

## 2. Arbeits- und Ergebnisbericht zum Projekt C4

Thema des Projektes: **Zentrale Ressource molekularzytogenetische Diagnostik und DNA-Chip-Technologie**

Projektleiter: Prof. Dr. Martin Bentz                      Prof. Dr. Thomas Gress  
 Abteilung Innere Medizin III      Abteilung Innere Medizin I  
 Universitätsklinikum Ulm

### 2.1 Kenntnisstand bei der letzten Antragstellung und Ausgangsfragestellung

#### Chip-basierte Expressionsanalysen

Mit Hilfe der DNA-Chip-Technologie gelingt es, in einem Experiment eine Vielzahl von Genen oder genomischen Regionen automatisiert zu untersuchen (für eine Übersicht siehe z.B. Brown et al., 1999). Durch die rasante Entwicklung der Genomprojekte, die bereits am Beginn der Antragsphase Sequenzinformationen und geeignete DNA-Sonden für weite Abschnitte des menschlichen Genoms zur Verfügung stellten, konnte die DNA-Chip Technologie breite Anwendung in der Analyse der Genexpression finden. So wurden basierend auf solchen Expressionsprofilen bereits wichtige Daten zur Klassifikation von Tumoren, wie beispielsweise maligner Lymphome (Alizadeh et al., 2000) oder Mamma-karzinomen (Perou et al., 2000) publiziert. Auch funktionelle Aspekte, wie das Ansprechen auf Chemotherapie (Scherf et al., 2000) oder die Progression von Tumoren konnten mit Hilfe von Expressionsprofil-Untersuchungen molekular disseziert werden (siehe z. B. Clark et al., 2000). Auch beim Pankreaskarzinom wurden bereits solche Expressionsprofile erstellt (Gress et al., 1996; Geng et al., 1998).

#### Chip-basierte genomische Analysen

Mit Hilfe der sog. vergleichenden genomischen Hybridisierung (CGH) gelang es, ein charakteristisches Muster genomischer Aberrationen bei Pankreaskarzinomen zu identifizieren (Solinas-Toldo et al., 1996; Mahlamäki et al., 1997; Ghadimi et al., 1999). Die CGH ist jedoch sehr aufwändig und weist eine geringe räumliche Auflösung auf: einfache Zugewinne und Deletionen von chromosomalem Material sind erst ab einer Größe von ca. 10 Mbp nachweisbar (Bentz et al., 1998). Hybridisierungen auf genomische DNA-Chips (sogenannte "Matrix-CGH"; Solinas-Toldo et al., 1997) erlauben raschere genomische

Analysen und eine um den Faktor 100 bessere räumliche Auflösung. Im Gegensatz zu Expressionsanalysen sind Hybridisierungen mit genomischer DNA aus zwei prinzipiellen Gründen komplizierter: (i) menschliche genomische DNA ist um etwa 4 bis 5 Größenordnungen komplexer als cDNA; (ii) die für die Auswertung relevanten quantitativen Unterschiede der einzelnen DNA-Abschnitte sind kleiner als die Unterschiede in der Expression definierter Gene (Faktor  $< 1,25$  bei genomischer DNA; im Gegensatz dazu Faktor  $> 2,0$  für die Expression definierter Gene). Trotz dieser Schwierigkeiten wurden bereits genomische DNA-Chips entwickelt, deren Ziel es ist, das gesamte menschliche Genom abzudecken (Pinkel et al., 1998). Ein zweiter Ansatz besteht darin, krankheitsspezifische Chips herzustellen. Diese enthalten DNA-Sonden für Regionen, die bei einem bestimmten Tumor häufig Aberrationen aufweisen. Eine Übersicht über die verschiedenen genomischen Chip-Strategien ist in Lichter et al. (2000) dargestellt.

