

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. M. Frosch

**Identifikation von uniparentaler Disomie bei mikrosatellitenstabilen
und mikrosatelliteninstabilen kolorektalen Karzinomen**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Waltraud Zopf
aus Stuttgart

Würzburg, April 2011

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Ralph Melcher
Koreferent: Prof. Dr. med. Andreas Rosenwald
Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 5. Dezember 2011

Die Promovendin ist Ärztin.

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	V
Abkürzungsverzeichnis	VI
1 Einleitung	1
1.1 Relevanz kolorektaler Karzinome in der Bevölkerung	1
1.2 Risikofaktoren für Kolonkarzinome	1
1.3 Entstehung von sporadischen Kolonkarzinomen	2
1.4 Mögliche Formen genetischer Instabilität bei Kolonkarzinomen	3
1.4.1 Chromosomale Instabilität (CSI)	4
1.4.2 Mikrosatelliten Instabilität (MSI)	4
1.5 Uniparentale Disomie als weitere Ursache für LOH	5
1.5.1 Konsequenzen der uniparentalen Disomie	8
2 Zielsetzung	11
3 Material und Methoden	12
3.1 Zellen	12
3.2 DNA Isolation aus nativem Tumormaterial und korrespondierender Normalschleimhaut	12
3.3 Single nucleotide polymorphisms (SNP)	13
3.4 Prinzip der SNP-Arrayanalyse	13
3.5 Technik der SNP-Arrayanalyse	14
3.6 Auswertung der Ergebnisse der SNP-Array-Analyse	15
3.7 Auswertung des CNAT - Datenmaterials	15
3.7.1 Vorgehen beim indirekten Vergleich	16
3.7.2 Vorgehen beim direkten Vergleich	17
3.8 Graphische Darstellungen	17
4 Ergebnisse	19
4.1 SNP- Analyse von 15 MSI-Tumoren	19
4.1.1 Uniparentale Disomie der chromosomalen Region 6pter-p22	22
4.1.2 Vergleich von Tumoren mit den MSI-Zelllinien HCT116, HCT15 und LOVO 23	
4.2 SNP- Analyse von 15 CSI-Tumoren	25
4.2.1 Allelische Verluste der Region 18q bei CSI Tumoren	28
4.2.2 Allelische Verluste der Region 17p bei CSI Tumoren	29

4.2.3	Allelische Verluste der Region 8p bei CSI Tumoren.....	30
4.2.4	Allelische Verluste und UPD der Region 5q bei CSI Tumoren	31
4.2.5	Allelische Verluste und UPD auf den Chromosomen 14 und 22	33
4.2.6	Vergleich der Tumore mit den Zelllinien Geki 01 und Geki 04	35
4.3	Vergleich von MSI- und CSI-Tumoren.....	35
5	Diskussion.....	37
5.1	SNP-Arrayanalyse von MSI- und CSI-Tumoren	37
5.2	UPD als wesentliche Ursache für chromosomale Instabilität bei CSI- und MSI-Tumoren.....	37
5.3	UPD auf 6p24.3-22.3 /6pter-p22	40
5.4	UPD inaktiviert APC bei CSI-Tumoren	41
6	Zusammenfassung.....	43
7	Quellen.....	44
8	Anhang.....	49

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1 Genetische Veränderungen, die zur Entstehung eines Kolonkarzinoms führen.	3
Abbildung 1.2 Entstehung von UPD ganzer Chromosomen	6
Abbildung 1.3 Entstehung von UPD durch mitotische Rekombination	7
Abbildung 1.4 UPD durch Deletion und anschließender Amplifikation	7
Abbildung 1.5 Zusammenhang zwischen UPD und Prägung von Genen (Hitchins und Moore, 2002)	8
Abbildung 1.6 Konsequenz der UPD bei Mutationen in einem Gen (blau)	10
Abbildung 3.1 Schematischer Ablauf der SNP-Analyse Durchführung (Genchip Mapping 100K Assay Manual).....	14
Abbildung 3.2 Übersicht der Exceltabelle.	16
Abbildung 4.1 Übersicht der LOH Regionen bei MSI Tumoren	21
Abbildung 4.2 Ergebnisse des direkten Vergleichs auf Chromosom 6	22
Abbildung 4.3 UPD bei den MSI Zelllinien	23
Abbildung 4.4 Übereinstimmung von Zelllinie und Tumor auf Chromosom 3 und 7 .	24
Abbildung 4.5 Monoallelische Regionen der analysierten 15 CSI Tumore	26
Abbildung 4.6 Indirekter Vergleich von CSI Tumoren und Zelllinien Geki 1 und 4 auf Chrom. 18.....	28
Abbildung 4.7 Direkter Vergleich von CSI Tumoren auf Chromosom 18.....	29
Abbildung 4.8 Indirekter Vergleich der CSI Tumore und der Zelllinie Geki 1 und 4 auf Chromosom 17	30
Abbildung 4.9 Direkter Vergleich der CSI Tumoren auf Chromosom 17	30
Abbildung 4.10 Indirekter Vergleich der CSI Tumore und der Zelllinie Geki 1 und 4 bezogen auf Chromosom 8	31
Abbildung 4.11 Direkter Vergleich von CSI-Tumoren auf Chromosom 8.....	31
Abbildung 4.12 Veränderungen von CSI Tumoren auf 5q	32
Abbildung 4.13 Direkter Vergleich der CSI-Tumore auf Chromosom 5	32
Abbildung 4.14 Veränderungen der CSI-Tumore mit LOH Cutoff-Werten von 6-10 und >10	33
Abbildung 4.15 UPD und Deletionen auf 14q23	34
Abbildung 4.16 Veränderungen von CSI Tumoren und Geki 04 auf Chromosom 22	34
Abbildung 4.17 UPD und Deletionen bei CSI Zelllinien (1=Geki1, 2= Geki2)	35

Abbildung 4.18 Veränderungen von CSI- und MSI-Tumoren auf 6p25-p22 mit Genen	36
Abbildung 4.19 Direkter Vergleich von CSI- und MSI-Tumoren auf Chromosom 6 ...	36
Abbildung 5.1 Effekte von NOL7	41
Abbildung 8.1 Ergebnisse des direkten Vergleichs der MSI Tumore.....	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 4.1 Indirekter Vergleich von MSI-Tumoren und der korrespondierenden Normalschleimhaut.....	19
Tabelle 4.2 Direkter und indirekter Vergleich der MSI Tumore.....	21
Tabelle 4.3 UPD bei MSI Zelllinien	23
Tabelle 4.4 Übersicht des indirekten Vergleichs.....	27
Tabelle 4.5 Übersicht der CSI Tumore mit der Anzahl der betroffenen Chromosome insgesamt und der Menge an UPD.....	27
Tabelle 4.6 Übereinstimmungen zwischen MSI und CSI Tumoren.....	36
Tabelle 8.1 Übersicht aller signifikanten Regionen in MSI Tumoren	49
Tabelle 8.2 Übersicht der LOH Regionen in CSI Tumoren.....	56

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
------------------	------------------

MSI	Mikrosatelliten instabil
CSI	Chromosomal instabil
PCR	engl.: polymerase chain reaction, dt.: Polymerase Kettenreaktion
LOH	engl.: loss of heterozygosity, dt.: Verlust der Heterozygotie
FISH	engl.: fluorescence in situ hybridisation, dt.: Verfahren zur Sichtbarmachung ganzer Chromosomen und Darstellung chromosomaler Verluste und Zugewinne
CGH	engl.: comparative genome hybridisation
UPD	uniparentale Disomie
FAP	familiäre adenomatöse Polyposis
HNPCC	engl.: hereditary non-polyposis colorectal cancer
Mb	engl.: million base pairs, dt.: Millionen Basenpaare
SNP	engl.: single nucleotide polymorphism
TSG	Tumorsuppressorgen

1 Einleitung

1.1 Relevanz kolorektaler Karzinome in der Bevölkerung

Weltweit erkranken jährlich eine Million Menschen an einem kolorektalen Karzinom. In der EU ist dieser Tumor mit 280 000 Neuerkrankungen pro Jahr (2004) inzwischen die häufigste Tumorart überhaupt (Boyle und Farley, 2005). Damit liegt es inzwischen knapp vor Mamma- und Bronchialkarzinomen. In Deutschland sterben jedes Jahr ca. 30 000 Patienten daran. Nach dem Lungentumor ist das Kolonkarzinom damit die zweithäufigste tumorbedingte Todesursache.

Die Häufigkeitsverteilung innerhalb der Bevölkerung zeigt, dass es sich meist um einen Tumor des älteren Menschen handelt. Ab dem 50. Lebensjahr steigt das Risiko für die Entwicklung eines solchen Tumors signifikant an. 90% der Patienten mit kolorektalen Karzinomen sind über 50 Jahre alt. Zusammen mit der Tatsache, dass es einer der häufigsten Tumore ist, hat dies zur Einführung eines Vorsorgeprogramms geführt. Diese beinhaltet einen jährlichen Hämocultttest ab dem 50. Lebensjahr und eine digitorektale Untersuchung. Ab dem 55. Lebensjahr sind eine Koloskopie, die bei negativem Erstbefund nach 10 Jahren wiederholt wird, oder Hämocultttests im Zweijahresabstand vorgesehen. Beim Nachweis von Polypen wird die Untersuchung nach drei Jahren wiederholt.

1.2 Risikofaktoren für Kolonkarzinome

Anhand von epidemiologischen Studien konnte gezeigt werden, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Inzidenz von Kolonkarzinomen und Umweltfaktoren, insbesondere Ernährungsfaktoren, besteht. Hoher Fett- und Fleischanteil in der Nahrung sowie Ballaststoffarmut erhöhen das Risiko Darmkrebs zu entwickeln. Zusätzlich gelten Rauchen und übermäßiger Alkoholkonsum als Risikofaktoren für die Entwicklung von Polypen, die dann sekundär entarten können. Ein unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung eines kolorektalen Karzinoms ist das Alter. Das Lebenszeitrisiko für die Normalbevölkerung beträgt 6%. Als protektiv gelten der Verzehr von Obst und Gemüse sowie ballaststoffreiche Kost und eingeschränkter Fett- und Fleischkonsum. Außerdem konnte gezeigt werden, dass körperliche Aktivität das Risiko ebenfalls senkt (Friedenreich, 2001).

Des Weiteren gibt es einige Erkrankungen, die als Risikofaktoren gelten. So ist bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, speziell der Colitis ulcerosa, das Risiko ein Karzinom zu entwickeln fünffach höher gegenüber der Normalbevölkerung. Von den Patienten mit der Diagnose „Kolonkarzinom“ haben 25% eine positive Familienanamnese, womit sich das Risiko ein Kolonkarzinom zu entwickeln um das 2-3fache erhöht. Bei diesen immer noch als sporadisch geltenden Formen muss man von polygenen Veränderungen ausgehen. Bei den erblichen Kolonkarzinomen liegen monogene Veränderungen vor, die mit einem erheblich höheren Risiko der Karzinomentstehung einhergehen. Die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP) hat ein 100%iges Risiko für die Entwicklung von Karzinomen und auch bei den hereditären nicht polypösen Kolonkarzinomen (HNPCC) liegt das Risiko mit 75% weit über dem der Normalbevölkerung.

1.3 Entstehung von sporadischen Kolonkarzinomen

Das kolorektale Karzinom gehört zu den molekulargenetisch am besten untersuchten Tumoren. Im Kolon ist das Adenom als benigne Neoplasie des Dickdarmdrüsenepithels mit Zellatypien verschiedenen Grades (Dysplasie) in 95% der Fälle der Ursprung des Kolonkarzinoms. Das kumulative Risiko für die Entartung eines Polypen > 1cm liegt nach 20 Jahren bei ca. 35% (Fuchs, 2006). Aus der Beobachtung heraus, dass die meisten Karzinome aus Adenomen entstehen, hat sich das Tumorprogressionsmodell (Fearon und Vogelstein, 1990) entwickelt, das sich mit Hilfe von genetischen Analysen bestätigt hat und immer mehr erweitert wird. Dieses besagt, dass bei der Entstehung von Kolonkarzinomen die genetischen Veränderungen in einer gewissen „kontrollierten“ Reihenfolge ablaufen; man spricht deshalb auch von der „Adenom – Karzinom Sequenz“ (siehe Abbildung 1.1).

Bei den genetischen Veränderungen spielen zwei unterschiedliche Effekte eine Rolle. Zum einen tritt die Aktivierung von Onkogenen auf, was zu einem Verlust der Regulation von Differenzierung und Zellwachstum führt. Beispiele hierfür sind Wachstumsfaktoren und Signalproteine wie *ras*, *abl* oder *scr* oder Transkriptionsfaktoren wie *c-myc*. Zum anderen gibt es die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen, die normalerweise die unkontrollierte Proliferation von Zellen verhindern. Bekannte Gene sind hier das *APC*-Gen, das *SMAD4* Gen oder *p53*. Zur Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen ist es entscheidend, dass *beide*

Allele defekt sein müssen. Dabei kommt es entsprechend dem „two-hit model“ von Knudson (Knudson, 1971) durch Zufall erst zu einer Mutation des einen Allels (first hit) und dann nach längerer Zeit, ebenfalls per Zufall, zu dem Verlust der Funktion des zweiten Allels (second hit). Im Vergleich dazu reicht bei den Onkogenen meistens *ein* defektes Allel, um zum Kontrollverlust zu führen.

In nachfolgender Abbildung sind die wesentlichen Veränderungen, die bei Kolonkarzinomen eine Rolle spielen, schematisch dargestellt.

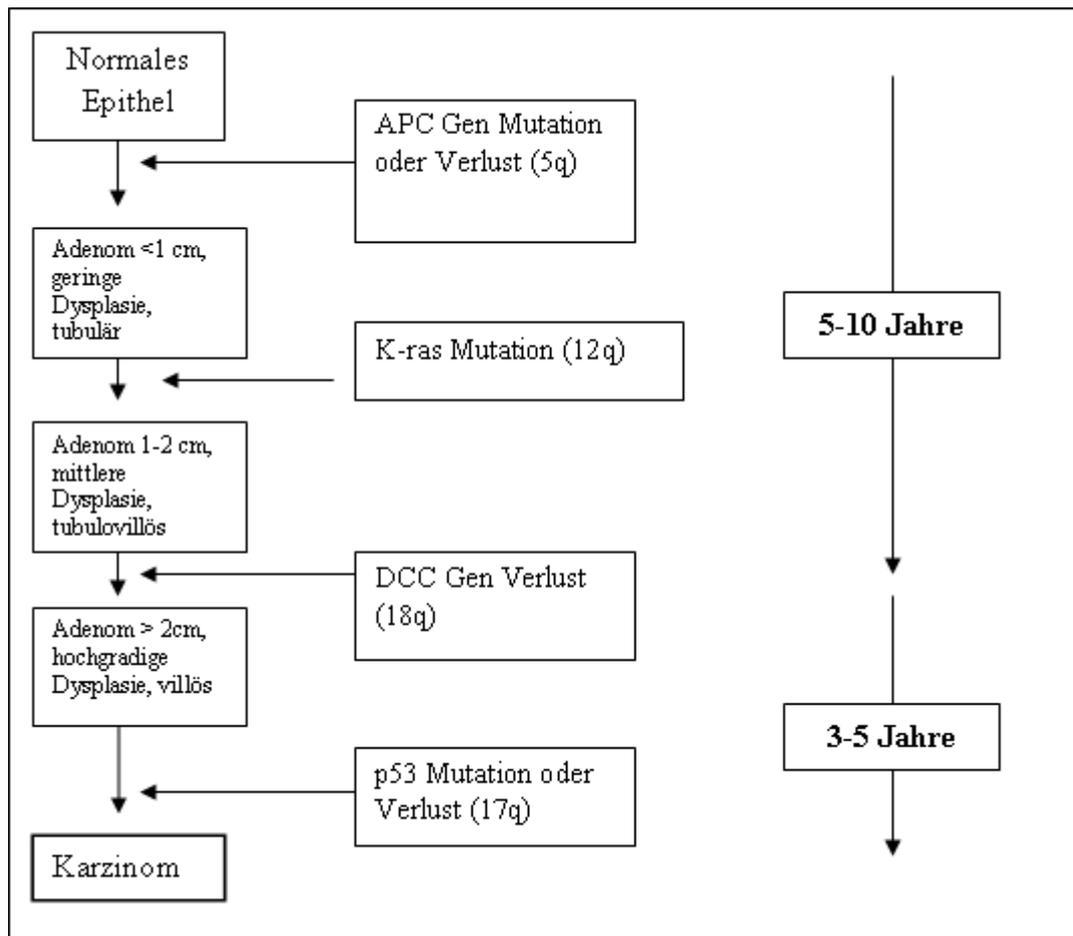


Abbildung 1.1 Genetische Veränderungen, die zur Entstehung eines Kolonkarzinoms führen.

1.4 Mögliche Formen genetischer Instabilität bei Kolonkarzinomen

Die endogene Mutationsfrequenz alleine reicht für die Akkumulation genetischer Alterationen nicht aus, um die für die maligne Entartung der Zelle notwendigen Veränderungen zu erreichen. Der Beschleunigung der Tumorentstehung muss also eine genetische Instabilität zugrunde liegen. Bei kolorektalen Karzinomen

unterscheidet man zwei Formen der Instabilität, die hier kurz dargestellt werden sollen.

1.4.1 Chromosomale Instabilität (CSI)

Hierbei handelt es sich um den Verlust oder Zugewinn ganzer Chromosomenarme oder großer Stücke von Chromosomen. Häufig betroffene Areale sind 5q, 17p, 18q und 8p. Aus Deletionen resultiert ein Verlust der Heterozygotie (LOH= loss of heterozygosity). Zur Inaktivierung der in den betroffenen Arealen lokalisierten Tumorsuppressorgenen folgt der Deletion meist noch eine Mutation (Knudson-Hypothese, s.o.). Obwohl eine chromosomale Instabilität (CSI) häufig (50-65%) und früh in der Kolonkarzinogenese auftritt (Shih et al., 2001), sind die Ursachen und die Bedeutung im Rahmen der Karzinogenese bisher nicht vollständig geklärt. Eine Gruppe vertritt die These, dass eine initiale Aneuploidie mit nachfolgenden chromosomalen Verlusten besteht (Duesberg, 2007). Andere Gruppen sehen die CSI als Folge von Mutationen oder Gene-Silencing (Wang et al. 2004). Dabei können die Mutationen z.B. zu Defekten von Mikrotubuli, Zentromeren und Telomeren führen. Eine Induktion der genetischen Instabilität ist durch *BUB1* (2q13; Cahill et al., 1998), *APC* (5q21; Fodde et al., 2001), *STK15/BTAK* (Xq28; Zhou et al., 1998), *bob1* (8q24; Killian et al., 2006) und *c-myc* (8q24; Menssen et al., 2007) beschrieben worden.

1.4.2 Mikrosatelliten Instabilität (MSI)

Mikrosatelliten sind repetitive, hochkonservierte Nukleotidsequenzen, die über das gesamte Genom verteilt sind. Jeder Mikrosatelliten Marker weist in allen Zellen des Organismus eine charakteristische Anzahl von Motivwiederholungen auf. Bei Mikrosatelliten instabilen Tumoren sind diese Sequenzlängen zwischen Tumor und Normalgewebe verändert. Ursache hierfür ist ein Defekt im DNA Mismatch – Reparatursystem (MMR). So können bei der Replikation der DNA einzelne falsch eingebaute Nukleotide nicht wieder repariert werden und es akkumulieren sich eine Vielzahl von punktuellen genetischen Alterationen. Da diese Sequenzen sowohl inter- als auch intragenetisch liegen, kann es zu funktioneller Inaktivierung einzelner Gene kommen. Gene, die speziell beim Kolonkarzinom davon betroffen sind, sind *TGFβ Rezeptor 2*, *BAX*, *beta-Catenin* und einige weitere (Ganten und Raukenpaul, 2002).

Während mehr als 90% aller HNPCC diese Form von Defekt aufweisen, gehören nur 15% aller sporadischen Tumore zu dieser Gruppe. Dabei kommt es meist zu einer Hypermethylierung des *hMLH1* Promotors, wodurch die Expression des Gens verloren geht (Cunningham et al., 1998). Dagegen kommt es beim HNPCC fast ausschließlich zur Mutation von MMR Genen, wobei hier der erste „hit“ bereits in der Keimbahn vorliegt und so der Ausfall des Gens durch den zweiten „hit“ schneller eintritt.

1.5 Uniparentale Disomie als weitere Ursache für LOH

Neben Deletion und Mutation konnte kürzlich die uniparentale Disomie als weiterer Mechanismus für die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen und auch für die Aktivierung von Onkogenen identifiziert werden. Uniparentale Disomie bedeutet, dass *beide* Kopien eines Chromosoms oder Chromosomenteils von *einem* Elternteil abstammen, und nicht wie normalerweise zu je 50% von jedem Elternteil. Mehrere Mechanismen sind potentiell für die Entstehung der UPD denkbar. Zum einen gibt es die bereits in der Keimbahn ablaufenden Prozesse, die zu speziellen syndromalen Erkrankungen führen. Zum anderen kann die UPD auch in somatischen Zellen entstehen. Dabei gibt es drei prinzipielle Mechanismen, nach denen die UPD entstehen kann.

1.) Wenn es in der Mitose zu unvollständiger Teilung der Chromosomen kommt, wodurch eine monosome und eine trisome Zelle entstehen, kann es durch Duplikation des einzelnen oder Deletion des überschüssigen Chromosoms zu UPD kommen. Diese betrifft dann das gesamte Chromosom (Abbildung 1.2).

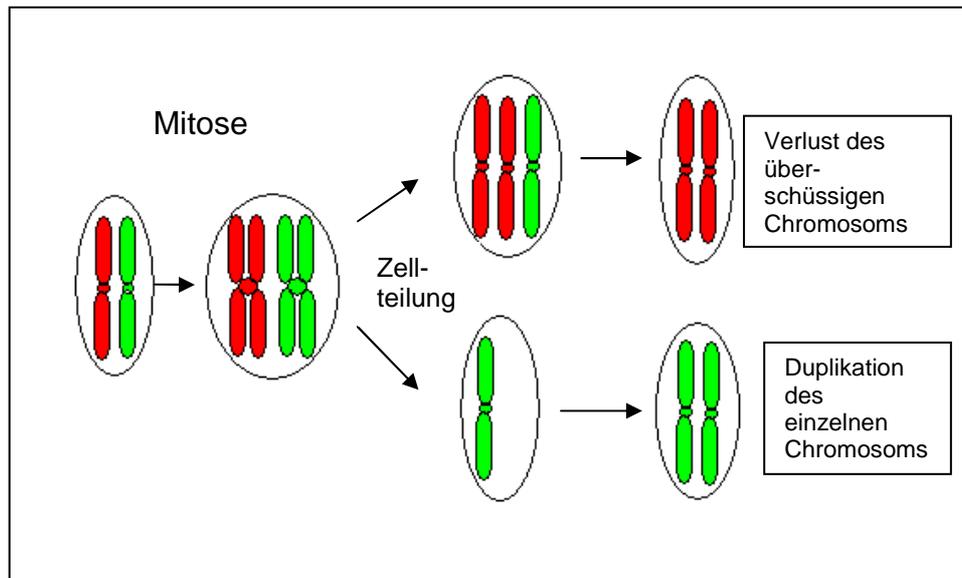


Abbildung 1.2 Entstehung von UPD ganzer Chromosomen

2.) In der G2 Phase und seltener in der M-Phase des Zellzyklus kann es durch mitotische Rekombination von Chromatiden zu UPD einzelner Enden eines Chromosoms kommen. Nach dem Crossing-over kommt es bei der Teilung der Chromatiden mit einer Wahrscheinlichkeit von 50% zu einem Erhalt der Heterozygotie, weil die Rekombination ausbalanciert wurde (Abbildung 1.3 oberes Paar). Zu 50% wird je ein Chromatid, auf dem crossing-over stattgefunden hat, in einer der beiden Tochterzellen landen und so zu einem Verlust der Heterozygotie führen (Abbildung 1.3 unteres Paar). Letztendlich ist es durch multiple Rekombinationen oder Genkonversion auch möglich, dass intrachromosomale UPD entsteht.

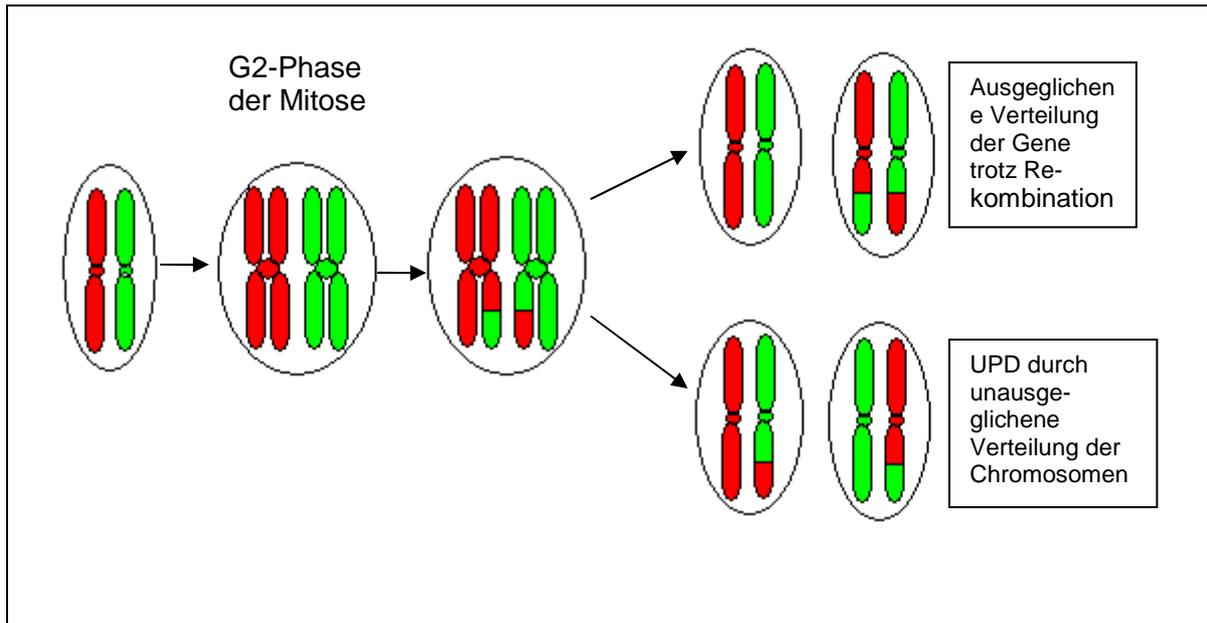


Abbildung 1.3 Entstehung von UPD durch mitotische Rekombination

3.) Nach dem Verlust eines Chromosomenabschnitts kommt es zu einer „Rettung“ der Diploidie, indem der verbleibende zweite Teil als Amplifikationsmatrize benutzt wird und so eine UPD entsteht.

