

INAUGURAL - DISSERTATION

zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlich-Mathematischen Gesamtfakultät
der
Ruprecht - Karls - Universität
Heidelberg

**Epigenetische Veränderungen in Tumoren:
Untersuchung der DNA-Methylierung in
prognostischen Subgruppen der Chronischen
Lymphatischen Leukämie und im
Medulloblastom**

vorgelegt von

Diplom-Biologin Verena Julia Fleig

aus Mannheim

Tag der mündlichen Prüfung:

Die vorliegende Arbeit wurde am Deutschen Krebsforschungszentrum in der Abteilung von Prof. Dr. Peter Lichter in der Zeit vom 01.09.2005 bis 31.03.2010 unter der wissenschaftlichen Anleitung von Dr. Bernhard Radlwimmer ausgeführt.

Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit, dass ich diese vorgelegte Dissertation selbst verfasst und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe. Diese Dissertation wurde in dieser oder anderer Form weder bereits als Prüfungsarbeit verwendet, noch einer anderen Fakultät als Dissertation vorgelegt. An keiner anderen Stelle ist ein Prüfungsverfahren beantragt.

Heidelberg, den 10. August 2009

Verena Fleig

Gutachter: Prof. Dr. Werner Buselmaier

Prof. Dr. Peter Lichter

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis.....	XI
Abbildungsverzeichnis.....	XIII
Tabellenverzeichnis	XV
Zusammenfassung	XVII
Abstract	XIX
1 Einleitung.....	1
1.1 Krebs	1
1.2 Epigenetik und Krebs.....	4
1.2.1 Epigenetik	4
1.2.1.1 Posttranslationale Modifikation von Histonen	4
1.2.1.2 DNA-Methylierung.....	6
1.2.2 Epigenetische Veränderungen bei Tumoren.....	9
1.3 Analyse von DNA-Methylierung	11
1.4 Chronische Lymphatische Leukämie	13
1.4.1 Entstehung.....	13
1.4.2 Biologie und genetische Veränderungen.....	15
1.4.3 Epigenetische Veränderungen	16
1.4.4 Diagnose.....	17
1.4.5 Symptome und klinischer Verlauf.....	18
1.4.6 Prognose.....	18
1.4.6.1 Klinische Stadieneinteilung.....	19
1.4.6.2 Doubling time.....	20
1.4.6.3 Serummarker	20
1.4.6.4 IgVH-Status	20
1.4.6.5 Zytogenetik.....	21
1.4.7 Therapie	22
1.4.7.1 Behandlungskriterien.....	22
1.4.7.2 Therapie	23
1.5 Medulloblastom	23
1.5.1 Entstehung.....	23
1.5.2 Biologie und genetische Veränderungen.....	23
1.5.3 Epigenetische Veränderungen	25
1.5.4 Diagnose.....	25
1.5.5 Symptome.....	26
1.5.6 Prognose.....	26
1.5.7 Therapie	26
1.5.8 Medulloblastom-Mausmodell	27
2 Zielsetzung.....	29
3 Material.....	31
3.1 Chemikalien und Reagenzien	31
3.2 Zellkulturreagenzien und -zusätze.....	32
3.3 Enzyme	32
3.4 Sonstige Materialien	32
3.5 Kommerziell erhältliche Kits.....	32
3.6 Primer	33
3.7 Lösungen und Puffer.....	33

3.7.1	Standardlösungen und -puffer	33
3.7.2	Puffer für aPRIMES.....	34
3.7.3	Puffer für arrayCGH	34
3.7.4	Nährmedien	34
3.8	Plasmide	35
3.9	Geräte	35
3.10	Software	35
3.11	Datenbanken.....	36
3.12	Biologisches Material	36
3.12.1	CLL-Patientenproben	36
3.12.1.1	Patientenproben für aPRIMES.....	36
3.12.1.2	Patientenproben für Expressionsanalyse.....	37
3.12.1.3	Patientenproben für funktionelle Analyse.....	37
3.12.2	Kontrollen (CD19-positive Lymphozyten)	37
3.12.2.1	Kontrollen für aPRIMES.....	37
3.12.2.2	Kontrollen für Expressionsanalyse.....	38
3.12.3	Zelllinien.....	38
3.12.4	Proben für die Analyse des Medulloblastom-Mausmodells.....	38
4	Methoden	39
4.1	Zellbiologische Methoden.....	39
4.1.1	Isolierung der Lymphozytenfraktion aus Blut.....	39
4.1.2	Sortieren von Zellen nach Oberflächenmolekülen	39
4.1.3	Kultivierung und Passagieren von Zellen	39
4.1.4	Einfrieren und Auftauen von Zellen	40
4.1.5	Zellzahl- und Zellviabilitätsbestimmung.....	40
4.1.6	Transfektion.....	40
4.1.7	Durchflusszytometrie	41
4.1.7.1	Messung von Apoptose	41
4.1.7.2	Zellzyklusanalyse.....	42
4.1.8	Dual-Luziferase-Reporter-Assay zur Messung der NFκB-Aktivität.....	43
4.2	Transformation, Amplifikation von Plasmid-DNA und mRNA-Synthese.....	44
4.2.1	Transformation von Bakterien.....	44
4.2.2	Aufreinigung von Plasmid-DNA aus Bakterien.....	44
4.2.3	mRNA-Synthese für die Transfektion primärer Zellen	44
4.3	Extraktion und Analyse von DNA	45
4.3.1	DNA-Extraktion aus Zellen und Patientenproben.....	45
4.3.2	Photometrische Bestimmung der DNA-Konzentration	45
4.3.3	Elektrophoretische Auftrennung der DNA.....	45
4.3.4	„array-based Profiling of Reference-independent Methylation Status“ (aPRIMES)	46
4.3.4.1	Herstellung der Arrays	46
4.3.4.2	Vorbereitung der Proben.....	47
4.3.5	„array Comparative Genomic Hybridization“ (arrayCGH).....	51
4.3.6	Sequenzierung	52
4.4	Extraktion und Analyse von RNA	53
4.4.1	RNA Extraktion.....	53
4.4.2	Qualitative und quantitative Analyse von RNA mit dem RNA 6000 Nano LabChip®Kit und Agilent 2100 Bioanalyzer	54
4.4.3	Reverse Transkription (RT).....	54

4.4.4	Quantitative Real-Time-PCR	55
4.4.5	Genomweite Expressionsanalyse (Illumina®)	57
4.5	Software und Programme.....	57
4.5.1	ChipYard®	57
4.5.1.1	aPRIMES.....	58
4.5.1.2	arrayCGH	58
4.5.2	PIMS®	59
4.5.3	„Basic Local Alignment Search Tool“ (BLAST)	59
4.5.4	„Significance Analysis of Microarrays“ (SAM).....	59
4.5.5	„Predictive Analysis of Microarrays“ (PAM).....	60
4.5.6	Student’s t-test	60
5	Ergebnisse.....	61
5.1	Untersuchung der DNA-Methylierungsmuster in der Chronischen Lymphatischen Leukämie und ihren prognostischen Subgruppen.....	61
5.1.1	Methylierungsanalyse mittels aPRIMES.....	62
5.1.2	Untersuchung der Klassifizierbarkeit der genetischen Subgruppen mittels <i>Predictive Analysis of Microarrays</i>	63
5.1.3	<i>Significance Analysis of Microarrays</i> identifiziert differenziell methylierte CpG-Islands.....	65
5.1.4	Identifizierung von mit differenziell methylierten CpG-Islands assoziierten Genen.....	68
5.1.4.1	Validierung der Klonidentität durch Sequenzieren	68
5.1.4.2	In CLL differenziell methylierte CpG-Islands sind mit krebsrelevanten Genen assoziiert	69
5.2	Untersuchung der Genexpression in der CLL und Korrelation mit dem Methylierungsstatus.....	71
5.2.1	Genomweite Expressionsanalyse	71
5.2.2	Korrelation der Genexpression mit dem Methylierungsstatus und Auswahl der Kandidatengene für die funktionelle Analyse.....	71
5.2.2.1	Aberrante Regulation von differenziell methylierten Genen in CLL-Patienten.....	72
5.2.2.2	Subgruppenspezifische Veränderungen von DNA-Methylierung und Genexpression.....	75
5.3	Funktionelle Analyse der Kandidatengene in der CLL	78
5.3.1	Die Funktion von TRIB2 in der CLL	78
5.3.1.1	Einfluss der Überexpression von TRIB2 auf die NFκB-Aktivität in MEC-1-Zellen	79
5.3.1.2	Die Überexpression von TRIB2 allein führt nicht zu Apoptose in primären B-Zellen	80
5.3.2	Die Funktion von MTP18 in den prognostischen Subgruppen 13q- und 17p-	81
5.3.2.1	MTP18 ist ein transkriptionelles Zielgen der PI3-Kinase in CLL-Zellen.....	82
5.3.2.2	Zellwachstum und Zelltod nach PI3-Kinase Inhibition	82
5.3.2.3	Zellzyklusanalyse nach PI3-Kinase Inhibition	83
5.4	Untersuchung des DNA-Methylierungsmusters im Medulloblastom-Mausmodell	85
5.4.1	<i>Unsupervised Clustering</i> unterscheidet zwischen Tumoren und Kontrollen, aber nicht zwischen verschiedenen Genotypen	85
5.4.2	Untersuchung der verschiedenen Genotypen im Hinblick auf Unterschiede in der CGI-Methylierung und Expression	87
5.4.2.1	Vergleich der Cerebelli junger Tiere mit den Cerebelli adulter Tiere	88
5.4.2.2	Vergleich gesunder Cerebelli mit Tumoren	89

5.4.2.3	Vergleich der verschiedenen Tumor-Modelle	91
6	Diskussion	93
6.1	Veränderungen des DNA-Methylierungsmusters im Medulloblastom-Mausmodell ...	93
6.2	Veränderungen des DNA-Methylierungsmusters in der CLL	95
6.2.1	Das DNA-Methylierungsmuster in der CLL	95
6.2.2	Differenzielle Methylierung von CpG-Islands in CLL-Patienten und ihre Bedeutung für die Pathogenese	96
6.2.2.1	Differenziell methylierte CpG-Islands sind mit krebsrelevanten Genen assoziiert	96
6.2.2.2	Veränderung der Genexpression von differenziell methylierten Genen.....	98
6.2.2.3	CpG002172 - ein Tumormarker?	99
6.2.2.4	Die Funktion von TRIB2 in der CLL	100
6.2.3	Unterschiede in der DNA-Methylierung zwischen den prognostischen Subgruppen	101
6.2.3.1	In verschiedenen Subgruppen sind Gene unterschiedlicher Funktion differenziell methyliert	103
6.2.3.2	Veränderung der Genexpression von differenziell methylierten Genen....	103
6.2.3.3	Funktion von MTP18 und des PI3-Kinase-Signalwegs in der CLL	105
6.2.4	Übersicht über epigenetische Veränderungen in der CLL	106
6.3	Schlussbemerkung und Ausblick	108
7	Literaturverzeichnis	109
8	Anhang	121
8.1	SAM Ergebnisse	121
8.2	Liste der CpG-Islands mit validierter Annotation.....	175
8.3	Zellzyklusanalyse von MEC-1 nach LY294002-Behandlung	177
8.4	SAM-Vergleich der Methylierungsdaten von Cerebelli und Medulloblastomen	180
	Publikationen und Konferenzbeiträge.....	183
	Danksagung	185

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ad	lat.: bis zu, bis auf
aPRIMES	array-based Profiling of Reference-Independent Methylation Status
bp	Basenpaar
BSA	<i>Bovine Serum Albumine</i> (Rinderserumalbumin)
BTB	Broad complex, Tramtrack, Bric à brac
CGI	CpG-Island
Chr.	Chromosom
CLL	Chronische Lymphatische Leukämie
Cy3-dCTP	Cyanin 3- Desoxycytidintriphosphat
Cy5-dCTP	Cyanin 5- Desoxycytidintriphosphat
D	Deutschland
dATP	Desoxyadenosintriphosphat
DCTN2	dynactin 2
dCTP	Desoxycytidintriphosphat
ddH₂O	doppelt destilliertes Wasser
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
DNMT	DNA-Methyltransferase
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
EDTA	Ethylendiamin-tetra-Acetat
FACS	<i>Fluorescence Activated Cell Sorting</i>
for	<i>forward</i>
FSC	<i>Forwardscatter</i>
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
HAT	Histonacetyltransferase
HDAC	Histondeacetylase
HKMT	Histon-Lysin-Methyltransferase
Kap.	Kapitel
kb	Kilo-Base
lat.	lateinisch
LB	<i>Lysogeny Broth</i>
MgCl₂	Magensiumchlorid
min	Minuten
mind.	mindestens
miRNA	Mikro-RNA
mRNA	messengerRNA
MTP18	mitochondriales Protein 18 kDa
NA	<i>Not Available</i>
PAM	<i>Predictive Analysis of Microarrays</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Polymerase Kettenreaktion)
PGK1	phosphoglycerate kinase 1
PI3-Kinase	Phosphatidylinositol 3-Kinase
POZ	poxvirus and zinc finger
qRT-PCR	quantitative Real-Time PCR
rev	reverse

RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (Ribonukleinsäure)
rpm	<i>rounds per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
RT	Raumtemperatur
RT	Reverse Transkriptase
SAM	<i>Significance Analysis of Microarrays</i>
sog.	sogenannte
SSC	<i>Sidescatter</i>
Std.	Stunde(n)
Tab.	Tabelle
TRIB2	tribbles homolog 2
U	Unit (Enzymmenge, die unter Standardbedingungen eine gegebene Substratkonzentration in einer definierten Zeit umsetzt)
UK	United Kingdom
USA	United States of America
Vol.	Volumen
vs.	versus (lat.: gegen)
(v/v)	<i>volume per volume</i>
Wnt	Wingless

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1 Die häufigsten Krebstodesursachen im Jahr 2007	1
Abbildung 1.2 <i>Hallmarks of Cancer</i>	2
Abbildung 1.3 Histonacetyltransferasen und Histondeacetylasen.....	5
Abbildung 1.4 Methylierung von Cytosin	6
Abbildung 1.5 Methylierung von CpG-Island.....	7
Abbildung 1.6 Rekrutierung von Co-Repressoren durch Methyl-CpG-bindende Proteine.....	8
Abbildung 1.7 Behandlung von Tumoren mit epigenetisch wirksamen Therapeutika	11
Abbildung 1.8 aPRIMES.....	13
Abbildung 1.9 Hämatopoese.....	14
Abbildung 1.10 B-Zellreifung	15
Abbildung 1.11 Entartung von B-Zellen in verschiedenen Phasen der B-Zellreifung.....	21
Abbildung 1.12 Kaplan-Meier-Plot: Lebenserwartung der Patienten der fünf genetischen Kategorien ab Diagnosezeitpunkt (Döhner <i>et al.</i> , 2000)	21
Abbildung 1.13 Der <i>Sonic Hedgehog</i> -Signalweg	24
Abbildung 5.1 aPRIMES eines Patienten mit 17p-Deletion	62
Abbildung 5.2 PAM Analyse aller 5 Patientengruppen.....	63
Abbildung 5.3 PAM Analyse aller 5 Patientengruppen: separate Darstellung der Gruppen ...	64
Abbildung 5.4 PAM Analyse der Gruppen 13q-, 17p- und Kontrollen.....	65
Abbildung 5.5 SAM-Analyse: Vergleich CLL gegen Kontrolle.....	66
Abbildung 5.6 Identifizierung subgruppenspezifisch methylierter Klone	68
Abbildung 5.7 Expression und Methylierungsstatus ausgewählter Kandidaten	72
Abbildung 5.8 CpG002172-Methylierungsstatus in den verschiedenen Subgruppen der CLL.	74
Abbildung 5.9 CpG002172-Methylierungsstatus in MCL-Patienten	75
Abbildung 5.10 Methylierungsstatus und Expression von CpG008878/ <i>ZBTB32</i> in 17p-Patienten im Verhältnis zur Kontrolle	76
Abbildung 5.11 Identifizierung signifikant differenziell methylierter und exprimierter Gene in den Subgruppen 13q- und 17p-.....	77
Abbildung 5.12 Expression und Methylierungsstatus subgruppenspezifischer Kandidaten	77
Abbildung 5.13 <i>TRIB3/SINK</i> -Expression in CLL-Patienten und Kontrollen	79
Abbildung 5.14 Apoptose-Assay 48 Stunden nach Transfektion mit <i>TRIB2</i> -mRNA.....	80
Abbildung 5.15 arrayCGH der CLL-Zelllinie MEC-1.....	81
Abbildung 5.16 <i>MTP18</i> -Expression	82
Abbildung 5.17 Zellwachstum und Zelltod nach PI3-Kinase-Inhibition.....	83
Abbildung 5.18 Zellzyklusanalyse nach PI3-Kinase-Inhibition	84
Abbildung 5.19 Unsupervised Cluster der aPRIMES-Daten.....	86
Abbildung 5.20 Vergleiche der verschiedenen Geno- und Gewebetypen	87
Abbildung 5.21 Ermittlung signifikant methylierter und exprimierter Gene in den Mausmodellen.....	88
Abbildung 5.22 Expression, Methylierungsstatus und Funktion von MCM5	90
Abbildung 6.1 Die Funktion von MTP18 und des PI3-Kinase-Signalwegs in verschiedenen Subgruppen der CLL.....	106
Abbildung 6.2 Zusammenfassung	107



Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1 Häufigste chromosomale Veränderungen in der CLL	16
Tabelle 1.2 Obligatorische Untersuchungen	18
Tabelle 1.3 Empfohlene fakultative Untersuchungen	18
Tabelle 1.4 Stadieneinteilung nach Rai	19
Tabelle 1.5 Stadieneinteilung nach Binet	19
Tabelle 1.6 Zuteilung der CLL-Patienten zu genetischen Kategorien und Prognose	22
Tabelle 1.7 Einteilung der Medulloblastom-Patienten in prognostische Subgruppen	26
Tabelle 5.1 Patientenproben und Kontrollen für die Methylierungsanalyse	62
Tabelle 5.2 Ergebnisse der SAM-Analyse.....	66
Tabelle 5.3 Ermittlung subgruppenspezifisch methylierter Klone	68
Tabelle 5.4 Mit hypomethylierten CGIs assoziierte Gene.....	69
Tabelle 5.5 Mit hypermethylierten CGIs assoziierte Gene	70
Tabelle 5.6 Patientenproben und Kontrollen für die Expressionsanalyse.....	71
Tabelle 5.7 Ergebnisse der SAM-Analyse aus dem direkten Vergleich der Subgruppen 13q- und 17p-.....	77
Tabelle 5.8 Proben für die Methylierungsanalyse des Medulloblastom-Mausmodells.....	85
Tabelle 5.9 Differenziell methylierte CGIs beim Vergleich der Cerebelli adulter und junger Tiere	89
Tabelle 5.10 Differenziell methylierte CGIs beim Vergleich von Cerebelli gesunder Tiere und Tumorgewebe.....	89



Zusammenfassung

Epigenetische Veränderungen können zur Entstehung und Progression von Krebs beitragen. Aberrante DNA-Methylierung von CpG-reichen Abschnitten der DNA in Promotorregionen kann zur Repression von Tumorsuppressorgenen oder Aktivierung von Onkogenen führen.

In dieser Arbeit wurden zwei verschiedenen Tumorentitäten, die Chronische Lymphatische Leukämie (CLL) und das Medulloblastom, mittels aPRIMES, einer neuen Methode zur genomweiten Analyse von DNA-Methylierung, untersucht, um neue epigenetische Veränderungen zu identifizieren, die zur Pathogenese beitragen können.

CLL ist eine neoplastische Erkrankung der B-Zellen und ist charakterisiert durch Apoptoseresistenz und die Akkumulation von reifen B-Zellen klonalen Ursprungs in peripherem Blut, Knochenmark und Lymphknoten. Hier wurden in allen untersuchten Patienten Veränderungen der DNA-Methylierung gegenüber den Kontrollen gefunden. Viele der aberrant methylierten CpG-Islands waren mit Genen assoziiert, die krebsrelevante Funktion besitzen. Durch Expression Profiling konnte gezeigt werden, dass die Expression einiger dieser Gene ebenfalls dereguliert war. Außerdem konnte ein diagnostischer Marker, der Methylierungsstatus des CpG-Islands CpG002172, identifiziert werden.

Beim Vergleich von Patientengruppen mit unterschiedlicher Prognose zeigte sich, dass Patienten mit einer aggressiveren Form der CLL eine weit höhere Anzahl von aberrant methylierten CpG-Islands aufwiesen als Patienten mit guter Prognose, und dass sich die Methylierungsmuster dieser Gruppen signifikant unterscheiden. Außerdem konnte in funktionellen Analysen demonstriert werden, dass die Aktivität des PI3-Kinase-Signalwegs und die Expression des in diesen beiden prognostischen Subgruppen differenziell methylierten und exprimierten Gens *MTP18* zur Variabilität bezüglich der Prognose beitragen könnte.

Das Medulloblastom ist ein aggressiver Gehirntumor, der vor allem im Kindesalter auftritt. Er zeichnet sich durch eine hohe Proliferationsrate aus, ist stark invasiv und bildet Metastasen. In dieser Arbeit wurden zwei Medulloblastom-Mausmodelle ($Ptch^{+/-}$ und $Ptch^{+/-};Nos^{-/-}$) der Methylierungsanalyse mit aPRIMES unterzogen. Die Doppelmutante $Ptch^{+/-};Nos^{-/-}$ weist eine gegenüber der $Ptch^{+/-}$ -Einzelmutante höhere Tumorinzidenz und eine geringere Überlebensrate auf. Beim Vergleich der Cerebelli juveniler und adulter Mäuse wurde eine in den adulten Mäuse hypermethylierte CpG-reiche Region identifiziert, die viele regulatorische piRNAs (piwi-interacting RNA) enthält, die im sich entwickelnden Embryo exprimiert werden und in *gene silencing* involviert sind, vor allem in die Inaktivierung von Transposons. Beim Vergleich von gesunden Cerebelli und Tumorgewebe wurde *Mcm5* als Kandidat identifiziert. Dieses Gen kodiert einen Replikations-Initiations-Faktor und könnte somit zur hohen

Proliferationsrate von Medulloblastomzellen beitragen. Außerdem ist es in der Lage, p53-vermittelten Wachstumsarrest aufzuheben. Zwischen den untersuchten Maus-Tumormodellen wurden keine signifikanten Unterschiede im DNA-Methylierungsmuster gefunden. DNA-Methylierung spielt hier also - anders als bei der CLL - wahrscheinlich keine entscheidende Rolle bei der unterschiedlichen Aggressivität der Tumore.

Zusammenfassend konnten in beiden untersuchten Entitäten Veränderungen der DNA-Methylierung gefunden werden, die zur Pathogenese beitragen können, im Falle der CLL möglicherweise auch zu der Variabilität bezüglich Prognose und Symptomatik.

Abstract

Epigenetic changes can contribute to the development and progression of cancer. Aberrant DNA-methylation of CG-rich regions close to promoters can lead to silencing of tumor suppressor genes and activation of oncogenes. In this study, two tumor entities, Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) and Medulloblastoma, were analyzed by aPRIMES, a new array-based method for the investigation of DNA-methylation in order to identify new pathogenic factors.

CLL is characterized by the accumulation of clonal malignant B-cells in peripheral blood, bone marrow and lymphoid tissues and by resistance to apoptosis. In the present study, aberrant DNA-methylation of CpG-Islands was found in all patients when compared to controls, and many of those were associated with genes with cancer-related function. Expression Profiling showed that the expression of several of these genes was deregulated. Interestingly, a diagnostic marker, the methylation status of the CpG-Island CpG002172, could be identified as well. Comparing subgroups of patients with different prognosis patients with a more aggressive type of the disease show a higher number of aberrantly methylated CpG-Islands than patients with good prognosis and the overall methylation patterns of these groups differ significantly. Furthermore, functional analyses revealed that the activity of the PI3-kinase pathway and the expression of MTP18, which was found differentially methylated and expressed in these two prognostic subgroups, may contribute to the different outcome of the disease.