Für die Projekte innerhalb des SFB's entstand ein zunehmender Bedarf für DNA-Chip-basierte Expressionsanalysen. Durch eine optimale Planung und Durchführung der Experimente im Rahmen einer zentralen Ressource sollte sowohl eine hohe Qualität der Daten als auch ein optimaler Einsatz der Finanzmittel für diese kostenintensive Technologie gewährleistet werden. Parallel wurde die innerhalb des SFB geschaffene Plattform auch zur Weiterentwicklung der genomischen DNA-Array-Hybridisierung für den Einsatz bei Pankreaskarzinomen genutzt. Somit standen folgende Zielsetzungen im Vordergrund der letzten Antragsphase:

- Aufbau einer zentralen Facility für Expressions-Profil-Analyse
- Herstellung von Custom-Arrays für Expressionsanalysen
- Entwicklung der genomischen DNA-Chip Analysen für die molekulare Diagnostik beim Pankreaskarzinom. Für das Erreichen dieses Ziels waren folgende Schritte erforderlich:
  - a. Selektion und Charakterisierung geeigneter DNA-Sonden für einen krankheitsspezifischen genomischen DNA-Chip
  - b. Validierung des krankheitsspezifischen genomischen DNA-Chips
  - c. Genomische Diagnostik der im Rahmen des SFB genutzten Gewebeproben mit Hilfe des DNA-Chips
  - d. Detaillierte Charakterisierung einer häufig aberranten chromosomalen Region

## **2.2 Angewandte Methoden**

Im Vordergrund der Arbeiten stand die DNA-Chip Technologie. Für die Expressionsanalysen war der Aufbau einer Screening-Strategie sowohl für das humane als auch für das Maus-System vorrangig. Hierfür mussten verschiedene Array-Systeme ausgetestet werden (siehe „Ergebnisse“). Daneben wurden für eine Reihe von Projekten auch Kandidatengen-Arrays entwickelt und in größeren Serien hergestellt (detaillierte Auflistung siehe „Ergebnisse“).

Für die Entwicklung der genomischen Arrays waren zur Gewinnung geeigneter Sonden in der ersten Projektphase Filterhybridisierungen auf sog. „high density“ Filter gesamtgenomischer menschlicher DNA-Bibliotheken, die über das Deutsche Humane Genom-Projekt erhalten wurden, erforderlich. Mit cDNA-Sonden der jeweiligen Gene wurden geeignete genomische Fragmente isoliert und anschließend mittels Southern Blot oder FISH verifiziert. Seit 2002 wurden die Sonden über Datenbank-Recherchen identifiziert. Zur Herstellung der Arrays wurde ein Spotting-Roboter genutzt, wobei zunächst ein Protokoll zur Verwendung genomischer DNA-Sonden etabliert werden musste. Eine wichtige methodische Entwicklung betraf die Auswertung der genomischen Array-Hybridisierungen. Da keine geeignete kommerzielle Software für diese Anwendung zur Verfügung steht, war die Entwicklung eines eigenen Auswertalgorithmus erforderlich. Dies erfolgte in enger Kooperation mit der Abteilung Neuroinformatik (Leiter: Prof. G. Palm) sowie der neu eingerichteten Forschungsdozentur Bioinformatik (Dr. H.A. Kestler).

Neben den Array-Hybridisierungen wurden im Rahmen des Projektes auch Methoden zur Validierung der genomischen Befunde genutzt, insbesondere die Fluoreszenz in-situ Hybridisierung (FISH) sowie die CGH. Um die biologische Bedeutung der genomischen Befunde zu untersuchen, erfolgten auch quantitative Expressionsanalysen mit Realtime-PCR.