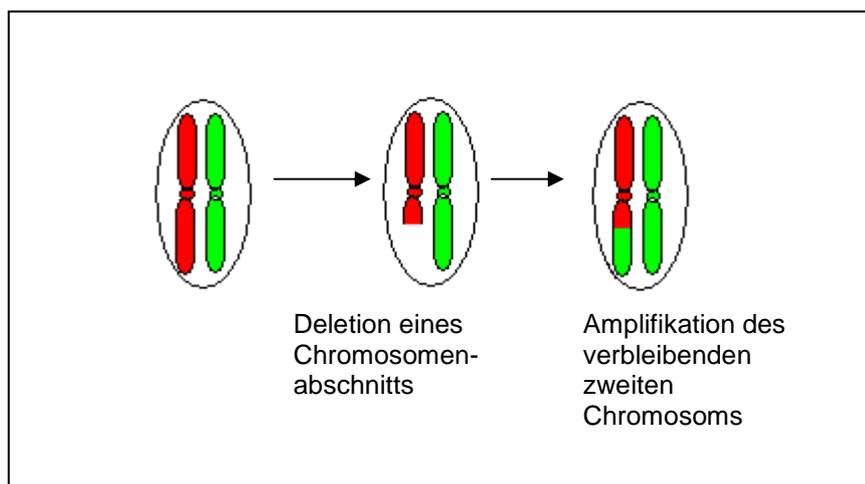


Abbildung 1.4 UPD durch Deletion und anschließender Amplifikation

In allen Fällen kommt es zu einem Verlust der Heterozygotie, bei gleichzeitigem Erhalt der Kopienanzahl. Man spricht deshalb auch von kopieneutraler LOH. Das bedeutet, dass es sowohl durch die klassische LOH mit Deletion eines

Chromosomenabschnitts als auch über den Weg der UPD zu Veränderung des Allelotyps kommen kann.

1.5.1 Konsequenzen der uniparentalen Disomie

Uniparentale Disomie wurde erstmals bei hereditären syndromalen Erkrankungen wie dem Angelmann-Syndrom und dem Prader-Willi-Syndrom als ursächlich identifiziert. Bei dieser bereits in der Keimbahn auftretenden UPD spielt die Prägung von Genen eine wesentliche Rolle. Dieses Phänomen lässt sich anhand der nachfolgenden Abbildung gut erklären.

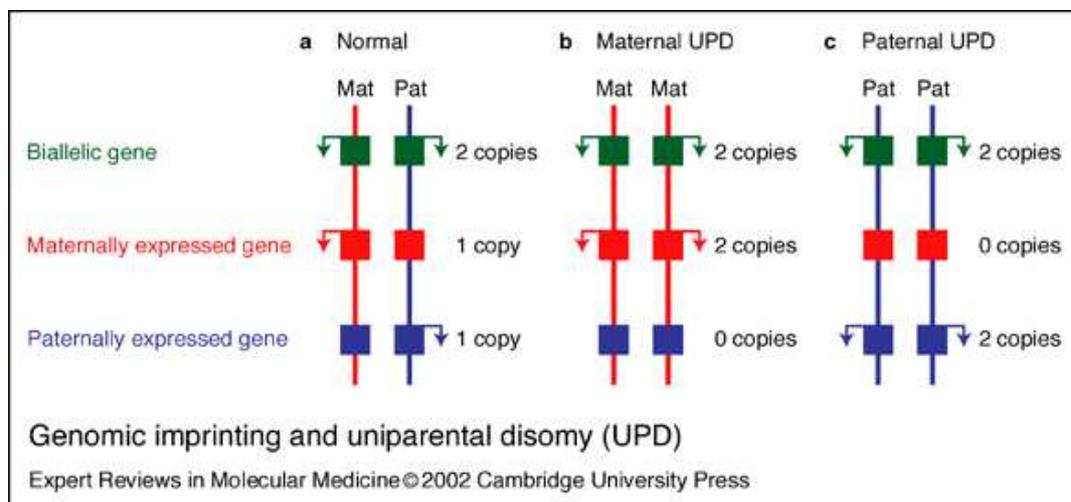


Abbildung 1.5 Zusammenhang zwischen UPD und Prägung von Genen (Hitchins und Moore, 2002)

Die meisten Gene werden biallelisch exprimiert, sodass immer zwei Kopien des Gens vorliegen (in der Abbildung 1.5 grün dargestellt). Andere Gene unterliegen dem genomischen Imprinting (zu deutsch: „Prägung“), das heißt durch Methylierungsprozesse in der frühen Embryogenese wird entweder das mütterliche oder das väterliche Allel inaktiviert. So liegt immer nur eine Kopie des Gens vor (in der Abbildung 1.5 rot und blau). Stammen jetzt beide Homologen von einem Elternteil (uniparentale Disomie) (Abbildung 1.5b und c) verändert sich die Expression der geprägten Gene. Es liegt dann entweder nur noch das inaktivierte Gen (Abbildung 1.5b blau / 1.6c rot) oder zwei aktive Allele (doppelte Gendosis) vor (Abbildung 1.5b rot /1.5c blau).

Beim Angelmann-Syndrom und Prader-Willi-Syndrom kommt es durch UPD im Bereich 15q11.2-q21 zu phänotypischen Veränderungen. Bei ersterem tritt eine väterliche UPD im Bereich 15q11.2-q21 auf, was sich klinisch durch Mikrozephalie, Ataxie, Epilepsie und geistiger Behinderung des Kindes bemerkbar macht. Umgekehrt kommt es bei mütterlicher UPD in diesem Bereich zur Ausbildung des Prader-Willi-Syndroms. Das heißt, es liegt zweimal das mütterliche Gen vor, das durch Imprinting inaktiviert wird. Das Kind hat eine muskuläre Hypotonie, genitale Hypoplasie und eine verzögerte geistige Entwicklung. In beiden Fällen kommt es also zu phänotypisch sichtbaren Veränderungen, die sich auf eine uniparentale Disomie zurückführen lassen.

Auch embryonale Tumore können durch denselben Prozess ausgelöst werden. UPD im Bereich 11p15.5 kann zu der Entstehung von Rhabdomyosarkomen oder Wilms Tumoren führen. Bei Wilms Tumoren sind *IGF2* (maternal Inaktivierung) und das Tumorsuppressorgen *H19* (paternale Inaktivierung) auf 11p15.5 betroffen. Durch paternale Disomie liegen dann zwei aktive *IGF2*-Gene und kein aktives *H19* vor, bzw. durch maternale Deletion liegt ein aktives *IGF2* und kein aktives *H19* vor. Beides führt zu einem Verlust des Tumorsuppressorgens bei gleichzeitig aktivem *IGF2*, was die Tumorentstehung begünstigt.

In somatischen Zellen scheinen weniger von Prägung betroffene Gene eine Rolle zu spielen als viel mehr Situationen, in denen bereits mutierte Gene vorlagen, deren Expression dann durch die UPD verändert wird. Durch die drei oben dargestellten Mechanismen kommt es durch UPD zu einer Verdopplung des mutierten Gens mit gleichzeitigem Verlust des gesunden. In Abbildung 1.6 werden mit dem blau markierten mutierten Gen die einzelnen Mechanismen noch einmal dargestellt.

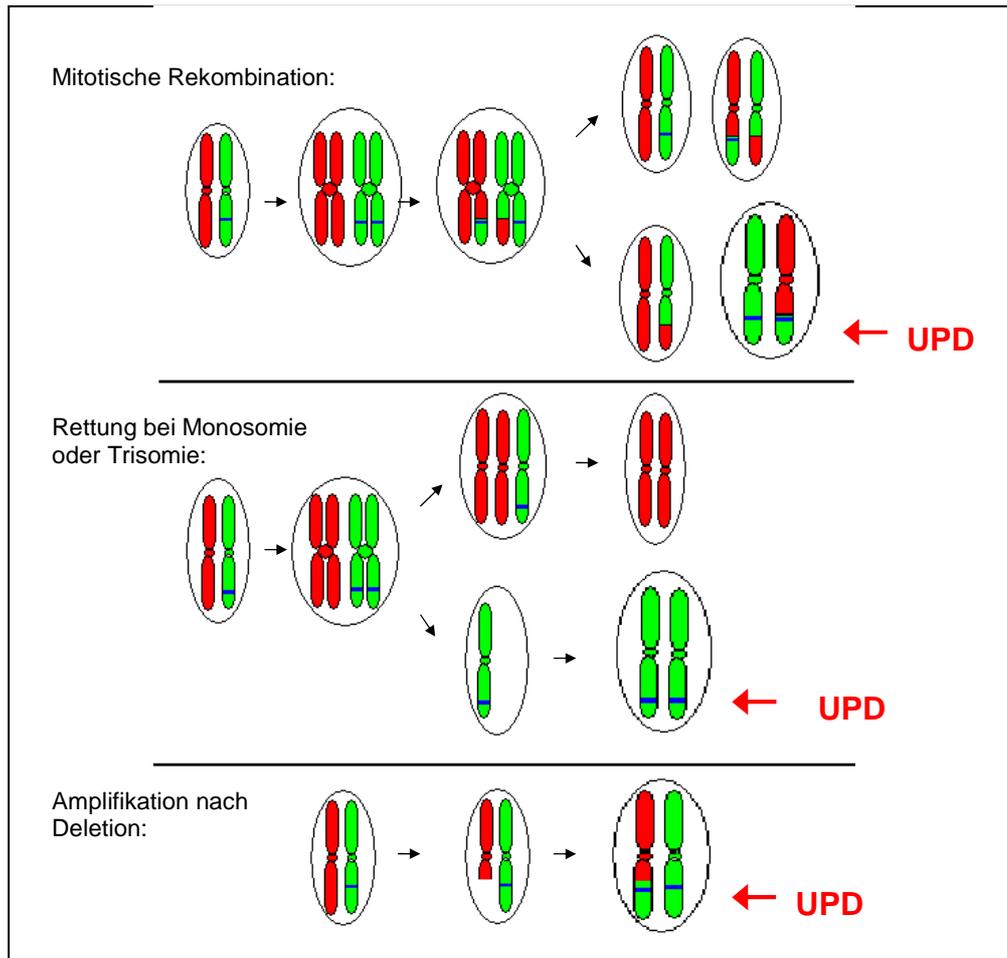


Abbildung 1.6 Konsequenz der UPD bei Mutationen in einem Gen (blau)

Nicht nur das mit blau markierte „mutierte Gen“ kann in seiner Expression verändert werden, sondern theoretisch auch alle anderen Gene, die in Bereichen der UPD liegen.

Durch diesen Vorgang können sowohl Tumorsuppressorgene inaktiviert werden, weil beide Allele defekt sind, als auch Onkogene aktiviert werden, weil dann zwei mutierte („aktive“) Allele vorliegen.

Es zeigt sich also, dass LOH durch Deletionen oder uniparentale Disomie entstehen und die Tumorentstehung begünstigen oder vorantreiben kann. Mit Verfahren wie FISH oder CGH wurden bisher primär Deletionen in Tumoren nachgewiesen und die CSI-Tumoren standen meist im Blickpunkt dieser Analysen. In dieser Arbeit sollten jetzt sowohl CSI- als auch MSI-Tumore mit einem neuen Analyseverfahren auf uniparentale Disomie untersucht werden.

2 Zielsetzung

In Vorarbeiten an kolorektalen Tumorzelllinien mit Mikrosatelliteninstabilität (MSI) und chromosomaler Instabilität (CSI) hatte sich gezeigt, dass bei beiden Gruppen der Mechanismus der uniparentalen Disomie für die Inaktivierung von Tumorsuppressorgen und Aktivierung von Onkogenen verantwortlich sein kann. Das Ziel dieser Arbeit war es, als nächstes zu prüfen, ob dieser Mechanismus nicht nur auf Zelllinien beschränkt ist, sondern auch in primärem kolorektalem Tumorgewebe auftritt und somit von grundlegender Bedeutung ist. Dazu sollten 15 mikrosatelliteninstabile und 15 chromosomal instabile Tumore und die entsprechende korrespondierende Normalschleimhaut mittels der 50K-SNP-Array-Technologie untersucht werden. Durch diese Technik können in über 50000 chromosomalen Regionen Informationen über die Zygotität und die Kopienanzahl gewonnen und so Regionen mit uniparentaler Disomie (monoallelische Regionen ohne Änderung der Kopienzahl) identifiziert werden. Die Daten sollten ausschließlich mit Hilfe des Microsoft Programms Excel® ausgewertet werden und nicht mit vorgefertigten Softwareprogrammen, um mögliche Verfälschungen zu vermeiden. Mögliche UPD-Regionen sollten dann mit der menschlichen Genomdatenbank verglichen werden, um herauszufinden, ob in diesen Regionen Tumorsuppressor- oder Onkogene enthalten sind. Anschließend sollten die Ergebnisse der MSI- mit den CSI-Tumoren und mit den MSI- und CSI-Zelllinien verglichen werden.

3 Material und Methoden

3.1 Zellen

Die untersuchten 15 mikrosatelliten instabilen und 15 stabilen Tumore stammen von Patienten, deren Tumorgewebe zwischen Juli 1999 und März 2004 gesammelt, im pathologischen Institut der Universität Würzburg untersucht und aufbereitet und im gastroenterologischen Labor bei -80°C aufbewahrt wurde. Bei dem verwendeten Material handelte es sich um natives Tumormaterial und korrespondierende native Normalschleimhaut. Durch die Analyse im Institut für Pathologie wurde sichergestellt, dass mindestens 50% Tumorgewebe vorlag und des weiteren wurde der MSI-Status (mikrosatellitenstabil oder –instabil) bestimmt. Die MSI-Zelllinien HCT 116, HCT 25 und LOVO wurden von der American Type Culture Collection bezogen und in Standard MEM-Kulturmedium (Life Technologie, Eggenstein) kultiviert. Die zwei verwendeten CSI-Zelllinien Geki 01 und Geki 04 sind im gastroenterologischen Labor aus Primärtumoren hergestellt worden und werden in Final-Medium (DMEM mit 10% FKS, EGF 1nM/ ml (Promega, Mannheim), TGF- α 200 μ g/ml (Invitrogen, Darmstadt), gentamycin 125 pg/ml, penicillin 200 U/ml, streptomycin 200pg/ml, essential amino acids 1%, fungizone 6.6 μ g/ml, MITO plus serum-expander 1ml/l (Collaborative Bionmedicals, Bedford, MA) kultiviert.

3.2 DNA Isolation aus nativem Tumormaterial und korrespondierender Normalschleimhaut

Die DNA-Proben werden mit Hilfe des kommerziellen Kits „DNeasy[®] Tissue Kit“ von QIAGEN, Hilden, Deutschland, aus dem Nativ-Material gewonnen. Dieses Kit, mit dem sowohl genomische, mitochondriale als auch virale DNA isoliert werden kann, nutzt die Silizium-Gel-Technologie, um selektiv die DNA direkt nach der Zell-Lyse an die DNeasy-Membran zu binden und durch anschließende Zentrifugation zu isolieren. In dem ersten Schritt werden 25 mg Gewebe mit dem Skalpell sorgfältig zerkleinert, mit 180 μ l Lyse-Puffer (ATL) und 20 μ l Proteinase K durchmischt und anschließend bei 55°C in einem Schüttel-Wasserbad über Nacht inkubiert. Im folgenden Schritt werden die Proben nach Zugabe von 200 μ l AL-Puffer bei 70°C für 10 min inkubiert. Nach Zugabe von 200 μ l Ethanol (100%) werden die Proben in die

DNeasy Mini Spin Columns (entsprechen Filtersäulen mit Silizium-Gel-Membranen) pipettiert, und bei 10000 RPM für 1 min zentrifugiert. Als Zentrifuge kommt dabei die Biofuge fresco (Kendro Laboratory Products Heraeus, Osterode, Deutschland) zum Einsatz. Nach Verwerfen des Eluats und Zugabe von 500 µl AW1-Puffer wird erneut bei 10000 RPM für 1 min zentrifugiert, und anschließend das neue Eluat verworfen. Dieser Schritt wird mit 500 µl AW2-Puffer und 3 min Zentrifugationsdauer wiederholt. Schließlich wird die DNA, welche nun gereinigt und an der Membran der Filtersäulen gebunden vorliegt, durch Zugabe von 200 µl AE-Puffer, 1 min Inkubation bei Raumtemperatur und folgender Zentrifugation bei 10000 RPM herausgewaschen. Die Konzentration der DNA in der Lösung wird mit einem UV-Spektrophotometer bei einer Absorption von 260 nm bestimmt und anschließend mit H₂O auf 100 ng/µl verdünnt.

3.3 Single nucleotide polymorphisms (SNP)

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) sind Variationen einzelner Nukleotide, die über zwei Millionen mal im Genom vorkommen und innerhalb konstanter Regionen liegen. SNPs können homo- oder heterozygot vorkommen und sind für jedes Individuum spezifisch. Weitere Merkmale sind, dass sie immer an derselben Stelle liegen und homogen über das gesamte Genom verteilt sind. Somit ist zum einen eine systematische Untersuchung der SNPs möglich, zum anderen kann das gesamte Erbmateriale nach Veränderungen untersucht werden. Durch ihr häufiges Vorkommen können sie gut für eine hochauflösende Analyse genetische Veränderungen, die sich über kleine Bereiche des Genoms erstrecken, eingesetzt werden. Die Durchführung der SNP-Arrays erfolgte im Institut für Pathologie der Universität Würzburg.

3.4 Prinzip der SNP-Arrayanalyse

Die Analyse der SNPs kann mit so genannten SNP-Arrays erfolgen. Für jeden SNP gibt es 40 25-Oligomere, die eine partielle Übereinstimmung zur Ziel-DNA haben. Im Zentrum des Oligomers befindet sich die zum SNP korrespondierende Base. Diese kann entweder perfekt passen (exakt komplementär zu einer der SNP Basen sein) oder nicht passen, also zu keiner der SNP Basen komplementär sein. Zusätzlich gibt es noch Oligonukleotide, bei denen die korrespondierende Base nicht zentral ist, sondern ein bis vier Basenpaare versetzt ist (in dem obigen Beispiel um zwei Basen

versetzt). Aus dieser Konstellation ergeben sich pro Base 10 Oligonukleotide, jeweils 5 „perfect matches“ und 5 „mismatches“ (einer exakt zentral und vier versetzte). Durch Fluoreszenzmarkierung der Ziel-DNA Fragmente lässt sich erkennen, an welchen Oligomeren die DNA gebunden hat und wie hoch die Affinität ist, sodass sich daraus der Genotyp des SNPs und die Allelzahl ablesen lassen.

3.5 Technik der SNP-Arrayanalyse

250 ng amplifizierte oder nicht amplifizierte DNA wird mit dem Enzym XbaI in einer PCR Reaktion verdaut. Hierbei werden unterschiedlich große Stücke generiert, die alle dieselben Enden haben. Im nächsten Schritt wird ein Adapter angefügt. So werden bei der nächsten Amplifikation mittels zeitlich limitierter PCR nur Fragmente mit einer Länge von 250 – 2000 bp generiert. Um genügend Material zu gewinnen werden, 4 PCR Folgen mit je 100µg DNA durchgeführt. Es erfolgt dann ein Reinigungsschritt, bevor die Stücke mit DNase I fragmentiert werden. Zur Kontrolle des Prozesses wird eine Gelelektrophorese (4% TBE Agarosegel) durchgeführt, die sicherstellt, dass die fragmentierten DNA Stücke eine Größe von 50-100 bp aufweisen. Schließlich werden die Stücke mit fluoreszierendem Biotin markiert und für 16-18 Stunden auf das Array hybridisiert. Die Auswertung der Chips erfolgt mit Affymetrix fluidics und dem Genearray Scanner.

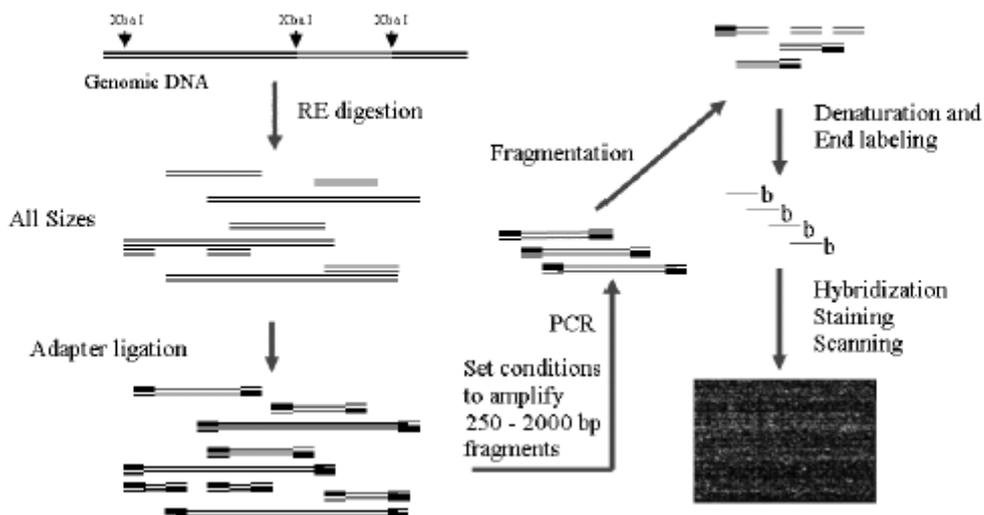


Abbildung 3.1 Schematischer Ablauf der SNP-Analyse Durchführung (Genchip Mapping 100K Assay Manual)

3.6 Auswertung der Ergebnisse der SNP-Array-Analyse

Die mit dem Genearray Scanner generierten Daten wurden mit dem Copy Number Analysis Tool (CNAT) von Affymetrix nach Protokoll des Herstellers analysiert. Der verwendete Grenzwert für heterozygote Allele liegt dabei im 50K Array bei einem p-Wert von 0,25. Es wurden folgende Ergebnisse geliefert:

Zum einen die Zygote an jeder einzelnen SNP Position, also AA, BB oder AB. Falls an einer Position keine Hybridisierung erfolgte oder die Auswertung unsicher war, wurde diese Position nicht auswertbar („No Call“). Die „No Call“-Rate unserer Tumore, respektive Schleimhaut lag insgesamt bei < 2%.

Dann wurden die Kopienanzahl (SPA_CN) und die Signifikanz der Abweichung der Kopienanzahl (Variation) (SPA_pval: +/- log 10(p-Wert)) angegeben. Das bedeutet, für jede einzelne Position ist bekannt, ob es zu einer Amplifikation oder Deletion in diesem Bereich gekommen ist und wie signifikant dieses Ergebnis ist.

Außerdem wurde die „meta analysis“ Signifikanz (CPA_pval: +/- log 10(meta p-value)) ermittelt sowie der $-\log_{10}$ der Wahrscheinlichkeit, dass eine lange homozygote Region durch Zufall entstanden ist (LOH-Wert).

3.7 Auswertung des CNAT - Datenmaterials

Für jeden Tumor bzw. für jede Schleimhaut wurden 58624 SNPs analysiert und entsprechende Daten erstellt, die es auszuwerten galt. Nicht mit einbezogen wurden die SNP Ergebnisse der X Chromosomen. Um eine exakte Analyse der Daten zu erreichen, wurden alle Einzelwerte manuell durchsucht. Dazu wurde Microsoft Excel verwendet. Jeder SNP im Tumor wurde mit dem entsprechenden SNP der Normalschleimhaut verglichen und so ein allelischer Verlust festgestellt. Die Kopieenanzahl wurde mittels des SPA p-Wertes (s. 3.6) ermittelt. Dabei wurde der Grenzwert auf +/-1,3 (entspricht $p < 0,05$) festgelegt. Dies bedeutet, dass bei einem Wert von >1,3 von einer Amplifikation in diesem Bereich ausgegangen wird und bei einem Wert <-1,3 von einer Deletion. Auf diese Weise konnten allelische Verluste mit Deletion, allelische Verluste mit Amplifikation und allelische Verluste ohne Änderungen der Kopienanzahl (uniparentale Disomie) festgestellt werden.

In Ergänzung zu dieser direkten Vergleichsmethode wurde auch eine indirekte Vergleichsmethode angewendet. Dazu wurde kein direkter Vergleich von Tumor und Normalschleimhaut durchgeführt. Die Ermittlung der allelischen Verluste erfolgte über

den „LOH-Wert“. Diejenigen Regionen mit multiplen monoallelischen SNPs (AA, BB) wurden als signifikant für einen allelischen Verlust bezeichnet, bei denen der LOH-Wert ≥ 10 war, was einem p-Wert von $<10^{-10}$ entspricht. Da bei einer großen Anzahl von untersuchten SNPs die Rate an falsch positiven Ereignissen steigt, wurde durch einen hohen Grenzwert versucht diesem Problem vorzubeugen.

Ähnlich wie beim direkten Vergleich wurde der Mittelwert des SPA_p-Wertes der signifikanten LOH Region ermittelt und berücksichtigt. Hier wurde der Grenzwert ebenfalls auf $\pm 1,3$ ($p < 0,05$) festgelegt. Durch den indirekten Vergleich können auch in der Schleimhaut Bereiche mit uniparentaler Disomie entdeckt werden, die mit der direkten Methode nicht aufgefallen wären.

3.7.1 Vorgehen beim indirekten Vergleich

Erst wurden die LOH-Werte der einzelnen Tumore tabellarisch aufgeführt und durch Markierung der signifikanten Regionen (LOH >10) eine bessere Übersicht geschaffen (Abbildung 3.2). Der exakte Beginn und das exakte Ende jedes Bereiches wurden identifiziert und notiert.