Medulloblastoma is a highly malignant tumor of the cerebellum which comprises the most frequent malignant brain tumor in childhood. It is characterized by a high proliferation rate, invasive growth and the formation of metastases. Here, two medulloblastoma-mouse models ($Ptch^{+/-}$ and $Ptch^{+/-};Nos^{-/-}$) were investigated by aPRIMES. The double-mutant $Ptch^{+/-};Nos^{-/-}$ shows an increased tumor incidence and decreased survival compared to the single-mutant, $Ptch^{+/-}$. When comparing the cerebelli of juvenile and adult mice, a hypermethylated region was identified in the adult mice, which harbors many regulatory piRNAs (piwi-interacting RNAs). These piRNAs are expressed in the developing embryo and germ line cells and are involved in gene silencing, specifically in the silencing of transposons. Furthermore, *Mcm5*, encoding a DNA replication licensing factor that can overcome p53-mediated growth arrest, was found to be hypomethylated and overexpressed in medulloblastoma cells compared to healthy cerebellum, irrespective of the genotype. This overexpression may contribute to the high proliferation rate of these cells. The two mouse tumor models did not show significant

differences in their methylation patterns, suggesting that DNA-methylation does not play a major role in the difference of malignancy of the respective tumors.

Taken together, the results of this work showed that both tumor entities exhibit alterations in DNA-methylation which can contribute to pathogenesis. In CLL, these changes might even contribute to the variability in prognosis.

1 Einleitung

1.1 Krebs

Krebs ist die zweithäufigste Todesursache in Deutschland und der westlichen Welt und die häufigste Todesursache weltweit (WHO). Krebs geht auf eine Ursprungszelle zurück. Die Transformation von einer normalen Zelle zu einer Krebszelle ist ein mehrstufiger Prozess. Die Ursachen für die Entstehung von Krebs sind vielfältig: hierzu gehören die Exposition gegenüber physikalischen Karzinogenen (UV, Röntgenstrahlung), chemischen Karzinogenen (Asbest, Komponenten im Tabakrauch, Aflatoxin) und biologischen Karzinogenen wie bestimmten Viren und Bakterien (HPV, Helicobacter), welche zur Schädigung der DNA führt. Außerdem spielen genetische Faktoren eine Rolle. Mit dem Alter steigt die Krebshäufigkeit, u.a. durch Akkumulation von Mutationen. Theoretisch kann jede Zelle des Körpers entarten. Es gibt allerdings Unterschiede in der Häufigkeit bezüglich des betroffenen Gewebes sowie geschlechtsspezifische Unterschiede (Abb. 1.1). So ist z.B. die häufigste Todesursache durch Krebs bei Männern Lungenkrebs und bei Frauen Brustkrebs.

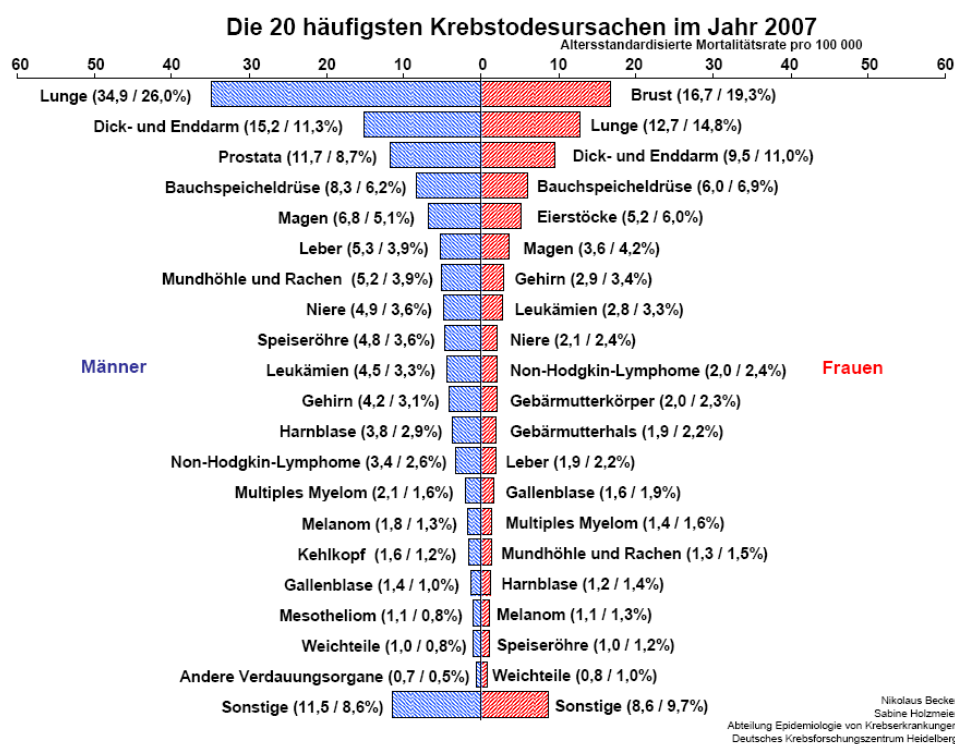


Abbildung 1.1 Die häufigsten Krebstodesursachen im Jahr 2007
(Quelle: Abteilung Epidemiologie von Krebserkrankungen, DKFZ)

Krebs zeichnet sich durch unkontrolliertes Wachstum körpereigener Zellen aus. Es existieren vielfältige Mechanismen, die dies verhindern. Werden diese Kontrollmechanismen ausgeschaltet, kommt es zur malignen Transformation der Zellen. Hanahan und Weinberg (Hanahan und Weinberg 2000) haben sechs Eigenschaften benannt (*Hallmarks of Cancer*), die die Krebszellen während der malignen Transformation erwerben (Abb. 1.2). Allerdings

müssen nicht all diese Charakteristika während der Entwicklung zur Krebszelle erworben werden. So besitzen z.B. normale hämatopoetische Zellen schon von Natur aus die Fähigkeit zur Invasion in andere Gewebe.

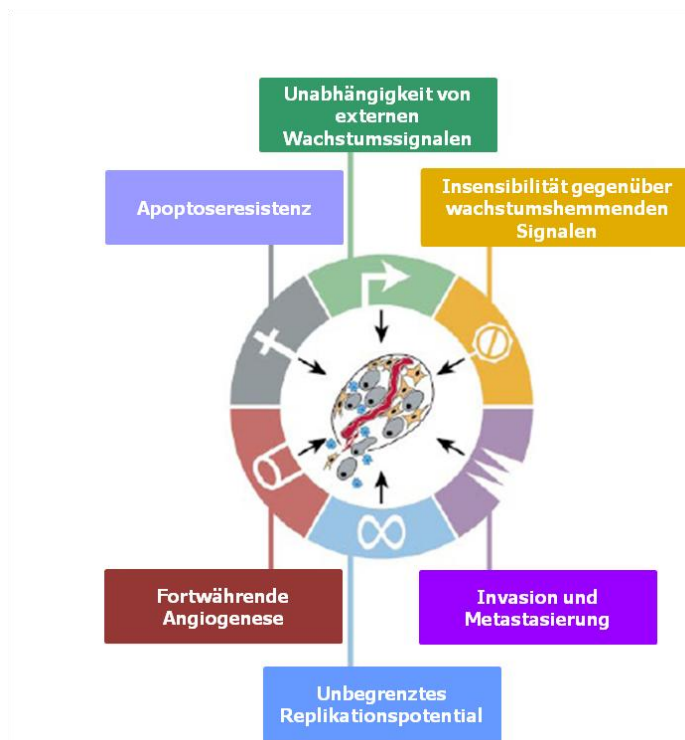


Abbildung 1.2 Hallmarks of Cancer

(modifiziert nach Hanahan und Weinberg, 2000)

Krebszellen erwerben laut Hanahan und Weinberg während des Transformationsprozesses folgende Eigenschaften: Fähigkeit zu Invasion & Metastasierung, unbegrenzt Replikationspotential, Insensibilität gegenüber Apoptose, Insensibilität gegenüber wachstumsinhibierenden Signalen, fortwährende Angiogenese und Unabhängigkeit von externen Wachstumssignalen.

Hierbei findet eine Art Evolution statt, bei der die Krebszellen einen Selektionsvorteil gegenüber anderen Zellen erlangen. So führt zum Beispiel der Verlust der Zellzykluskontrolle zu einem Wachstumsvorteil gegenüber gesunden Zellen. Apoptoseresistenz befähigt die Zellen, trotz DNA-Schäden weiter zu proliferieren und die Fähigkeit zur Invasion und Metastasierung ermöglicht die Anpassung an andere Umgebungsbedingungen und somit die Ausbreitung in andere Gewebe.

Die beschriebenen Fähigkeiten, die die Krebszellen während des Transformationsprozesses erwerben, sind das Resultat von Veränderungen, die vor allem zwei Gruppen von Genen betreffen: Tumorsuppressorgene und Onkogene. Onkogene sind Gene, die den Übergang vom normalen Wachstumsverhalten der Zelle zum unkontrollierten Tumorwachstum begünstigen. Onkogene entstehen im Allgemeinen durch sog. *gain of function*-Mutationen aus Proto-Onkogenen. Proto-Onkogene sind Gene, die in einer gesunden Zelle das Wachstum und die Zellteilung fördern, aber streng reguliert werden. Mutationen in diesen Genen können den Verlust dieser Kontrolle bewirken, z.B. durch Überexpression oder

erhöhte Aktivität des entsprechenden Genprodukts, und damit die Entstehung von Krebs begünstigen. Ein Beispiel für ein solches Onkogen ist *MYC*. *MYC* ist ein Transkriptionsfaktor, der die Transkription von ca. 15% der menschlichen Gene reguliert. Wird *MYC* durch eine Mutation permanent exprimiert, kommt es zu einer stetigen Aktivierung der Zielgene und damit unkontrollierter Proliferation. *MYC* ist in vielen Tumoren überexprimiert, z.B. in einer Untergruppe der Medulloblastome und Neuroblastome durch Amplifikation des *MYC*-Gens oder im Burkitt-Lymphom durch Translokation. Im letzteren Fall gelangt das auf Chromosom 8 lokalisierte *MYC*-Gen unter die Kontrolle der Enhancer der Immunglobulingene, die in B-Lymphozyten stark exprimiert werden, und wird somit ebenfalls hoch exprimiert. Diese Veränderung allein ist allerdings für die Entartung der Zelle noch nicht ausreichend, da eine alleinige Überexpression von *MYC* auch zu einer Zunahme der Apoptose führen würde. Daher sind für die Entartung auch Veränderungen in einer zweiten Gruppe von Genen notwendig, den Tumorsuppressorgenen. Tumorsuppressoren sind Proteine, die normalerweise die Transformation zu einer Krebszelle verhindern: sie regulieren den Zellzyklus, indem sie die Expression von Wachstumsfaktoren und Zellzyklusproteinen, den Cyclin-abhängigen Kinasen, unterdrücken. Checkpoints in jeder Phase des Zellzyklus sorgen dafür, dass die Zelle nur dann im Zellzyklus fortfährt, wenn keine DNA-Schäden vorliegen und eine korrekte Verteilung der Chromosomen stattgefunden hat. Ist dies nicht der Fall, wird der Zellzyklus arretiert, bis der Schaden behoben ist. Wenn eine Reparatur nicht möglich ist, lösen Tumorsuppressoren Apoptose aus und verhindern so, dass sich Mutationen anhäufen, die die Entstehung von Krebs begünstigen könnten. Außerdem sind Tumorsuppressoren an der Zelladhäsion beteiligt und hemmen so die Bildung von Metastasen. Mutationen in Tumorsuppressorgenen, die zum Verlust oder zur Beeinträchtigung ihrer Funktion führen, ermöglichen die maligne Transformation. So ist zum Beispiel der Tumorsuppressor p53, der als Transkriptionsfaktor Gene reguliert, die an Kontrolle von Zellzyklus, Apoptose und DNA-Reparatur beteiligt sind, in der Mehrheit der Tumore mutiert (Weinberg 2007).

Diese Veränderungen in krebsrelevanten Genen können auf genetischer Ebene durch genomische Aberrationen, Chromosomen- oder Genmutationen stattfinden oder durch epigenetische Mutationen verursacht werden. Letzteres wird auch als Epimutation bezeichnet.