## **2.3 Ergebnisse und ihre Bedeutung**

### **2.3.1 Core-Facility für Expressionsanalysen**

Im Rahmen dieses Teilprojekts sollte den am SFB beteiligten Gruppen die Möglichkeit geboten werden, sowohl globale Expressionsprofilanalysen unter Verwendung kommerziell erhältlicher cDNA-Arrays als auch spezialisierte Analysen an 'custom-made chips' durchführen zu lassen. Für das 'Screening' humaner Gene wurden zu Beginn "LifeGrid<sup>TM</sup>" Arrays (Incyte Genomics) mit 8400 Genen auf Nylonmembranen und Glas-Mikroarrays mit 10.000 Mausgenen der Arbeitsgruppe von Prof. Lichter am Deutschen Krebsforschungszentrum (Heidelberg) verwendet. Im weiteren Verlauf haben wir uns dann entschieden, Glasarrays mit 70-mer Oligonucleotiden zu benutzen. Es wurden Oligonukleotide von 4 Herstellern getestet,

wobei letztendlich die Produkte von Operon/Qiagen die besten Ergebnisse und das beste Preis/Leistungsverhältnis zeigten. Mit Mitteln der Fakultät wurden Oligonucleotid-Sätze für ca. 22.000 humane und 17.000 Mausgene beschafft, mit denen wir in der Chip-Facility Glas-Mikroarrays hergestellt haben. Neben einer hohen Qualität und Spezifität liegt der Hauptvorteil dieses Ansatzes auch im Preis. So konnten wir den Mitgliedern des SFBs humane und murine Mikroarrays zum Selbstkostenpreis von 130-150 Euro anbieten. Ferner haben wir die in Projekt B1 ausführlich beschriebenen Nylonmembran-Arrays mit 2200 Kandidatengen in der Chip-Facility hergestellt, die ebenfalls in einzelnen Projekten des SFBs verwendet wurden. Als weitere Entwicklung mit Bedeutung für die Arbeiten im SFB ist der Ausbau der bioinformatischen Kompetenz an der Chip-Facility zu sehen. Mit der Einrichtung einer Forschungsdozentur Bioinformatik (Dr. Hans Kestler) in Zusammenarbeit mit der Abteilung Neuroinformatik und durch weiteres Personal, das über Projekte der AG Gress sowie teilweise aus Mitteln der AG Bentz eingestellt wurde, hat es in diesem Bereich eine enorme Weiterentwicklung und Verbesserung gegeben, von der die SFB-Mitglieder ebenfalls profitierten. Weiterhin haben wir Techniken der linearen Amplifikation standardmäßig etabliert, wodurch Expressionsprofilanalysen auch von geringsten Mengen an Material, z.B. nach Mikrodissektionen und FACS-Sorting, möglich wurden. Lineare Amplifikationen wurden für die Mitglieder des SFBs mitübernommen.

Im einzelnen wurden folgende Arbeiten für Mitglieder des SFB's durchgeführt:

- 1) Profile pankreatischer und hepatischer Sternzellen (Projekt A7, Manuskript in Vorbereitung)
- 2) Expressionsprofile von behandelten Fibroblasten (Projekt A7)
- 3) Profile SPC behandelter Pankreaskarzinomzellen (Projekt B3)
- 4) Profile von mit verschiedenen Ras-Mutanten transfizierten Panc-1 Zellen (Projekt B7/ Fensterer et al., Genes Chromosomes Cancer, in press)
- 5) PKD induzierte Expressionsprofile (Projekt B3)
- 6) Profile der transgenen TGF $\alpha$ -Maus (Projekt A10)
- 7) Profile von Ela-IKK-EE Tet-on Pankreasgewebe transgener Mäuse (Projekt A14)
- 8) Verschiedene Knockout-Mausmodelle (Projekt B6)
- 9) Herstellung von Custom-Arrays: Diagnostik-Chip und Kandidatengenarrays (Projekt B1)

- 10) Alle in Projekt B1 beschriebenen Expressionsprofilanalysen mit über 100 Pankreasgeweben, sowie in-vitro Modellen und den Kandidatengenarrays (Projekt B1; Michl et al., 2003)
- 11) Hybrisierungen des Diagnostik-Chips mit 68 linear amplifizierten Proben chirurgisch resezierter Gewebe und Feinnadelpunktionen (Projekt B1)