The image shows a screenshot of a Microsoft Excel spreadsheet titled "loh tumor MSI". The spreadsheet contains a large table with columns labeled A through Z. The rows represent different tumor samples, with the first column containing sample IDs (e.g., T22416, T22417, etc.). The subsequent columns contain numerical values representing LOH (Loss of Heterozygosity) for various SNPs. The table is densely packed with data, and several rows are highlighted in red, indicating regions where LOH values are high (LOH > 10). The Excel interface includes the standard menu bar (Datei, Bearbeiten, Ansicht, Einfügen, Format, Extras, Daten, Fenster, Hilfe) and a toolbar with various icons for editing and formatting. The status bar at the bottom indicates "Bereit" and shows the active sheet as "Tabelle1".

Abbildung 3.2 Übersicht der Exceltabelle.

Anmerkung: Die rot markierten Zellen heben die signifikanten Regionen optisch hervor.

Dann wurden die signifikanten Regionen mit denen der Schleimhaut verglichen, die auf dieselbe Weise analysiert worden waren. Somit konnten Tumor und Schleimhaut schnell und präzise verglichen werden. Schließlich wurden für jeden LOH Bereich die Mittelwerte des SPA_pval, des CN-Wertes und des CPA-pval ermittelt. Alle signifikanten Bereiche wurden mit genauer Chromosomenposition, LOH-Wert, sowie dem Mittelwert der Kopienanzahl, des SPA_pval und des CPA_pval tabellarisch dokumentiert (komplett im Anhang). Schließlich wurden auffällige Regionen in der Human Genombank auf mögliche relevante Gene kontrolliert.

3.7.2 Vorgehen beim direkten Vergleich

Hier wurden die Tumordaten direkt mit denen der Schleimhaut verglichen und jede Abweichung registriert. Als „nicht identisch“ wurden die Situationen gewertet, in denen Tumor AA und Schleimhaut AB bzw. BB war, oder Tumor BB und Schleimhaut AB bzw. AA, oder Tumor AB und Schleimhaut AA bzw. BB. Situationen in denen einer der beiden ein „NoCall“ aufwies, wurden immer als identisch gewertet. Dann erfolgte die graphische Darstellung mit Excel, wobei nur diejenigen Regionen betrachtet wurden, die über 50 aufeinanderfolgende „nicht identische“ Ereignisse aufwiesen.

3.8 Graphische Darstellungen

Die graphische Darstellung der indirekten Vergleichsergebnisse wurde mit Microsoft Power Point durchgeführt. Hier wurde für jedes Chromosom ein Balkendiagramm erstellt, in dem die betroffenen Regionen für jeden Tumor einzeln dargestellt wurden. Dadurch ist ein übersichtlicher Vergleich der individuellen Ergebnisse möglich. Durch farbliche Kodierung wurden verschiedene Erkenntnisse hervorgehoben, die eine noch bessere Übersicht der Ergebnisse verschaffen soll. Graue Markierungen stellen die Regionen dar, in denen Tumor und Schleimhaut auf derselben Strecke eine LOH aufweisen. Blau sind diejenigen Bereiche in denen uniparentale Disomie vorliegt, Rot kennzeichnen Deletionen und Gelb monoallelische Amplifikationen. Die Zelllinien stehen immer am Anfang der Balkendiagramme, bzw. sind speziell markiert. Die Kodierung wurde sowohl für die MSI als auch für die CSI Tumore gleich gestaltet, damit hier ebenfalls ein leichter Vergleich möglich war.

Die Balkendiagramme wurden für MSI- und CSI-Tumore separat erstellt. In den Regionen, in denen ein gemeinsamer, sehr genauer Vergleich erwünscht war, wurde

eine separate graphische Darstellung gewählt. Diese wurde mit Microsoft Excel erstellt und die farbliche Markierung wie oben beschrieben beibehalten. Hier konnte in einer gewünschten Region, auf die Position genau, mehrere Tumore verglichen werden. Dies war wegen der relativ „grogen“ Bearbeitbarkeit im Power Point Programm nicht möglich.

Bei der Darstellung des direkten Vergleichs wurde die farbliche Kodierung nicht beibehalten. Hier unterscheiden sich die einzelnen Tumore durch verschiedene Farben voneinander. Die Darstellung erfolgte ebenfalls mit Microsoft Excel.

Schließlich wurden die Ergebnisse des indirekten Vergleichs denen des direkten Vergleichs gegenübergestellt, um so Regionen zu identifizieren, die beim indirekten Vergleich aufgrund des Cutoff-Wertes nicht identifiziert wurden.

4 Ergebnisse

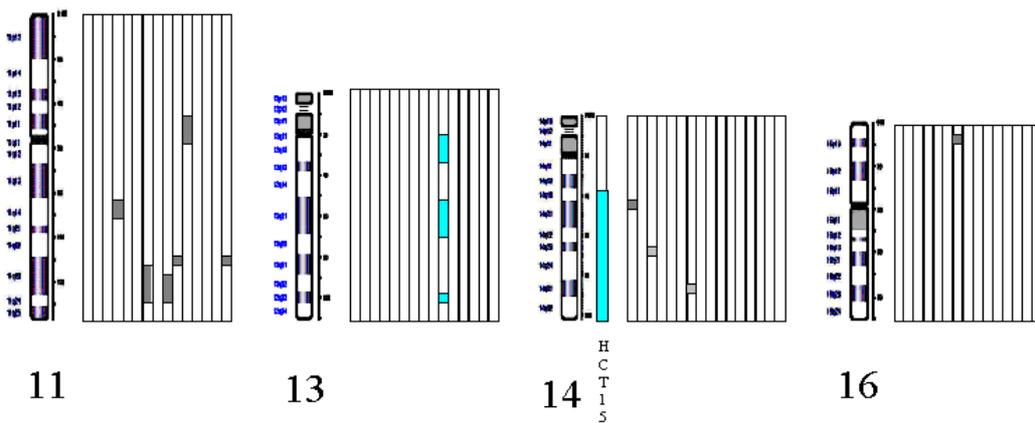
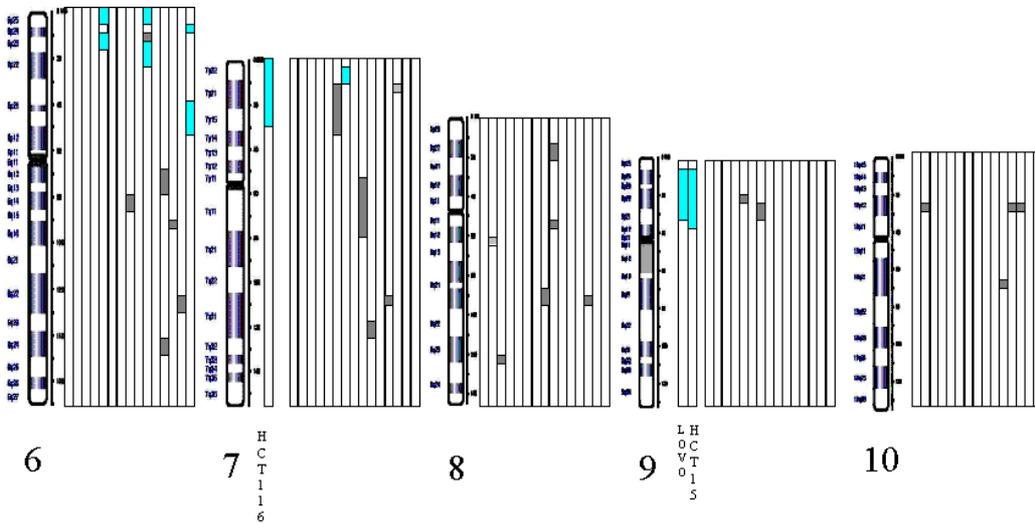
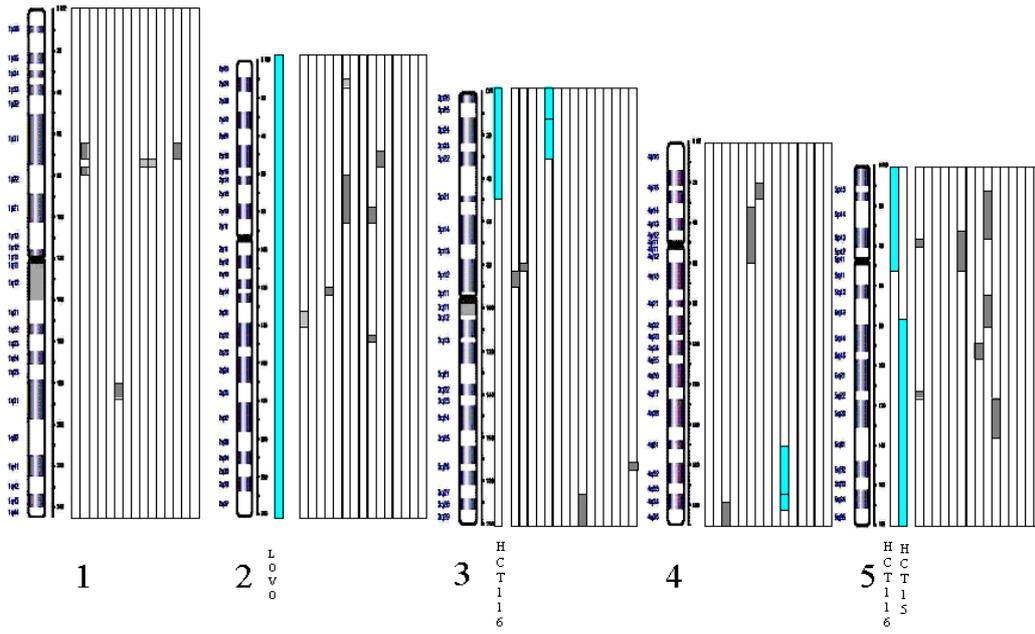
4.1 SNP- Analyse von 15 MSI-Tumoren

Bei den 15 untersuchten MSI Tumoren ließen sich insgesamt 96 Regionen mit allelischen Verlusten (LOH) nachweisen. Die Größe der Regionen variiert von 1 Mb bis 27 Mb. Von den 96 identifizierten monoallelischen Regionen sind 90 (94%) auf uniparentale Disomie zurückzuführen und 6 (6%) auf Deletionen und monoallelische Amplifikationen (Tabelle 4.1). Bei 65 (68%) Regionen war die uniparentale Disomie sowohl im Tumor als auch in der Schleimhaut vorhanden. Bei 31 (33%) konnten die Veränderungen nur im Tumor gefunden werden.

	Tumor-Schleimhaut Übereinstimmung	Tumorspezifische Veränderung	gesamt
UPD	60	30	90
Deletion	1	0	1
Amplifikation	4	1	5
gesamt	65 (68%)	31	96

Tabelle 4.1 Indirekter Vergleich von MSI-Tumoren und der korrespondierenden Normalschleimhaut

Die Regionen mit uniparentaler Disomie befinden sich bei 14 von 15 Tumoren auf mindestens zwei Chromosomen. Nur ein Tumor (Nr. 181) weist eine einzelne signifikante Region auf Chromosom 16 auf. Außerdem fällt auf, dass einige Chromosomen nur jeweils bei einem einzigen Tumor verändert sind. Dieses war der Fall bei Chromosom 13, 14, 16, 17, 20 und 21. Eine 100%ige Übereinstimmung zwischen zwei Tumoren konnte nicht gefunden werden, sodass sich ein individuelles Muster der LOH-Regionen für jeden Tumor ergibt. Trotzdem gab es Übereinstimmungen einzelner signifikanter Regionen sowohl unter den Tumoren als auch beim Vergleich dieser mit den Zelllinien und den untersuchten Schleimhäuten.



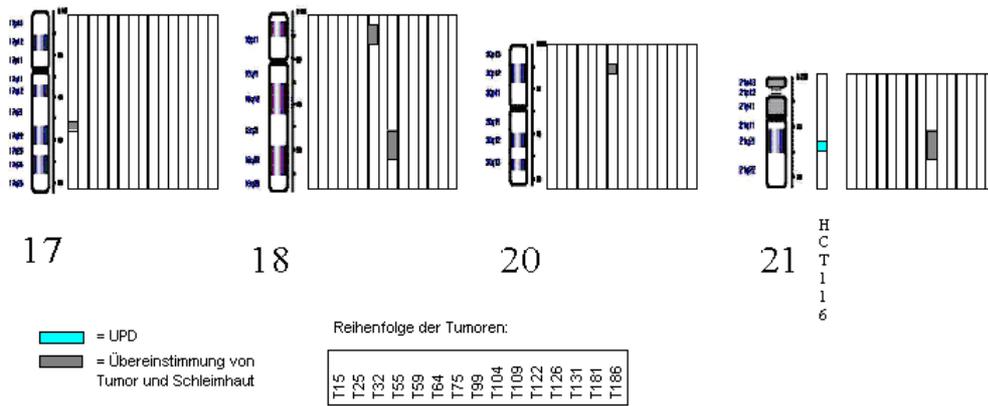


Abbildung 4.1 Übersicht der LOH Regionen bei MSI Tumoren

Tabelle 4.1 stellt die Ergebnisse des indirekten und direkten Vergleichs der MSI Tumore dar. Auf Chromosom 3, 4, 6, 7, und 13 gibt es chromosomale Bereiche mit uniparentaler Disomie, die nur im Tumormaterial vorkommt. Auf Chromosom 3, 4, 7 und 13 zeigt jeweils nur ein Tumor eine signifikante Veränderung.

Direkter Vergleich			Indirekter Vergleich			Gene
Tumor	Chr.	Region	Tumor	Chr.	Region	
59	3	pter-p22.2	15 59	3	pter-p21.3 pter-p14.2	<i>HMLH-1,</i> <i>TGFBR II, RAF1</i>
109	4	q31.2-q34.3	109	4	q24-qter	<i>VEGFC,</i> <i>SMAD1, CASP3</i>
59	6	p25.3-p25.1 p24.3-p23	59	6	pter-p21.2	<i>END1, NOL7,</i> <i>TFAP2A,</i> <i>SIRT5, TUBB2A</i>
109	6	p243-p24.1	109	6	pter-p12.3	
186	6	p25.3-p25.1 p24.3	186	6	pter-p22.3	
		p24.1-p22.3	131	6	pter-p21.2	
			104	9	pter-qter	<i>CDNK2A</i>
75	7	p22.1-21.3				<i>PMS2</i>
109	13	q11-q13-3 q21.1-q22.1 q33.2-q33.3	109	13	pter-qter	<i>RB1</i>
			109	15	pter-qter	<i>CRAC1</i>

Tabelle 4.2 Direkter und indirekter Vergleich der MSI Tumore

In diesen Regionen konnten einige Gene ausfindig gemacht werden, die von potentieller Relevanz sind. Im Bereich der chromosomalen Region 3p22.3 liegt das *hMLH1*-Gen und auf 7p22 das *hPMS2*-Gen. Ein weiteres Beispiel ist das auf 15q gelegene *CRAC1*-Gen, für das eine Relevanz im kolorektalen Karzinom gezeigt werden konnte (Popat et al., 2003). Weitere Gene auf den einzelnen Regionen sind in

Tabelle 4.2 vermerkt.

4.1.1 Uniparentale Disomie der chromosomalen Region 6pter-p22

Auf Chromosom 6 konnte eine Region identifiziert werden, in der im indirekten Vergleich (3 von 15 Tumoren) und direkten Vergleich (4 von 15 Tumoren) uniparentale Disomie gezeigt werden konnte (Tumor 59, 109, 131 und 186 – Abb. 4.4). Der bei allen vier Tumoren gemeinsam betroffene chromosomale Abschnitt ist 6pter-p22.

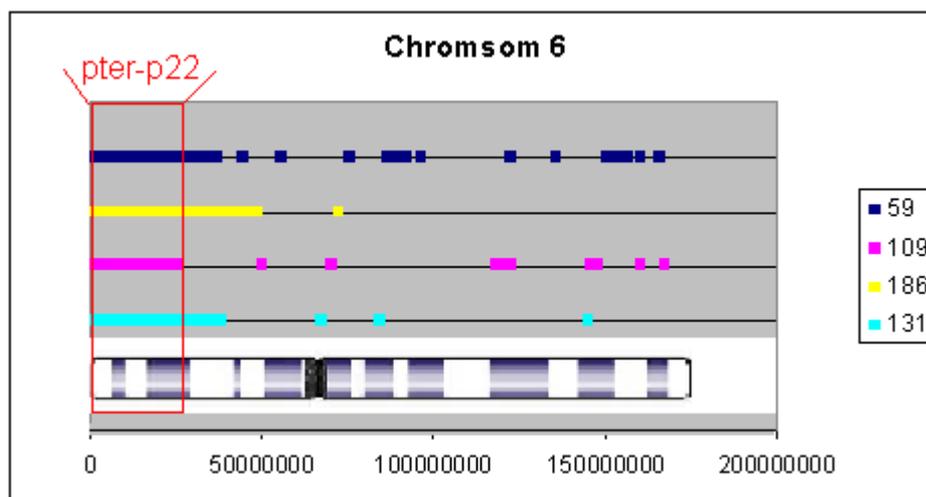


Abbildung 4.2 Ergebnisse des direkten Vergleichs auf Chromosom 6

In diesem Bereich ließen sich einige Gene identifizieren, die von Relevanz sein könnten. Dieses sind *EDN1* (Endothelin 1), *NOL7*, *TFAP2A* (Transkriptionsfaktor AP2 alpha) sowie *SIRT5* und *TUBB2B*. Welche Rolle einige von ihnen spielen und welche Ergebnisse es sonst noch zu diesen Genen gibt, soll in der Diskussion näher erläutert werden.

4.1.2 Vergleich von Tumoren mit den MSI-Zelllinien HCT116, HCT15 und LOVO

Bei allen untersuchten Zelllinien handelt es sich bei den gefundenen Regionen um uniparentale Disomie (Abbildung 4.3 und Tab. 4.2).

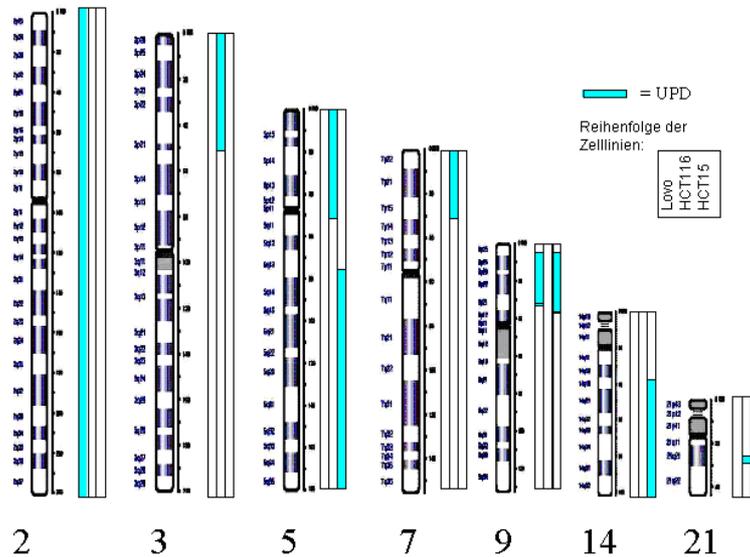


Abbildung 4.3 UPD bei den MSI Zelllinien

Zelllinie	Chromosom	Region	LOH
HCT116	3	p26.3-p25.3	68,08
	3	p25.3-24.1	60,69
	3	p24.1-22.3	27,19
	3	p22.3-21.1	42,04
	5	p15.33-p15.31	19,2
	5	p15.31-p15.2	37,53
	5	p15.2-13.2	85,34
	5	p13.1-q11.1	29,95
	7	p22.3-21.3	31,83
	7	p21.3	11,98
	7	p21.3-21.2	27,06
	7	p21.2-p21.1	12,06
	7	p21.1-p15.2	56,45
21	q21.2-q21.3	11,64	
LOVO	2	p25.3-q37.3	154,69
	9	p24.3-p21.2	34,34
HCT15	5	q14.1-q35.3	76,63
	9	p24.3-q13.3	39,32
	14	q31.1-q32.33	51,34

Tabelle 4.3 UPD bei MSI Zelllinien

9p24.3-p21.3 ist die einzige Region, in der zwei Zelllinien (LOVO und HCT15) sich überschneiden. Zwei Tumore zeigen hier ebenfalls UPD. Ein potentiell relevantes Gen hier ist *CDKN2A*. Dies ist ein Tumorsuppressorgen auf 9p21, das für das Protein p16INK4 kodiert, welches als Stabilisator für p53 gilt. Auf Chromosom 3 und 7 zeigen zwei Tumore Übereinstimmungen zur Zelllinie (Abb. 4.10). Auf Chromosom 3 zeigt Tumor 59 eine Übereinstimmung mit der Zelllinie HCT116 bei 3p26.1-p22.2. Bei der Zelllinie erstreckt sich die Region bis 3p21. Als relevantes Gen ist hier besonders das bei HNPCC Patienten häufig veränderte Mismatch Reparaturgen *hMLH1* auf 3p22.2 zu nennen. Auf Chromosom 7 haben Tumor 75 und die Zelllinie HCT116 bei p22.1-p21.3 uniparentale Disomie. In dieser Region liegt *PMS2* ebenfalls ein Mismatch-Reparatur Gen, das in selteneren Fällen bei MSI Tumoren mutiert ist.

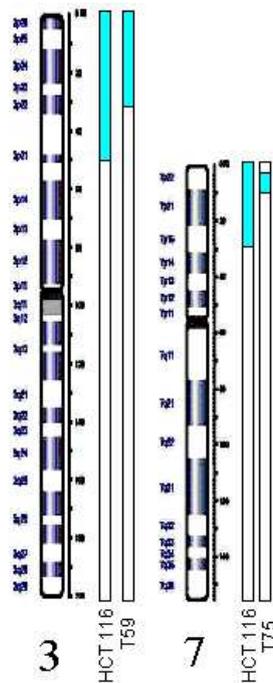
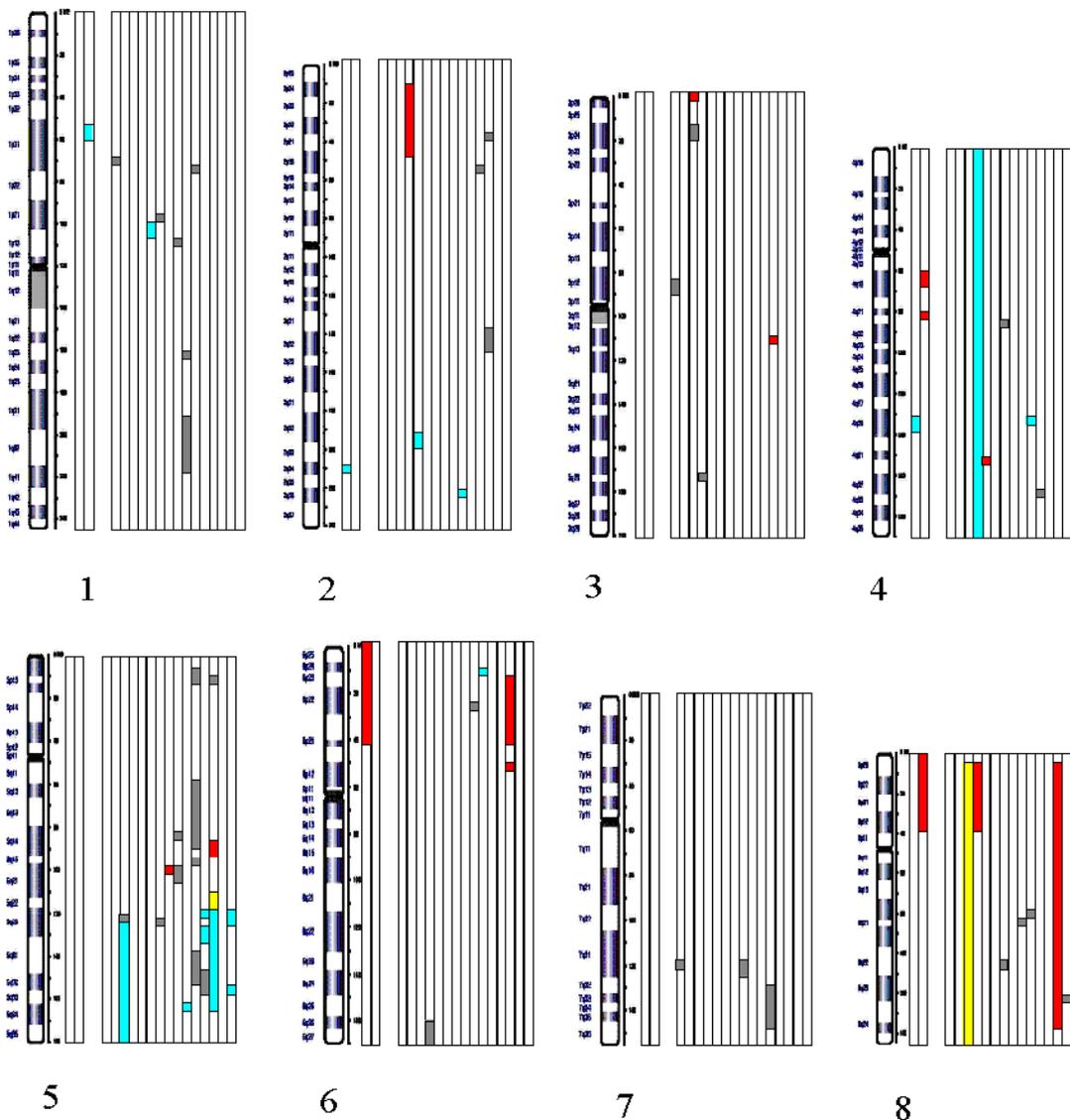


Abbildung 4.4 Übereinstimmung von Zelllinie und Tumor auf Chromosom 3 und 7

4.2 SNP- Analyse von 15 CSI-Tumoren

Alle 15 untersuchten Mikrosatelliten stabilen Tumorgewebe zeigen allelische Verluste (LOH). In Abbildung 4.5 ist zu erkennen, dass diese Verluste gleichermaßen auf langen und auf kurzen Chromosomenabschnitten liegen. Zum Teil sind ganze Chromosomen oder Chromosomenarme betroffen. Alle bis auf einen Tumor haben zwischen 2 und 10 veränderte Chromosomen. Das Chromosom 19 weist keine Regionen mit LOH auf. Chromosom 9, 20 und 21 sind nur bei jeweils einem Tumor von LOH betroffen.



