

## 6. Zusammenfassung

### **Physikalische Kartierung und genomische Struktur des Kariopherin Alpha 2 Gens - Untersuchungen zu Heterozygotieverlusten in der chromosomalen Region 17q23 und zum allgemeinen Mikrosatellitenstatus an mikrodissezierten kolorektalen und Mammakarzinomen beim Menschen**

Ziel der Untersuchungen war es, mit Hilfe verschiedener Methoden der physikalischen Kartierung das Kariopherin Alpha 2 Gen zu lokalisieren und durch Sequenzanalysen dessen genomische Struktur zu identifizieren. Weiterhin sollten kolorektale und Mammakarzinome mit Mikrosatellitenmarkern aus der Region 17q23 und aus anderen, in Tumoren häufig veränderten, chromosomalen Regionen auf das Vorliegen von Heterozygotieverlusten untersucht werden.

Unter Verwendung einer Reihe somatischer Zellhybride wurde das KPNA2-Gen auf dem Chromosom 17 lokalisiert. Eine weitere Eingrenzung der Position auf den distalen Abschnitt des langen Armes des Chromosoms (17q23) erfolgte mit Hilfe einer YAC-Bibliothek und fünf Zellhybriden mit chromosomalen Fragmenten aus der Region 17q.

Durch die Konstruktion eines PAC-/BAC Contigs wurden die Positionsangaben verifiziert und weitere Aussagen über die Grobstruktur der Teilregion, in der sich das Gen befindet, und die genauen Lagebeziehungen zu benachbarten Mikrosatellitenmarkern gewonnen. So stellte sich heraus, daß sich unmittelbar proximal von dem KPNA2-Gen ein prozessiertes Pseudogen befindet.

Die Untersuchungen zu Heterozygotieverlusten erfolgte mit Hilfe der PCR-Technik an mikrodissezierten Tumoren. Es wurden 40 kolorektale Karzinome mit 12 Mikrosatellitenmarkern und 30 Mammakarzinome mit 7 Mikrosatellitenmarkern getestet. Die Kolonkarzinome zeigten für die Region, die durch die Marker D17S1813 und D17S1870 definiert wird und unmittelbar an das KPNA2-Gen grenzt, eine, im Vergleich zu anderen auf dem Chromosom 17 befindlichen Markern, relativ hohe Verlustrate. Es ist denkbar, daß die untersuchte Region mit der in der Literatur beschriebenen Verlustregion auf 17q22-23 (LEGGETT et al. 1994) identisch ist.

Die durchschnittliche LOH-Frequenz der Mikrosatellitenmarker auf anderen Chromosomen lag im Vergleich zu der auf 17q befindlichen Marker um ca. 17 % höher. Die untersuchten Mammakarzinome wiesen in der Region, in der sich die Marker D17S1813, D17S1870 und D17S789 befinden, die größte LOH-Zahl auf, wobei das Verlustbild insgesamt gleichmäßiger erscheint. Dies könnte darauf hindeuten, daß es sich bei den deletierten Abschnitten um größere Teilbereiche des Chromosoms handelt. Im Gegensatz dazu läßt sich bei den Kolonkarzinomen vermuten, daß sich in der relativ kleinen Region mit der größten LOH-Rate ein Gen befindet, welches an der Tumorentstehung und -entwicklung beteiligt sein kann. Da sich das KPNA2-Gen in unmittelbarer Nähe zu diesem Locus befindet, wäre es durchaus denkbar, daß es sich dabei um ein Kandidatengen handelt.

Die Sequenzierung von klonierten DNA-Fragmenten und die Untersuchung der genomischen Struktur des KPNA2-Gens ergab, daß das Gen aus 11 Exons besteht und ohne den Promotor eine Größe von ca. 11000 bp besitzt. Besonders auffällig ist, daß sich in den Introns 5, 7 und 9 repetitive Sequenzen (sogenannte ALU-Wiederholungen) befinden, die das Gen für interne Deletionen und Duplikationen anfällig machen.

Die Entdeckung des Tumorsuppressorgens OHO 31 bei *Drosophila melanogaster* (TÖRÖK et al. 1995), das in den nukleären Proteinimport involviert ist, läßt auf einen Krebsentstehungsmechanismus schließen, der auch beim Menschen von Bedeutung sein könnte. Es ist denkbar, daß aufgrund der chromosomalen Lage und der Besonderheiten in der Sequenz und der genomischen Struktur, das KPNA2-Gen analog dem OHO 31-Gen eine Rolle bei der Entstehung und Entwicklung von Tumoren spielt. Um diese Hypothese beweisen zu können, sind weiterführende Untersuchungen notwendig, die sich unmittelbar auf diese Ergebnisse aufbauen lassen.