1.2 Epigenetik und Krebs

1.2.1 Epigenetik

Unter Epigenetik versteht man vererbare, aber reversible Modifikationen der DNA zur Regulation der Genexpression. Die DNA-Sequenz bleibt dabei unverändert (Feinberg 2004). Dies ist vor allem von Bedeutung für multizelluläre Organismen, da aus einer fertilisierten Eizelle z.B. beim Menschen ca. 200 verschiedene Zelltypen entstehen, die alle das gleiche Genom, aber unterschiedliche Funktionen haben: sie unterscheiden sich in ihren Epigenomen. Unterschiede im Epigenom können auch zum Teil erklären, warum sich selbst eineiige Zwillinge phänotypisch unterscheiden können (Fraga *et al.*, 2005). Epigenetik spielt auch bei der genomischen Prägung, dem sogenannten Imprinting, eine Rolle. Dies ist ein epigenetischer Mechanismus transkriptioneller Regulation durch welche die Expression einer Gruppe von Genen auf ein bestimmtes elterliches Allel beschränkt ist (Verona *et al.*, 2003). Wie auch genetische Veränderungen, können Änderungen im Epigenom an der Entstehung von diversen Krankheiten beteiligt sein. Beispielsweise liegt beim Prader-Willi-Syndrom (PWS) bzw. dem komplementäre Angelmann-Syndrom (AS) ein Fehler im Imprinting vor: welches der beiden Syndrome sich entwickelt, hängt davon ab, ob ein Verlust mütterlicher oder väterlicher Prägung der chromosomalen Region 15q11-13 vorliegt (Zeschnick *et al.*, 1997).

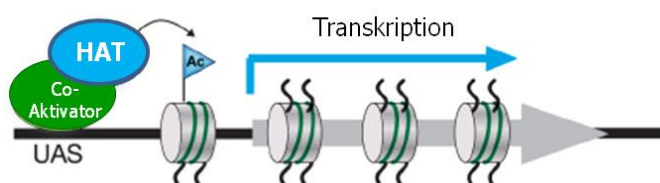
Die epigenetische Regulation basiert auf der Modifikation der Chromatinstruktur der DNA. Die DNA liegt in eukaryotischen Zellen im Komplex mit Proteinen vor, als Chromatin: die DNA ist um Nukleosomen gewunden, die aus Histonproteinen bestehen (Kornberg 1974). Die Chromatinstruktur kann durch posttranslationale Histonmodifikationen und *Chromatin Remodeling* verändert werden. Die DNA selbst kann durch Methylierung modifiziert werden. Die eigentliche Regulation erfolgt im Prinzip durch Verhindern oder Zulassen des Zugangs der Transkriptionsmaschinerie zur DNA.

1.2.1.1 Posttranslationale Modifikation von Histonen

Chromatin kann unterteilt werden in Einheiten bestehend aus sog. Nukleosomen, Proteinkomplexen aus jeweils zwei Molekülen der basischen *core* Histone H2A, H2B, H3 und H4, um die 147 bp DNA gewunden sind. Die Histone bestehen aus einer zentralen globulären Domäne und flexiblen aminoterminalen Armen. Diese Histon-Arme können auf vielfältige Weise posttranslational modifiziert werden z.B. durch Methylierung der Lysine und Arginine, Acetylierung der Lysine und Phosphorylierung der Serine sowie auch Ubiquitinierung und SUMOylierung der Lysine. Diese Modifikationen verändern die Ladung der Histonproteine und damit die Interaktion mit der negativ geladenen DNA und haben hierdurch eine regulierende Funktion bezüglich der Zugänglichkeit der DNA und der Transkriptionsaktivität.

Diese posttranslationalen Veränderungen werden durch verschiedene Klassen histonmodifizierender Enzyme durchgeführt: Histonacetyltransferasen (HATs; Acetylierung der Lysine), Methyltransferasen (Methylierung von Lysinen und Argininen) und Kinasen (Phosphorylierung der Serine und Threonine) und ihrer Antagonisten wie Histondeacetylasen (HDACs), Deiminasen (Demethylierung von Arginin) und Phosphatasen. Am besten untersucht sind die HATs und HDACs (Abb. 1.3): Erstere übertragen mit Hilfe des Cofaktors Acetyl-CoA Acetylgruppen an Lysine der aminoterminalen Bereiche der Histone. Hierdurch wird die positive Ladung teilweise neutralisiert und die Bindung an die negativ geladenen Phosphatgruppen der DNA wird gelockert. Dies ermöglicht nun den Zugang der Transkriptionskomplexe zur DNA und geht daher mit einer transkriptionellen Aktivierung dieses DNA-Abschnitts einher. Diese Enzyme wirken als Bestandteil von Multiproteinkomplexen und werden von DNA-bindenden Co-Aktivatoren bzw. Co-Repressoren sequenzspezifisch rekrutiert. HDACs entfernen die Acetylgruppen von Histon-Armen, was zu einer Repression durch kompaktere Chromatinstruktur führt (Kuo und Allis, 1998).

Co-Aktivatoren rekrutieren Histonacetyltransferasen (HATs)



Co-Repressoren rekrutieren Histondeacetylasen (HDACs)

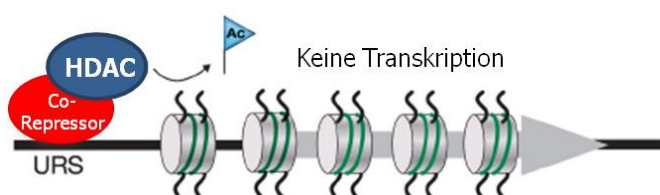


Abbildung 1.3 Histonacetyltransferasen und Histondeacetylasen
Histonacetyltransferasen (HATs) werden von Co-Aktivatoren rekrutiert, die an spezifische sog. *upstream activating sequences* (UAS) binden, und katalysieren die Acetylierung von Histonen, was zur Aktivierung der Gentranskription führt. Histondeacetylasen (HDACs) werden von Transkriptionsrepressoren rekrutiert, die an spezifische sog. *upstream repressive sequences* (URS) binden. HDACs entfernen die Acetylgruppen von den Histonen und bewirken so eine Repression der Transkription. (modifiziert nach Allis, Epigenetics 2006)

1.2.1.2 DNA-Methylierung

DNA-Methylierung erfolgt durch das Anfügen einer Methylgruppe an die C5 Position des Cytosins eines CpG-Dinukleotids, also Cytosin (C) gefolgt von Guanin (G) (Abb. 1.4).

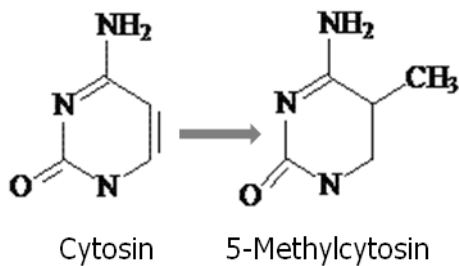


Abbildung 1.4 Methylierung von Cytosin

Katalysiert wird dieser Schritt durch DNA-Methyltransferasen (DNMT). Beim Menschen sind 3 verschiedene Methyltransferasen beschrieben (Ooi *et al.*, 2009): DNMT1 ist spezifisch für hemimethylierte – d.h. nur an einem Strang methylierte - DNA und verantwortlich für die Methylierung des neu-synthetisierten Tochterstrangs nach der DNA-Replikation. Inaktivierung der Dnmt1 in embryonalen Stammzellen von Mäusen führt zum genomweiten Verlust der Methylierung (Li *et al.*, 1992). Die Methyltransferasen der DNMT3 Familie, DNMT3A und DNMT3B, sind für die *de novo* Methylierung der DNA verantwortlich. Methyliert werden CG-reiche Abschnitte der DNA. Diese können entweder nicht-codierende Abschnitte wie Satellitensequenzen, repetitive Elemente inklusive Transposons oder sogenannte CpG-Inseln (CpG-Islands; CGIs) in Promotorregionen der Gene sein.

Circa 70% der CpG-Folgen von Säuger-DNA sind methyliert (Ehrlich *et al.*, 1982), darunter vor allem die Bereiche der Satelliten-DNA und der repetitiven Elemente. Die Methylierung der repetitiven Sequenzen ist wichtig für die genomische Stabilität, vermutlich indem sie zur korrekten Chromosomensegregation beiträgt und Non-disjunction, also die irreguläre Verteilung von Schwester-Chromatiden, verhindert. Außerdem reprimiert DNA-Methylierung die Expression und Rekombination von Retrotransposons, wie durch die Methylierung und damit Repression von Retrotransposons während Spermatogenese und Embryonalentwicklung gezeigt wurde (Walsh *et al.*, 1998; Bourc'his und Bestor 2004).

Eine Ausnahme dieser globalen Methylierung bilden die sogenannten CpG-Inseln in den Promotorregionen vieler Gene. Diese sind CG-reiche Abschnitte von ca. 1 kb Länge und sind im Gegensatz zu den repetitiven Sequenzen üblicherweise unmethyliert (Bird *et al.*, 1985). Über die Hälfte der Promotoren menschlicher Gene enthalten CpG-Islands. Die Methylierung dieser CpG-Inseln dient der Kontrolle der Genexpression (Abb. 1.5); hier wirkt die DNA-Methylierung inhibierend auf die Transkription (für eine Übersicht s. Klose und Bird 2006).

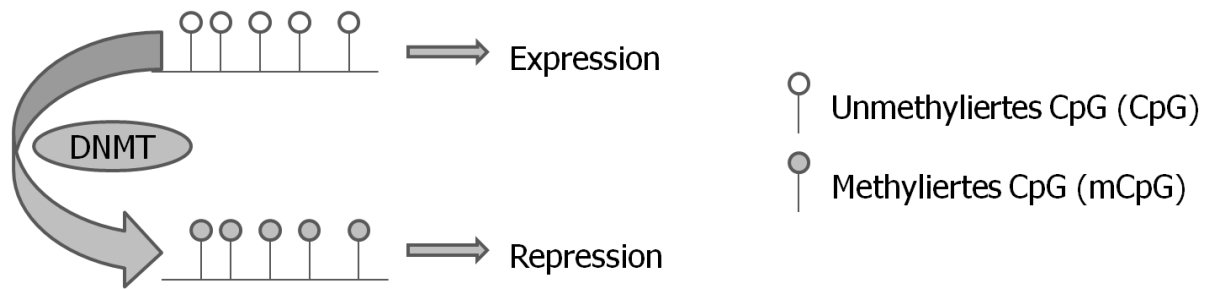


Abbildung 1.5 Methylierung von CpG-Island
Methylierung einer Folge von CpG-Dinukleotiden (CpG-Island) durch eine
DNA-Methyltransferase (DNMT) in der Promotorregion eines Gens und daraus resultierende
Repression der Genexpression

DNA-Methylierung von Promotoren erfolgt normalerweise während der Entwicklung bzw. Differenzierung, um gewebsspezifisch Genexpression zu gewährleisten. Aber auch gezielte Demethylierung kann bei der Differenzierung eine Rolle spielen, wie im Falle des Interleukin-2 (IL-2) Promotors während der T-Zell-Differenzierung. Dieser Schritt und die Re-Expression des IL-2 Gens sind essentiell für die T-Zellentwicklung (Bruniquel and Schwartz 2003).

Die Regulation der Expression durch DNA-Methylierung von Promotoren kann durch zwei Mechanismen erfolgen: einerseits verhindert die Methylierung der Promotorregion direkt die Bindung von Transkriptionsfaktoren an die DNA (Watt und Molloy 1988), wie im Fall des CTCF Proteins, das an der genomischen Prägung des H19/Igf2 Locus in Mäusen beteiligt ist (Bell und Felsenfeld 2000). Andererseits kann die DNA-Methylierung auch als Signal zur Chromatinmodifikation dienen: die Repression der Transkription erfolgt dabei durch Rekrutierung von sog. Methyl-CpG-bindenden Proteinen wie MECP2 (*Methyl-CpG-binding Proteins*) an methylierte DNA-Regionen (Meehan *et al.*, 1989; Bird und Wolffe 1999; Abb. 1.6). Hierbei wird die DNA-Methylierung von MECP2 erkannt, welches mit einem Co-Repressor-Komplex assoziiert und als Signal zur Chromatinmodifikation durch Deacetylierung dient. Dadurch kommt es zur methylierungsabhängigen Repression der Transkription (Jones *et al.*, 1998; Nan *et al.*, 1998). Diese erfolgt sequenzspezifisch, so bindet z.B. MECP2 vor allem an mCpGs, die von AT-reicher DNA flankiert sind (Klose *et al.*, 2005).