### 2.3.2 Genomische DNA-Chip-Analysen

Der Fortschritt der Arbeiten ist gemäß den im Antrag aufgelisteten Zielen dargestellt:

*a) Selektion und Charakterisierung geeigneter DNA-Sonden für einen genomischen DNA-Chip für die molekulare Diagnostik beim Pankreaskarzinom*

Im ersten Jahr stand die Optimierung der genomischen DNA-Chip-Hybridisierung sowie die Selektion von DNA-Sonden im Vordergrund. Hierzu zählte u.a. auch die Adaptation der Protokolle auf die in der Core-Facility der Medizinischen Fakultät Ulm vorhandenen Geräte (Spotting-Roboter; Hybridisierungsroboter). Daneben wurde ein DNA-Array für die molekulare Diagnostik aufgebaut, dessen Klone mehr als 200 bekannte Onkogene und Tumorsuppressorgene beinhalten. In diesen SONDENSATZ wurden auch Klone integriert, die Sequenzen beinhalten, welche das Genom linear im Abstand von 15 Megabasen abdecken. Dies war zum einen für ein „molekulares Screening“, zum anderen auch für die Normalisierung der Experimente erforderlich. Ein weiterer wichtiger Arbeitsschritt in diesem Zeitraum war auch die Weiterentwicklung der Auswertalgorithmen, die gemeinsam mit der Gruppe von Dr. Hans Kestler (Forschungsdozentur Bioinformatik der Universität Ulm) erfolgte. Hierfür wurde Herrn Dr. Kestler für die Dauer eines Jahres eine halbe BAT IIA-Stelle aus der Abteilung Innere Medizin III zugeteilt.

*b) Validierung des krankheitsspezifischen genomischen DNA-Chips*

Für die Validierung des DNA-Arrays wurden zunächst Studien bei hämatologischen Systemerkrankungen durchgeführt. Diese wurden gewählt, da bei ihnen der Tumorzellanteil – gerade im Vergleich zum Pankreaskarzinom – hoch ist. Zudem verfügen wir bereits bei vielen dieser Tumoren über genomische Daten, die mit anderen Techniken erhoben wurden. So konnten die Befunde der genomischen DNA-Chip-Hybridisierung rasch und umfassend validiert werden.

In einem ersten Schritt wurde in einer Serie aggressiver B-Zell-Lymphome die diagnostische Wertigkeit zum Nachweis von Amplifikationen überprüft. Dabei wurden bei insgesamt zehn Lymphomen 15 Genamplifikationen identifiziert. Da für den genomischen Array Klone

verwendet wurden, zu denen Informationen über Gene oder Marker zur Verfügung stehen, konnten den Amplifikationen rasch Kandidatengene zugeordnet werden. Unter den amplifizierten Genen waren solche, für die eine Rolle bei B-Zell-Lymphomen bekannt ist, wie BCL2, MDM2 oder REL, aber auch solche, für die wir erstmals eine Beteiligung bei Lymphomen beschrieben, wie N-MYC oder JAK2. Daneben wurden auch Amplifikationen in Regionen gefunden, in denen bislang keine Kandidatengene lokalisiert waren. Ein Beispiel ist die Region 9q13, in der das Gen ACO1, ein Regulator des Eisenstoffwechsels, liegt (Wessendorf et al., 2003). Dies zeigt, dass mit dem von uns entwickelten Array eine Analyse von Tumoren auf das Vorhandensein von Genamplifikationen sinnvoll ist.

