

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1	SUMMARY .....	2
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>4</b>
2.1	UNTERSUCHUNGEN VON ANEUSOMIEN IM HUMANEN GENOM .....	4
2.2	TECHNISCHE GRUNDLAGEN DER MIKROARRAYS .....	7
2.3	MATRIX- CGH - STAND DER TECHNIK.....	11
2.4	DAS HUMANE GENOM - REPETITIVE ELEMENTE .....	14
2.4.1	Übersicht .....	14
2.4.2	Repetitive Elemente .....	15
2.4.3	Die Alu- Wiederholung.....	16
2.4.4	Die Inter- Alu- Polymerase- Kettenreaktion (IA- PCR) .....	20
2.4.5	Das humane X-Chromosom.....	23
2.5	AUFGABENSTELLUNG .....	24
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>26</b>
3.1	MATERIAL.....	26
3.1.1	Chemikalien.....	26
3.1.2	Puffer und Lösungen.....	28
3.1.3	Medien .....	30
3.1.4	Enzyme.....	31
3.1.5	Kits.....	31
3.1.6	Verbrauchsmaterialien .....	31
3.1.7	Geräte.....	32
3.2	METHODEN .....	33
3.2.1	Molekularbiologie .....	33
3.2.2	Microarraytechnik.....	41
3.2.2.1	Übersicht.....	41
3.2.2.2	PCR- Protokolle .....	41
3.2.2.3	Markierung der Probe .....	42
3.2.2.4	Herstellung der Mikroarrays .....	43
3.2.2.5	Hybridisierung .....	44
3.2.2.6	Auswertung .....	44
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>46</b>
4.1	GRUNDLAGEN .....	46
4.1.1	Zusammensetzung der Probe.....	46
4.1.1.1	Längenverteilung der IA- PCR- Produkte.....	46

4.1.1.2	Klonierung von YAC- IA- Amplikons – Bestimmung des Anreicherungsfaktors für die Inter- Alu- PCR	47
4.1.1.3	Erstellung einer gesamtgenomischen IA- Amplikonbank – Bestimmung der Komplexität des genomischen IA- PCR- Produktes.....	47
4.1.1.4	Nachweis der Sequenzspezifität des CL-2- Primers.....	50
4.1.2	<i>Filterhybridisierungen</i> .....	52
4.1.2.1	Hybridisierung der Filter mit Inter- Alu- PCR- Produkten von monochromosomalen Hybridzelllinien.....	52
4.1.2.2	Versuche zur Entfernung des repetitiven Anteils in den IA- PCR- Produkten .....	53
4.1.3	<i>Generierung von Sonden</i> .....	55
4.1.3.1	IA- PCR Produkte von YACs .....	55
4.1.3.2	<i>In Silico</i> - generierte IA- PCR- Produkte.....	56
4.1.3.3	<i>In Silico</i> - Charakterisierung des Amplikons.....	57
4.1.4	<i>Mikroarray- Technik: Grundlagen</i> .....	61
4.1.4.1	Nachweis der Selektivität von Hybridisierungen auf Mikroarrays.....	61
4.1.4.2	Bestimmung der Sensitivität .....	61
4.1.4.3	Simulation der Matrix- CGH in einem Minimalsystem .....	62
4.2	LOKALISIERUNG VON YAC- KLONEN MITTELS MIKROARRAYS .....	65
4.3	KARTIERUNG EINER HEMIZYGOTEN DELETION .....	66
4.3.1	<i>Einführung</i> .....	66
4.3.2	<i>Beschreibung des klinischen Phänotyps der betroffenen Patienten</i> .....	66
4.3.3	<i>Erstellung eines geordneten Rasters von spezifischen, internen IA- PCR- Klonen</i> .....	67
4.3.4	<i>Auswertung</i> .....	69
4.3.4.1	Kartierung der Deletion in der DNS von der Zelllinie 526/00 .....	70
4.3.4.2	Kartierung der Deletion in der DNS von der Zelllinie 525/00 .....	73
4.3.4.3	Kartierung der Deletion in der DNS von der Zelllinie 303/99 .....	76
4.3.5	<i>Zusammenfassung der Meßergebnisse</i> .....	79
4.3.6	<i>Bewertung und genetische Implikationen</i> .....	80
4.4	BESTIMMUNG DES AUFLÖSUNGSVERMÖGENS FÜR KLEINE KOPIENZAHLUNTERSCHIEDE ANHAND VON MULTIPLER X- ZELLINIEN .....	82
4.4.1	<i>Grundlagen</i> .....	82
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>85</b>
5.1	GRUNDLAGEN .....	85
5.2	CHARAKTERISIERUNG DES INTER- ALU- AMPLIKONS .....	86
5.3	ERMITTLUNG DER EXPERIMENTELLEN GRENZEN DER VORGESTELLTEN METHODE.....	87
5.4	KARTIERUNG EINER HEMIZYGOTEN DELETION .....	94
5.5	AUSBLICK .....	96
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>100</b>
<b>7</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>109</b>

---

7.1	VERZEICHNIS DER VERWENDETEN ZELLINIEN.....	109
7.2	PRIMERVERZEICHNIS.....	109
7.2.1	<i>X-chromosomale Primer zur Amplifikation von Sonden</i> .....	109
7.2.2	<i>Autosomale Primer (Chromosom 22) zur Amplifikation von Sonden</i> .....	114
7.2.3	<i>Sonstige Primer</i> .....	116
7.3	HÄUFIG VERWENDETE INTERNETADRESSEN.....	117
7.4	LEBENS LAUF.....	118
7.5	DANKSAGUNG.....	119
7.6	ERKLÄRUNG.....	120