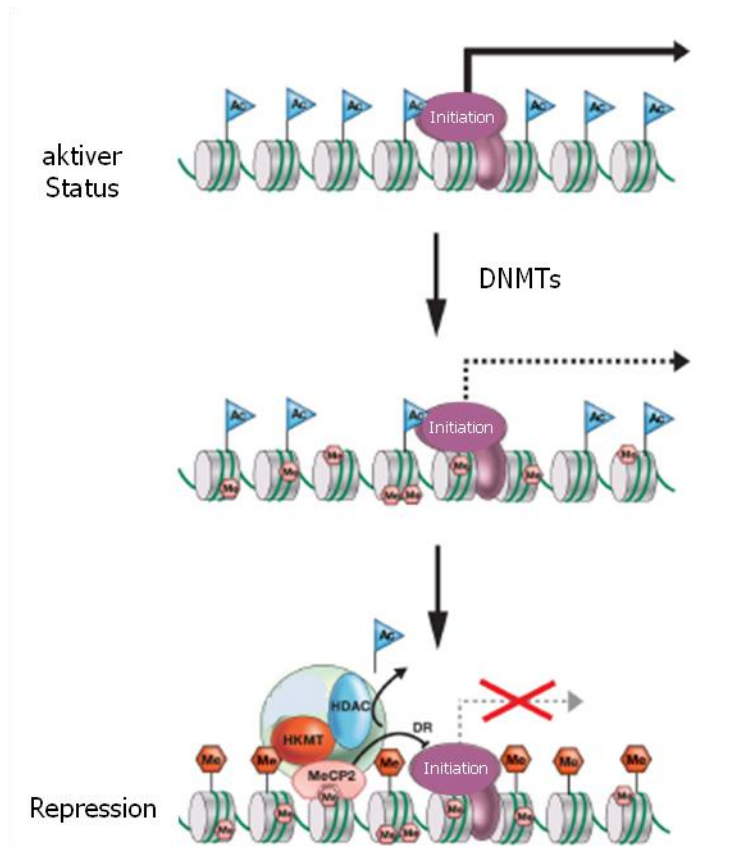


Abbildung 1.6 Rekrutierung von Co-Repressoren durch Methyl-CpG-bindende Proteine
Nach Initiierung der Repression methylieren DNA-Methyltransferasen (DNMTs) CpG-Islands in Promotorregionen. An diese methylierten CpGs binden nun Methyl-CpG-bindende Proteine wie MECP2. MECP2 rekrutiert einen Co-Repressor-Komplex mit Histondeacetylasen (HDACs) und Histon-Lysin-Methyltransferasen (HKMTs).
Me=Methylgruppe; Ac=Acetylgruppe (modifiziert nach Allis, Epigenetics 2006)

Mutationen im auf dem X-Chromosom lokalisierten MECP2-Gen führen zum sog. Rett-Syndrom, der nach dem Down-Syndrom häufigsten Ursache für geistige Entwicklungsstörungen bei Mädchen (Amir *et al.*, 1999). Durch die zufällige, ebenfalls durch epigenetische Mechanismen regulierte Inaktivierung des X-Chromosoms sind heterozygote Patientinnen genetische Mosaik für die Expression des MECP2-Gens. Für Jungen ist dieser Defekt letal. Da die Patientinnen neurologische Symptome wie Koordinationsstörungen und Probleme in der Sprachentwicklung aufweisen, ist die Stilllegung der Zielgene von MECP2 offensichtlich wichtig für die Gehirnentwicklung und die fehlende Repression in Abwesenheit von MECP2 führt zu aberranter neuronaler Funktion. Das erste Zielgen von MECP2, das in diesem Zusammenhang identifiziert wurde, war BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) (Chen *et al.*, 2003), welches eine Rolle bei neuronaler Aktivität spielt.

Die epigenetische Regulation erfolgt letztlich durch ein Zusammenspiel aller erwähnten Mechanismen, einen Hinweis darauf gibt z.B. der Nachweis von Lehnertz (Lehnertz *et al.*, 2003), der gezeigt hat, dass in Abwesenheit zweier H3K9-spezifischer Histon-Methyltransferasen auch die DNA-Methylierung innerhalb heterochromatischer repetitiver Sequenzen reduziert ist.

Wie schon erwähnt, kann der Methylierungsstatus durch Umweltfaktoren beeinflusst werden. Neu ist in diesem Zusammenhang die Erkenntnis, dass diese erworbenen Veränderungen, wie von Lamarck formuliert, auch durch die Keimbahn weitergegeben werden können. In der Literatur wird dies daher häufig als „Lamarckismus“ bezeichnet. Werden beispielsweise *Drosophila*-Larven einem Hitzeschock ausgesetzt, verändert sich die Augenfarbe im Vergleich zur Kontrollgruppe: sie wird rot. Dies ist nicht auf genetische, sondern auf epigenetische Veränderungen zurückzuführen. Dass diese epigenetische Information vererbbar ist, beweist die Tatsache, dass die Nachkommen dieser Fliegen ebenfalls rote Augen haben, ein Beispiel für die Vererbung von Erworbenem (Erhardt *et al.*, 2003). Epigenetik könnte auch erklären, warum manche Erkrankungen wie Diabetes Typ II oder Schizophrenie zwar eine erbliche Komponente besitzen, aber nicht den Mendelschen Regeln folgen.

1.2.2 Epigenetische Veränderungen bei Tumoren

Epigenetische Veränderungen bei der Tumorentwicklung, sogenannte Epimutationen, schließen Hypomethylierung- also Abnahme der Methylierung (Demethylierung) - und Hypermethylierung, gleichbedeutend mit Zunahme von Methylierung, sowie Histonmodifikationen mit ein.

Hypomethylierung, die erste epigenetische Veränderung die mit Krebs assoziiert wurde (Feinberg und Vogelstein 1983), findet häufig in Form von Demethylierung repetitiver Sequenzen statt und kann zu Aneuploidie, chromosomaler Instabilität und Translokationen führen. Desweiteren können durch Demethylierung ursprünglich reprimierte Transposons aktiviert werden, was unerwünschte Rekombinationen und möglicherweise die Inaktivierung von Genen verursachen kann (Esteller und Herman 2002; Esteller 2005; Feinberg und Tycko 2004). Die Auswirkungen dessen wurden am Beispiel der Inaktivierung der DNA-Methyltransferase *Dnmt3b* gezeigt. Die dadurch hervorgerufene Hypomethylierung führt in Mäusen zu chromosomalen Aberrationen wie Fusionen und Brüchen und zu Aneuploidie. *DNMT3B* Mutationen sind auch in Patienten mit dem ICF Syndrom (*immunodeficiency centromeric instability and facial abnormalities*) gefunden worden, das mit vergleichbaren chromosomalen Aberrationen assoziiert ist (Ehrlich *et al.*, 2003).

Außerdem kann die Hypomethylierung von Promotorregionen die Aktivierung von Onkogenen bewirken, wie im Fall des Metastase-assoziierten Gens *S100A4* (Nakamura *et al.*, 1998).

Nach einer Theorie von Robertson (Robertson 2005) könnte globale Hypomethylierung in der frühen Tumorgenese die Ursache für genomische Instabilität sein und dadurch weitere genetischen Veränderungen hervorrufen, während genspezifische Demethylierung ein späteres Event sein könnte, das die Adaption von Tumorzellen und die Tumorprogression begünstigt.

Die aberrante Hypermethylierung von Promotorregionen dagegen kann die Stilllegung von Tumorsuppressorgen verursachen (für eine Übersicht s. Jones und Baylin 2002; Esteller und Herman 2002). Dies wurde in vielen Tumorentitäten zum Beispiel für das Zellzykluskontrollgen p16 gezeigt (Herman *et al.*, 1995; Merlo *et al.*, 1995). Bei einer Untersuchung einer Reihe von Patienten mit Chronischer Lymphatischer Leukämie konnte sogar gezeigt werden, dass Hypermethylierung hier das häufigste Ereignis zur Ausschaltung dieses Tumorsuppressors ist, und nicht etwa Mutationen oder Deletionen (Tsirigotis *et al.*, 2006). Auch aberrante Aktivität von histonmodifizierenden Enzymen, wie HATs und HDACs, und damit verbundene Veränderungen der Genexpression können an maligner Transformation beteiligt sein. Nach der Hypothese von Alfred Knudson („*two-hit-hypothesis*“) müssen für die Entstehung von Krebs beide Allele eines Tumorsuppressors inaktiviert werden (Knudson, 1971). Dies erfolgt genetisch durch Mutation, Deletion oder Translokation. Nach neuerer Sicht kann eine solche Mutation aber auch auf epigenetischer Ebene stattfinden.

Epimutationen wurden inzwischen in allen Tumortypen nachgewiesen. Daher wurden Therapeutika getestet, die in der Lage sind, den epigenetischen Status zu modulieren, da dieser im Gegensatz zu genetischen Mutationen reversibel ist (Abb. 1.7). Beispiele sind HDAC-Inhibitoren wie Romidepsin (unter dem Handelsnamen Istodax[®]) zur Behandlung des kutanen T-Zelllymphoms und die Cytidin-Analoga 5-Azacytidin (Handelsname Vidaza[®]) und 5-Aza-2'-Deoxycytidin (Decitabine, Handelsname Dacogen[®]), die bei der Behandlung des Myelodysplastischen Syndroms eingesetzt werden (Kaminskas *et al.*, 2005). Nukleosid-Analoga wirken unspezifisch und durch passive Demethylierung: sie werden während der Replikation in die neu synthetisierte DNA eingebaut und durch DNMTs erkannt, die dann allerdings permanent an die DNA gebunden (Santi *et al.*, 1984) und somit irreversibel deaktiviert werden. Daher kann das Methylierungsmuster bei der Mitose nicht weitergegeben werden: die DNA wird bei fortschreitender Zellteilung passiv demethyliert. Diese Behandlung mit epigenetisch wirksamen Therapeutika wirkt durch die Reaktivierung von Tumorsuppressorgen unter anderem wachstumshemmend, wie z.B. durch die Reaktivierung von p21 durch HDAC-Inhibitoren (Richon *et al.*, 2000) oder p16 durch das Nukleosid-Analogon Zebularin (Cheng *et al.*, 2003). Außerdem wird Zelltod durch Schädigung der DNA induziert. Häufig werden sie auch in Kombination mit anderen Therapien wie z.B. Chemotherapie eingesetzt.

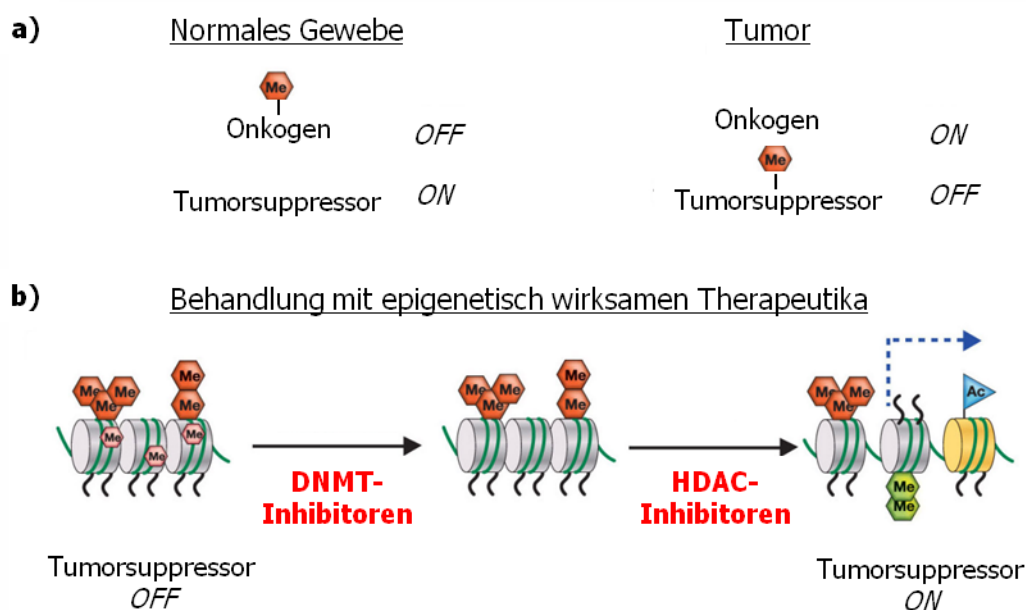


Abbildung 1.7 Behandlung von Tumoren mit epigenetisch wirksamen Therapeutika

a) In normalen Geweben sind Onkogene häufig durch epigenetische Mechanismen wie Promotormethylierung reprimiert. Während der Tumorgenesse kann es zur Reaktivierung von Onkogenen bei gleichzeitiger epigenetischer Stilllegung von Tumorsuppressoren kommen.

b) Durch Behandlung mit epigenetisch wirksamen Therapeutika wie DNMT-Inhibitoren und HDAC-Inhibitoren kann die epigenetische Repression von Tumorsuppressoren aufgehoben werden. DNMT-Inhibitoren verursachen eine DNA-Demethylierung der Promotorregionen, während HDAC-Inhibitoren durch Hemmung der Histondeacetylasen die Deacetylierung inhibieren und damit für eine Lockerung der Chromatinsstruktur sorgen.