Im nächsten Schritt wurde das System für einfache genomische Zugewinne und Deletionen validiert. Dies erfolgte in zwei Projekten: In einer Serie von 53 Mantelzelllymphomen wurden mit der genomischen Array-Technologie in 49 Fällen genomische Aberrationen gefunden. Im Vergleich zur chromosomalen CGH wurde eine 50% höhere Anzahl von Aberrationen identifiziert. Einige Veränderungen, wie Zugewinne auf 11q und 13q34 Deletionen, die zuvor nicht als häufige genomische Aberrationen beim Mantelzelllymphom beschrieben waren, wurden in 15 bzw. 26 Fällen gefunden. Neben dem sicheren Nachweis der Aberrationen konnten mit dem diagnostischen Array auch neue Konsensusregionen definiert werden, dies betraf die Regionen 8p21 (Größe der Konsensusregion 2,4 Megabasenpaare; Kandidatengene: TNFRSF10A, TNFRSF10C, TNFRSF10D); 10p13 (2,0 MBp; BMI1); 11q13 (1,5 MBp; RELA); 11q13 (5,1 MBp; CCND1); 13q14 (0,4 MBp; BCMS); 13q34 (9,1 MBp). (Kohlhammer et al., Manuskript eingereicht). Diese Daten zeigen nicht nur die hohe diagnostische Sicherheit des Arrays, sondern bilden gleichzeitig eine Basis für weitere Studien, die letztendlich zur Identifizierung von pathogenetisch relevanten Genen führen könnten. In einer zweiten Serie bei 106 chronisch lymphatischen Leukämien konnte die hohe Sensitivität und Spezifität der genomischen DNA-Hybridisierung im Vergleich zur Fluoreszenz in-situ Hybridisierung belegt werden (Schwänen et al., im Druck).

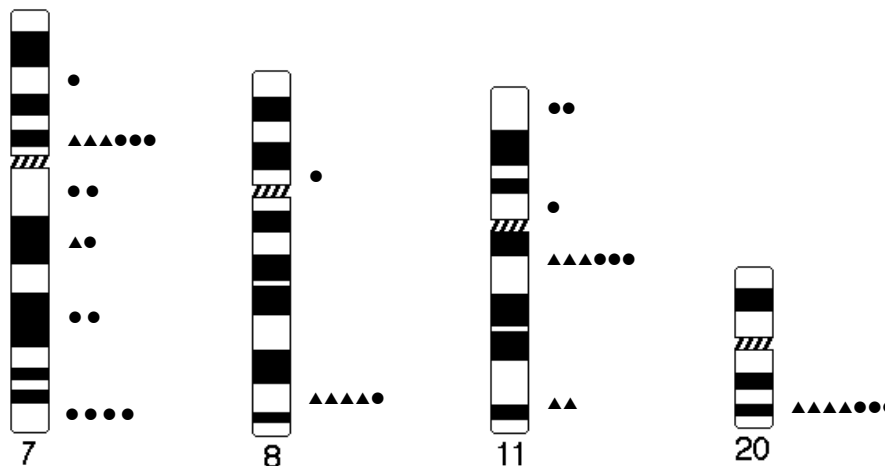
*c) Genomische Diagnostik beim Pankreaskarzinom mit Hilfe des genomischen Arrays*

Für die Analyse des Pankreaskarzinoms starteten wir zunächst mit einer Serie von 13 Zelllinien. Dabei konnten wir im Vergleich zur chromosomalen CGH eine mehr als dreifache Anzahl von DNA-Amplifikationen nachweisen (29 Amplifikationen versus 8 Amplifikationen). Die häufigsten dieser Amplifikationen kartierten in die Regionen 7q12.3, 8q24, 11q13 und 20q13. Gene, die in diesen Konsensusregionen liegen, sind MYC (8q24), EGFR

(7p12.3), FGF3 (11q13) sowie NFATC2 (20q13). Diese häufigen Amplifikationen wurden auch in einer Pilotserie von 6 primären Tumoren nachgewiesen (siehe Abbildung 1).

**Abb. 1:**

Schematische Darstellung der Chromosomen, bei denen in den Zelllinien zumindest zwei Amplifikationen nachgewiesen wurden. Amplifikationen in Zelllinien (▲); Amplifikationen in primären Tumoren (●).



