



Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Das Mammakarzinom.....	1
1.1.1	Risikofaktoren.....	1
1.2	Das Familiäre Mammakarzinom.....	2
1.2.1	Hochrisikogene.....	2
1.2.1.1	<i>BRCA1/2</i>	2
1.2.1.2	<i>PALB2</i>	2
1.2.1.3	<i>TP53 und CDH1</i>	3
1.2.2	Niedrig bis moderat penetrante Gene.....	3
1.2.2.1	<i>CHEK2</i>	3
1.2.2.2	<i>ATM/NBN</i>	3
1.2.3	Weitere Risikogene mit unklarer Penetranz.....	4
1.2.4	Deutsches Konsortium Familiärer Brust- und Eierstockkrebs.....	4
1.2.4.1	Diagnostik und Detektion neuer Varianten im Konsortium.....	5
1.2.5	Familiäre Mammakarzinome und Mutationen in <i>ERCC2</i> , <i>XPC</i> und <i>MARCO</i>	5
1.2.5.1	<i>XPC</i>	5
1.2.5.2	<i>ERCC2</i>	6
1.2.5.3	<i>MARCO</i>	7
1.2.5.4	<i>ERCC2</i> , <i>XPC</i> und <i>MARCO</i>	7
2	Fragestellung der Arbeit.....	9
3	Material und Methoden.....	10
3.1	Art der Studie.....	10
3.1.1	Patientenkollektiv, Studienkriterien.....	10
3.1.2	Einhaltung ethischer Richtlinien.....	10
3.2	Material.....	11
3.2.1	Chemikalien.....	11
3.2.2	Lösungen und Puffer.....	11
3.2.3	Instrumente und EDV-Software.....	12
3.2.4	Sonstige Materialien.....	13
3.3	Methoden.....	14
3.3.1	Extraktion genomischer DNA.....	14
	Konzentrationsbestimmung der DNA.....	14
	Polymerasekettenreaktion (PCR).....	14



Gelelektrophorese.....	15
3.3.2 Mutationsanalyse	16
3.3.2.1 Schmelzkurvenanalyse	16
3.3.2.2 Denaturing high performance liquid chromatography (DHPLC).....	18
3.3.2.3 Bestimmung der DHPLC-Analysertemperaturen	19
3.3.2.4 Detektion von Mutationen mittels Diagnostik-Panel.....	20
3.3.3 Sequenzierung.....	20
3.3.4 Ausfällen des Produktes	21
3.3.5 Kapillarelektrophorese	21
3.3.6 Vorhersageprogramme	22
3.3.7 Kopplungsanalysen.....	22
3.3.8 Statistische Methoden.....	22
4 Ergebnisse	23
4.1 Mutationsanalyse in <i>XPC</i>	23
4.2 Mutationsanalyse in <i>ERCC2</i>	25
4.2.1 Segregationsanalyse in Familie 1	25
4.2.2 Genveränderungen in <i>ERCC2</i> bei an Brustkrebs erkrankten Personen und in der gesunden Kontrollpopulation	26
4.2.2.1 Trunkierende Mutationen	26
4.2.2.2 „Missense-Mutationen“.....	27
4.2.3 Weitere Segregationsanalysen	29
Familie 14-3261.....	32
4.2.4 Fazit der Segregationsanalysen zu <i>ERCC2</i>	33
4.2.5 Weitere Ergebnisse aus den Exom-Sequenzierungen von Familie 1, Familie 04-2252 und 04-1433.....	34
Ergebnisse der Exom-Sequenzierung bei Familie 1:.....	34
4.3 Mutationsanalyse in <i>MARCO</i>	42
4.3.1 Segregationsanalyse in Familie 5 (04-099).....	42
4.3.2 Weitere trunkierende Varianten in Erkrankten	42
4.3.3 Abschließende Validierung der Varianten in <i>MARCO</i>	45
5 Diskussion	46
5.1 <i>XPC</i>	46
5.2 <i>ERCC2</i>	46
5.2.1 Klare Mutationen im <i>ERCC2</i> -Gen im Vergleich	46
5.2.2 Interpretation der „Missense-Varianten“ in Kontrollen und Fällen.....	47
5.2.3 Interpretation funktionell relevanter Aminosäureaustausche	47



5.2.4	Spezialfälle V536M und V717G	47
5.2.5	Gesamtresümee.....	48
5.3	<i>MARCO</i>	49
5.3.1	<i>MARCO</i> als mögliches Brustkrebsgen?.....	49
5.4	Weitere mögliche <i>Suszeptibilitätsgene</i>	51
5.4.1	<i>SLC36A1</i>	51
5.4.2	<i>SIMC1</i>	51
5.4.3	<i>TCF7</i>	52
5.4.4	<i>WBP2NL</i>	52
6	Zusammenfassung	54
7	Literaturverzeichnis.....	55
8	Abbildungsverzeichnis	66
9	Tabellenverzeichnis	66
10	Danksagung.....	67
11	Anhang	68
	XPC-Proteinstruktur	68
	XPC-cDNA Sequenz	68
	Primersequenzen für XPC	70
	Screening-Methoden für XPC	71
	ERCC2-Proteinstruktur	79
	ERCC2-cDNA Sequenz	80
	MARCO-Proteinstruktur	81
	MARCO-cDNA Sequenz	82