Me=Methylgruppe; Ac=Acetylgruppe (modifiziert nach Allis, Epigenetics 2006)

Nukleosid-Analoga sind zwar sehr potent, aber durch ihre geringe Spezifität auch mit Nebenwirkungen verbunden. Um Nebenwirkungen zu reduzieren wird jetzt an der Entwicklung spezifischer DNMT-Inhibitoren gearbeitet, die zu einer direkten Inhibition der Enzyme führen, wie z.B. RG108 (Stresemann *et al.*, 2006), das aber wegen seiner hydrophilen Eigenschaften in der Klinik nicht einsetzbar ist.

1.3 Analyse von DNA-Methylierung

Es gibt verschiedene Methoden um den Methylierungsstatus der DNA zu untersuchen. Hierbei kann grob zwischen der Analyse einzelner CGIs (z.B. Bisulfit-Sequenzierung) und der genomweiten Methylierungsanalyse (z.B. DMH - *Differential Methylation Hybridization*) unterschieden werden. Bei der Bisulfit-Sequenzierung werden unmethylierte Cytosine in der Proben-DNA durch Bisulfitbehandlung zu Uracil konvertiert, während 5'-Methylcytosine unverändert bleiben. Dadurch werden methylierungsabhängige Veränderungen in die DNA-Sequenz eingeführt. Durch darauffolgende Amplifikation dieser Sequenzen und Sequenzierung kann der Methylierungsstatus auf der Ebene einzelner Nukleotide ermittelt werden (Frommer *et al.*, 1992).

Die globale Methylierungsanalyse ermöglicht es, neue, unbekannte Veränderungen z.B. in Tumoren zu entdecken. *Differential methylation hybridization* (DMH) ist eine Methode zur Bestimmung des relativen Methylierungsstatus von CpG-Sequenzen mittels Mikroarray.

Tumor- und Kontroll-DNA werden mit einem methylierungssensitiven Restriktionsenzym verdaut, so dass unmethylierte Sequenzen geschnitten werden und die verbleibenden, also methylierten Sequenzen in einer PCR-Reaktion amplifiziert werden können.

Die PCR-Produkte werden differenziell mit Fluoreszenzfarben markiert (z.B. Cy3 und Cy5) und auf einem mit CpG-reichen Sequenzen beschichteten Array hybridisiert. So können differenziell methylierte CpG-Sequenzen zwischen zwei Proben identifiziert werden (Huang *et al.*, 1999). Der Nachteil dieser Methode ist zum Einen, dass für jedes Experiment eine spezifische Kontrolle benötigt wird. Die Schwierigkeit bei der Untersuchung von DNA-Methylierung ist jedoch, dass sich das Methylierungsmuster nicht nur von Individuum zu Individuum unterscheidet - wie dies bei der DNA selbst der Fall ist - sondern auch von Gewebe zu Gewebe, und sich außerdem z.B. während des Alterungsprozesses oder durch Umwelteinflüsse verändern kann. Zum Anderen kommen in fast allen Tumoren genomische und chromosomale Aberrationen vor: diese Unterschiede in der Kopienzahl bestimmter DNA-Sequenzen können zu Fehleinschätzungen der Ergebnisse führen, da zum Beispiel ein Zugewinn einer Region im Tumor in der DMH fälschlicherweise als hypermethyliert erscheinen würde.

In dieser Arbeit wurde eine neu entwickelte Mikroarray-basierte Methode zur genomweiten Methylierungsanalyse verwendet (Pfister *et al.*, 2007; Abb. 1.8 und Methoden Kap. 2.3.4): aPRIMES (array-based Profiling of Reference-Independent Methylation Status). Die Proben-DNA wird zunächst mit MseI verdaut, um Fragmente von 200-1000 bp Länge zu erhalten. An diese Fragmente werden kurze Oligonucleotide, sogenannte Linker, ligiert. Dann wird eine Hälfte der Probe mit methylierungssensitiven Restriktionsenzymen, HpaII und BstUI, verdaut: unmethylierte Sequenzen werden geschnitten, ausschließlich methylierte Sequenzen werden in der darauffolgenden Linker-basierten PCR amplifiziert. Die andere Hälfte der Proben-DNA wird mit dem methylierungsspezifischen Restriktionsenzym McrBC behandelt, so dass in der PCR-Reaktion ausschließlich unmethylierte Sequenzen vervielfältigt werden. Die beiden Probenhälften werden mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert und kompetitiv auf einem Array hybridisiert, der mit CpG-reichen DNA-Abschnitten beschichtet ist. Die Fluoreszenzsignale werden mit einem Scanner erfasst und die Intensitäten der beiden Kanäle gegeneinander verrechnet.

Dies ermöglicht die Bestimmung des Methylierungsstatus einzelner CGIs anhand der Signalverhältnisse unabhängig von Kontrollen. Desweiteren wird das Ergebnis von genomischen Imbalancen nicht beeinflusst, da beide Probenhälften vom gleichen Ausgangsgewebe stammen.

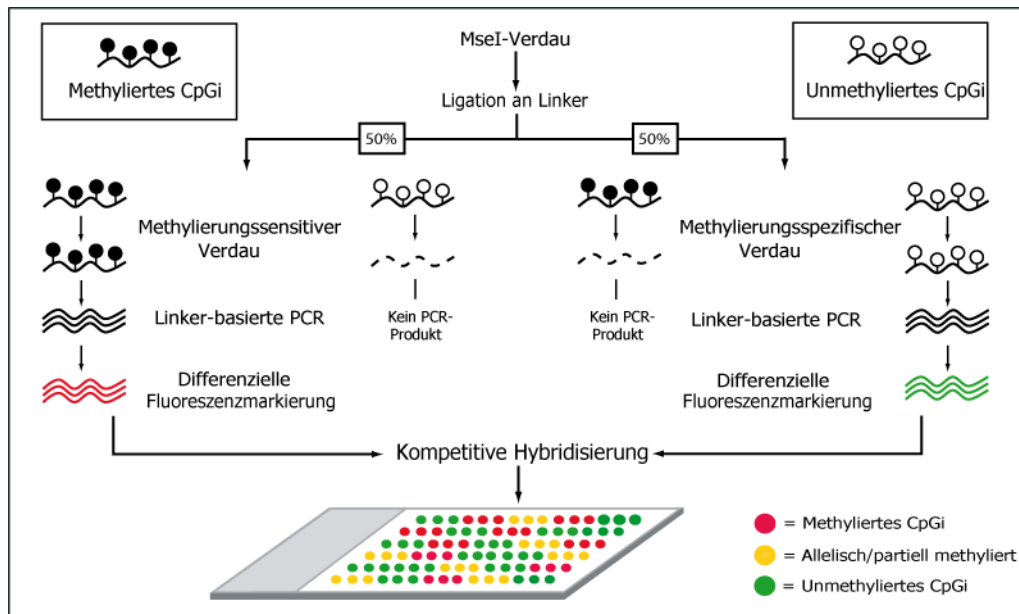


Abbildung 1.8 aPRIMES

Proben-DNA wird durch Restriktionsverdau mit *MseI* fragmentiert und an Linker-DNA ligiert. 50% der Probe werden mit methylierungssensitiven Enzymen (*HpaII* und *BstUI*) geschnitten, die anderen 50% mit einem methylierungsspezifischen Enzym (*McrBC*), so dass bei der Amplifikation mittels Linker-basierter PCR nur jeweils methylierte bzw. unmethylierte Sequenzen amplifiziert werden. Die beiden Proben werden dann mit den Fluoreszenzfarbstoffen Cy5 (635nm) und Cy3 (532nm) unterschiedlich markiert und auf dem Array hybridisiert; die einzelnen Signalintensitäten werden per Scanner ausgewertet.

1.4 Chronische Lymphatische Leukämie

Die Chronische Lymphatische Leukämie (CLL) ist mit einer Inzidenz von 3-4 pro 100.000 Einwohner (DGHO – Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie) die häufigste Form von Leukämie in der westlichen Hemisphäre und macht 30% aller Leukämieformen bei Erwachsenen aus. Sie gehört zu der Gruppe der Non-Hodgkin-Lymphome (NHL). CLL ist eine neoplastische Erkrankung der B-Zellen. Charakteristisch ist die Akkumulation von reifen B-Zellen klonalen Ursprungs in peripherem Blut, Knochenmark und Lymphknoten. Das durchschnittliche Alter bei Diagnose beträgt 65 Jahre (DGHO; Ghia *et al.*, 2007). Männer sind 1,7-mal häufiger betroffen als Frauen (DGHO).

1.4.1 Entstehung

CLL entsteht durch die Entartung von reifen B-Zellen an verschiedenen Zeitpunkten der B-Zellentwicklung. B-Lymphozyten reifen im Knochenmark und sind Bestandteil des adaptiven Immunsystems. Sie gehen aus den pluripotenten Vorläuferzellen der lymphoiden Linie hervor (s. Abb. 1.9) und besitzen sog. B-Zellrezeptoren (engl.: *B-cell receptor*, BCR), die der Antigenerkennung und Bekämpfung von Erregern dienen. Der BCR wird durch die Immunglobulingene (Ig) kodiert und besteht aus 2 leichten (IgL) und 2 schweren Ketten (IgH). Diese bestehen aus jeweils einer variablen Region (V) für die Antigenerkennung und -bindung und einer konstanten Region (C).

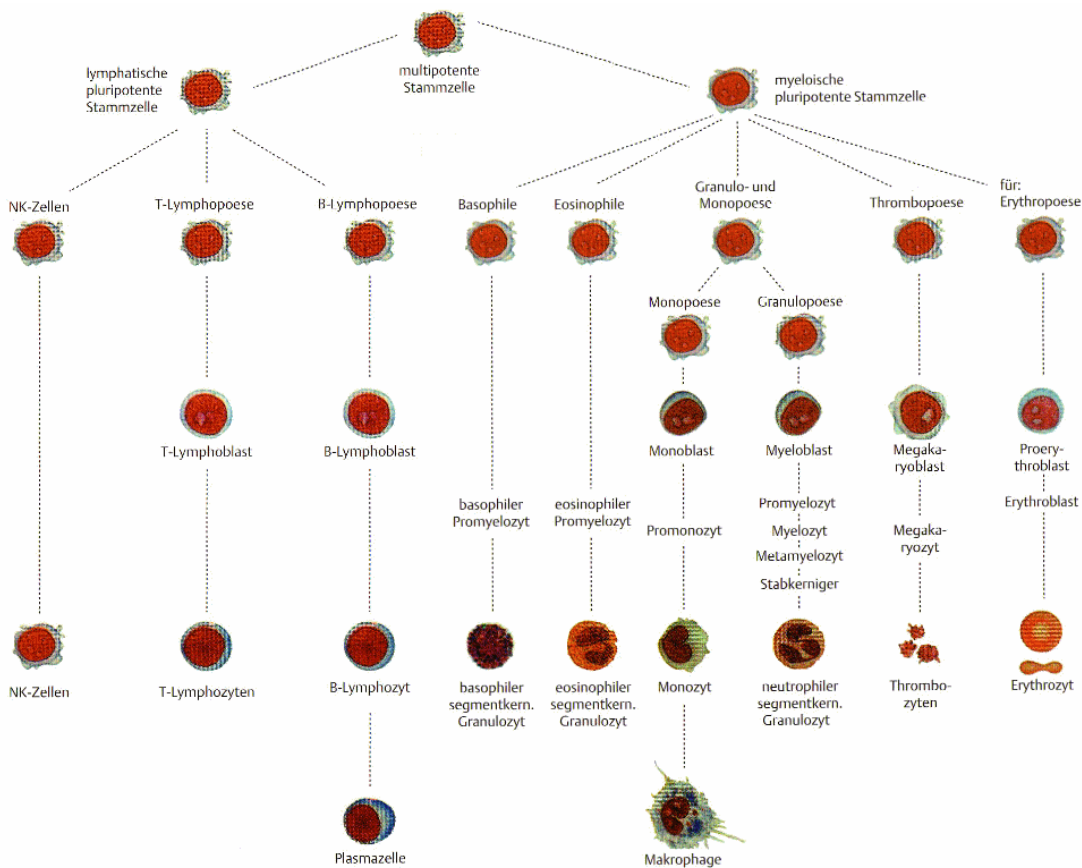


Abbildung 1.9 Hämatopoese

Aus multipotenten Stammzellen im Knochenmark gehen lymphatische und myeloische pluripotente Stammzellen hervor, die sich ihrerseits weiter zu den Blutzellen differenzieren (Quelle: <http://www.rrk-berlin.de/imarklab/immpheno.htm>)