Zudem wurden auch Amplifikationen von Genen identifiziert, für die eine pathogenetische Rolle beim Pankreaskarzinom bisher nicht beschrieben wurde. Insgesamt wurden Amplifikationen in zehn Regionen gefunden, für die bislang keine Aberrationen beim Pankreaskarzinom beschrieben waren. In Tabelle 1 sind diese Regionen sowie mögliche Kandidatengene zusammengefasst.

**Tab. 1:**

Chromosomale Regionen, in denen DNA-Amplifikationen nachgewiesen wurde und für die bislang keine Aberrationen beim Pankreaskarzinom beschrieben waren.

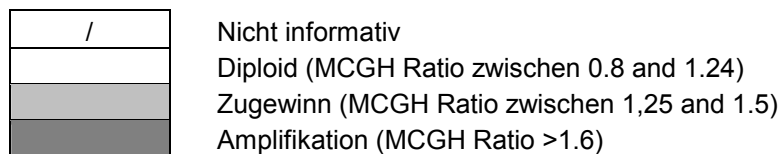
<b>Chromosomale Region</b>	<b>Mögliche Kandidatengene</b>
1p22	BCL10
2q22-23	SIP1
2q35-36	WNT10A / WNT 6
3q27	BCL6
12q13-15	MLL2 / SAS / CDK4 / MDM2
13q14	RB1
14q32.32	?
18p11.22	PPP4R1
18q11.2	LAMA3
Xq22.2	RAB40A

Beispiele für solche Kandidatengene sind BCL 6 und BCL 10, für die eine pathogenetische Rolle bei anderen Tumoren vermutet wird, für die jedoch bislang beim Pankreaskarzinom keine Aberrationen nachgewiesen wurden. Neben dem Nachweis der DNA-Amplifikationen kann die genomische Array-Hybridisierung auch zur Charakterisierung von amplifizierten DNA-Abschnitten genutzt werden. Ein Beispiel ist in Abbildung 2 dargestellt.

**Abb. 2:**

Darstellung der Konsensusregionen für genomische Zugewinne auf Chromosomenarm 11q in den Zelllinien Suit007, Suit028 und HPAF sowie in drei primären Pankreaskarzinomen (Pp52, Lp1 und Lp115)

Kandidatengene	Lokalisation auf 11q	Mbp von 11 cen	Pp 52	Lp1	Lp115	Suit 007	Suit 028	HPAF
	61,6							
	62,85							
	64,45							
	65,52							
MAP3K11	65,61							
	65,85		/		/		/	
	66,96							
	69,68							
CyclinD1	69,71							
	69,8							
	69,85				/			
	72,16							
	76,12					/	/	
	84,91							
	93,1		/	/	/			
	110,45							



Neben dem Gen CCDN1 (Cyclin D1), für das bereits eine Rolle beim Pankreaskarzinom beschrieben ist, fand sich eine zweite, etwa 4 MBp zentromerisch gelegene Region, die in fünf der sechs Fälle mit 11q-Zugewinn amplifiziert war. Hier ist das Gen MAP3K11, dessen Genprodukt eine Tyrosinkinase ist, lokalisiert.

Auch für andere Regionen konnten bereits mit dieser ersten Array-Generation Kandidatenregionen genauer charakterisiert werden.

Zusammenfassend zeigte die genomischen Array-Hybridisierung eine deutlich höhere Inzidenz von Genamplifikationen als bisher beschrieben. Da auch Amplifikationen neuer Kandidatengene und neuer Regionen gefunden wurden, könnte unser Ansatz zur Identifizierung pathogenetisch relevanter Gene und Signalwege beim Pankreaskarzinom beitragen.