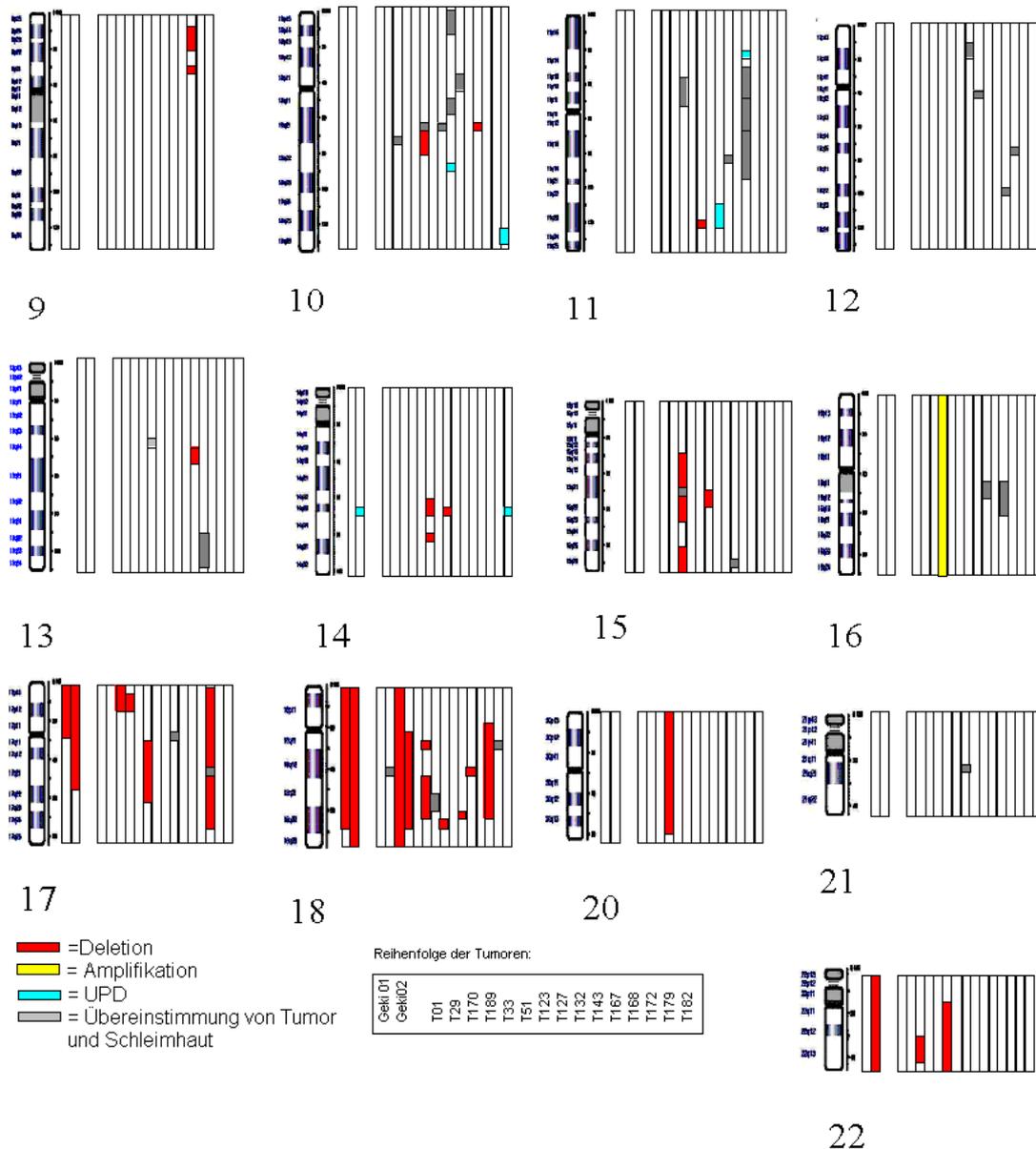


Abbildung 4.5 Monoallele Regionen der analysierten 15 CSI Tumore

Von den 256 identifizierten monoallelicen Regionen sind nur 106 (41%) auf uniparentale Disomie zurückzuführen und 150 (59%) auf Deletionen und monoallele Amplifikationen (Tabelle 4.3). Bei 70 (27%) Regionen war die uniparentale Disomie sowohl im Tumor als auch in der Schleimhaut vorhanden. Bei 186 (73%) konnten die Veränderungen nur im Tumor gefunden werden.

	Tumor und Schleimhaut Übereinstimmung	Tumorspezifische Veränderungen	Gesamt
UPD	44	62	106
Deletionen	16	83	99
Amplifikationen	10	41	51
gesamt	70	186	256

Tabelle 4.4 Übersicht des indirekten Vergleichs

Obwohl es keine 100%ige Überlappung bei mehreren Tumoren oder Zelllinien gibt, zeigen sich doch häufige gemeinsam betroffene Abschnitte (5q, 17p, 18q). 9 von 15 Tumoren weisen spezifische, tumorbezogene Veränderungen auf. Bei 7 von 15 Tumoren sind besonders viele Chromosomen betroffen (jeweils mindestens sieben). Es gibt jedoch weder eine Korrelation zwischen der Höhe an Übereinstimmung zur Schleimhaut und der Anzahl der betroffenen Chromosomen noch eine Korrelation zwischen der Menge der betroffenen Chromosomen und der Anzahl von UPD. (

Tabelle 4.5).

Tumor	Übereinstimmung mit Schleimhaut ~100%	betroffene Chromosomen insgesamt	Chromosomen mit UPD
182	-	3	3
33	-	3	2
168	-	5	3
172	-	7	6
127	-	8	4
51	-	8	3
170	-	8	3
143	-	9	6
189	-	10	3
29	+	1	0
179	+	2	1
1	+	3	1
123	+	5	3
167	+	8	3
132	+	10	8
Geki 04		7	2
Geki 01		5	2

Tabelle 4.5 Übersicht der CSI Tumore mit der Anzahl der betroffenen Chromosome insgesamt und der Menge an UPD

4.2.1 Allelische Verluste der Region 18q bei CSI Tumoren

In der indirekten Analyse zeigen sich bei den CSI-Zelllinien Geki 01 und 04 und bei 6 von 15 Tumoren und in der direkten Analyse 8 von 15 CSI-Tumoren allelische Verluste mit reduzierten Kopienanzahl in der Region 18q (Abb. 4.13 und 4.14). Bei den Zelllinien sind diese Bereiche sehr homogen über das Chromosom verteilt, während bei den nativen Tumoren eine mehr oder weniger starke Zerstückelung stattfindet. Betrachtet man den direkten Vergleich, homogenisieren sich die Bereiche bei den nativen Tumoren. *SMAD4* auf 18q21.1 (in Abbildung 4.6 schwarz markiert) ist ein Gen, das in dieser Region von Relevanz sein könnte. Es gilt als Mediator im TGF- β Signaltransduktionsweg und dessen hereditärer Defekt führt zum Juvenilen-Polypösen-Syndrom.

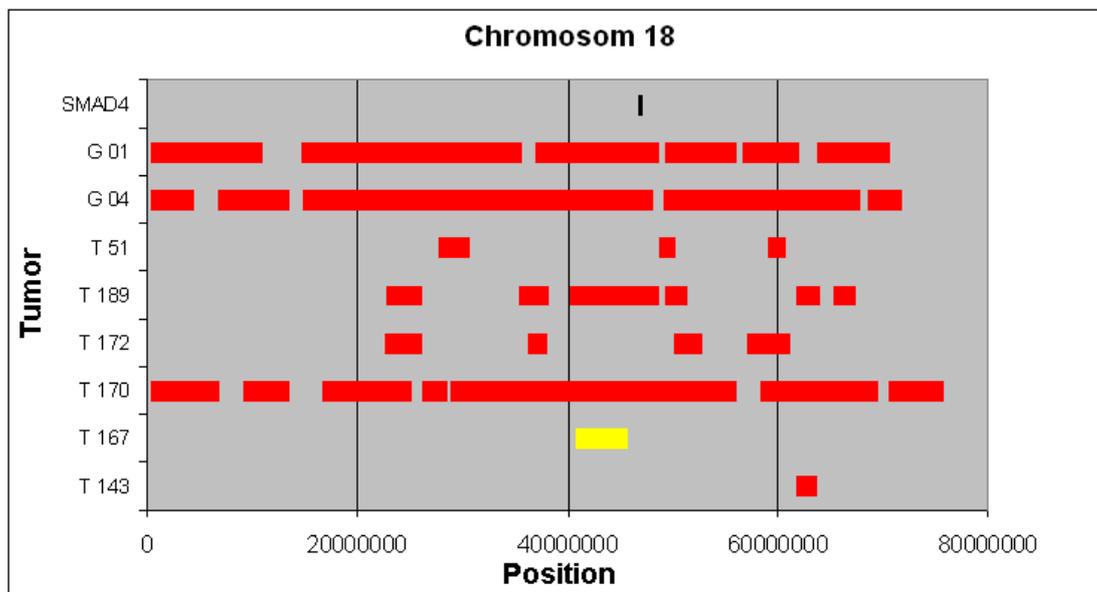


Abbildung 4.6 Indirekter Vergleich von CSI Tumoren und Zelllinien Geki 1 und 4 auf Chrom. 18

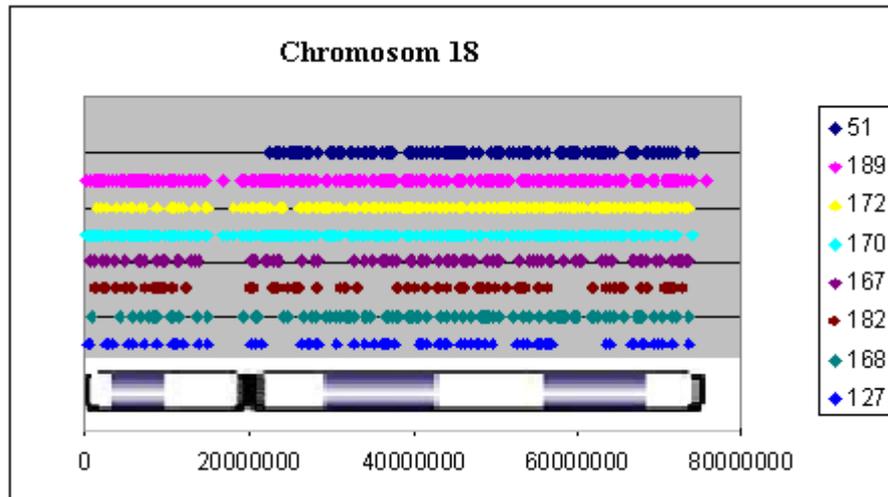


Abbildung 4.7 Direkter Vergleich von CSI Tumoren auf Chromosom 18

4.2.2 Allelische Verluste der Region 17p bei CSI Tumoren

Bei der indirekten Analyse zeigen sich bei den CSI-Zelllinien Geki 01 und 04 sowie bei 4 von 15 Tumoren und in der direkten Analyse bei 6 von 15 CSI-Tumoren allelische Verluste mit reduzierter Kopienanzahl in der Region 17p (Abb. 4.15 und 4.16). Bei zwei Tumoren (51,172) zeigte sich auch abschnittsweise UPD. Das Tumorsuppressorgens *p53* liegt in der gemeinsam betroffenen Region 17p13. *p53* ist eines der am besten untersuchten Tumorsuppressorgene und hat multiple Funktionen und Interaktionen im zellulären Wachstumsprozess. Es wird bei zellulärem Stress hochreguliert, hält den Zellzyklus an und induziert die DNA Reparatur. Findet keine adäquate Schadensbehebung statt, wird die Apoptose eingeleitet, ansonsten findet eine Rückkehr in die Proliferationsphase statt. An diesem komplexen Prozess sind viele weitere Proteine beteiligt, die in Interaktion mit *p53* treten und dessen Funktion unterstützen.

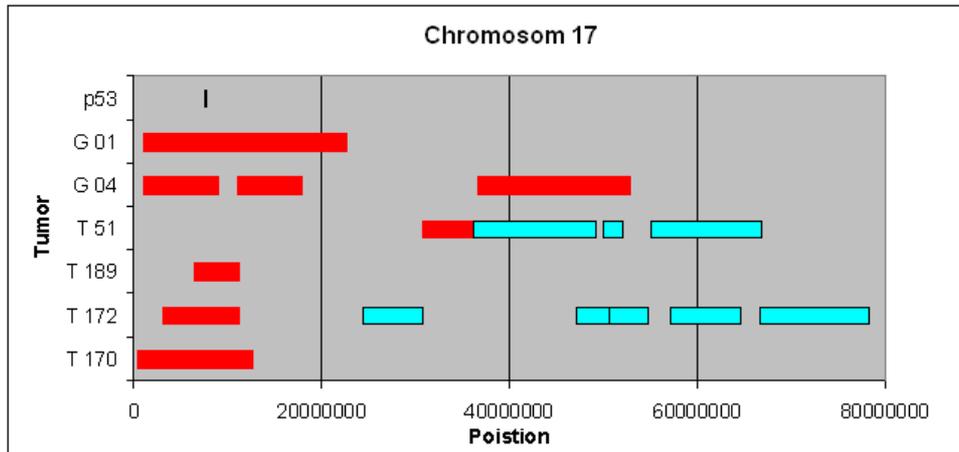


Abbildung 4.8 Indirekter Vergleich der CSI Tumore und der Zelllinie Geki 1 und 4 auf Chromosom 17

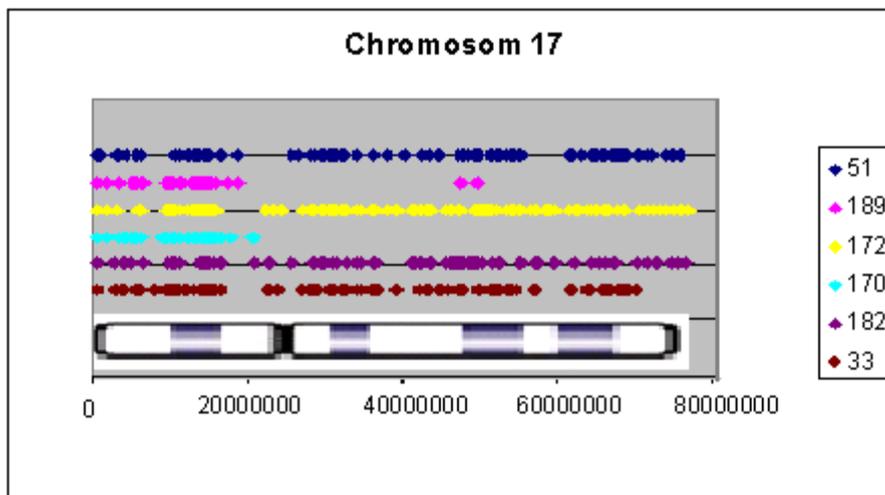


Abbildung 4.9 Direkter Vergleich der CSI Tumoren auf Chromosom 17

4.2.3 Allelische Verluste der Region 8p bei CSI Tumoren

Bei der indirekten Analyse zeigen sich bei der CSI-Zelllinie Geki 04 und bei 4 von 15 Tumoren und in der direkten Analyse bei 6 von 15 CSI-Tumoren allelische Verluste mit reduzierter Kopienanzahl in der Region 8p (Abb. 4.17 und 4.18). Bei einem Tumor (172) konnte eine monoallelische Amplifikation nachgewiesen werden. In der Region 8p22 liegen *MTUS1* und *TUSC3*, beides sind potentielle Kandidaten für Tumorsuppressorgene (Frank et al., 2007; Ye et al., 2007; Bashyam et al., 2005). Da es sich bei Tumor 170 um eine monoallelische Amplifikation handelt, ist es möglich,

dass es gleichzeitig mit der Inaktivierung des TSG zu einer Aktivierung des Onkogens *c-myc* (8q23) gekommen ist.

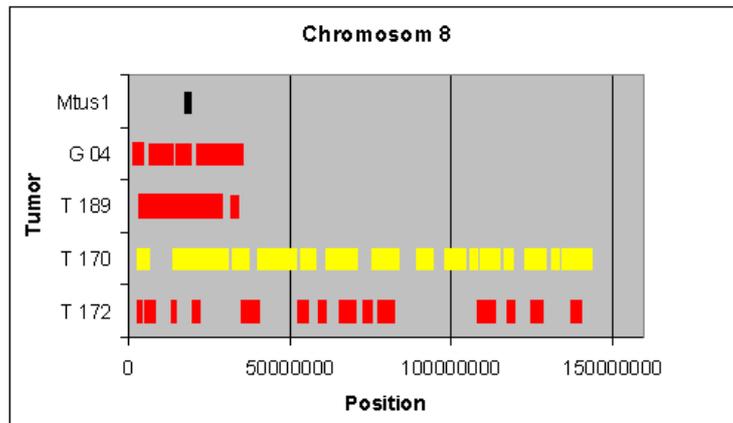


Abbildung 4.10 Indirekter Vergleich der CSI Tumore und der Zelllinie Geki 1 und 4 bezogen auf Chromosom 8

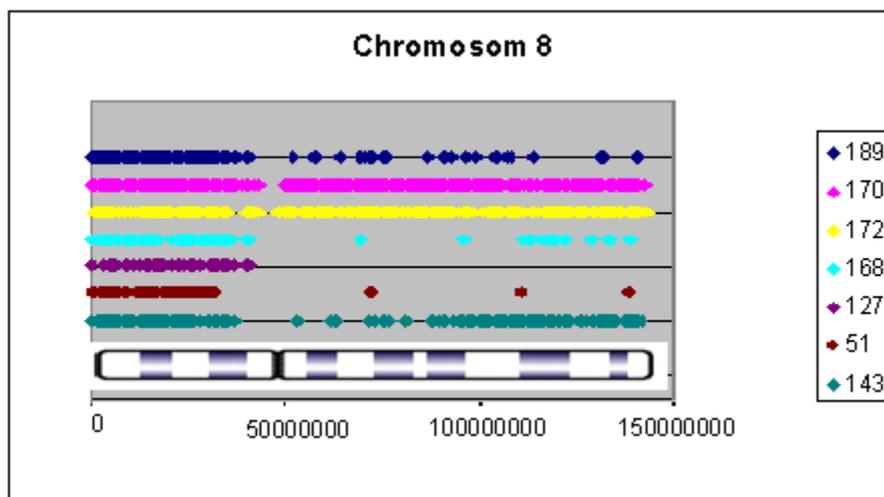


Abbildung 4.11 Direkter Vergleich von CSI-Tumoren auf Chromosom 8

4.2.4 Allelische Verluste und UPD der Region 5q bei CSI Tumoren

Bei der indirekten Analyse zeigen sich bei 9 von 15 Tumoren und in der direkten Analyse bei 7 von 15 CSI-Tumoren monoallelische Regionen in der chromosomalen Region 5q (Abb. 4.17 und 4.18). Überwiegend waren dies monoallelische Areale ohne Änderung der Kopienanzahl, entsprechend einer uniparentalen Disomie. Bei einigen Tumoren (127,132, 172) wurden auch Deletionen gefunden, die überwiegend

die Region 5q14-21 betraf. Im Bereich 5q22-35 konnten fast ausschließlich uniparentale Disomien identifiziert werden. In der Region 5q22.2 ist das *APC*-Tumorsupressorgen lokalisiert.

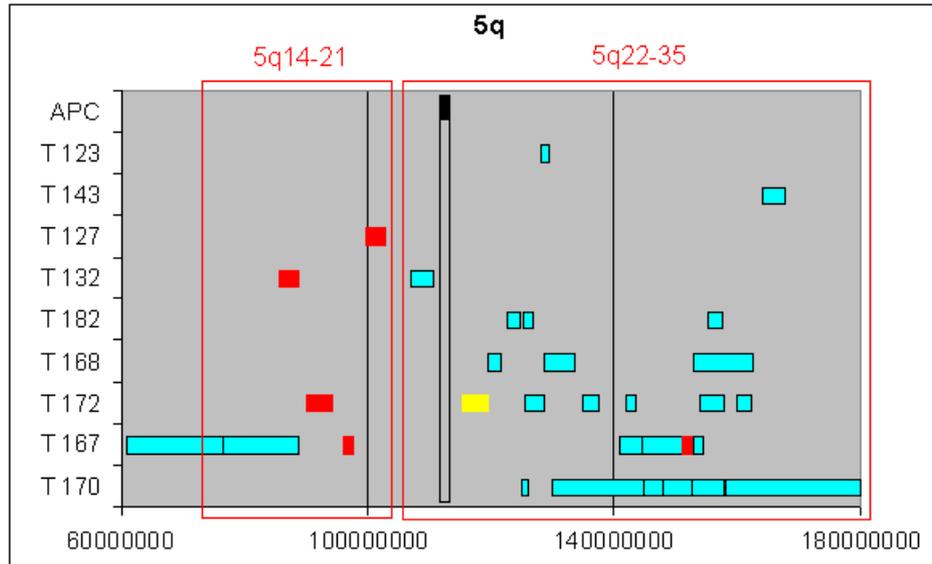


Abbildung 4.12 Veränderungen von CSI Tumoren auf 5q

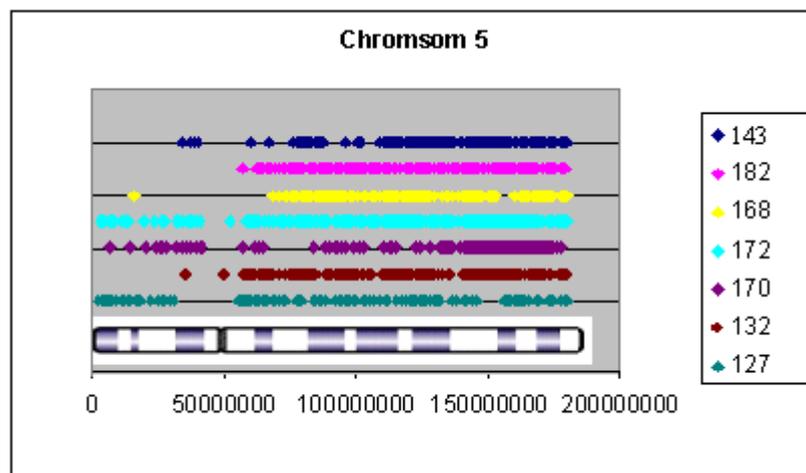


Abbildung 4.13 Direkter Vergleich der CSI-Tumore auf Chromosom 5

Im direkten Vergleich entfallen zwei Tumore, nämlich Tumor 123 und 167. Außerdem sieht man, wie auch bei den oben gezeigten anderen Chromosomen, eine Homogenisierung der betroffenen Region, die speziell 5q betrifft. Da hier doch erhebliche Unterschiede in den Ergebnissen der beiden Methoden vorliegen, wurde der Bereich unter Änderung des „LOH Cutoff-Wertes“ noch einmal analysiert.

Abbildung 4.14 zeigt die Ergebnisse mit Cutoff-Werten von 10 und 6 ($p > 10^{-6}$) in getrennter, farbiger Markierung.

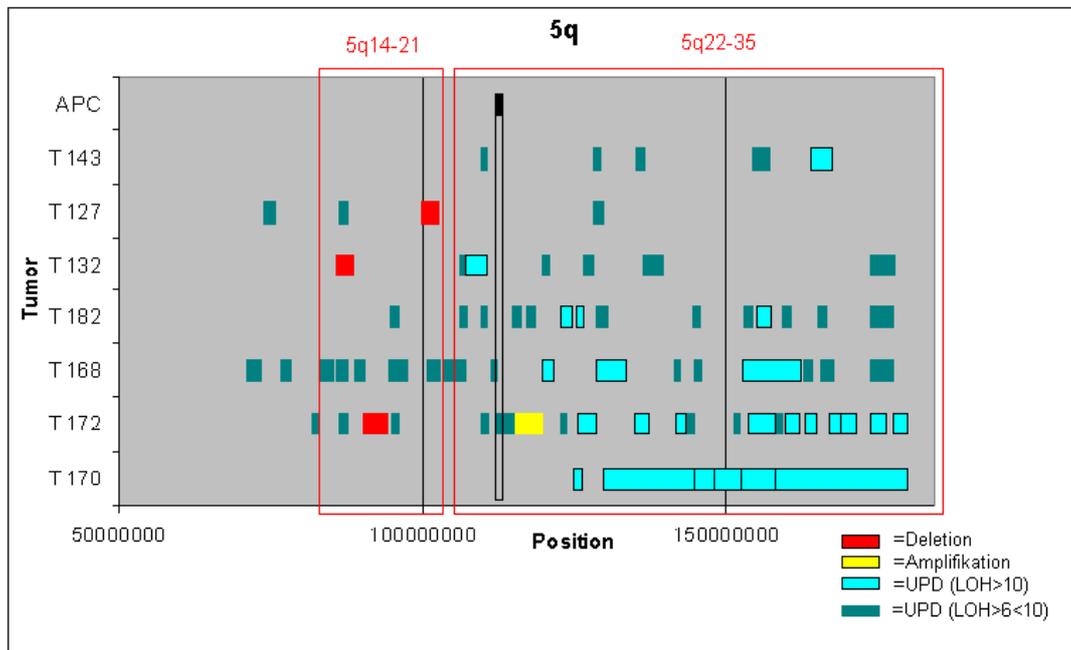


Abbildung 4.14 Veränderungen der CSI-Tumore mit LOH Cutoff-Werten von 6-10 und >10

4.2.5 Allelische Verluste und UPD auf den Chromosomen 14 und 22

Im Bereich der chromosomalen Region 14q23 ist eine ca. 3Mb große Region, auf der Geki 04 mit drei weiteren Tumoren (Tumor 51, 127, und 182) Übereinstimmungen zeigt. Die Schleimhaut der drei Tumore zeigt hier keine Auffälligkeiten. Bei der Zelllinie und dem Tumor 182 ist keine Veränderung der Allelanzahl zu erkennen (UPD). Bei Tumor 51 und 127 liegt eine Deletion vor. Auffällig ist, dass die monoallelischen Regionen trotz ihrer geringen Länge sehr hohe Übereinstimmungen zeigen und dass die Veränderungen sowohl durch Deletionen als auch durch UPD zustande kommen.