Im Knochenmark findet eine somatische Mutation, das sog. Rearrangement, der variablen Region der Ig-Gene statt, um eine möglichst hohe Varianz in der Antigenerkennung zu erzeugen. Nach dem Verlassen des Knochenmarks zirkulieren die reifen naiven B-Zellen im Blut und können durch Bindung ihres spezifischen Antigens aktiviert werden. Aktivierte B-Zellen durchlaufen eine Phase der positiven Selektion und klonalen Expansion im sogenannten Keimzentrum (*germinal center*) in den Lymphfollikeln (Abb. 1.10). Hier kommt es zur somatischen Hypermutation. Dieser Prozess führt zu weiteren Mutationen in den variablen Regionen der IgH und IgL -Sequenzen der rearrangierten Ig-Gene (im Weiteren als IgVH-Mutation bezeichnet). Danach findet eine positive Selektion der B-Zellen statt: Mutationen, die zu einer verringerten Affinität des B-Zellrezeptors zum jeweiligen Antigen geführt haben, verursachen Apoptose in den jeweiligen Zellen. B-Zellen, deren BCR nach Hypermutation eine erhöhte Affinität aufweisen, werden klonal vermehrt. Danach differenzieren die Zellen zu Gedächtnis- oder Plasmazellen und verlassen das Keimzentrum (Küppers 2005). Die Transformation der B-Zelle zur malignen CLL-Zelle kann an verschiedenen Punkten dieser B-Zellreifung stattfinden, vor oder nach Eintritt in das Keimzentrum, erkennbar am Vorhandensein bzw. Fehlen der IgVH-Mutationen. Dies spiegelt sich auch in der Prognose wider (s. Kapitel 1.4.6.4).

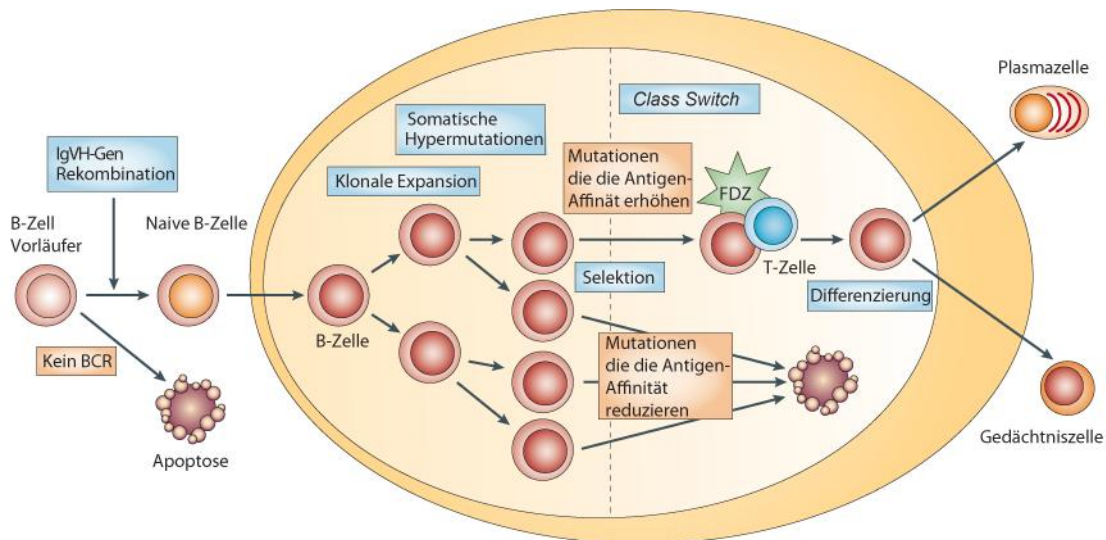


Abbildung 1.10 B-Zellreifung
(modifiziert nach Küppers 2005); BCR=B-Zell-Rezeptor; FDZ=Follikuläre dendritische Zellen

1.4.2 Biologie und genetische Veränderungen

CLL zeichnet sich durch Apoptoseresistenz und die Akkumulation leukämischer Zellen im peripheren Blut und den lymphatischen Organen aus (Dighiero und Hamblin 2008; Vrhovac *et al.*, 1998). Die meisten Zellen sind in der G0/G1-Phase des Zellzyklus arretiert. Das Krankheitsbild wird also eher durch längeres Überleben der Zellen aufgrund von Apoptoseresistenz als durch erhöhte Proliferation verursacht. Ursache hierfür sind verschiedene Veränderungen in den CLL-Zellen.

80% der CLL-Patienten weisen zytogenetische Aberrationen auf (Döhner *et al.*, 2000; Tab. 1.1). Häufige genetische Veränderungen sind Deletionen, wodurch es zum Verlust verschiedener Tumorsuppressoren kommt. Zum Beispiel führt die Deletion des Chromosomenarms 17p zum Verlust des Tumorsuppressors p53 (Fabris *et al.*, 2008). Häufig findet man zusätzlich eine Mutation des verbleibenden p53-Allels (Zenz *et al.*, 2008). Auf dem in 18% der Fälle deletierten Chromosomenarm 11p liegt der Tumorsuppressor *Ataxia Telangiectasia Mutated* (ATM); dieses Gen ist außerdem in 12% aller CLL-Patienten mutiert (Schaffner *et al.*, 1999; Austen *et al.*, 2005). ATM ist eine Proteinkinase, die an der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen beteiligt ist, aber auch Apoptose nach DNA-Schädigung auslösen kann. ATM ist auch in anderen malignen Erkrankungen, wie z.B. dem Mantelzelllymphom (MCL) häufig inaktiviert (Schaffner *et al.*, 2000).

Da die 13q-Deletion mit 55% die häufigste Aberration ist, wird hier die Existenz eines Tumorsuppressors diskutiert, der kausativ für die Entwicklung der CLL ist. Außerdem wurde gezeigt, dass diese Aberration ein frühes Ereignis in der CLL-Entwicklung ist (Stilgenbauer *et al.*, 2007). Vor allem die Gene in der Chromosomenbande 13q14 wurden ausführlich auf die Existenz eines Tumorsuppressormechanismus hin untersucht (Stilgenbauer *et al.*, 1998;

Wolf *et al.*, 2001; Mertens *et al.*, 2002; Hammarsund *et al.*, 2004; Tschuch 2006; Serra-Barrionuevo 2008). Es konnten jedoch hier noch keine pathogenese-relevanten Mutationen nachgewiesen werden und noch kein Tumorsuppressor identifiziert werden, aber ein epigenetischer Mechanismus, der die microRNAs miR15a und miR16-1 involviert, wurde postuliert (s. Kap. 1.4.3).

Tabelle 1.1 Häufigste chromosomale Veränderungen in der CLL

Aberration	Häufigkeit der Aberration bei Patienten
13q-Deletion	55%
11q-Deletion	18%
Trisomie 12	16%
17p-Deletion	7%
6q-Deletion	6%
Trisomie 8q	5%
normaler Karyotyp	18%

(Döhner *et al.*, 2000)

Andere für CLL typische Veränderungen sind außerdem die Überexpression des anti-apoptotischen Gens *BCL-2* (Kitada *et al.*, 1998) und die Deregulierung von Signalwegen wie NFκB, Akt/PI3-Kinase und Wnt, die ebenfalls Einfluss auf das Überleben und die Apoptoseresistenz von CLL-Zellen haben (Furman *et al.*, 2000; Ringshausen *et al.*, 2002; Cuní *et al.*, 2004; Lu *et al.*, 2004).

Diese und weitere Veränderungen führen zu den für die CLL typischen Merkmalen und haben Auswirkungen auf Prognose und Therapieresistenz (s. Kapitel 1.4.6.5 und 1.4.7.1).

1.4.3 Epigenetische Veränderungen

Neben genetischen Ursachen spielen auch epigenetische Modifikationen bei der Entstehung der CLL eine wichtige Rolle. Sowohl globale als auch genspezifische Veränderungen der DNA-Methylierung wurden bereits für CLL beschrieben. Die erste Entdeckung dieser Art war die einer globalen DNA-Hypomethylierung (Wahlfors *et al.*, 1992), welche chromosomale Instabilität zur Folge haben kann. Desweiteren konnte in verschiedenen Studien die Hyper- bzw. Hypomethylierung von Promotorregionen einzelner Gene nachgewiesen werden. Es wurde gezeigt, dass durchschnittlich 4,8% der CpG-Islands in CLL-Patienten aberrant methyliert sind. Diese Veränderungen sind nicht zufällig, sondern spezifisch für die CLL, und das Muster wiederholt sich reproduzierbar in Patienten (Smiraglia und Plass 2002; Rush *et al.*, 2004). Daraus lässt sich schließen, dass aberrante DNA-Methylierung bei der Pathogenese der CLL eine wichtige Rolle spielt. Für die häufig deletierte Chromosomenbande 13q14 wurde ein epigenetischer Tumorsuppressormechanismus beschrieben, der diese Region reguliert (Mertens *et al.*, 2002; Mertens *et al.*, 2006). Hier sind beispielsweise die microRNAs miR15a und miR16-1 lokalisiert. Diese könnten Apoptose induzieren, indem sie

auf posttranskriptionaler Ebene die Expression des anti-apoptotischen Gens *BCL-2* inhibieren (Cimmino *et al.*, 2005). Die oben beschriebene Deletion verursacht eine verringerte Expression der beiden microRNAs. Dies und die Hypomethylierung des Promotors von *BCL-2* tragen daher zur Überexpression von *BCL-2* bei (Hanada *et al.*, 1993; Calin *et al.*, 2008). Die epigenetische Deregulierung von an Apoptose beteiligten Genen konnte auch an anderer Stelle gezeigt werden: Der Promotor der *Death-associated protein kinase 1* (DAPK1), einem Mediator von γ -Interferon induziertem programmiertem Zelltod (Raval *et al.*, 2007; Deiss *et al.*, 1995), ist in fast allen CLL-Patienten hypermethyliert. DAPK1 ist wichtig für die Induktion von Apoptose bei Zellstress, z.B. in Abwesenheit von Wachstumsfaktoren. Epigenetische Modifikationen können auch Veränderungen in der Aktivität krebsrelevanter Signalwege verursachen. So ist z.B. TCL1, ein Co-Aktivator des PI3-Kinase/AKT-Signalwegs, in CLL hypomethyliert (Yuille *et al.*, 2001). Die konstitutive Aktivität dieses Signalwegs trägt zur Apoptoseresistenz von CLL-Zellen bei.

Auch prognoserelevante Veränderungen wurden bereits identifiziert: es ist bekannt, dass die Expression von ZAP-70 mit der Prognose in CLL-Patienten korreliert; nun konnte gezeigt werden, dass außerdem eine Korrelation mit der Methylierung des ZAP-70-Promotors besteht. Dies könnte diagnostisch von Vorteil sein, da die Analyse von DNA-Methylierungsmustern einen verlässlicheren Indikator darstellt als die quantitative Untersuchung von mRNA und Proteinen, da diese eine limitierte Halbwertszeit aufweisen (Corcoran *et al.*, 2005). Auch der TWIST2-Promotor ist in Patienten mit unterschiedlicher Prognose differenziell methyliert (Raval *et al.*, 2005). So kann die Untersuchung von epigenetischen Veränderungen auch zur besseren Prognosestellung beitragen, was, wie im Folgenden beschrieben, essentiell für die Einschätzung und Behandlung der CLL ist. Außerdem eröffnet das Vorliegen epigenetischer Veränderungen die Möglichkeit der Anwendung epigenetischer Therapien.