### **3.4 Vergleiche mit Arbeiten außerhalb des Sonderforschungsbereichs und Reaktionen der wissenschaftlichen Öffentlichkeit auf die eigenen Arbeiten**

Nach wie vor sind genomische DNA-Chip Analysen nur in wenigen Gruppen etabliert. Dementsprechend wurden bislang auch nur wenige Daten zur Analyse des Tumorgenoms mit dieser Technik publiziert. Insbesondere sind noch keine Arbeiten zum Pankreaskarzinom veröffentlicht. Die Möglichkeit, über eine umfassende, hochauflösende genomische Analyse neue Kandidatenregionen und letztendlich auch neue Kandidatengene identifizieren zu können, fand reges Interesse in der wissenschaftlichen Öffentlichkeit. Von besonderem Interesse ist dabei die Integration der genomischen Daten mit Expressionsdaten, anderen biologischen Daten sowie idealerweise auch dem klinischen Verlauf der Patienten.

Daher waren unsere methodischen Aktivitäten auch einer der Kristallisationspunkte für einen Forschungsverbund, der inzwischen von der Deutschen Krebshilfe gefördert wird und der die Integration klinischer und biologischer Daten bei einer Tumorentität zum Ziel hat (Deutsche Krebshilfe, Förderzeichen: 70-3173-Tr3). Ein wichtiger Fortschritt für unsere Aktivitäten war auch die Einrichtung der Forschungsdozentur Bioinformatik an der Medizinischen Fakultät sowie die Etablierung des Forschungsschwerpunktes Bioinformatik an der Universität Ulm. Zusätzliche Anerkennung haben unsere Arbeiten bei zahlreichen Einladungen zu Vorträgen an Kliniken und Instituten sowie auf nationalen und internationalen Kongressen erfahren.

### **2.5 Offene Fragen**

Aus den oben dargestellten Entwicklungen auf dem Gebiet der genomischen Array-Analysen ergeben sich eine Vielzahl offener Fragen, die zu einem Teil in einem wissenschaftlichen Nachfolgeprojekt im Rahmen des SFB 518 bearbeitet werden sollen:

- **Charakterisierung genomischer Aberrationen mit höherer räumlicher Auflösung**

Inzwischen wurde der Array für die molekulare Diagnostik weiterentwickelt. Es steht nun ein Chip mit insgesamt etwa 2800 genomischen DNA-Sonden zur Verfügung. Dieser deckt das Genom im Abstand von  $< 2$  MBp ab. Mit diesem diagnostischen Array sollen zunächst 50-100 primäre Pankreaskarzinome analysiert werden. Im Anschluß daran ist geplant, basierend

auf unseren jetzigen Befunden sowie den dann erhobenen Daten einen Array zu entwickeln, auf dem rekurrent amplifiziert gefundene Regionen durch Contigs abgedeckt werden. Mit Hilfe dieses „Contig-Arrays“ sollen die kleinsten gemeinsam amplifizierten Regionen bei Primärtumoren und Zelllinien charakterisiert werden.

- **Analyse der Genexpression von Genen aus ausgewählten Konsensusregionen**

Über quantitative Realtime-PCR Analysen oder auch über die Verwendung von Custom-Arrays für die entsprechenden Gene können genomische Daten mit der Genexpression korreliert werden. Für weitergehende molekulare Analysen innerhalb des Projektes können dann gezielt Gene ausgewählt werden.

- **Weiterführende Analysen von über die o.g. Ansätze identifizierten Kandidatengenen**

Basierend auf den genomischen und Expressionsdaten können gezielt Gene selektiert werden, die (a) genomische Amplifikationen (oder andere Aberrationen) aufweisen; (b) in einer Konsensusregion für die entsprechenden Aberration kartieren und (c) im Tumorgewebe eine differentielle Überexpression aufweisen. Für solche Kandidatengene können weiterführende Analysen erfolgen. Hierzu zählt die Untersuchung der Proteinexpression, die Sequenzanalyse sowie, insbesondere anhand von geeigneten Pankreaskarzinom-Zelllinien die funktionelle Analyse der Überexpression der ausgewählten Gene.

