

## V. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde eine balanciert erscheinende *de novo* Translokation, t(1;22)(q24.3;q13.1), bei einer Patientin mit einer Erkrankung, die dem Costello-Syndrom ähnelt, molekular charakterisiert. Im allgemeinen kann bei Personen, die ein *de novo* chromosomales Rearrangement aufweisen und einen Mendel'schen Krankheitsphänotyp zeigen, vermutet werden, dass die chromosomale Anomalie ursächlich für die Erkrankung ist. Je nachdem, ob in einer der Bruchregionen ein Gen gefunden wird, das unterbrochen wurde oder nicht, kommen ein Gen oder mehrere Gene für eine Mutationsanalyse bei einem Patientenkollektiv mit dem gleichen Krankheitsbild und einem normalen Karyotyp in Frage. Mit dem Auffinden weiterer Mutationen wird schließlich das Krankheitsgen identifiziert. Durch Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung wurde ein bruchpunktüberspannender PAC-Klon für die Bruchregion 1q24.3 und ein Cosmid für den Bruchpunkt auf dem Chromosom 22 gefunden. Datenbankrecherchen mit der DNA-Sequenz des Cosmides zeigten, dass sich das Gen, das für den Blutplättchenwachstumsfaktor B (PDGFB) kodiert, auf dem Insert des Cosmids befindet. Durch die molekulare Aufklärung der Translokation auf RNA- und DNA-Ebene konnte gezeigt werden, dass die Patientin ein Mosaik, bestehend aus zwei verschiedenen derivativen Chromosomen 1, aufweist. Das *PDGFB*-Gen ist auf beiden dieser derivativen Chromosomen 1 unterbrochen, wobei nur in einem Fall die Kodierregion direkt betroffen ist. Sowohl die ursprüngliche Translokation als auch das zweite intrachromosomale Rearrangement sind vermutlich durch eine nicht-homologe (illegitime) Rekombination entstanden.

In der Bruchpunktregion 1q24.3 der Patientin mit der 1;22-Translokation und dem möglichen Costello-Syndrom wurde ein putatives neues Gen gefunden und partiell charakterisiert, bei dem es sich vermutlich um ein Pseudogen handelt. Das *PDGFB*-Gen in 22q13.1 wurde durch den Bruch unterbrochen. Der für das Costello-Syndrom angenommene autosomal-dominante Erbgang ist mit der Annahme vereinbar, dass die Unterbrechung des *PDGFB*-Allels zum Costello-ähnlichen Phänotyp der Translokationspatientin geführt haben könnte. Daher wurde *PDGFB* als Kandidatengen für das Costello-Syndrom angesehen. Eine Mutationsanalyse des *PDGFB*-Gens sowie von fünf weiteren Genen (*PDGFA*, *PDGFC*, *PDGFD*, *PDGFRA* und *PDGFRB*), die zur *PDGF/R*-Familie gehören, ergab keine pathogene Mutation bei 18 sporadischen Patienten mit Costello-Syndrom. Diese negativen Befunde ließen die Frage aufkommen, ob der als Costello-Syndrom beschriebene klinische Phänotyp der Translokationspatientin tatsächlich zutrifft. Zusammenfassend fanden sich zwar einige phänotypische Überlappungen der Translokationspatientin mit Symptomen von Patienten mit Costello-Syndrom, aller-

dings weist sie nicht die Mehrzahl der häufig beobachteten, typischen Auffälligkeiten von Patienten mit Costello-Syndrom auf. Daher ist davon auszugehen, dass sie einen „privaten“ Phänotyp zeigt, der in dieser Form noch nicht beschrieben wurde.

In der Gesamt-RNA aus Lymphozyten der Translokationspatientin wurden vier verschiedene Fusionstranskripte zwischen Anteilen des *PDGFB*-Gens und Anteilen aus der Bruchregion 1q24.3 identifiziert. Bei zwei der *PDGFB*-Fusions-RNAs fehlte das Exon 6 des *PDGFB*-Gens, das für eine Reihe basischer Aminosäuren, das sogenannte *Retention*-Motiv, kodiert. Das *Retention*-Motiv ist dafür verantwortlich, dass der Wachstumsfaktor zunächst noch mit der extrazellulären Matrix in Kontakt bleibt und erst bei Bedarf durch proteolytische Spaltung freigesetzt wird. Mit Hilfe von Immunfluoreszenzanalysen konnte gezeigt werden, dass ein Fusionsprotein zwischen *PDGFB*-Wildtyp mit dem grünen Fluoreszenzprotein EGFP in einem feinen Netzwerk verteilt in der extrazellulären Matrix vorliegt, wohingegen die beiden aberranten *PDGFB*-EGFP-Fusionsproteine (ohne *Retention*-Motiv) relativ große Aggregate in der extrazellulären Matrix bilden. Diese Daten führten zu der Hypothese, dass die mutierten *PDGFB*-Proteine andere biologische Eigenschaften haben als das Wildtyp-Protein und dieser Umstand zur Entstehung des Phänotyps der Translokationspatientin beigetragen haben könnte.

In einem alternativen Ansatz wurde nach funktionellen Kandidatengenen für das Costello-Syndrom gesucht. Mutationsanalysen der *FOXO1A*-, *TGFBI*- und *LMNA*-Gene ergaben keine pathogenen Mutationen bei sporadischen Patienten mit Costello-Syndrom. Zur Zeit gibt es wenig Anhaltspunkte für die physikalische Lokalisation des Gens für das Costello-Syndrom im menschlichen Genom. Phänotypische Überschneidungen zwischen Patienten mit Costello-Syndrom und anderen Erkrankungen, z.B. dem Noonan-Syndrom, können bei dem Auffinden neuer Kandidatengene helfen. Das *PTPN11*-Gen, ein für das Noonan-Syndrom ursächliches Gen, kodiert für die Proteintyrosin-Phosphatase SHP2, die bei der vom epidermalen Wachstumsfaktor (EGF)-abhängigen Signalkaskade eine Rolle spielt. Diese Befunde zusammen mit den phänotypischen Merkmalen verschiedener Mausmutanten weisen auf das den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor kodierende *EGFR*-Gen als ein vielversprechendes Kandidatenprotein/-gen für das Costello-Syndrom hin.