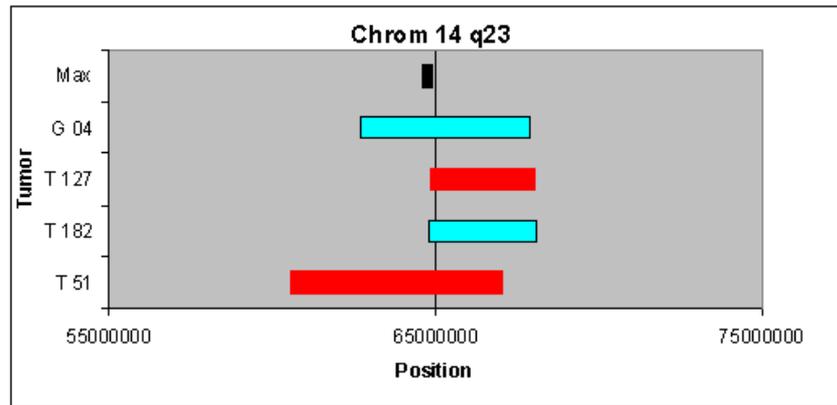


Abbildung 4.15 UPD und Deletionen auf 14q23

Das einzige Gen, das in dieser Region identifiziert werden konnte, war *Max* (myc associated cofactor X). *Max* ist in sofern wichtig, da myc nur durch eine Heterodimerisierung mit *Max* seine Funktion als Transkriptionsfaktor erfüllen kann (Hurlin und Jie, 2006). Eine weitere chromosomale Region mit häufigen monoallelischen Abschnitten fand sich auf Chromosom 22. Neben der Zelllinie Geki 04 fallen zwei Tumore auf; einer (Tumor 170) durch eine Deletion, der andere (Tumor 51) durch Deletion und uniparentale Disomie.

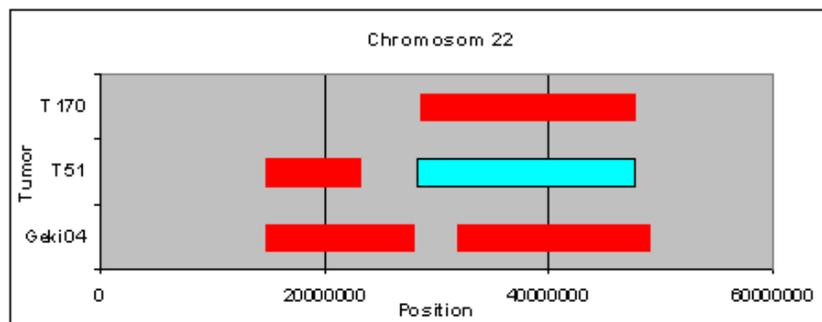


Abbildung 4.16 Veränderungen von CSI Tumoren und Geki 04 auf Chromosom 22

Im Bereich von 22q12.1 liegt unter anderem das *CHEK2*-Gen (22q12.1), das als Regulator des Zellzyklus-Checkpunktes gilt und mit p53 und BRCA 1 interagiert. Neuere Studien zeigen ein gehäuftes Auftreten von *CHEK2* Mutationen in Tumoren von HNPCC Patienten (Wasielewski et al., 2008).

4.2.6 Vergleich der Tumore mit den Zelllinien Geki 01 und Geki 04

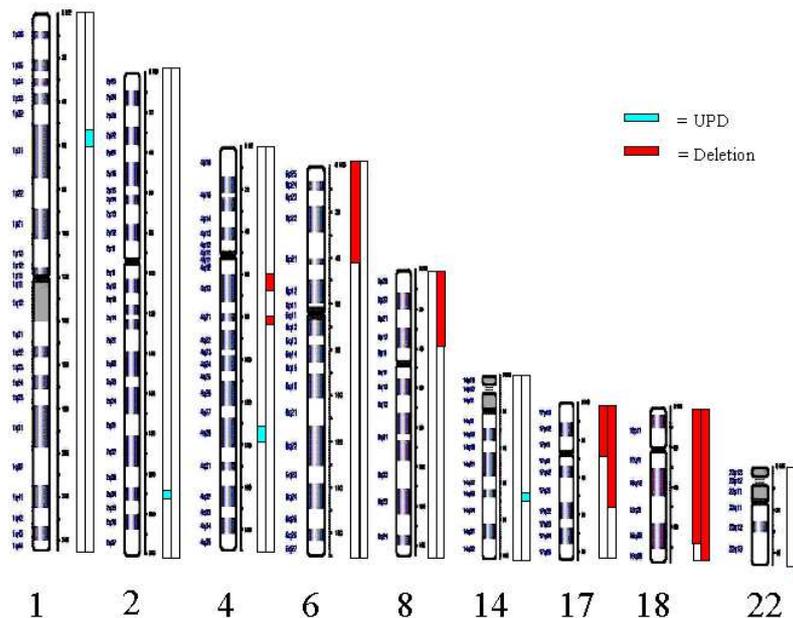


Abbildung 4.17 UPD und Deletionen bei CSI Zelllinien (1=Geki1, 2= Geki2)

Bei den untersuchten Zelllinien Geki 01 und Geki 04 finden sich multiple monoallelische Regionen. Wie in Abbildung 4.17 zu sehen ist, zeigen beide sowohl Deletionen als auch uniparentale Disomie (49 LOH Regionen davon 4 UPD). Die UPD-Regionen auf Chromosom 1, 2, 4 und 14 betreffen kürzere chromosomale Abschnitte. Die ausgedehnten Veränderungen auf Chromosom 6, 8, 17, 18 und 22 hingegen sind Deletionen. Vergleicht man die Veränderungen der Zelllinien mit denen der Tumore, fällt auf, dass an allen Stellen, an denen eine Zelllinie LOH aufweist, mindestens ein Tumor ebenfalls verändert ist, sodass die Darstellung der veränderten Regionen gemeinsam in den vorherigen Abschnitten erfolgte.

4.3 Vergleich von MSI- und CSI-Tumoren

Auf den ersten Blick gibt es sehr wenige Gemeinsamkeiten zwischen den MSI- und den CSI-Tumortypen. Die deutlich höhere Anzahl an LOH Regionen bei den CSI-Tumoren und das vermehrte Auftreten von Deletionen sind der große Unterschied in beiden Gruppen.

In Tabelle 4.6 sind diejenigen Regionen aufgelistet, in denen MSI- und CSI-Tumoren Übereinstimmungen zeigten. Daraus wird ersichtlich, dass nur auf Chromosom 6 mehrere Tumoren beider Typen Veränderungen aufweisen.

Region	MSI	CSI	Zelllinie
3p26	59	170	HCT 116
4q31	109	189	
6p24-22	59/109/186/131	143/172	Geki 01
13q21	109	143	

Tabelle 4.6 Übereinstimmungen zwischen MSI und CSI Tumoren

Abbildung 4.18 und Abbildung 4.19 zeigen den indirekten und direkten Vergleich der MSI- und CSI-Tumore in diesem Bereich. Alle 4 MSI Tumore und der CSI Tumor 143 haben UPD, während bei der MSI Zelllinie Geki 01 und dem CSI Tumor 172 Deletionen vorliegen.

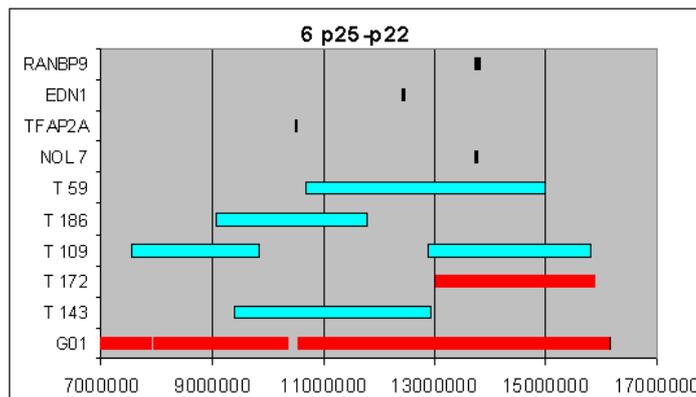


Abbildung 4.18 Veränderungen von CSI- und MSI-Tumoren auf 6p25-p22 mit Genen

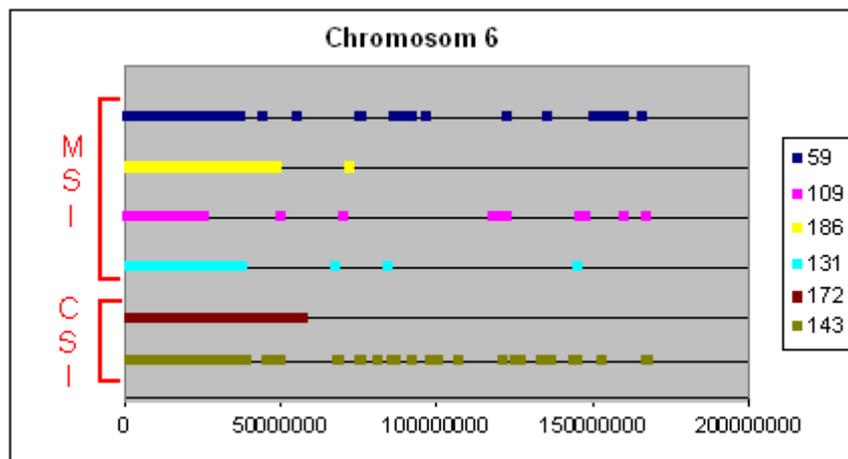


Abbildung 4.19 Direkter Vergleich von CSI- und MSI-Tumoren auf Chromosom 6

5 Diskussion

5.1 SNP-Arrayanalyse von MSI- und CSI-Tumoren

Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die SNP-Arrayanalyse an der DNA von nativen Tumoren und deren korrespondierender Normalschleimhaut durchführbar ist. Der Tumoranteil in nativen Tumoren war zwar >50%, jedoch wurde keine Mikrodissektion durchgeführt, so dass immer Anteile an Normalschleimhaut im Tumor vorhanden waren. Dies kann die Erklärung sein, warum einige identifizierte monoallelische Regionen diskontinuierlich erschienen. Es gab wesentliche Unterschiede zwischen der „direkten“ Methode, bei der der Tumor mit der Normalschleimhaut verglichen wurde und der „indirekten“ Methode, bei der der Tumor und die Normalschleimhaut separat analysiert wurden. Dies ist deshalb von großer Wichtigkeit, da von vielen Zelllinien und teilweise auch von Tumoren keine Normalschleimhaut verfügbar ist und so eine Untersuchung auf monoallelische Regionen mittels statistischer Methoden überhaupt erst ermöglicht wird. Der Vergleich der Methoden zeigte, dass durch die indirekte Methode Areale identifiziert wurden, die fragmentierter waren als bei der direkten Methode. Daraus kann geschlossen werden, dass für die Anwendung der indirekten Methode Tumoren mit großer Reinheit verwendet werden sollten. Dies ist bei den Zelllinien, für die die indirekte Methode vor allem wichtig ist, meist gegeben. Außerdem wurde beim indirekten Vergleich von Tumor und Normalschleimhaut festgestellt, dass auch schon in der Normalschleimhaut uniparentale Disomie vorzukommen scheint. Bei den CSI-Tumoren liegt der Anteil mit 27% deutlich niedriger als bei den MSI-Tumoren mit 68%. Da leider keine weitere normale DNA zur Verfügung stand, kann keine Aussage über die Relevanz dieser Beobachtung gemacht werden. Es ist jedoch von großem Interesse diese Beobachtung im Rahmen weiterer Studien zu untersuchen.

5.2 UPD als wesentliche Ursache für chromosomale Instabilität bei CSI- und MSI-Tumoren

In dieser Arbeit konnte an nativem Tumormaterial gezeigt werden, dass die uniparentale Disomie eine wichtige Rolle bei der Entstehung von MSI- und CSI-Karzinomen spielt. Bei MSI-Tumoren sind 94% aller monoallelischen Areale durch UPD hervorgerufen. Uniparentale Disomie ist somit ein wichtiger Mechanismus, der bei

MSI Tumoren zu chromosomalen Veränderungen führen kann. Bei den CSI-Tumoren ist der Anteil an UPD mit 41% geringer und die Deletionen stehen weiterhin im Vordergrund. Die Ergebnisse zeigen, dass eine chromosomale Instabilität nicht mehr allein den CSI-Tumoren zugeschrieben werden kann, sondern auch bei den MSI-Tumoren vorkommt. Dabei kann man von einer „kontrollierten“ Instabilität sprechen, da der diploide Karyotyp durch Amplifikation des korrespondierenden chromosomalen Abschnittes erhalten bleibt. Die betroffenen Abschnitte betreffen sowohl bei CSI- als auch bei MSI-Karzinomen bestimmte genomische Regionen, auf denen häufig Tumorsuppressorgene oder Onkogene lokalisiert sind. Damit haben die Ergebnisse eine wichtige Bedeutung für die Klinik, da durch die Analyse von MSI-Tumoren mittels SNP-Analysen möglicherweise neue therapeutische Angriffspunkte gefunden werden könnten.

Bis vor einigen Jahren wurde uniparentale Disomie nur bei syndromalen hereditären Erkrankungen beschrieben. Seit der Etablierung von SNP-Analysen zur DNA-Analyse ist die Identifikation von UPD in Tumorgewebe auf einfache Weise möglich geworden. Bei vielen Tumorentitäten konnte auf diese Weise UPD nachgewiesen werden. Zuerst wurde dies für hämatologische Neoplasien gezeigt (PCV - Kralovics et al., 2002; AML - Raghavan et al., 2005; AML - Gorletta et al., 2005), dann auch für Bronchial- und Mammakarzinome (Zhao et al., 2004) sowie für Basalzellkarzinome (Teh et al., 2005). Bei Basalzellkarzinomen konnte die Region 9q22.3 als eine bei 14 Karzinomen gemeinsam von UPD betroffene Region identifiziert werden. Ein dort lokalisiertes Tumorsuppressorgen (PTCH) war in 68% der Fälle mutiert. Auch bei kolorektalen Karzinomen konnte UPD nachgewiesen werden. In einer SNP-Analyse von MSI- und CSI-Zelllinien konnten Melcher et al. (2007) erstmals das Vorkommen von UPD in kolorektalen Karzinomzelllinien nachweisen. Dabei wurde die Veränderung sowohl in CSI- als auch in MSI-Zelllinien nachgewiesen. Es wurde postuliert, dass es sich bei der UPD um ein frühes Ereignis in der Kolonkarzinogenese handelt und dass dadurch sowohl Tumorsuppressorgene inaktiviert als auch Onkogene aktiviert werden können. Unter anderem wurde das APC-Gen in CSI-Kolonkarzinomzelllinien häufig durch UPD inaktiviert (Verdopplung der inaktivierenden Mutation), in MSI-Karzinomzelllinien war *hMLH1* betroffen. Bei *hMLH1* handelt es sich um ein Reparaturenzym, das für die Entstehung der Mikrosatelliteninstabilität verantwortlich ist. Die Inaktivierung des APC-Gens mit der

daraus resultierenden Adenomentstehung und die Inaktivierung von *hMLH1* mit der daraus resultierenden Mikrosatelliteninstabilität stützen die Hypothese, dass die UPD schon früh in der Kolonkarzinogenese eine Rolle spielt.

Gaasenbeek et al., 2006 analysierten 45 kolorektale Karzinomzelllinien mit CGH und SNP-Array und fanden ähnliche Resultate wie in dieser Studie. Die Regionen 17p13.1 (*p53*) und 18q21.1 (*DCC/ SMAD4*) waren dabei in allen chromosomal instabilen Zelllinien entweder durch Deletion, uniparentale Disomie oder monoallelische Amplifikation betroffen. Auf andere häufig betroffene Regionen (z.B. 8p22) gehen die Autoren nicht ein. Die Gruppe schlägt eine neue Unterteilung der chromosomalen Instabilität unter Berücksichtigung der monoallelischen Areale vor. Andersen et al., 2007 zeigte das Vorkommen einer uniparentalen Disomie an 15 primären, linksseitigen Kolonkarzinomen, allerdings ohne eine Mikrosatelliteninstabilitätsanalyse durchzuführen. Die Gruppe lokalisierte die entsprechenden häufig betroffenen Regionen bei 5q15→22, 8p22, 17p13→p12 und 18q21→q23. Auch in einer aktuellen Studie von unserer Arbeitsgruppe an 15 chromosomal- und mikrosatelliteninstabilen primären Kolonkarzinomen konnten diese Regionen bestätigt werden. In den monoallelischen Regionen 5q21→qter, 17pter→12 und 18q11.1→qter sind die Tumorsuppressorgene *APC*, *p53* und *DCC/SMAD4* lokalisiert und es konnten entsprechende Mutationen in den verbliebenen Allelen identifiziert werden. Eine Beteiligung dieser Gene an der Kolonkarzinogenese ist schon seit langer Zeit bekannt (Vogelstein et al., 1988).

Im Rahmen dieser Arbeit und auch durch die der Gruppe von Andersen konnte aber auch die Region 8pter→p22 als häufig betroffene Region identifiziert werden. Im Rahmen von Mikrosatellitenanalysen wurde die Region 8p22 von etlichen Gruppen als eine häufig deletierte Region beschrieben (Arribas et al., 1999). Nach dem dort lokalisierten Tumorsuppressorgen wird allerdings noch immer gesucht. Andersen et al. (2007) lokalisierten das Gen *TUSC3* in der minimalen Verlustregion und konnten in Expressionsanalysen eine Herunterregulation zeigen, ohne dass bisher ein Mutationsnachweis durchgeführt werden konnte und die Ergebnisse auf Proteinebene bestätigt werden konnten. Flanagan et al. konnte 2003 das Gen *CNOT7* als betroffenes potentiell Tumorsuppressorgen ausschließen. Ebenfalls im Jahr 2003 konnten Seibold et al. ein Tumorsuppressorgen (*MTUS1*, Mitochondrial tumor suppressor gene 1, OMIM: 609589) im Bereich der Region 8p22 identifizieren.

Das Gen liegt dem Mikrosatellitenmarker D8S254 unmittelbar benachbart. Im Rahmen einer bisher nicht veröffentlichten Studie an 169 kolorektalen Karzinomen konnten Melcher et al. eine minimale Verlustregion um den Marker D8S254 bestätigen. In einer aktuellen Studie dieser Arbeitsgruppe wird an einer Subgruppe von 30 kolorektalen Karzinomen mit einem allelischen Verlust des Markers D8S254 eine Immunhistochemie, eine Sequenzierung und ggf. eine Methylierungsanalyse des Promotors durchgeführt, um die Rolle von MTUS1 im kolorektalen Karzinom zu untersuchen (Melcher et al., 2011).

5.3 UPD auf 6p24.3-22.3 /6pter-p22

6pter-p22 ist der einzige Bereich, in dem mehrere MSI-Tumore Überschneidungen von UPD haben. 4 von 15 Tumoren (27%) zeigen hier UPD. Die betroffene Region umfasst 25 000 000 Basenpaare und enthält 106 Gene. Auch andere Arbeitsgruppen konnten Veränderungen im Bereich des kurzen Arms von Chromosom 6 bei kolorektalen Karzinomen nachweisen. Honchel et al. führten 1996 Mikrosatellitenanalysen bei 64 kolorektalen Karzinomen durch und konnten eine minimale Verlustregion um den Marker D6S271 (6p21.1) nachweisen. Bei anderen Tumorentitäten kommen ebenfalls häufige Deletionen in diesem Bereich vor. Bei immortalisierten Zellen von Li-Fraumeni-Patienten kann der Chromosomentransfer eines Chromosoms 6 eine Seneszenz der Zellen induzieren. Kumata et al. konnten 2002 einen Klon identifizieren, der nicht zu einem Zelluntergang führte und eine Deletion im Bereich des Markers D6S309 aufwies. Rader et al. konnten im Jahr 2000 die betroffene Region bei Zervixkarzinomen auf eine Region im Bereich von 6p23 (D6S429-D6S1578) eingrenzen. Diese Region umfasst 946 000 Basenpaare (14.082.420-15.029.265). Unmittelbar dieser Region benachbart konnte das potentielle Tumorsuppressorgen *NOL7* (Nuclear Protein, 27-KD, Omim #611533) identifiziert werden (Hasina et al., 2006). *NOL7* moduliert die Angiogenese und führt zu einer Herabregulation von VEGF. Interessanterweise ist bei MSI-Magenkarzinomen (Miyamoto et al., 2007) und MSI-Kolonkarzinomen (Inoue et al., 2006) eine verminderte Angiogenese mit reduzierter VEGF-Bildung nachgewiesen worden. Eine Beteiligung von *NOL7* an kolorektalen Karzinomen wurde bisher noch nicht untersucht.

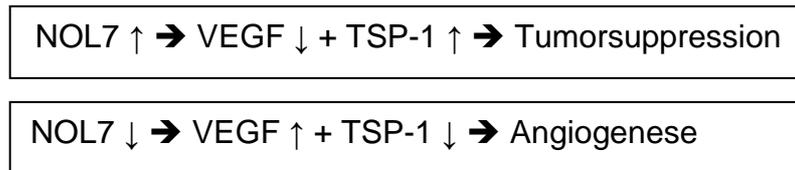


Abbildung 5.1 Effekte von NOL7

Auch der Transkriptionsfaktor *AP2α* liegt in dieser Region und ist ein interessanter Kandidat. Mehrere Gruppen konnten zeigen, dass es Tumorsuppressoreigenschaften in Mammakarzinom (Li et al., 2006), kutanem Melanom (Karjalainen et al., 2000) und kolorektalen Adenomen und Adenokarzinomen (Ropponen et al., 2001) hat. *AP2α* bildet mit p53 Kernkomplexe, wodurch die Expression bestimmter Wachstumsgene verändert wird. Durch eine verminderte Expression von *AP2α* durch zwei defekte Gene könnte die Tumorsuppressoreigenschaft von p53 vermindert werden. Noch gibt es unterschiedliche Hypothesen, wie diese Interaktion im Ganzen funktioniert, und weitere Analysen müssen zeigen, ob UPD die Expression von *TFAP2A* verändert. Wenig ist zu der Rolle von *END1*, *SIRT5* und *TUBB2B* in der Karzinogenese von Tumoren bekannt. Aufgrund ihrer Funktionen ist jedoch eine mögliche Rolle als Onkogen oder Tumorsuppressorgen nicht ausgeschlossen.

Die beschriebenen Gene beeinflussen die Zellzyklusregulation direkt oder indirekt. Dennoch bleiben alle Darstellungen zu einem möglichen Einfluss der UPD auf die Funktion dieser Gene von hypothetischer Natur und weiter reichende Untersuchungen, speziell Expressionsanalysen, müssen gemacht werden, um diese Hypothesen zu bestätigen.

5.4 UPD inaktiviert APC bei CSI-Tumoren

Uniparentale Disomie tritt bei CSI-Tumoren mit 41% prozentual sehr viel seltener auf als bei den MSI Tumoren, aber mit einer absoluten Anzahl von 105 kopieneutralen LOH Regionen in etwa genau so oft wie bei MSI-Tumoren (89). Gaasenbeek et al. stellten ebenfalls fest, dass chromosomal instabile Tumore kopieneutrale LOH Ereignisse zeigen, in etwa der gleichen Häufigkeit wie MSI positive Zelllinien. Sie untersuchten allerdings primär Zelllinien und nur zwei spezielle chromosomale

Regionen bei nativen Tumoren. Sie vermuten, dass es bei den MSI negativen Tumoren einige gibt, die speziell zu UPD neigen, und somit eine weitere Untergruppe identifiziert wurde. Unsere Analysen zeigten, dass alle CSI-Tumoren UPD aufweisen und keine Korrelation zwischen der Menge an UPD und LOH insgesamt besteht (

Tabelle 4.5), und so nicht von einer speziellen Subgruppe zu sprechen ist.

Interessanterweise lässt sich am Beispiel 5q zeigen, dass UPD auch bei CSI-Tumoren relevant ist und ein frühes Ereignis in der Kanzerogenese darstellt. Wie in der Einleitung beschrieben, gehören Mutationen in der Region 5q zu den initialen Veränderungen in der Tumorentstehung von CSI-Tumoren. Die uniparentale Disomie spielt also ebenso wie bei MSI-Tumoren eine wichtige Rolle in der frühen Kanzerogenese der CSI-Tumore. Im weiteren Verlauf der Adenom-Karzinom Sequenz scheint jedoch immer noch die klassische LOH durch Deletionen den wesentlich mutagenen Prozess bei CSI-Tumoren darzustellen, da auch in dieser Studie deutlich wurde, dass wichtigen Gene wie *p53* und *SMAD 4* durch Deletionen verloren gegangen sind.

6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Gewebe von jeweils 15 kolorektalen MSI- und CSI-Primärtumoren, sowie 3 MSI- und 2 CSI-Tumorzelllinien mittels SNP-Arrayanalyse molekulargenetisch auf uniparentale Disomie (UPD) untersucht. Es konnte bestätigt werden, dass die uniparentale Disomie ein wichtiger Mechanismus zur Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen zu sein scheint. Die Ergebnisse zeigen, dass nicht nur in MSI-Tumoren, sondern auch in CSI-Tumoren UPD nachgewiesen werden konnte, wobei der UPD-Anteil an identifizierten LOH-Regionen in MSI-Tumoren mit 94% gegenüber 41% in CSI-Tumoren deutlich höher lag. Interessanterweise wurde auch in 68% der korrespondierenden MSI- und in 27% der entsprechenden CSI-Normalgewebe UPD festgestellt, was daraufhin deutet, dass hier möglicherweise schon kanzerogene Vorstufen vorliegen. Die Verteilung der UPDs in den 15 Tumorproben der jeweiligen Tumortypen (MSI und CSI) war innerhalb der einzelnen Proben und innerhalb der einzelnen Chromosomen sehr heterogen, es wurden jedoch gemeinsam Regionen mit UPD gefunden. Bei 27% der MSI-Tumoren wurde eine neue Kandidatenregion auf Chromosom 6 (6pter-p22) identifiziert, die auch einige potentielle Tumorkandidatengene, wie das Tumorsuppressorgen *NOL7* oder den Transkriptionsfaktor *AP2 α* enthält. In CSI-Tumoren waren die monoallelischen Regionen mit 59% hauptsächlich durch Deletionen charakterisiert, während die MSI-Tumore im Gegensatz nur 3% Deletionen aufwiesen. In CSI-Tumoren fielen insbesondere vier Bereiche auf den Chromosomen 18, 17, 8 und 22 durch allelische Verluste auf und bestätigen damit eine Reihe von früheren Ergebnissen. In bestimmten Regionen (z.B. 22q12.1) wurden sowohl Deletionen als auch UPD festgestellt. Die Region 5q22.2 war fast ausschließlich von uniparentaler Disomie betroffen. Ob die UPD vor allem in frühen Stadien der Kolonkarzinogenese eine Rolle spielt und in späteren Stadien eher in chromosomaler, bzw. Mikrosatelliteninstabilität vorkommt, werden weitere Studien zeigen müssen.

