

Nicola Langkau
Dr. med.

Molekulargenetische Analyse der Tuberösen Sklerose

Geboren am 13.07.1976 in München
Reifeprüfung am 25.07.1994 in Clermont-Ferrand, Frankreich
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1995 bis SS 2001
Physikum am 04.04.1997 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 20.11.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Humangenetik
Doktorvater: Prof. Dr. med. C. R. Bartram

Seit 1997 sind zwei Genorte der Tuberösen Sklerose (TSC) bekannt und der molekularen Diagnostik zugänglich. Es sollte im Rahmen dieser Arbeit eine TSC Diagnostik im Institut für Humangenetik der Universität Heidelberg etabliert und die gewonnenen Ergebnisse hinsichtlich einer Genotyp-Phänotyp Korrelation bewertet werden. Dazu wurden 68 Patienten und ihre Familien untersucht.

Das Protokoll für die Southern Blot Analyse des *TSC2*-Gens wurde optimiert, wodurch ein deutlicher Zeitgewinn in der Routinediagnostik möglich wurde; bei einem von 50 Patienten wurde eine Deletion gefunden, diese Detektionsrate von 2 % entspricht den Angaben der Literatur.

In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Zimmerhackl in der Universitäts-Kinderklinik Freiburg wurden 68 Patienten und deren Familien in den 62 kodierenden Exons der Gene *TSC1* und *TSC2* mittels SSCP Analyse auf Veränderungen untersucht. Die Auswahl geeigneter Primer, sowie die Etablierung der Bedingungen von PCR, SSCP und Sequenzanalyse der Exons 1-19 und Exon 33 im *TSC2*-Gen sowie von Exon 15 im *TSC1* Gen und die Untersuchung des Patientenkollektivs in diesen Genabschnitten sind Teil der vorliegenden Arbeit. Es wurden sechs Polymorphismen gefunden, außerdem fünf derzeit funktionell nicht näher klassifizierbare Sequenzvarianten, sowie pathogenetisch relevante Mutationen bei 11 Patienten. Fünf dieser Mutationen waren bislang nicht bekannt.

Bei dem untersuchten Patientenkollektiv zeigten sich keine Zusammenhänge zwischen Mutationsart und klinischer Erscheinung. Selbst Patienten mit derselben Mutation zeigten ein unterschiedliches Krankheitsbild. Für die Genetische Beratung bedeuten diese Befunde, daß von einer Mutation nicht sicher auf den Verlauf der Erkrankung geschlossen werden kann. Bei einer Patientin mit Nierensymptomatik wies der Phänotyp jedoch auf ein "Contiguous Gene Syndrom" der Gene *TSC2* und *PKD1* hin, was auch molekulargenetisch bestätigt werden konnte.

Die Verteilung der *TSC1/TSC2* Mutationen zeigte keine "Hot Spots". Aus pragmatischen Gründen sollte jedoch aufgrund der höheren Mutationsrate in diesem Gen mit der *TSC2* Analytik begonnen werden.

Durch die SSCP Studie steht nun eine Screening Analyse aller kodierender Exons beider TSC-Gene zur Verfügung. Die jüngst etablierte DHPLC Technik übertrifft die SSCP Analytik möglicherweise noch als rasche Methode zur Identifikation von Patienten mit Tuberöser Sklerose. Die im Rahmen dieser Arbeit etablierten PCR-Bedingungen sind auch für diese technische Neuerung relevant.