transkript, das entsprechende Peptid Dyskerin besteht aus 514 Aminosäuren.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde die Genstruktur des Krankheitsgens DKC1 charakterisiert. Aufgrund der Tatsache, daß nur genomische Patienten-DNA zur Verfügung stand, war die Charakterisierung der Genstruktur unumgänglich, um weitere Mutationsanalysen durchführen zu können. So konnten 15 codierende Exons - alle im offenen Leserahmen lokalisierten (ORF) Exons (Größe von 65 bp bis 185 bp) - analysiert werden. Für den 3'- und 5'- nichttranslatierenden Bereich konnte die Lage von weiteren Exons ausgeschlossen werden. Von den 14 Introns (Größe von 194 bp bis 2252 bp) wurden 13 vollständig sequenziert, die Größe des nicht vollständig sequenzierten Introns XI konnte jedoch mittels PCR bestimmt werden. Insgesamt umspannt DKC1 auf genomischer Ebene einen Bereich von 14.5 kb, dessen Sequenz bis auf eine Lücke von annähernd 50 bp bestimmt wurde. Die Kenntnis insbesondere der Exon-Intron-Übergänge ermöglichte die spezifische Amplifikation der Exons und damit die Identifizierung von weiteren Mutationen aus genomischer Patienten-DNA (bis dato sechs Mutationen bekannt).

Im zweiten Teil diese Arbeit wurde die genomische DNA von fünf Patienten mit der Diagnose Dyskeratosis congenita - bei denen jedoch der X-rezessive Erbgang nicht gesichert war - untersucht. Hierfür wurden die 15 Exons amplifiziert und sequenziert. Bei zwei Patienten (D14 und D16) wurden Mutationen gefunden. Die Sequenzierung der Introns bei den anderen drei Patienten zur Detektion von eventuellen Spleißsignalmutationen steht noch aus.

Wie Homologievergleiche zeigten, könnte es sich bei Dyskerin um ein im Nukleolus gelegenes Protein handeln, dessen Funktion wahrscheinlich in der posttranskriptionellen Pseudouridinylierung von rRNA (als Pseudouridinsynthase) liegt.