Gerade für einen umfassenden explorativen Ansatz, wie er durch die Verwendung der genomischen Array-Hybridisierung bereitgestellt wird, ist die Einbettung in einen aktiven Forschungsverbund unabdingbar. Durch die Kommunikation mit anderen Gruppen und insbesondere auch durch die Bioinformatik-Infrastruktur des SFB wird eine umfassende Integration der Daten möglich. Zudem kann für spezielle technische Fragestellungen auf die Expertise einer Vielzahl von Gruppen zugegriffen werden.

## **2.6 Publikationen, die in der Antragsphase ganz oder teilweise aus dem SFB-geförderten Projekt entstanden sind:**

### **Originalarbeiten**

1. Michl P, Barth C, Buchholz M, Lerch MM, Rolke M, Holzmann KH, Menke A, Fensterer H, Giehl K, Lohr M, Leder G, Iwamura T, Adler G, Gress TM. Claudin-4 expression decreases invasiveness and metastatic potential of pancreatic cancer. *Cancer Res* 2003; 63:6265-71

2. Wessendorf S, Schwänen C, Kohlhammer H, Kienle D, Wrobel G, Barth TFE, Nessling M, Möller P, Döhner H, Lichter P, Bentz M. Hidden gene amplifications in aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphomas detected by microarray-based comparative genomic hybridization. *Oncogene* 2003; 22:1425-1429
3. Schwänen C, Nessling M, Wessendorf S, Salvi T, Wrobel G, Radlwimmer B, Kestler HA, Haslinger C, Stilgenbauer S, Döhner H, Bentz M, Lichter P. Automated Array Based Genomic Profiling in Chronic Lymphocytic Leukemia: Development of a Clinical Tool and Discovery of New Recurrent Genomic Alterations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, im Druck
4. Fensterer H, Giehl K, Buchholz M, Ellenrieder V, Buck A, Kestler HA, Adler G, Gierschik P, Gress TM. Expression profiling of the influence of Ras mutants on the TGF $\beta$ -induced phenotype of pancreatic cancer cells. *Genes Chromosomes and Cancer*, im Druck.

### Übersichtsarbeiten

Schwänen C, Wessendorf S, Kestler HA, Döhner H, Lichter P, Bentz M: DNA microarray analysis in malignant lymphomas. *Annals of Hematology* 2003; 82: 323-332

### 2.7 Zitierte Literatur

- Alizadeh AA, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403: 503-511
- Bentz M et al. Minimal sizes of deletions detected by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosom Cancer* 1998; 21:172
- Brown PO, Botstein D. Exploring the new world of the genome with DNA microarrays. *Nat Genet* 1999; 21(Suppl):33
- Clark EA et al. Genomic analysis of metastasis reveals an essential role for RhoC. *Nature* 2000; 406:532-535
- Geng et al. Isolation of differentially expressed genes by combining representational difference analysis (RDA) and cDNA library assays. *BioTechniques* 1998; 25:434
- Ghadimi BM et al. Specific chromosomal aberrations and amplification of the AIB1 nuclear receptor coactivator gene in pancreatic carcinomas. *Am J Pathol* 1999; 154:525
- Gress TM et al. A pancreatic cancer-specific expression profile. *Oncogene* 1996; 13: 1819-1830

- Lichter P et al. Comparative genomic hybridization: uses and limitations. *Semin Hematol* 2000; 37:348
- Mahlamäki EH et al. Comparative genomic hybridization reveals frequent gains of 20q, 8q, 11q, 12p, and 17q, and losses of 18q, 9p, and 15q in pancreatic cancer. *Genes Chromosom Cancer* 1997; 20:383
- Perou CM et al. Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 2000; 406:747-752.
- Pinkel D et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nature Genet* 1998; 20:207.
- Scherf U. et al. A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. *Nature Genet* 2000: 236-244
- Solinas-Toldo S et al. Mapping of chromosomal imbalances in pancreatic carcinoma by comparative genomic hybridization. *Cancer Res* 1996; 56:3803
- Solinas-Toldo S et al. Matrix-based comparative genomic hybridization: Biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosom Cancer* 1997; 20:399