

Inhaltsverzeichnis

I Theoretischer Teil

Die Rolle von Tumorsuppressorgenen in der Tumorgenese

1	Einleitung	1
2	Die Entdeckung von Tumorsuppressorgenen	2
2.1	Die Knudson-Theorie	3
2.2	Die Identifizierung und Charakterisierung des Retinoblastom-Gens	4
3	Eine funktionelle Klassifizierung der Tumorsuppressorgene	5
3.1	Die klassischen Tumorsuppressorgene	5
3.2	Die Mutatorgene	7
3.3	Die umgebungsmodifizierenden Gene	7
4	Neue Aspekte zur Wirkungsweise von Tumorsuppressorgenen in der Tumorgenese	8
4.1	Haplo-Insuffizienz und dominant negativer Effekt	9
4.2	Epigenetische Veränderungen	10
5	Tumorsuppressorgene und ihre Funktion in der Kontrolle des Zellzyklus	12
5.1	Der G1/S-Kontrollpunkt im Zellzyklus	13
5.2	Der Metaphase-Kontrollpunkt im Zellzyklus	16
6	Tumorsuppressorgene und ihre Bedeutung in Apoptose-Signalwegen	17
6.1	p53-induzierte Apoptosewege	18
6.2	Das <i>PTEN</i> -Gen und seine Bedeutung im PI3K/AKT-Signalweg	21
7	Ausblick	23

II Praktischer Teil

Identifizierung und Charakterisierung früher Genomveränderungen in benignen Hirntumoren

1	Einleitung	24
1.1	Klassifizierung und Eigenschaften von Gliomen, Meningiomen und Hypophysenadenomen	24
1.1.1	Gliome	24
1.1.2	Meningiome	26
1.1.3	Hypophysenadenome	26
1.2	Genetische Veränderungen in benignen Gliomen, Meningiomen und Hypophysenadenomen	28
1.2.1	Gliome	28
1.2.2	Meningiome	29
1.2.3	Hypophysenadenome	29
1.3	Zielsetzung	30
2	Material und Methoden	32
2.1	Patientenproben	32

2.2	Bakterienstämme	33
2.3	Plasmide	33
2.4	Oligonukleotide	33
2.4.1	Mikrosatellitenmarker	33
2.4.2	Sonstige Oligonukleotide	34
2.5	Chemikalien und Enzyme	34
2.6	Geräte	35
2.7	Isolierung von DNA	35
2.7.1	DNA-Isolierung aus Blut	35
2.7.2	DNA-Isolierung aus Tumorgewebe	35
2.7.3	Isolierung von Plasmid-DNA	36
2.8	Fluoreszenz- <i>in-situ</i> -Hybridisierung (FISH) und vergleichende Genomhybridisierung (CGH)	36
2.9	Restriktion von DNA	36
2.10	Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	37
2.11	Repräsentative Differenzanalyse (RDA)	37
2.11.1	Generierung der Amplikons	37
2.11.2	Hybridisierung und selektive Amplifizierung	38
2.11.3	Modifizierungen des RDA-Protokolls	39
2.12	Agarosegelelektrophoresen	40
2.13	Elution von DNA-Fragmenten aus Agarosegelen	40
2.14	Immobilisierung von DNA an Nylonmembranen	40
2.15	Radioaktive Markierung von DNA-Fragmenten	41
2.16	Hybridisierung von immobilisierter DNA	41
2.17	Klonierung von DNA-Fragmenten	42
2.18	Herstellung von Differenzklon-Banken	42
2.19	Sequenzierung	43
2.20	Sequenzanalyse	43
2.21	Mikrosatellitenanalyse	44
2.22	SSCP-Analyse	45
2.23	Lokalisierung von DNA-Fragmenten im menschlichen Genom	45
2.23.1	Monochromosomale Zelllinien	45
2.23.2	Kartierung mit dem Stanford G3 Radiation Hybrid Panel	46
3	Ergebnisse	47
3.1	Untersuchungen verschiedener Gliome auf genetische Veränderungen	47
3.1.1	Darstellung der Gliome mittels CGH-Analyse	47
3.1.2	Identifizierung von Verlusten im genetischen Material von Gliomen mit Hilfe der RDA-Methode	49
3.1.2.1	Anwendung der RDA bei DNA-Proben von ausgewählten Patienten mit benignen Gliomen	51
3.1.2.2	Analyse des Differenzproduktes 16094	52
3.1.3	Charakterisierung einer 2D-Spot-Veränderung in 9q34	59
3.2	Untersuchungen von Meningiomen und Hypophysenadenomen auf genetische Veränderungen	64
3.2.1	Vorcharakterisierung der Tumore	64
3.2.1.1	Mikrosatellitenanalyse bei Meningiomen	64
3.2.1.2	Darstellung der Meningiome mittels CGH-Analyse	65
3.2.1.3	Darstellung der Hypophysenadenome mittels CGH-Analyse	67
3.2.2	RDA mit der Blut- und Tumor-DNA ausgewählter Meningiome und eines Hypophysenadenoms	68
3.2.2.1	Die Analyse der Differenzprodukte 16250 und 16738	70
3.2.3	Charakterisierung der Region 11q21-23 bei Hypophysenadenomen über Mikrosatelliten- und Mutationsanalysen	73

4	Diskussion	77
4.1	Darstellung der Tumore mit Hilfe der CGH-Analyse	77
4.2	Identifizierung von deletierten Bereichen in der Tumor-DNA mit Hilfe der RDA-Technik	84
4.2.1	Identifizierung von putativ tumorspezifischen Veränderungen bei benignen Gliomen mit Hilfe der RDA-Technik	85
4.2.2	Identifizierung tumorspezifischer Veränderungen bei benignen Meningiomen und Hypophysenadenomen mit Hilfe der RDA-Technik	89
4.2.3	Anwendbarkeit der RDA-Methode zur Identifizierung von genetischen Veränderungen in Hirntumoren	91
4.3	Charakterisierung eines 2D-Spot-Verlusts in benignen Gliomen in der chromosomalen Region 9q34	92
4.4	Charakterisierung einer in Hypophysenadenomen deletierten Region auf Chromosom 11q21-23	95
5	Zusammenfassung	98
6	Literaturverzeichnis	99
7	Anhang	122