7 Quellen

Arribas R, Ribas M, Risques RA, Masramon L, Tortola S, Marcuello E, Aiza G, Miro R, Capella G, Peinado MA (1999) Prospective assessment of allelic losses at 4p14-16 in colorectal cancer: two mutational patterns and a locus associated with poorer survival. *Clin Cancer Res.* 5:3454-3459.

Andersen CL, Wiuf C, Kurhoffer M, Korsgaard M, Laurberg S, Ørntoft TF (2007) Frequent occurrence of uniparental disomy in colorectal cancer. *Carcinogenesis* 28(1):38-48.

Bashyam MD, Bair R, Kim YH, Wang P, Hernandez-Boussard T, Karikari CA, Tibshirani R, Maitra A, Pollack JR (2005) Array-based comparative genomic hybridization identifies localized DNA amplifications and homozygous deletions in pancreatic cancer. *Neoplasia* 7(6):556-62.

Boyle B, Ferlay J (2005) Cancer incidence and mortality in Europe. *Annals of Oncology* 16 (3): 481-488.

Cahill DP, Lengauer C, Yu J, et al. (1998) Mutations of mitotic checkpoint genes in human cancers. *Nature* 392:300–3.

Cunningham JM, Christensen ER, Tester DJ, Kim CY, Roche PC, Burgart LJ, Thibodeau SN (1998) Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Cancer Res.* 58(15):3455-60.

Duesberg P. (2007) Chromosomal chaos and cancer. *Sci Am.* 296:52-9

Fearon ER and Vogelstein B (1990) A genetic model for colorectal tumorigenesis. *The Cell* (61):759-767.

Fodde R, Kuipers J, Rosenberg C, et al. (2001) Mutations in the APC tumour suppressor gene cause chromosomal instability. *Nat Cell Biol* 3:433–8.

Frank B, Bermejo JL, Hemminki K, Sutter C, Wappenschmidt B, Meindl A, Kiechle-Bahat M, Bugert P, Schmutzler RK, Bartram CR, Burwinkel B (2007) Copy number variant in the candidate tumor suppressor gene MTUS1 and familial breast cancer risk. *Carcinogenesis* 28(7):1442-5.

Friedenreich CM (2001) Physical activity and cancer prevention: from observational to intervention research. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 10(4):287-301.

Fuchs R (2006) GIT Tumore 2005/6. Nora-Verlag GmbH Stolberg,145.

Ganten D, Rauckpaul K (2002) Molekularmedizinischen Grundlagen nicht-hereditärer Tumorerkrankungen. Springer Verlag Berlin, 235-238.

Gaasenbeek M, Howarth K, Rowan AJ, Gorman PA, Jones A, Chaplin T, Ying Liu, Bicknell D, Davison EJ, Fiegler H, Carter NP, Roylance RR, and Tomlinson IPM (2006) Combined Array-Comparative Genomic Hybridization and Single-Nucleotide Polymorphism-Loss of Heterozygosity Analysis Reveals Complex Changes and Multiple Forms of Chromosomal Instability in Colorectal Cancers. *Cancer Res.* 66: (7): 3471-3479.

Gorletta TA, Gasparini P, D'Elios MM, Trubia M, Pelicci PG, Di Fiore PP (2005) Frequent loss of heterozygosity without loss of genetic material in acute myeloid leukemia with a normal karyotype. *Genes Chromosomes Cancer* 44:334-7.

Hasina R, Pontier AL, Fekete MJ, Martin LE, Qi XM, Brigaudeau C, Pramanik R, Cline EI, Coignet LJ, Lingen MW (2006) NOL7 is a nucleolar candidate tumor suppressor gene in cervical cancer that modulates the angiogenic phenotype. *Oncogene* 25: 588-598.

Hitchins MP, Moore GE (2002) Genomic imprinting in fetal growth and development. *Expert Rev Mol Med.* 4(11):1-19.

Honchel R, McDonnell S, Schaid DJ, Thibodeau SN (1996) Tumor necrosis factor-alpha allelic frequency and chromosome 6 allelic imbalance in patients with colorectal cancer. *Cancer Res* 56:145-9.

Hurlin PJ, Jie Huang (2006) The MAX-interacting transcription factor network. *Seminars in Cancer Biology* 16:265-274.

Inoue Y, Miki C, Watanabe H, Ojima E, Kusunoki M (2006) Genomic instability and tissue expression of angiogenic growth factors in sporadic colorectal cancer. *Surgery* 139:305-11

Karjalainen JM, Kellokoski JK, Mannermaa AJ, Kujala HE, Moisio KI, Mitchell PJ, Eskelinen MJ, Alhava EM, Kosma VM (2000) Failure in post-transcriptional processing is a possible inactivation mechanism of AP-2alpha in cutaneous melanoma. *Br J Cancer* 82(12):2015-21.

Killian A, Sarafan-Vasseur N, Sesboüé R, Le Pessot F, Blanchard F, Lamy A, Laurent M, Flaman JM, Frébourg T (2006) Contribution of the BOP1 gene, located on 8q24, to colorectal tumorigenesis. *Genes Chromosomes Cancer* 45:874-81.

Knudson AG (1971) Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Acad Sci USA* 68(4):820-823.

Kralovics R, Guan Y, Prchal JT (2002) Acquired uniparental disomy of chromosome 9p is a frequent stem cell defect in polycythemia vera. *Exp Hematol* 30:229-36.

Kumata M, Shimizu M, Oshimura M, Uchida M, Tsutsui T (2002) Induction of cellular senescence in a telomerase negative human immortal fibroblast cell line, LCS-AF.1-3, by human chromosome 6. *Int J Oncol* 21:851-6.

Li H, Goswami PC, Domann FE (2006) AP-2gamma induces p21 expression, arrests cell cycle, and inhibits the tumor growth of human carcinoma cells. *Oncogene* 25(39):5405-15.

Melcher R, Al-Taie O, Kudlich T, Hartmann E, Maisch S, Steinlein C, Schmid M, Rosenwald A, Menzel T, Scheppach W, Lührs H (2007) SNP-Array genotyping and spectral karyotyping reveal uniparental disomy as early mutational event in CSI- and MSI-colorectal cancer cell lines. *Cytogenet Genome Res* 118(2-4):214-21.

Melcher R, Hartmann E, Zopf W, Herterich S, Wilke P, Müller L, Rosler E, Kudlich T, Al-Taie O, Rosenwald A, Katzenberger T, Scholtka B, Seibold S, Rogoll D, Scheppach W, Scheurlen M, Lührs H. (2011) LOH and copy neutral LOH (cnLOH) act as alternative mechanism in sporadic colorectal cancers with chromosomal and microsatellite instability. *Carcinogenesis*. 2011 Apr;32(4):636-42. Epub 2011 Feb 4.

Menssen A, Epanchintsev A, Lodygin D, Rezaei N, Jung P, Verdoodt B, Diebold J, Hermeking H. (2007) c-MYC Delays Prometaphase by Direct Transactivation of MAD2 and BubR1: Identification of Mechanisms Underlying c-MYC-Induced DNA Damage and Chromosomal Instability. *Cell Cycle* 6:339-352.

Miyamoto N, Yamamoto H, Taniguchi H, Miyamoto C, Oki M, Adachi Y, Imai K, Shinomura Y. (2007) Differential expression of angiogenesis-related genes in human gastric cancers with and those without high-frequency microsatellite instability. *Cancer Lett.* 254:42-53.

Popat S, Stone J, Houlston RS (2003) Allelic imbalance in colorectal cancer at the CRAC1 locus in early-onset colorectal cancer. *Cancer Genet Cytogenet.* 145(1):70-3.

Rader JS, Li Y, Huettner PC, Xu Z, Gerhard DS. (2000) Cervical cancer suppressor gene is within 1 cM on 6p23. *Genes Chromosomes Cancer* 27:373-9.

Raghaven M, Lillington DM, Skoulakis S, Debernardi S, Chaplin T, Foot NJ, Lister TA, Young BD (2005) Genome-wide single nucleotide polymorphism analysis reveals frequent partial uniparental disomie due to somatic recombination in acute myeloid leukemia. *Cancer Res.* 65:375-8.

Ropponen KM, Kellokoski JK, Pirinen RT, Moisio KI, Eskelinen MJ, Alhava EM, Kosma VM (2001) Expression of transcription factor AP-2 in colorectal adenomas and adenocarcinomas; comparison of immunohistochemistry and in situ hybridisation. *J Clin Pathol.* 54(7):533-8.

Seibold S, Rudroff C, Weber M, Galle J, Wanner C, Marx M. (2003) Identification of a new tumor suppressor gene located at chromosome 8p21.3-22. *FASEB J.* 17(9):1180-2

Shih IM, Zhou W, Goodman SN, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. (2001) Evidence that genetic instability occurs at an early stage of colorectal tumorigenesis. *Cancer Res.* 61:818-22.

Teh MT, Blaydon D, Chaplin T, Foot NJ, Skoulakis S, Raghaven M, Harwood CA, Proby CM, Philpott MP, Young BD, Kelsell DP (2005) Genome-wide single nucleotide polymorphism microarray mapping in basal cell carcinomas unveils uniparental disomie as a key somatic event. *Cancer Res;* 65:8597-603.

Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. (1988) Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 319:525-32.

Wang Z, Cummins JM, Shen D, et al. (2004) Three classes of genes mutated in colorectal cancers with chromosomal instability. *Cancer Res.* 64:2998–3001

Wasielewski M, Vasen H, Wijnen J, Hooning M, Dooijes D, Tops C, Klijn JG, Meijers-Heijboer H, Schutte M (2008) CHEK2 1100delC is a susceptibility allele for HNPCC-related colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 14(15):4989-94.

Ye H, Pungpravat N, Huang BL, Muzio LL, Marigiò MA, Chen Z, Wong DT, Zhou X. (2007) Genomic assessments of the frequent loss of heterozygosity region on 8p21.3-p22 in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet.* 176(2):100-6.

Zhao X, Li C, Guillermo Paez J, Chin K, Jänne PA, Chen TH, Girard L, Minna John, Christiani D, C Leo, Gray JW, Sellers WR, Meyerson M. (2004) An integrated view of copy number and allelic alterations in the cancer genome using single nucleotide polymorphism arrays. *Cancer Res.* 64:3060–3071.

Zhou H, Kuang J, Zhong L, et al. (1998) Tumour amplified kinase STK15/BTAK induces centrosome amplification. *Nat Genet* 20:189–93.

8 Anhang

Tabelle 8.1 Übersicht aller signifikanten Regionen in MSI Tumoren

Tumor	Anfang	Ende	Chr.	Chr. Anfang	Chr. Ende	Region	LOH	SPA_n	SPA_pVal	CPA_pVal	
T99	SNP_A-1651998	SNP_A-17366155	88817624	92090288	q13.4-q15	10,83	2,1667797	-0,5301017	0,3418644	SH	
T99	SNP_A-1674617	SNP_A-17090876	82904927	85262432	q14.1-q14.3	10,11	2,3666038	1,105283	0,9928302	SH	
T99	SNP_A-1656531	SNP_A-16963788	84713586	87986456	q21.13-q21.3	11,62	2,1507813	0,4835938	0,5596875	SH	
T25	SNP_A-1661662	SNP_A-16564031	71281972	73890128	p31.1	13,74	2,4880822	1,4564384	2,0465753	SH	
T25	SNP_A-1674523	SNP_A-16599141	84963425	86693277	p22.3	12,86	2,3844118	1,1111765	1,3594118	SH	
T25	SNP_A-1692750	SNP_A-16970343	78747179	81631282	p12.3	11,07	2,36375	0,2578571	0,6392857	SH	
T25	SNP_A-1716625	SNP_A-175563410	25434250	26683539	p12.1	10,98	2,0048077	-1,0967308	-0,6223077	SH	
T32	SNP_A-1755694	SNP_A-16762204	179328737	1,84E+08	q34.3-q35.1	27,72	2,1948227	0,4342624	0,4856028	SH	
T32	SNP_A-1655041	SNP_A-16526008	112241125	1,15E+08	q23.3	10,64	2,1121154	0,1138462	0,2809615	SH	
T55	SNP_A-1671328	SNP_A-17021992	122714470	1,24E+08	q14.3	10,95	2,2986885	0,6996721	0,682623	SH	
T55	SNP_A-1737631	SNP_A-170458511	87107070	88326686	q14.-q14.3	11,04	2,1866667	0,2106349	0,352381	SH	
T59	SNP_A-1665350	SNP_A-17105033	7325877	88266665	p26.1-p25.3	15,54	2,2015854	0,2617073	0,4819512	T	
T59	SNP_A-1722854	SNP_A-17001893	8884647	14655274	p25.3-p25.1	12,44	1,9564474	-0,8027632	-0,7255263	T	
T59	SNP_A-1695107	SNP_A-16561813	20859116	22206148	p24.3	12,76	2,3341936	0,8677419	0,7932258	T	
T59	SNP_A-1644918	SNP_A-16620263	23427114	29367167	p24.3-p24.1	24,2	2,1340426	0,128227	0,1652482	T	
T59	SNP_A-1744169	SNP_A-16911883	30007359	34451270	p24.1-p22.3	10,11	2,3156364	0,6667273	0,7534546	T	
T59	SNP_A-1644478	SNP_A-17308573	35963039	39173944	p22.3-p22.2	12,7	2,0060938	-0,2821875	-0,1270313	T	
T59	SNP_A-1665742	SNP_A-16653986	1730724	5226448	p25.3-p25.1	12,51	2,0043836	-0,4478082	-0,3517808	T	
T59	SNP_A-1752621	SNP_A-16705726	10681024	14986039	p24.2-p23	20,14	1,8843925	-1,0142056	-0,8264486	T	
T59	SNP_A-1687648	SNP_A-16628589	17860918	19042562	p22.2-p22.1	11,37	2,0203279	-0,4163934	-0,2077049	SH	

Tumor	Anfang	Ende	Chr.	Chr. Anfang	Chr. Ende	Region	LOH	SPA_n	SPA_pVal	CPA_pVal
T64	SNP_A-1710289	SNP_A-16491681	185285578	1,87E+08	q31.1	11,36	2,2380392	0,754902	0,825098	SH
T64	SNP_A-1676108	SNP_A-16758262	66804638	67936097	p14	10,27	2,0828302	-0,4160377	0,0430189	SH
T64	SNP_A-1671258	SNP_A-17072392	68890982	84980290	p14-p11.2	73,56	2,1290365	0,0486458	0,1929688	SH
T64	SNP_A-1651512	SNP_A-17218824	40471326	44188960	p14-p13	12,56	1,9325758	-0,5239394	-0,2715152	SH
T64	SNP_A-1648128	SNP_A-16574334	44307737	57634679	p13-q12	38,63	2,1207035	-0,0907035	0,1018593	SH
T64	SNP_A-1735500	SNP_A-16969805	33783344	50266128	p13.1-q11.1	57,03	2,1048746	0,0299661	0,224678	SH
T64	SNP_A-1712211	SNP_A-16973745	50304726	56915780	q11.1-q11.2	32,62	2,1082036	-0,2298802	0,0351497	SH
T64	SNP_A-1729984	SNP_A-17543287	9027706	36090936	p21.3-p14.2	173	2,4436585	1,3655765	1,3850333	SH
T75	SNP_A-1706609	SNP_A-16579904	20279428	24471066	p15.31-p15.2	18,09	2,2411702	0,5020213	0,5005319	SH
T75	SNP_A-1745514	SNP_A-17105987	4247235	8016324	p22.1-p21.3	10,45	2,1086667	0,3028333	0,2585	T
T75	SNP_A-1659358	SNP_A-17261749	28372826	31821043	p21.1	23,87	2,2416667	0,4796212	0,5517424	SH
T75	SNP_A-1693327	SNP_A-164919011	113508557	1,19E+08	q23.2-q23.3	19,18	1,9690099	-0,5568317	-0,2884158	SH
T75	SNP_A-1653116	SNP_A-165406311	119300343	1,3E+08	q23.3-q24.3	34,99	2,0797126	-0,0599425	0,0834483	SH
T75	SNP_A-1642177	SNP_A-174446916	1543577	7170644	p13.3-p13.2	16,76	1,8733721	-0,8301163	-0,632093	SH
T75	SNP_A-1747547	SNP_A-170274518	5223414	8617957	p11.31-p11.22	18,62	2,1301087	-0,051413	-0,0629348	SH
T75	SNP_A-1690513	SNP_A-175867620	6755276	10960899	p12.3-p12.2	32,35	2,082	-0,0347333	-0,0786	SH
T15	SNP_A-1660421	SNP_A-16536903	85431779	87411055	p12.1-p11.2	10,32	2,1195918	0,0769388	0,3110204	SH
T15	SNP_A-1715019	SNP_A-16423695	39448368	40996921	p13.1	12,9	2,106	-0,1255385	0,076	SH
T15	SNP_A-1693106	SNP_A-16740325	111428005	1,13E+08	q22.1-q22.3	16,95	2,1716092	0,0636782	0,5155172	SH
T15	SNP_A-1744979	SNP_A-172850714	37623994	39258637	q21.1	11,23	2,0439655	-0,3748276	-0,0505172	SH
T15	SNP_A-1662560	SNP_A-165977017	47366427	48730410	q21.33-q22	11,23	2,1208772	0,4687719	0,3524561	SH

Tumor	Anfang	Ende	Chr.	Chr. Anfang	Chr. Ende	Region	LOH	SPA_n	SPA_pVal	CPA_pVal
T104	SNP_A-1706219	SNP_A-16574192	80850677	82890223	p12	11,85	2,4634426	1,1178689	1,222623	SH
T104	SNP_A-1697589	SNP_A-17391872	137610524	1,39E+08	q22.1	10,4	2,1622414	0,2817241	0,322931	SH
T104	SNP_A-1747097	SNP_A-17491413	190085709	1,97E+08	q28-q29	22,7	2,125678	0,0992373	0,1912712	SH
T104	SNP_A-1758104	SNP_A-16604895	11072678	13647615	p15.2	13,16	2,1432353	-0,2191177	0,3239706	SH
T104	SNP_A-1684282	SNP_A-16677945	13686968	34653531	p15.2-p13.2	79,64	2,0981683	-0,1130941	0,082104	SH
T104	SNP_A-1737691	SNP_A-17523175	67204002	78635275	q13.1-q14.1	37,2	2,0507071	-0,3213636	-0,0500505	SH
T104	SNP_A-1744135	SNP_A-17224527	54802055	77401375	p11.2-q21.11	27,41	2,0661438	-0,543071	-0,4745752	SH
T104	SNP_A-1690411	SNP_A-17520618	15057445	16454679	p22	13,7	2,5107792	2,0568831	2,1502597	SH
T104	SNP_A-1678782	SNP_A-17582888	51423656	53348271	q11.22-q11.2314,1	2,4446154	1,1413846	1,2004615	1,2004615	SH
T104	SNP_A-1680978	SNP_A-171322311	116727802	1,24E+08	q23.3-q24.2	28,22	2	-0,7955944	-0,2876923	SH
T104	SNP_A-1702405	SNP_A-165081818	57732779	59535960	p21.33	10,56	1,7867347	-1,7536735	-1,8587755	SH
T104	SNP_A-1707419	SNP_A-174837118	67537751	72424285	q22.3-q23	26,95	2,0025466	-0,6804969	-0,3827329	SH
T104	SNP_A-1726540	SNP_A-166811221	16348049	21809641	q21.1	44,01	2,1491667	0,3225439	0,3894298	SH
T104	SNP_A-1733308	SNP_A-172931621	22334020	26774595	q21.1-q21.3	33,25	1,9450581	-0,7343023	-0,5422674	SH
T104	SNP_A-1660399	SNP_A-175385721	26833866	28283501	q21.3	10,77	1,9767241	-0,8796552	-0,6575862	SH
T104	SNP_A-1667548	SNP_A-171084221	28311753	38043518	q21.3-q22.13	52,52	2,0351301	-0,6647955	-0,125948	SH
T109	SNP_A-1703239	SNP_A-16935612	53744942	56054649	p16.2-p16.1	16,12	2,0719277	-0,0296386	0,0546988	SH
T109	SNP_A-1754538	SNP_A-16444884	142771255	1,45E+08	q31.21	10,7	2,2608333	0,851	0,9311667	T
T109	SNP_A-1732361	SNP_A-17224604	156665049	1,6E+08	q32.1	17,83	2,3063	0,8888	0,9113	T
T109	SNP_A-1665074	SNP_A-16828884	164314538	1,67E+08	q32.2-q32.3	13,52	2,2467568	0,4575676	0,5610811	T
T109	SNP_A-1697042	SNP_A-16586844	167192951	1,69E+08	q32.3	10,82	2,3921212	0,7104546	0,8225758	T
T109	SNP_A-1672850	SNP_A-16575804	172921974	1,76E+08	q34.1	11,39	2,3536508	0,9090476	0,8538095	T
T109	SNP_A-1739651	SNP_A-17176774	176935240	1,79E+08	q34.2-q34.3	10,44	2,6310345	0,5044828	0,4965517	T

Tumor	Anfang	Ende	Chr.	Chr. Anfang	Chr. Ende	Region	LOH	SPA_n	SPA_pVal	CPA_pVal
T109	SNP_A-1696442	SNP_A-17495075	128674294	1,32E+08	q23.2-q31.1	11,07	2,2086539	0,7357692	0,8282692	SH
T109	SNP_A-1732443	SNP_A-16975796	970503	4193931	p25.3-p25.1	11,4	2,0516418	-0,4319403	-0,2804478	T
T109	SNP_A-1744581	SNP_A-17375096	7545468	9837105	p24.3	12,35	2,06	-0,1213115	0,1639344	T
T109	SNP_A-1685862	SNP_A-16617026	12873311	15805561	p24.1-p22.3	14,33	1,9132	-0,7477333	-0,6714667	T
T109	SNP_A-1680584	SNP_A-16706267	125061440	1,26E+08	q31.33	12,51	2,30875	0,7633929	0,7323143	SH
T109	SNP_A-1729376	SNP_A-165865211	102606657	1,03E+08	q22.3	10,32	2,2828	1,2298	1,0628	SH
T109	SNP_A-1698903	SNP_A-172568213	18321079	21910480	q11-q12.11	13,74	2,0625301	-0,166747	-0,1210482	T
T109	SNP_A-1706931	SNP_A-165023413	25903691	30619220	q12.13-q12.3	20,82	2,1133607	0,1729508	0,2257377	T
T109	SNP_A-1676746	SNP_A-174796513	32842576	35607000	q13.1-q13.3	13,5	2,138052	0,2354546	0,2206494	T
T109	SNP_A-1689388	SNP_A-170135313	36164928	37698265	q13.3	11,25	2,2822857	0,5905714	0,5561429	T
T109	SNP_A-1702305	SNP_A-174427713	52884157	55906598	q21.1	12,53	2,3345714	0,8785714	0,9238571	T
T109	SNP_A-1744507	SNP_A-166497413	58396330	60357645	q21.2	12,04	2,1281159	0,2007246	0,2178261	T
T109	SNP_A-1647492	SNP_A-166073713	68667704	71199633	q21.33	11,25	2,4758108	1,3577073	1,3291892	T
T109	SNP_A-1715885	SNP_A-164769613	71266465	74150663	q21.33-q22.1	17,83	2,2746	0,6423	0,6893	T
T109	SNP_A-1648220	SNP_A-169182213	105193994	1,07E+08	q33.2-q33.3	11,3	2,2635185	0,8985185	0,9311111	T
T122	SNP_A-1726176	SNP_A-171648310	66140383	67337890	q21.3	10,62	1,9787037	-0,5507407	-0,2051852	SH
T122	SNP_A-1714667	SNP_A-174720311	45836686	56906803	p11.2-q12.1	16,99	2,0395	-0,5385	-0,0553	SH
T126	SNP_A-1656173	SNP_A-16795166	69178575	70852176	q12-q13	12,43	2,1731746	0,1074603	0,3241698	SH
T126	SNP_A-1730086	SNP_A-16852106	144642577	1,47E+08	q24.2-q24.3	13,8	2,1095082	0,0214754	0,1901639	SH
T126	SNP_A-1657756	SNP_A-16650687	107364575	1,09E+08	q31.1	11,45	2,1177049	0,2755738	0,5086885	SH
T126	SNP_A-1668482	SNP_A-171157410	25068617	25945882	p12.1	11,07	2,08875	-0,145625	-0,010625	SH

