

Monika Keller

Dr. sc. hum.

## **Etablierung neuer molekularzytogenetischer Techniken und deren Anwendung in der Tumordiagnostik und klinischen Genetik**

Geboren am: 02.03.1973 in Broos

Reifeprüfung: 1992 in Koblenz

Studiengang der Fachrichtung Biologie vom WS 1992/1993 bis SS 1998

Vordiplom: SS 1995

Diplom: SS 1998

Promotionsfach: Humangenetik

Doktorvater: Prof. Dr. med. Claus R. Bartram

Mit der Etablierung der klassischen Bänderungstechniken Ende der 1960er Jahre wurden große Fortschritte auf dem Gebiet der Zytogenetik erzielt. Das Auflösungsvermögen dieser Verfahren liegt je nach Präparationstechnik allerdings bei höchstens 3-10 Mbp und beruht auf der Abfolge heller und dunkler Chromosomenbanden, die zur Beschreibung eines komplex aberranten Karyotyps nicht immer ausreichen. Ende des letzten Jahrhunderts konnten Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungs-(FISH-)Techniken etabliert werden, die eine sensitive Anfärbung spezifischer Chromosomen oder chromosomaler Subregionen bis hin zu einzelnen Genen ermöglichen.

Ziel der Arbeit war die Etablierung neuer Vielfarben-FISH-Techniken und deren Anwendung in der klinischen Diagnostik und Tumorzytogenetik zur hochauflösenden Analyse chromosomaler Veränderungen. Hierzu zählen die 24-Farben-FISH-Analyse (M-FISH) mit chromosomenspezifischen Painting-Sonden sowie ein auf Multi-Fluor-FISH basierender Telomer-Integritätsassay (M-TEL).

Mit Hilfe der 24-Farben-FISH-Technik konnte bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) eine vollständige Charakterisierung von komplex aberranten Karyotypen durchgeführt werden. Durch die Identifizierung von Markerchromosomen und komplexen

Rearrangements konnte die M-FISH-Technik die Genauigkeit der Karyotypanalyse maligner Zellen deutlich verbessern. Am Beispiel der Telomerase-negativen Osteosarkomzelllinien ZK-58 und *Saos-2* sowie der Telomerase-positiven Osteosarkomzelllinie *MNNG* konnte mit Hilfe der M-FISH-Technik eine vollständige Karyotypisierung durchgeführt werden. Darüber hinaus zeigte sich, dass eine geringe bzw. fehlenden Telomeraseaktivität (*Saos-2*, ZK-58) mit einer hohen Chromosomeninstabilität und signifikant häufigeren komplexen Aberrationen einhergeht.

Zur Verbesserung der Sensivität der M-FISH-Technik wurde in der vorliegenden Arbeit ein Vielfarben-Telomerintegritätsassay neu etabliert und zur Detektion von kryptischen Chromosomenaberrationen in der klinischen Genetik und Tumorzytogenetik eingesetzt. So konnte bei 4 von 29 Patienten mit unklarer mentaler Retardierung und Dysmorphien eine Chromosomenveränderung im Subtelomerbereich neu diagnostiziert werden. Bei AML-Patienten mit unauffälligem Karyotyp bzw. mit einfacher Trisomie oder Monosomie konnten mit Hilfe des M-TEL-Assays keine Auffälligkeiten im Bereich der Telomere identifiziert werden, mit Ausnahme eines Mosaikbefundes.

Die Untersuchungsergebnisse machen deutlich, dass die Kombination zytogenetischer und molekularzytogenetischer Techniken zur Charakterisierung chromosomaler Rearrangements bei der Analyse des Genoms hilfreich ist. Die vorgestellten Vielfarben-FISH-Techniken werden die klassischen Bänderungstechniken nicht ersetzen, vielmehr können sie das vorhandene Methodenspektrum ergänzen, um eine eindeutige Abklärung chromosomaler Aberrationen zu ermöglichen.