Tumor	Anfang	Ende	Chr.	Chr. Anfang	Chr. Ende	Region	LOH	SPA_n	SPA_pVal	CPA_pVal
T131	SNP_A-1685026	SNP_A-16425291	80081310	81293894	p31.1	10,88	1,9977551	0,0042857	-0,0483674	SH
T131	SNP_A-1759019	SNP_A-17471836	92951742	98879689	q16.1-q16.2	33,11	2,1852071	0,4442012	0,4631953	SH
T131	SNP_A-1708258	SNP_A-17363238	89180937	90610612	q21.3	10,38	2,0624528	0,0443396	0,1041509	SH
T131	SNP_A-1715697	SNP_A-175563410	25674545	26683539	p12.1	11,15	2,0302041	-0,2957143	-0,1810204	SH
T181	SNP_A-1687780	SNP_A-16959476	123962271	1,26E+08	q22.31	12,56	2,1728333	0,3595	0,5221667	SH
T186	SNP_A-1699255	SNP_A-16628783	163103131	1,65E+08	q26.1	12,64	2,5782813	2,3996875	2,3267188	SH
T186	SNP_A-1756266	SNP_A-17204596	9061356	11768231	p24.3-p24.1	11,8	1,9276563	-0,5604688	-0,5140625	T
T186	SNP_A-1704197	SNP_A-16856246	33009912	39057072	p21.32-p21.2	17,03	1,7955208	-1,2079167	-1,2189583	T
T186	SNP_A-1695627	SNP_A-16562316	40165957	45850484	p21.2-p12.3	15,67	1,9319277	-0,3619277	-0,3880723	T
T186	SNP_A-1731443	SNP_A-170512511	103723263	1,05E+08	q22.3	10,18	2,2383673	0,6271429	0,6291837	SH
HCT 116	SNP_A-1741771		3	258039	9814182	p26.3-p253	68,08	2,2523117	0,3382078	0,7921299
HCT 116	SNP_A-1693359		3	10286773	26944532	p25.3-p24.1	60,69	2,2118873	0,3668732	0,5719437
HCT 116	SNP_A-1694087		3	26959864	34828660	p24.1-p22.3	27,19	2,2682432	0,1945946	0,6081757
HCT 116	SNP_A-1688260		3	35068906	53921874	p22.3-p2.1	42,04	2,120241	-0,2810442	-0,0597189
HCT 116	SNP_A-1682530		5	1677351	6957118	p15.33-p15.31	19,2	2,1548113	-0,6926415	0,1953774
HCT 116	SNP_A-1709223		5	6966745	14190691	p15.31-p15.2	37,53	2,141789	-0,1744037	0,0844037
HCT 116	SNP_A-1741015		5	14316981	39515100	p15.2-p13.1	85,34	2,285604	0,7759604	0,9488515
HCT 116	SNP_A-1684020		5	39728089	50266128	p13.1-q11.1	25,95	2,1939597	0,6072483	0,8155705
HCT 116	SNP_A-1678414		7	1307029	9342929	p22.3-p21.3	31,83	2,1791758	0,1782967	0,6673077
HCT 116	SNP_A-1709593		7	9360776	11068949	p21.3	11,98	2,3039706	0,6658824	0,89
HCT 116	SNP_A-1644308		7	11529814	14814769	p21.3-p21.2	27,06	2,287047	0,3592617	0,6771141

Tumor	Anfang	Ende	Chr.	Chr. Anfang	Chr. Ende	Region	LOH	SPA_n	SPA_pVal	CPA_pVal
HCT 116	SNP_A-1657494		7	14815847	16929277	p21.2-p21.1	12,06	2,1611688	-0,3520779	0,7402597
HCT 116	SNP_A-1682332		7	16958662	27295483	p21.1-p15.2	56,45	2,2196429	0,1622917	0,4359226
HCT 116	SNP_A-1684992		21	24643456	26415397	q21.2-q21.3	11,64	1,9487302	-1,2730159	-1,0053968
LOVO	SNP_A-1516336		2	157739	2,41E+08	p25.3-q37.3	154,7	2,1786347	-0,0070539	0,7251018
LOVO	SNP_A-1516063		9	239391	31194481	p24.3-21.1	34,34	2,3776289	1,1938144	3,4171134
HCT 15	SNP_A-1514364		5	79207892	1,8E+08	q14.1-q35.3	76,63	2,1224821	0,1861098	1,8510979
HCT 15	SNP_A-1516063		9	239391	35339764	p24.3-13.1	39,32	2,2591284	0,9614679	2,7926606
HCT 15	SNP_A-1513100		14	33696953	1,06E+08	q31.1-q32.33	51,34	2,0151601	-0,351815	-0,6538078

Abbildung 8.1 Ergebnisse des direkten Vergleichs der MSI Tumore

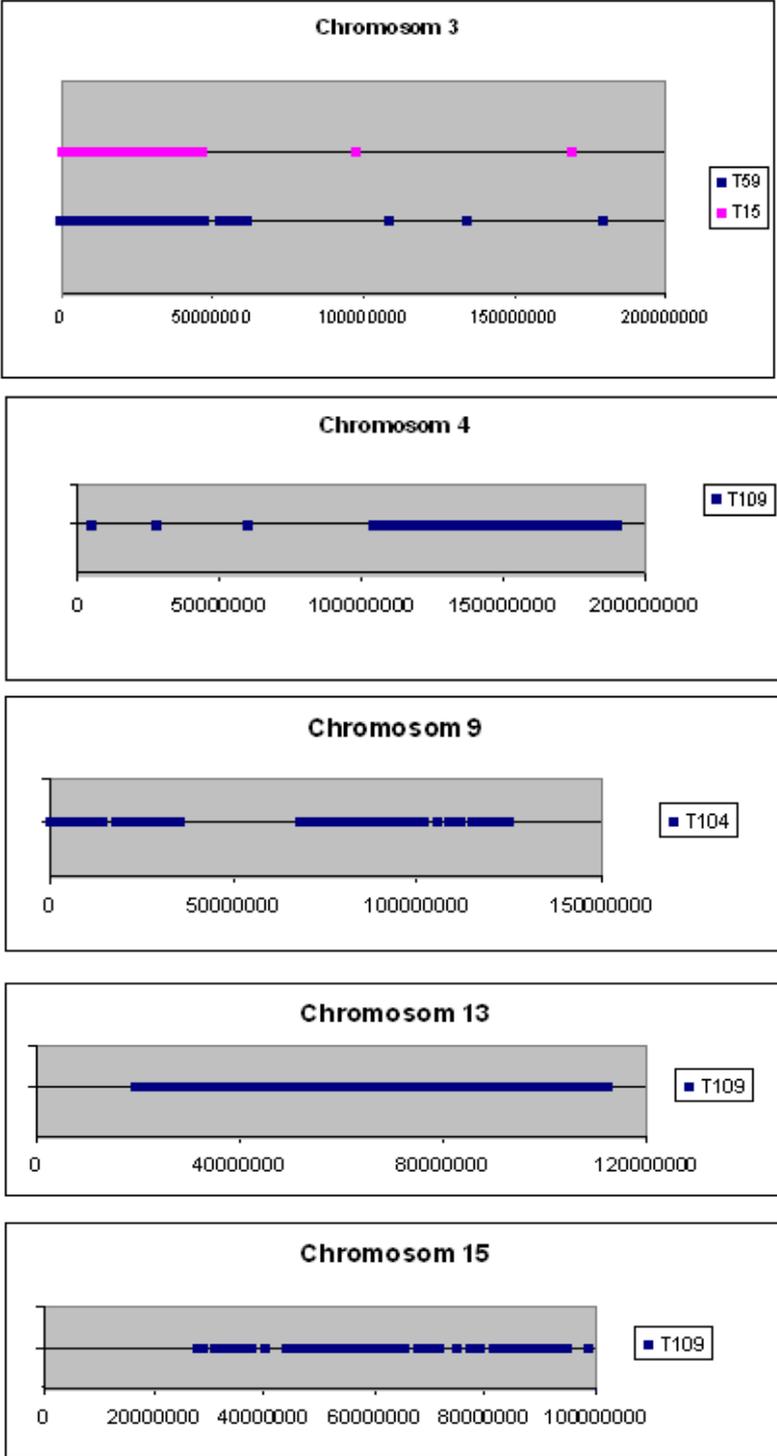


Tabelle 8.2 Übersicht der LOH Regionen in CSI Tumoren

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH	SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 01	1	SNP_A-1654281	SNP_A-1649182	81865449	83532769	p31.1	15,2	2,2729578	0,65619718	0,8323944	SH
T 01	3	SNP_A-1743071	SNP_A-1728149	83181763	86003512	p12.2-12.1	10,1	1,8634694	-1,7367347	-1,65	SH
T 01	7	SNP_A-1692798	SNP_A-1664532	1,17E+08	1,21E+08	q31.31-31.32	18,9	2,7486	2,7529	3,0644	SH
T 123	4	SNP_A-1720821	SNP_A-1701109	80899706	83878052	q21.2	12,8	1,9804478	-0,4546269	-0,1325373	SH
T 123	5	SNP_A-1710826	SNP_A-1732229	1,28E+08	1,29E+08	q23.3	10,4	2,0198113	-0,155283	-0,0184906	SH
T 123	8	SNP_A-1717903	SNP_A-1659882	1,08E+08	1,1E+08	q23.1	10,3	2,6352727	2,01836364	2,0421818	SH
T 123	18	SNP_A-1744287	SNP_A-1704777	55508004	57544970	q21.3	10,1	1,4686885	-3,5360656	-3,5483607	SH
T 123	21	SNP_A-1728043	SNP_A-1660589	15863176	17141890	q21.1	10,4	2,0618868	-0,0435849	-0,0028302	SH
T 127	1	SNP_A-1652964	SNP_A-1713928	1,1E+08	1,12E+08	p13.3-13.2	10,1	2,2204082	-0,7504082	0,3338776	SH
T 127	5	SNP_A-1698555	SNP_A-1645214	99684580	1,03E+08	q21.1	12,7	1,7192105	-2,8884211	-2,9922368	T
T 127	7	SNP_A-1689985	SNP_A-1739849	1,26E+08	1,26E+08	q31.33	11,4	2,1172727	-0,4152727	0,3816364	SH
T 127	10	SNP_A-1742081	SNP_A-1742307	56568428	58501127	q21.1	13,5	1,913718	-1,9562821	-0,7207692	SH
T 127	11	SNP_A-1750451	SNP_A-1657908	1,13E+08	1,15E+08	q23.1-	11,5	2,3121875	0,54359375	0,5435938	T
T 127	11	SNP_A-1689398	SNP_A-1680666	1,21E+08	1,24E+08	bis q24.2	11,8	2,2875	0,39352941	0,7936765	T
T 127	12	SNP_A-1660889	SNP_A-1746765	39713431	41213352	q12	10,1	2,1164815	-0,4883333	-0,1016667	SH
T 127	14	SNP_A-1669217	SNP_A-1669489	64839170	68033499	q23.3-24.1	10,4	1,7550848	-2,7813559	-2,4091525	T
T 127	18	SNP_A-1668092	SNP_A-1679628	64766169	66148264	q22.2	11,2	1,9072881	-1,3401695	-1,1825424	T
T 132	1	SNP_A-1669633	SNP_A-1747179	1,56E+08	1,57E+08	q23.3	10,6	2,1596	0,0172	0,1208	SH
T 132	1	SNP_A-1666892	SNP_A-1663986	1,91E+08	2,16E+08	q31.2-q41	106	2,1191123	-0,2151993	0,0288406	SH
T 132	5	SNP_A-1757619	SNP_A-1750349	85703846	88697350	q14.3	15,9	1,5940741	-3,0649383	-2,8916049	SH
T 132	5	SNP_A-1758544	SNP_A-1688350	1,07E+08	1,11E+08	q21.3-q22.1	18,3	1,9608824	-1,1882353	-0,7684314	SH
T 132	6	SNP_A-1699051	SNP_A-1663600	25841537	29850825	p22.2-22.1	10,9	2,2233333	0,56070175	0,3875439	SH

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH	SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 132	8	SNP_A-1752649	SNP_A-1692068	83880527	85946905	q21.1-q21.2	10,6	2,5001563	2,34890625	2,2107813	SH
T 132	10	SNP_A-1681962	SNP_A-1686360	1654242	8714527	p15.3-	31,2	2,0975	-0,4595395	-0,1184868	SH
T 132	10	SNP_A-1643806	SNP_A-1707545	8736452	10710236	bis p14	18,6	1,8773034	-2,2308989	-1,3783146	SH
T 132	10	SNP_A-1720615	SNP_A-1689580	56674869	60373036	q21.1	22,2	2,0694167	-0,5808333	-0,3325833	SH
T 132	10	SNP_A-1648030	SNP_A-1749663	90542976	92253357	q23.3	11,1	2,0320968	-0,4862903	-0,056129	T
T 132	11	SNP_A-1739191	SNP_A-1711254	83931222	85793665	q14.1	10,5	2,0933962	-0,1150943	0,3075472	SH
T 132	12	SNP_A-1647812	SNP_A-1675586	93683	9555619	p13.3-	31,8	1,9657669	-1,5149693	-1,1274233	SH
T 132	12	SNP_A-1673688	SNP_A-1661376	9628505	16527610	bis p12.3	32,5	2,0180925	-1,1395376	-0,4234104	SH
T 132	15	SNP_A-1641829	SNP_A-1743189	88953349	92708692	q26.1-26.2	14,3	1,6998667	-3,0861333	-2,9905333	SH
T 132	16	SNP_A-1683390	SNP_A-1729718	49460830	52971785	q12.1-12.2	22	2,3923529	0,94336134	1,0960504	SH
T 132	17	SNP_A-1755870	SNP_A-1724264	27354222	29857275	q11.2-12	10	2,0973077	-0,5159615	-0,3623077	SH
T 143	1	SNP_A-1642881	SNP_A-1746196	71031502	73577300	p31.1	13,6	2,0956944	0,07222222	0,2176389	SH
T 143	2	SNP_A-1649632	SNP_A-1664636	2,25E+08	2,27E+08	q36.1-q36.2	10	2,0164	-0,2036	-0,1092	T
T 143	4	SNP_A-1751607	SNP_A-1740061	1,37E+08	1,39E+08	q28.3	11,6	1,9826984	-0,3901587	-0,4388889	T
T 143	5	SNP_A-1758585	SNP_A-1662830	1,64E+08	1,68E+08	q34-q35.1	15,3	2,1101205	0,15024096	0,1766265	T
T 143	6	SNP_A-1731075	SNP_A-1713572	9406961	12916270	p24.3-24.1	14,8	2,0335803	-0,2039506	-0,022963	T
T 143	8	SNP_A-1670784	SNP_A-1738228	82009237	83887631	q21.1	10,3	2,7468519	2,16537037	2,1781482	SH
T 143	10	SNP_A-1744047	SNP_A-1743051	28237295	29609361	p11.23	10,2	1,9598113	-0,6333962	-0,3403774	SH
T 143	13	SNP_A-1684982	SNP_A-1713147	49643972	52957117	q14.3-21.2	11,7	2,4707246	1,52304348	1,6044928	T
T 143	18	SNP_A-1674233	SNP_A-1672024	61742129	63659569	q22.1	11,4	1,4536667	-3,066	-3,2976667	T
T 167	4	SNP_A-1751739	SNP_A-1665766	1,67E+08	1,69E+08	q32.3	11,2	1,6624615	-2,0181539	-1,9481539	SH
T 167	5	SNP_A-1693062	SNP_A-1758875	2276959	16709803	p15.3-15.1	78,1	2,3176142	0,85345178	0,9513452	SH

Tumor Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH	SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 167 5	SNP_A-1695507	SNP_A-1676126	60940318	76524054	q12.1-14.1	52,5	2,0694424	-0,4143866	-0,2663569	SH
T 167 5	SNP_A-1705221	SNP_A-1750349	76557624	88697350	q14.1-14.3	60,8	2,1097468	-0,2385127	-0,0799367	SH
T 167 5	SNP_A-1670638	SNP_A-1749605	95847073	97677592	q15-21.1	10,8	1,8707018	-1,4489474	-1,5452632	SH
T 167 5	SNP_A-1651542	SNP_A-1757605	1,41E+08	1,44E+08	q31.1-	19,5	2,0558163	-0,4213265	-0,2189796	SH
T 167 5	SNP_A-1719933	SNP_A-1690990	1,45E+08	1,51E+08	>	33,5	2,2612791	0,56430233	0,6901163	SH
T 167 5	SNP_A-1747031	SNP_A-1736743	1,51E+08	1,53E+08	>	12,2	1,8951613	-1,3395161	-1,0372581	SH
T 167 5	SNP_A-1692146	SNP_A-1731833	1,53E+08	1,55E+08	q33.2	12,2	2,0881667	-0,4966667	-0,7586667	SH
T 167 7	SNP_A-1656241	SNP_A-1681648	1,31E+08	1,36E+08	q32.3-	32,1	2,5638889	2,1811111	1,9665432	SH
T 167 7	SNP_A-1656259	SNP_A-1687956	1,36E+08	1,5E+08	bis q36.1	60,1	1,8733779	-1,7382943	-1,3364214	SH
T 167 11	SNP_A-1695865	SNP_A-1756409	23482514	25602443	p14.3	13,3	2,1685526	0,48171053	0,3913158	SH
T 167 11	SNP_A-1670059	SNP_A-1684790	31117811	35546863	p13-	25	2,4373729	0,84567797	0,9583051	SH
T 167 11	SNP_A-1661934	SNP_A-1664204	35580572	49207895	bis p11.1	48,7	2,2632443	0,34484733	0,4443893	SH
T 167 11	SNP_A-1691208	SNP_A-1740745	55998837	59571715	q12.1	11,8	2,4164179	1,25208955	1,8656716	SH
T 167 11	SNP_A-1731741	SNP_A-1704585	69677281	88326686	q13.3-14.3	90	2,6796304	2,73941304	2,7961522	SH
T 167 11	SNP_A-1719161	SNP_A-1688982	88700283	94779933	q14.3-q21	37,6	2,7715957	2,7412766	2,728617	SH
T 167 12	SNP_A-1666544	SNP_A-1738785	1,04E+08	1,07E+08	q23.3	12	2,2773333	0,62333333	0,5745	SH
T 167 13	SNP_A-1734398	SNP_A-1689835	95907241	1,11E+08	q32.1-q34	83,8	3,241789	5,66963303	5,6964908	SH
T 167 16	SNP_A-1708755	SNP_A-1652582	51005605	55844519	q12.1-13	20,3	2,9538235	3,84754902	4,4043137	SH
T 167 16	SNP_A-1667784	SNP_A-1716563	58075565	62321023	q21	23,3	1,7761157	-2,0587603	-1,9941322	SH
T 167 18	SNP_A-1651756	SNP_A-1719661	40883065	45572501	q12.3-21.1	17,7	6,28	17,2149438	16,981461	T
T 168 2	SNP_A-1655777	SNP_A-1750587	56527722	58696434	p16.1	16	2,1358974	0,17166667	0,3524359	SH
T 168 3	SNP_A-1705709	SNP_A-1661988	1,09E+08	1,11E+08	q13.1	12,3	1,5294118	-3,4419118	-3,3597059	T
T 168 5	SNP_A-1742731	SNP_A-1668538	1,2E+08	1,22E+08	q23.1	11,5	2,1511864	0,21084746	0,3045763	T

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH	SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 168	5	SNP_A-1696442	SNP_A-1660569	1,29E+08	1,34E+08	q23.3-q31.1	15	2,1081333	-0,2261333	-0,1270667	T
T 168	5	SNP_A-1661600	SNP_A-1679278	1,53E+08	1,63E+08	q33.2-q34	56	2,2392308	0,3368881	0,4362937	SH
T 168	10	SNP_A-1721468	SNP_A-1747705	57240813	58623771	q21.1	10,1	1,4456452	-3,2443548	-3,1290323	T
T 168	12	SNP_A-1700670	SNP_A-1694275	69277604	70940980	q15-21.1	13,4	2,2463889	0,8166667	0,7854167	SH
T 170	3	SNP_A-1652666	SNP_A-1738096	4505992	5949837	p26.2-26.1	11,5	1,6402899	-2,3808696	-2,2798551	T
T 170	3	SNP_A-1676724	SNP_A-1748383	22566057	24517532	p24.3-24.2	11	1,9880392	-0,6762745	-0,62	SH
T 170	5	SNP_A-1644494	SNP_A-1643930	1,25E+08	1,26E+08	q23.2	12,7	2,0935088	-0,1359649	0,0242105	SH
T 170	5	SNP_A-1692604	SNP_A-1683886	1,3E+08	1,45E+08	q23.2-	51,9				T
T 170	5	SNP_A-1741465	SNP_A-1646676	1,45E+08	1,48E+08		17,9				T
T 170	5	SNP_A-1742317	SNP_A-1736743	1,48E+08	1,53E+08		24,2	2,0173959	-0,2547121	-0,1325066	T
T 170	5	SNP_A-1652694	SNP_A-1750953	1,53E+08	1,58E+08		33				T
T 170	5	SNP_A-1750795	SNP_A-1750745	1,58E+08	1,8E+08	bis q35.2	87,7				T

Tumor Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH	SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 170 8	SNP_A-1750781	SNP_A-1684988	2940819	4802808	p23.2	21,7				T
T 170 8	SNP_A-1719873	SNP_A-1734678	5316404	6377122	p23.2-p23.1	12,6				T
T 170 8	SNP_A-1643886	SNP_A-1744473	13908434	14743184	p22	12,3				T
T 170 8	SNP_A-1726978	SNP_A-1696324	14817914	16758568	p22	17,4				T
T 170 8	SNP_A-1675898	SNP_A-1738651	17080632	21023988	p22-p21.3	22,1				T
T 170 8	SNP_A-1735987	SNP_A-1656811	21282850	27664674	p21.3	28,3				T
T 170 8	SNP_A-1693575	SNP_A-1661368	27668684	31086911	bis p12	15,5				T
T 170 8	SNP_A-1755766	SNP_A-1739645	32177353	37456249	p12	22				T
T 170 8	SNP_A-1662964	SNP_A-1670900	40204427	51907361		20,3				T
T 170 8	SNP_A-1673594	SNP_A-1698823	53532128	57865413		16,9				T
T 170 8	SNP_A-1700464	SNP_A-1758394	61126661	63837716		13,8				T
T 170 8	SNP_A-1748659	SNP_A-1650238	64947590	70758676		16,7				T
T 170 8	SNP_A-1645136	SNP_A-1663938	75430271	79623737		21,8	2,4802601	1,50004676	1,4941672	T
T 170 8	SNP_A-1678510	SNP_A-1724740	79680931	83850516		17,4				T
T 170 8	SNP_A-1722212	SNP_A-1717947	89276696	94465624		28,4				T
T 170 8	SNP_A-1733618	SNP_A-1748555	98456616	1,05E+08		21,6				T
T 170 8	SNP_A-1756557	SNP_A-1747809	1,06E+08	1,08E+08		11,6				T
T 170 8	SNP_A-1742407	SNP_A-1708156	1,1E+08	1,15E+08		22,1				T
T 170 8	SNP_A-1693907	SNP_A-1675273	1,17E+08	1,19E+08		14,2				T
T 170 8	SNP_A-1716589	SNP_A-1717321	1,23E+08	1,28E+08		12,3				T
T 170 8	SNP_A-1755082	SNP_A-1700237	1,28E+08	1,3E+08		11,5				T
T 170 8	SNP_A-1720101	SNP_A-1713047	1,31E+08	1,33E+08		12,4				T
T 170 8	SNP_A-1649942	SNP_A-1747161	1,34E+08	1,38E+08		14,4				T
T 170 8	SNP_A-1658092	SNP_A-1695955	1,38E+08	1,44E+08	bis q24.3	19,1				T

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH	SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 170	10	SNP_A-1662656	SNP_A-1750083	66749073	67838960	q21.3	10,6	1,978	-0,3703333	-1,6416667	SH
T 170	15	SNP_A-1643497	SNP_A-1691666	27928636	32431935	q13.1-	18,1				T
T 170	15	SNP_A-1679938	SNP_A-1729668	32724681	34443995		12,8	1,6162963	-2,4550451	-2,4577778	T
T 170	15	SNP_A-1660335	SNP_A-1678094	36770425	44858824		30,9				T
T 170	15	SNP_A-1713215	SNP_A-1660071	44892737	69653762	bis q23	113				SH
T 170	15	SNP_A-1653694	SNP_A-1649284	76893275	79026767	q25.1	12,5				T
T 170	15	SNP_A-1698899	SNP_A-1728233	83825288	85788521	q25.3-	13,1	1,6275615	-2,1721029	-2,2105369	T
T 170	15	SNP_A-1717185	SNP_A-1727943	86418725	93728732		28				T
T 170	15	SNP_A-1751233	SNP_A-1715425	94456392	1E+08	bis q26.3	13,5				T
T 170	17	SNP_A-1692698	SNP_A-1653568	451209	12530152	p13.3-p12	27	1,6046479	-2,7059155	-2,6339437	T
T 170	18	SNP_A-1704345	SNP_A-1693709	405401	6903016	p11.32-p11.31	30,1				T
T 170	18	SNP_A-1730925	SNP_A-1738477	9230413	13454437	p11.22-p11.21	13,9				T
T 170	18	SNP_A-1663846	SNP_A-1686228	16836580	25107938	q11.1-	26,7				T
T 170	18	SNP_A-1694453	SNP_A-1694001	26230812	28542164		16,9				T
T 170	18	SNP_A-1726904	SNP_A-1730371	28937920	34478213		22,1				T
T 170	18	SNP_A-1686434	SNP_A-1657197	34488202	36575700	bis q12.3	10,3	1,6281437	-2,2595863	-2,2522156	T
T 170	18	SNP_A-1709613	SNP_A-1679578	36589301	40307308	q12.3-	19				T
T 170	18	SNP_A-1683260	SNP_A-1719661	40366783	45572501		20,4				T
T 170	18	SNP_A-1713257	SNP_A-1642789	45666168	56010046	bis q21.32	50,9				T
T 170	18	SNP_A-1677564	SNP_A-1720033	58424668	69397065	q21.33-	65,9				T
T 170	18	SNP_A-1672606	SNP_A-1711154	70610211	75586155	bis q23	16				T
T 170	22	SNP_A-1660343	SNP_A-1731229	28675792	35179861	q12.2-	14,6	1,6161404	-2,3261988	-2,3521637	T
T 170	22	SNP_A-1725944	SNP_A-1671182	35396435	47830403	bis q13.32	14,6				T

Tumor Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH	SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 172 2	SNP_A-1656005	SNP_A-1728105	40451545	41766534	p22.1-p21	10,6	2,0818	1,1152	1,1334	SH
T 172 2	SNP_A-1670706	SNP_A-1743041	1,34E+08	1,44E+08	q21.2-q22.2	52	2,2211458	0,44225694	0,5084028	SH
T 172 5	SNP_A-1731149	SNP_A-1686060	1,4672299	16704045	p15.2-15.1	10,9	2,0695	-0,239	-0,1588333	SH
T 172 5	SNP_A-1689879	SNP_A-1712985	90183692	94278617	q14.3-15	12,7	1,4122222	-4,34	-4,3383333	T
T 172 5	SNP_A-1727138	SNP_A-1674181	1,15E+08	1,18E+08		14,1	3,0418056	3,52902778	3,2005556	T
T 172 5	SNP_A-1654407	SNP_A-1656413	1,18E+08	1,2E+08	q23.1	11,9	2,675614	1,84912281	1,6321053	T
T 172 5	SNP_A-1734594	SNP_A-1735895	1,26E+08	1,29E+08	q23.2-q23.3	19,8	1,9409	-0,7324	-0,65	T
T 172 5	SNP_A-1750477	SNP_A-1739581	1,35E+08	1,37E+08	q31.1-q31.2	10,7	2,2203509	0,07175439	0,0282456	T
T 172 5	SNP_A-1751911	SNP_A-1744933	1,42E+08	1,44E+08	q31.1-q32	10,8	1,8989474	-0,795614	-0,7714035	T
T 172 5	SNP_A-1669063	SNP_A-1667608	1,54E+08	1,58E+08	q33.2-q33.3	20,9	1,9614159	-0,7059292	-0,1468142	T
T 172 5	SNP_A-1669937	SNP_A-1751259	1,6E+08	1,62E+08	q34	12,9	2,0178261	-0,2008696	-0,1505797	T
T 172 6	SNP_A-1734416	SNP_A-1663712	1,3023403	15872617	p24.1-p22.3	14	1,731	-2,1475714	-2,0414286	T
T 172 6	SNP_A-1751939	SNP_A-1665226	1,9628883	22183241	p22.3	11,2	1,7584849	-1,3316667	-1,3934849	T
T 172 6	SNP_A-1649096	SNP_A-1700678	40724844	46334203	p21.1-12.3	13,2	1,7823611	-1,2776389	-1,31125	T
T 172 6	SNP_A-1742191	SNP_A-1676858	53578630	55607667	p12.1	12,1	1,6802941	-1,69	-1,7676471	T
T 172 8	SNP_A-1721283	SNP_A-1754404	3012902	4358793	p23.2-	12,1	1,7366154	-1,4403077	-1,4227692	T
T 172 8	SNP_A-1737611	SNP_A-1646086	5358347	8161734	bisp23.1	16,2	1,7804546	-1,3592046	-1,4619318	T
T 172 8	SNP_A-1665590	SNP_A-1677438	1,3360354	14563853	p22	11,4	1,7673611	-1,5988889	-1,635	T
T 172 8	SNP_A-1665564	SNP_A-1738329	1,9664031	22314082	p21.3	12,5	1,8018182	-1,6678788	-1,5292424	T
T 172 8	SNP_A-1687006	SNP_A-1730727	35355776	40603396	p12-11.2	15	1,6146429	-2,8279762	-2,8729762	T
T 172 8	SNP_A-1738817	SNP_A-1650026	52410336	55651594	q11.2-	12,4	1,7884615	-1,6698462	-1,5923077	T
T 172 8	SNP_A-1677448	SNP_A-1747983	58879863	61223406	>	11,4	1,6885714	-1,5907937	-1,6465079	T
T 172 8	SNP_A-1674965	SNP_A-1659965	65270491	70177530	>	12,3	1,7045833	-1,6906944	-1,6570833	T
T 172 8	SNP_A-1650778	SNP_A-1747997	73002420	75429234	>	15,3	1,8536709	-1,4149367	-1,5843038	T

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 172	8	SNP_A-1728139	SNP_A-1740881	77323739	82168686	bis q21.1	21	1,71825	-1,8129167	-1,7525 T
T 172	8	SNP_A-1659062	SNP_A-1698687	1,08E+08	1,11E+08	q23.1-	12	1,7922581	-1,5264516	-1,0825807 T
T 172	8	SNP_A-1756729	SNP_A-1747905	1,11E+08	1,14E+08		12	1,7189394	-1,934697	-1,8704546 T
T 172	8	SNP_A-1696860	SNP_A-1720737	1,17E+08	1,2E+08		12	1,9059375	-0,9892188	-0,898125 T
T 172	8	SNP_A-1648564	SNP_A-1728505	1,25E+08	1,28E+08	bis q24.2	13	1,7092	-2,0713333	-1,9454667 T
T 172	8	SNP_A-1726784	SNP_A-1734508	1,37E+08	1,4E+08	q24.2	17	1,8562245	-1,1079592	-1,0869388 T
T 172	9	SNP_A-1704121	SNP_A-1758098	2167391	4134958	p24.2	14	1,7388608	-1,9143038	-1,8951899 T
T 172	9	SNP_A-1653148	SNP_A-1737870	7828621	10067307	p24.1-	19	1,9154839	-0,8749462	-0,8115054 T
T 172	9	SNP_A-1716217	SNP_A-1708200	11005952	12662275	bis p23	11	1,7069841	-1,612381	-1,7293651 T
T 172	9	SNP_A-1690001	SNP_A-1650516	20487142	23174281	p21.3	13	1,6714085	-2,2050704	-2,1392958 T
T 172	17	SNP_A-1679460	SNP_A-1757795	3157118	11265025	p13.3-12	19	1,7280583	-1,9713592	-1,7743689 T
T 172	17	SNP_A-1735046	SNP_A-1729536	24399965	30798272	q11.2-12	18	2,2226042	0,2871875	0,3845833 T
T 172	17	SNP_A-1752447	SNP_A-1723926	47097141	50618206	q21.3-	24	2,1628926	0,3286777	0,453719 SH
T 172	17	SNP_A-1656431	SNP_A-1686264	50660240	54881493	bis q22	12	2,1514286	-0,0368254	-0,0415873 T
T 172	17	SNP_A-1713209	SNP_A-1753133	57230707	64624957	q23.2-	13	2,1173016	-0,1496825	-0,0812698 T
T 172	17	SNP_A-1703003	SNP_A-1755526	66633015	78181864	bis q25.3	19	2,2828571	0,6889011	0,6654945 T
T 172	18	SNP_A-1713175	SNP_A-1642815	22791652	26107481	q11.2-12.1	15	1,7902353	-1,3885882	-1,39 T
T 172	18	SNP_A-1659977	SNP_A-1653556	36271855	38015340	q12.3	10	1,697037	-1,6627778	-1,5866667 T
T 172	18	SNP_A-1735300	SNP_A-1743531	50246338	52818025	q21.2-21.3	11	1,7518033	-1,7291803	-1,7531148 T
T 172	18	SNP_A-1720001	SNP_A-1727289	57141511	61129618	q21.3-22.1	22	1,72	-1,9927027	-2,0500901 T
T 179	8	SNP_A-1746905	SNP_A-1655661	1,35E+08	1,4E+08	q24.2	25	2,2945185	0,7874815	0,8161482 SH
T 179	18	SNP_A-1663246	SNP_A-1651806	33932709	35844482	q12.2-q12.3	12	1,7408197	-1,3545902	-1,3822951 SH

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 182	5	SNP_A-1680380	SNP_A-1719357	1,23E+08	1,25E+08	q23.2	11	2,1653704	0,1942593	0,1875926 T
T 182	5	SNP_A-1657231	SNP_A-1713460	1,25E+08	1,27E+08	q23.2	12	2,0907692	0,0871154	-0,0167308 T
T 182	5	SNP_A-1753881	SNP_A-1643800	1,55E+08	1,57E+08	q33.2-q33.3	10	2,0265517	-0,1051724	-0,072931 T
T 182	10	SNP_A-1733088	SNP_A-1694687	1,25E+08	1,29E+08	q26.1-q26.2	13	2,2221918	0,4680822	0,440137 T
T 182	14	SNP_A-1710291	SNP_A-1701083	64779964	68062727	q23.3-24.1	11	2,0143548	-0,4298387	0,0148387 T
T 189	2	SNP_A-1689414	SNP_A-1713850	16676509	18135206	p24.2-24.3	10	1,5821818	-2,9778182	-3,0374546 T
T 189	2	SNP_A-1698643	SNP_A-1721385	31642493	34118737	p23.1-	11	1,4464706	-3,5722059	-3,5379412 T
T 189	2	SNP_A-1748265	SNP_A-1656469	36213709	40236130		18	1,5389	-3,0334	-2,9684 T
T 189	2	SNP_A-1685230	SNP_A-1703891	49073612	50417409	bis p16.3	13	1,5283099	-3,2447887	-3,1039437 T
T 189	3	SNP_A-1674675	SNP_A-1652494	1,64E+08	1,66E+08	q26.1	10	2,5393878	1,5342857	1,4626531 SH

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 189	4	SNP_A-1682642	SNP_A-1682416	398952	28348976	p16.3-	111			T
T 189	4	SNP_A-1753261	SNP_A-1740097	29117575	36659702		27			T
T 189	4	SNP_A-1714711	SNP_A-1752111	36797244	40488388		17			T
T 189	4	SNP_A-1659536	SNP_A-1655771	40538045	48240910		29			T
T 189	4	SNP_A-1656699	SNP_A-1701489	48457431	55662240		13			T
T 189	4	SNP_A-1689650	SNP_A-1709555	55697422	58767429		17			T
T 189	4	SNP_A-1705653	SNP_A-1720543	60056358	61638561		10			T
T 189	4	SNP_A-1705405	SNP_A-1666910	61727496	85074572	bis q21.23	104			T
T 189	4	SNP_A-1746212	SNP_A-1758350	89110614	96561093	q22.1-	38			T
T 189	4	SNP_A-1724690	SNP_A-1756453	1,02E+08	1,05E+08		14			T
T 189	4	SNP_A-1722406	SNP_A-1723472	1,05E+08	1,08E+08		15			T
T 189	4	SNP_A-1665992	SNP_A-1651474	1,08E+08	1,12E+08		16	2,2575963	0,6372607	0,6701395
T 189	4	SNP_A-1741023	SNP_A-1683754	1,12E+08	1,19E+08		26			T
T 189	4	SNP_A-1711983	SNP_A-1650474	1,19E+08	1,26E+08		30			T
T 189	4	SNP_A-1669405	SNP_A-1705249	1,26E+08	1,28E+08	bis q28.1	11			T
T 189	4	SNP_A-1744549	SNP_A-1713173	1,32E+08	1,42E+08	q28.2-	43			T
T 189	4	SNP_A-1661248	SNP_A-1672466	1,42E+08	1,46E+08		14			T
T 189	4	SNP_A-1655821	SNP_A-1661276	1,47E+08	1,5E+08		13			T
T 189	4	SNP_A-1742161	SNP_A-1704519	1,52E+08	1,61E+08		38			T
T 189	4	SNP_A-1749509	SNP_A-1716097	1,61E+08	1,7E+08		46			T
T 189	4	SNP_A-1707209	SNP_A-1668010	1,7E+08	1,81E+08		55			T
T 189	4	SNP_A-1740915	SNP_A-1719569	1,81E+08	1,84E+08		18			T
T 189	4	SNP_A-1722768	SNP_A-1677318	1,84E+08	1,9E+08	bis q35.2	12			T

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T	
T 189	6	SNP_A-1660389	SNP_A-1662950	1,62E+08	1,67E+08	q26-q27	24	2,1678947	0,4666667	0,4900877	SH
T 189	8	SNP_A-1740559	SNP_A-1668012	3442144	4601576	p23.2-	13				T
T 189	8	SNP_A-1706541	SNP_A-1733280	4605218	8160867	bis p23.1	25				T
T 189	8	SNP_A-1642311	SNP_A-1751633	8836469	17655354	p23.1-p22	56	1,775118	-1,4265744	-1,4182769	T
T 189	8	SNP_A-1692538	SNP_A-1710055	17741656	29323978	p22-p21.1	55				T
T 189	8	SNP_A-1651224	SNP_A-1651828	31907787	34329810	p12	13				T
T 189	11	SNP_A-1681168	SNP_A-1740039	47589283	57489108	p11.2-q12.1	17	2,1736458	0,2646875	0,2483333	SH
T 189	16	SNP_A-1699137	SNP_A-1721840	205160	6339838	p13.3-	12				T
T 189	16	SNP_A-1708062	SNP_A-1730705	6458669	13275694		26	2,464506	1,4211486	1,4583052	T
T 189	16	SNP_A-1645612	SNP_A-1656929	13390626	18006808		11				T
T 189	16	SNP_A-1693142	SNP_A-1664624	20558879	49687634		26				T
T 189	16	SNP_A-1653114	SNP_A-1692642	49712544	53949133		25	2,615036	2,3076978	2,4033813	T
T 189	16	SNP_A-1722738	SNP_A-1744987	57527478	62505930		26				T
T 189	16	SNP_A-1642927	SNP_A-1746136	62529198	76698706		43				T
T 189	16	SNP_A-1742073	SNP_A-1657632	76769267	80676273		21	2,52226872	1,7165639	1,7224229	T
T 189	16	SNP_A-1730709	SNP_A-1753185	80757838	88368209	bis q24.3	29				T
T 189	17	SNP_A-1732916	SNP_A-1757795	6414383	11265025	p13.2-p12	11	1,5126563	-3,1623438	-3,2073438	T
T 189	18	SNP_A-1730765	SNP_A-1689432	22895953	26099175	q11.2-q12.1	15				T
T 189	18	SNP_A-1734966	SNP_A-1676178	35439254	38033272	q12.2-q12.3	14				T
T 189	18	SNP_A-1683260	SNP_A-1740081	40366783	45928259	q12.3	22				T
T 189	18	SNP_A-1731045	SNP_A-1674359	45963512	48678314		12	1,5150894	-3,3086504	-3,2992846	T
T 189	18	SNP_A-1650498	SNP_A-1720587	49520564	51345876	bis q21.2	11				T
T 189	18	SNP_A-1685632	SNP_A-1700041	61928095	64004151	q22.1	12				T
T 189	18	SNP_A-1698841	SNP_A-1724142	65356260	67305710	bis q22.3	13				T

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 189	20	SNP_A-1686202	SNP_A-1698527	4416930	8489270	p13	26			T
T 189	20	SNP_A-1727573	SNP_A-1699979	8724160	11175697	bis p12.2	14	2,5272934	1,9920527	1,9970391
T 189	20	SNP_A-1652588	SNP_A-1721427	12738724	16124203	p12.1	18			T
T 189	20	SNP_A-1641901	SNP_A-1711953	53764130	57539142	q13.2-q13.32	11			T
T 29	18	SNP_A-1726854	SNP_A-1647294	36113762	39324404	q12.3	17	1,7364516	-2,6466667	-2,3387097
T 33	1	SNP_A-1667962	SNP_A-1696146	1,06E+08	1,08E+08	p21.1-13.3	12	1,8960345	-1,0189655	-0,9708621
T 33	2	SNP_A-1691496	SNP_A-1720865	1,96E+08	1,99E+08	q32.2-q33.1	11	2,15	-0,3663235	0,3192647
T 33	4	SNP_A-1642661	SNP_A-1661836	1,5E+08	1,54E+08	q31.2-q31.3	10	1,8333962	-1,5281132	-1,7339623
T 51	1	SNP_A-1655445	SNP_A-1660171	1,03E+08	1,06E+08	p21.1	13	2,2680328	0,7647541	0,9013115
T 51	10	SNP_A-1687732	SNP_A-1735759	57253933	59937923	q21.1	15	1,4337778	-4,2876667	-4,3891111
T 51	10	SNP_A-1662436	SNP_A-1670253	61484423	63854651	q21.2	11	1,3467857	-5,5157143	-5,6046429
T 51	10	SNP_A-1694669	SNP_A-1668302	86451065	87285785	q23.1	10	1,4769231	-3,4082692	-3,5088462
T 51	11	SNP_A-1710143	SNP_A-1685492	1,21E+08	1,24E+08	q24.1	13	1,3345714	-5,4084286	-5,5378571
T 51	14	SNP_A-1677272	SNP_A-1656875	60556801	67065608	q23.1-24.1	23	1,3562016	-4,6793798	-4,8070543
T 51	14	SNP_A-1677920	SNP_A-1683784	78855058	81194793	q31.1	16	1,4442553	-4,5148936	-4,5643617
T 51	15	SNP_A-1685546	SNP_A-1674889	49259313	52061167	q21.2-	18	1,4063	-4,3126	-4,4696
T 51	15	SNP_A-1758215	SNP_A-1667984	53629994	55604700	>	10	1,4416129	-4,79	-4,8060318
T 51	15	SNP_A-1642035	SNP_A-1731699	56258660	58900014	bisq22.2	11	1,3658824	-5,1677941	-5,4147059
T 51	17	SNP_A-1684366	SNP_A-1693987	30897885	36182069	q12-	12	1,8242105	-1,6414035	-1,0877193
T 51	17	SNP_A-1645794	SNP_A-1757923	36205780	49128109	bis q22	35	2,1862434	-0,1432804	0,0763492
T 51	17	SNP_A-1670938	SNP_A-1698497	49879620	51933919	q22	11	2,1338983	-0,0586441	0,1718644
T 51	17	SNP_A-1749671	SNP_A-1712869	55172479	66848285	q23.1-24.3	31	1,9765161	-0,9113462	-0,8054487
T 51	18	SNP_A-1664644	SNP_A-1743747	27824861	30686115	q12.1	13	1,4435366	-4,4304878	-4,507439

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
T 51	18	SNP_A-1680526	SNP_A-1683730	48834973	50217306	q21.2	12	1,4702941	-4,8725	-5,0073529 T
T 51	18	SNP_A-1655961	SNP_A-1716187	59218939	60691548	q21.3-22.1	11	1,434717	-3,8141509	-4,0258491 T
T 51	22	SNP_A-1749981	SNP_A-1676344	14919559	23037112	q11.1-11.2	11	1,8890625	-1,62625	-1,4739063 T
T 51	22	SNP_A-1668731	SNP_A-1671182	28385674	47830403	q12.2-q13.3	29	2,0325581	-0,8218023	-0,620814 T
Geki 01	2	SNP_A-1716853	SNP_A-1689142	2,14E+08	2,15E+08	q34	10	1,9234	-0,5722	-0,6348
Geki 01	4	SNP_A-1731759	SNP_A-1721309	1,31E+08	1,34E+08	q28.2-q28.3	10	2,3151724	0,7998276	0,797069
Geki 01	6	SNP_A-1739941	SNP_A-1690619	150610	2713904	p25.3-	11			
Geki 01	6	SNP_A-1681614	SNP_A-1744543	3095349	7896720		23			
Geki 01	6	SNP_A-1689442	SNP_A-1736031	7946116	10360211		14	1,4948547	-5,0411501	-4,9599032
Geki 01	6	SNP_A-1691078	SNP_A-1649642	10579023	16151564		26			
Geki 01	6	SNP_A-1758982	SNP_A-1706607	16778880	20707867		20			
Geki 01	6	SNP_A-1661618	SNP_A-1705647	20739524	37059039	bis p21.2	56			
Geki 01	17	SNP_A-1759020	SNP_A-1759032	1051470	22687706	p13.3-q11.1	49	1,4728571	-4,8734363	-4,646139
Geki 01	18	SNP_A-1704345	SNP_A-1727621	405401	2262846	p11.32	11			
Geki 01	18	SNP_A-1690337	SNP_A-1717377	2360048	5139779	p11.32-	12			
Geki 01	18	SNP_A-1747547	SNP_A-1709365	5223414	7442614		11			
Geki 01	18	SNP_A-1653088	SNP_A-1747059	7456110	10950761	bis p11.21	18			
Geki 01	18	SNP_A-1708242	SNP_A-1747449	14705283	25073536	p11.21-	27			
Geki 01	18	SNP_A-1667740	SNP_A-1665294	25090255	27214860		14	1,4305172	-5,3480838	-5,3531791
Geki 01	18	SNP_A-1690567	SNP_A-1756098	27278735	35619727	bis q12.3	36			
Geki 01	18	SNP_A-1661974	SNP_A-1674359	36966235	48678314	q12.3	53			
Geki 01	18	SNP_A-1696592	SNP_A-1642789	49277565	56010046		32			
Geki 01	18	SNP_A-1756218	SNP_A-1661560	56747418	62025422		31			
Geki 01	18	SNP_A-1688426	SNP_A-1672606	63917579	70610211	bis q22.3	43			

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
Geki 04	1	SNP_A-1683800	SNP_A-1682808	63405179	66218446	p31.3	13	2,0226471	-1,1382353	-0,7682353
Geki 04	4	SNP_A-1747357	SNP_A-1691340	63110100	66410631	q13.1-q13.2	12	1,5535593	-3,1789831	-3,3372881
Geki 04	4	SNP_A-1700029	SNP_A-1743301	77616609	78724602	q21.1	12	2,0685	-1,6135	0,2735
Geki 04	4	SNP_A-1723110	SNP_A-1657079	85047329	87098861	q21.23	12	1,6173846	-3,3524615	-3,3426154
Geki 04	8	SNP_A-1655563	SNP_A-1686998	1258591	4825867	p23.3-p23.2	28			
Geki 04	8	SNP_A-1662708	SNP_A-1700245	6401309	13647847	p23.1-p22	29			
Geki 04	8	SNP_A-1684832	SNP_A-1644472	14563961	17273523	p22	24			
Geki 04	8	SNP_A-1656495	SNP_A-1725744	17749530	19259183	p22-p21.3	11	1,5646711	-4,2030169	-4,0933365
Geki 04	8	SNP_A-1735987	SNP_A-1686104	21282850	27047722	p21.3	26			
Geki 04	8	SNP_A-1653806	SNP_A-1741913	27048074	35706965	bis p12	41			
Geki 04	14	SNP_A-1677708	SNP_A-1676884	62718558	67902720	q23.2-q24.1	15	2,0629762	-0,8689286	-0,4584524
Geki 04	17	SNP_A-1759020	SNP_A-1699627	1051470	9053828	p13.3-p13.1	13			
Geki 04	17	SNP_A-1662092	SNP_A-1756785	11076318	17918080	p13.1-p11.2	27	1,5051867	-3,32	-4,696805
Geki 04	17	SNP_A-1709147	SNP_A-1678320	36576801	48076070	q21.2-	25			
Geki 04	17	SNP_A-1643718	SNP_A-1695731	48168557	52910998	bis q22	24			
Geki 04	18	SNP_A-1704345	SNP_A-1671344	405401	4373712	p11.32-p11.31	20	1,5276718	-4,6953435	-4,3030534
Geki 04	18	SNP_A-1672086	SNP_A-1738477	6758579	13454437	p11.31-p11.21	28			
Geki 04	18	SNP_A-1663624	SNP_A-1747449	14928839	25073536	p11.21-	28			
Geki 04	18	SNP_A-1667740	SNP_A-1729180	25090255	29524739		23			
Geki 04	18	SNP_A-1746655	SNP_A-1664936	29538006	48132862	bis q21.2	80			
Geki 04	18	SNP_A-1699297	SNP_A-1744377	49191859	53683554	q21.2-	25	1,4687371	-5,1397768	-5,111742
Geki 04	18	SNP_A-1720383	SNP_A-1728067	53879232	56721321		12			
Geki 04	18	SNP_A-1756218	SNP_A-1642195	56747418	67645890		67			
Geki 04	18	SNP_A-1642371	SNP_A-1739511	68574532	71617364		15			
Geki 04	18	SNP_A-1693795	SNP_A-1657620	71637788	75946870	bis q23	10			

Tumor	Chr.	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Region	LOH SPA_CN	SPA_pval	GSA_pval	SH / T
Geki 04	22	SNP_A-1749981	SNP_A-1676344	14919559	23037112	p11.1-	12			
Geki 04	22	SNP_A-1727997	SNP_A-1696556	23488326	28000939	bis q12.2	15	1,7531818	-2,8198182	-2,4131818
Geki 04	22	SNP_A-1684728	SNP_A-1731229	31895885	35179861	q12.3-	12			
Geki 04	22	SNP_A-1725944	SNP_A-1710085	35396435	49023156	bis q13.33	18			

Lebenslauf

Persönliche Daten

Geburtsdatum: 13. März 1984

Geburtsort: Würzburg

Nationalität: deutsch

Familienstand: verheiratet

Kinder: zwei Kinder

Berufserfahrung

Seit 06/2011 Wissenschaftliche Mitarbeiterin der Abteilung für Allgemein- und Viszeralchirurgie am Robert-Bosch Krankenhaus, Stuttgart

Hochschulausbildung

10/2003 - 06/2005 Grundstudium der Humanmedizin
Bayerische Julius - Maximilians Universität Würzburg

09/2005 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung; Note 2,0

10/2005 - 01/2009 Hauptstudium der Humanmedizin (5-10. Fachsemester)
Bayerische Julius - Maximilians Universität Würzburg

02/2009 - 05/2010 Hauptstudium der Humanmedizin (11. und 12. Fachsemester) Universität Heidelberg

02/2009 - 01/2010 Praktisches Jahr am Klinikum Ludwigsburg
Wahlfach: Radiologie

04/2010 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung; Note 2,0

2008 - 2010 Promotion bei PD Dr. Melcher, Medizinische Klinik und Poliklinik II Uniklinik Würzburg, Thema „Identifikation

Anhang

von uniparentaler Disomie bei Mikrosatelliten instabilen und chromosomal instabilen kolorektalen Karzinomen“

Schulbildung

1990 - 12/1992	Rooftop School, San Fransisco, U.S.A.
12/1992 - 07/1993	Balthasar-Neumann-Volksschule Werneck
08/1993 - 11/2003	John F. Kennedy Schule, Berlin Abschlüsse: Abitur mit der Note 1,7 High School Diploma

Praktika und Famulaturen

08/2003	Krankenpflegepraktikum (Viszeralchirurgie) Städtische Kliniken Neuss
03/2004	Krankenpflegepraktikum (Hämatookologie) St. Hedwig Klinik Berlin
08/2004	Krankenpflegepraktikum (Neurologie) Oakwood Healthcare System Dearborn, Michigan, U.S.A.
02/2006 - 03/2006	Famulatur (Viszeralchirurgie) Städtische Kliniken Neuss
03/2007 - 04/2007	Famulatur (Kardiologie) Klinikum Wolfsburg
09/2007	Famulatur (Anästhesie) Praxis Dr. Jaraus, Würzburg
02/2008 - 03/2008	Famulatur (Unfallchirurgie) Klinikum Kitzinger Land

03/2008 1.Preis bei Young Investigators Award auf dem Deutschen Internisten Kongress (Wiesbaden) mit dem Thema: Uniparentale Disomie bei primären Kolonkarzinomen

Melcher R, Zopf W, Hartmann E, Rosenwald A, Hoehn H, Schmid M, Kudlich T, Scheurlen M, Luehrs H. Spectral karyotyping and SNP microarray analysis define uniparental disomy (UPD) as a novel mutational mechanism in MSI- and CSI-colorectal cancers. *Cell Oncol.* 2008;30 (6):507.

Melcher R, Hartmann E, Zopf W, Herterich S, Wilke P, Müller L, Rosler E, Kudlich T, Al-Taie O, Rosenwald A, Katzenberger T, Seibold S, Scheppach W, Scheurlen M, Lührs H LOH and copy neutral LOH in sporadic colorectal cancers with chromosomal- and microsatellite instability. *Carcinogenesis* 2011;32 (4):636–642.