Aberrante DNA-Methylierung, wie auch andere epigenetische Veränderungen, tragen also maßgeblich zur Pathogenese der CLL bei, können helfen, prognostische Subgruppen zu identifizieren und bieten mögliche Therapieansätze.

1.4.4 Diagnose

Diagnostiziert wird CLL häufig bei Routineuntersuchungen, da die Krankheit in den Anfangsstadien oft ohne schwerwiegende Symptome verläuft.

Diagnosekriterien sind in den Richtlinien der *National Cancer Institute-Working Group* (NCI-WG), die 1988 und 1996 etabliert wurden, definiert. Aufgrund des großen Fortschritts im letzten Jahrzehnt in Bezug auf neue prognostische Marker wie zytogenetische Aberrationen, diagnostische Parameter und neue Behandlungsoptionen wurden diese

Richtlinien überarbeitet und 2008 neu publiziert (NCI-WG 2008; Eichhorst und Hallek 2007; Hallek *et al.*, 2008).

Diagnosekriterien sind demnach:

- Anwesenheit von mehr als 5000 B-Lymphozyten klonalen Ursprungs/ μ l im Blut; Monoklonalität kann durch die Leichtkettenrestriktion (κ oder λ) durch Doppelmarkierung von CD19 und Ig- κ oder Ig- λ nachgewiesen werden.
- Vorherrschen kleiner, morphologisch reif wirkender Lymphozyten in der zytologischen Untersuchung
- Koexpression von CD5 und den B-Zellantigenen CD19, CD20 und CD23.

Folgende Untersuchungen werden zur Diagnose durchgeführt (Tab. 1.2):

Tabelle 1.2 Obligatorische Untersuchungen

Blutbild
körperliche Untersuchung
FACS
Serumchemie
Sonographie

Optional werden weitere Untersuchungen zur besseren Einschätzung von Ausmaß der Erkrankung, Prognose und möglichen Komplikationen empfohlen (Tab. 1.3). Hierzu gehören die Identifizierung von Chromosomenaberrationen mittels molekularer Zytogenetik, die Aufschluss über die Prognose und Notwendigkeit sowie Zeitpunkt des Therapiebeginns geben kann (s. auch Kap.1.4.6).

Tabelle 1.3 Empfohlene fakultative Untersuchungen

Zytogenetik (FISH) (Anmerkung: bei Deletion von 17p Resistenz gegen Purinanaloge (DGHO))
Röntgen Thorax
Lymphknotenbiopsie
Knochenmarkbiopsie

Knochenmark- und Lymphknotenbiopsien sind in der Regel zur Diagnosestellung nicht erforderlich und werden nur bei unklarer diagnostischer Situation angewandt (DGHO).

1.4.5 Symptome und klinischer Verlauf

Die frühen Stadien der CLL verlaufen häufig symptomlos, in späteren Stadien können Nachtschweiß, Gewichtsverlust, Müdigkeit, oft begleitet von Spleno- und Hepatomegalie, auftreten (Yee und O'Brien 2006).

1.4.6 Prognose

CLL ist eine Krankheit mit hochvariablem Verlauf, die Behandlungsstrategie ist abhängig von der exakten Diagnose und Prognose der Progression.

Etwa 50% der Patienten sind zum Zeitpunkt der Diagnose symptomfrei und bedürfen in der Regel keiner Behandlung (Robak 2007). Patienten mit progressiver, fortgeschrittener

Krankheit oder aggressiver Form müssen sofort behandelt werden. Daher sind prognostische Marker unerlässlich, um diejenigen Patienten zu identifizieren, die von einer frühen Behandlung profitieren. Mittlerweile sind viele klinische, zelluläre und molekulare Marker bekannt, die eine relativ genaue Prognosestellung zulassen.

1.4.6.1 Klinische Stadieneinteilung

Die Stadieneinteilung nach Rai und Binet wird verwendet, um Patienten grob in drei prognostische Subgruppen zu unterteilen (Rai *et al.*, 1975; Binet *et al.*, 1981). Beide Systeme beruhen auf der körperlichen Untersuchung der Patienten und Standardlabortests. Das Rai-System (Tab. 1.4) wurde 1975 ursprünglich als 5-Stufen-System 0-IV eingeführt und später in ein 3-Stufen-System umgewandelt, mit geringem (0), mittlerem (I-II) und hohem Risiko (III-IV) (Rai und Han 1990). Das Binet-System (Tab. 1.5) wurde 1981 entwickelt und besteht aus 3 Stufen. In Europa wird vor allem die Einteilung nach Binet angewandt, während in den USA das Rai-System weit verbreitet ist.

Beide Systeme werden für eine erste Einstufung von Patienten verwendet, ihre Limitierung liegt allerdings darin, dass sie in frühen Stadien (Binet A bzw. Rai 0 bis 2) keine Vorhersage über den Verlauf der Krankheit geben können (Boelens *et al.*, 2009). Daher werden zusätzliche Faktoren berücksichtigt, die im Folgenden beschrieben sind.

Tabelle 1.4 Stadieneinteilung nach Rai

Stadium	Risikogruppe	Definition	medianes Überleben
0	niedrig	Lymphozytose $\geq 5000/\mu\text{l}$ Knochenmarkinfiltration $>30\%$	> 10 Jahre
I	mittel	Lymphozytose + Lymphadenopathie	5-7Jahre
II		Lymphozytose + Splenomegalie und/oder Hepatomegalie (mit oder ohne Lymphadenopathie)	
III	hoch	Lymphozytose + Anämie (Hämoglobin $>11\text{g/dl}$) (mit oder ohne Adenopathie/Organomegalie)	1-3 Jahre
IV		Lymphozytose + Thrombozytopenie (Thrombozyten $< 100.000/\mu\text{l}$) (mit oder ohne Anämie/Adenopathie/Organomegalie)	

(modifiziert nach Rai *et al.*, 1975; Rai und Han 1990)

Tabelle 1.5 Stadieneinteilung nach Binet

Stadium	Anzahl befallener/vergrößerter Lymphknotenregionen	Hämoglobin [g/dl]	Thrombozyten [μl]	Medianes Überleben
A	<3	>10	>100.000	> 10 Jahre bis normale Lebenserwartung
B	≥ 3	>10	>100.000	5-7 Jahre
C	unabhängig	<10	<100.000	2-4 Jahre

(modifiziert nach Binet *et al.*, 1981; Yee und O'Brien 2006; DGHO)

1.4.6.2 Doubling time

Die Teilungsrate der Lymphozyten (*Lymphocyte Doubling Time, LTD*) ist ein weiteres Kriterium für die Aussage über die Aggressivität der CLL. Sie ist definiert als die Anzahl der Monate bis zur Verdopplung der Lymphozytenanzahl. Eine LTD unter 12 weist auf eine schlechte Prognose hin, während eine Verdopplungszeit von über 12 Monaten häufig bei Patienten mit indolenter CLL und besserer Prognose festgestellt wird.

1.4.6.3 Serummarker

In mehreren Studien wurden Serummarker gefunden, die eine Voraussage über Progression und Überleben zulassen. Dazu gehören zum Beispiel Lactatdehydrogenase (LDH), lösliches CD23, Thymidinkinase und β 2-Microglobulin (NCI-WG 2008). Nach Empfehlung der NCI-WG sollten standardisierte Tests entwickelt und in klinischen Studien getestet werden, um ihren Wert als Marker in der klinischen Routine zu evaluieren, da ihre Expression durch andere Faktoren wie Behandlung mit bestimmten Medikamenten oder anderen Erkrankungen beeinflusst werden kann.

1.4.6.4 IgVH-Status

Wie in Kapitel 1.3.1 beschrieben durchlaufen die reifen B-Zellen einen weiteren Reifungsschritt im sogenannten Keimzentrum. Die Transformation zur leukämischen Zelle kann vor dem Eintritt in das Keimzentrum – und damit vor der Hypermutation der Ig Gene – oder danach stattfinden, erkennbar an den hypermutierten Ig-Genen (Küppers 2005; Abb. 1.11). Je früher die Transformation stattfindet, desto weniger differenziert sind die Zellen; dies führt zu einer aggressiveren Form der Leukämie und damit einer schlechteren Prognose (ca. 50% der CLL Fälle), einer Überlebenszeit ab Diagnose von 5-10 Jahren. Die Transformation nach Durchlaufen des Keimzentrums korreliert mit signifikant längerer Lebenserwartung (10-20 Jahre) (Hamblin *et al.*, 1999). Dies kann durch Sequenzieren der VH-Region der Ig-Gene der leukämischen Zellen und Vergleich mit der DNA der Keimbahn festgestellt werden. Eine Übereinstimmung von $\geq 98\%$ wird als unmutiert definiert. Dieser Parameter ist unabhängig vom klinischen Status.

Obwohl dies einer der zuverlässigsten und stärksten Marker ist, ist er für die Routinediagnostik nicht geeignet, da das Sequenzieren noch zu aufwändig und teuer ist.

Als Ersatzmarker sind ZAP70 und CD38 in der Diskussion, da Untersuchungen zeigen, dass die Expression dieser beiden Gene mit dem unmutierten IgVH-Status und damit schlechter Prognose korreliert (Crespo *et al.*, 2003; Matrai *et al.*, 2001; Damle *et al.*, 1999). Allerdings besteht mit CD38 keine enge Korrelation (Jelinek *et al.*, 2001), daher sind weitere klinische Studien notwendig, um die Bewertung dieser Parameter zu standardisieren und nachzuprüfen, ob sie zur Therapieentscheidung genutzt werden sollten (NCI-WG 2008).

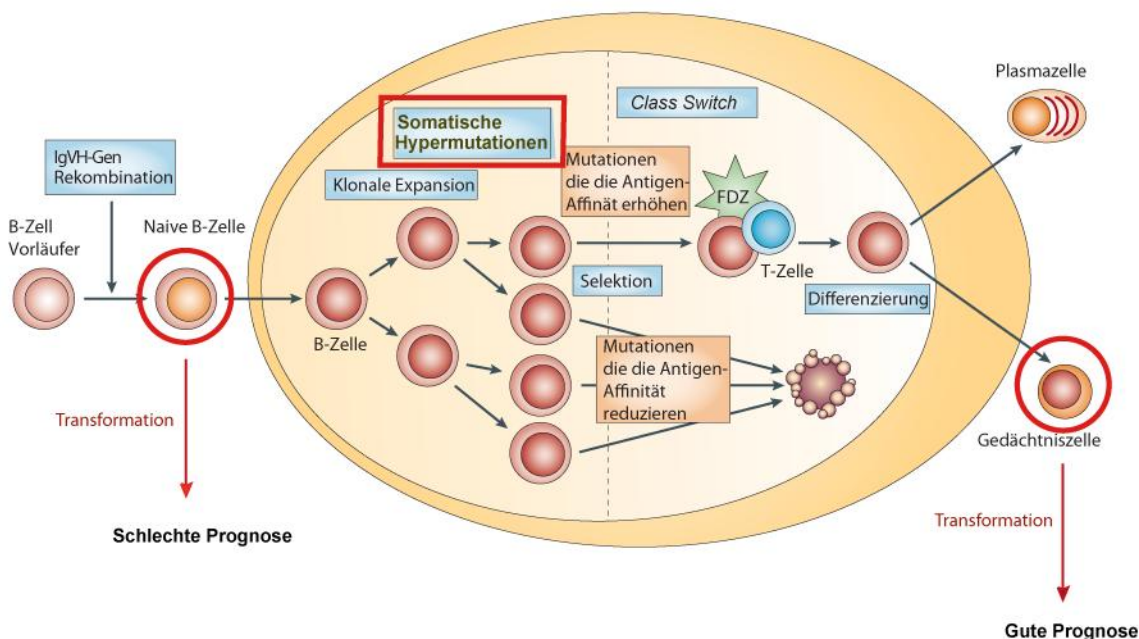


Abbildung 1.11 Entartung von B-Zellen in verschiedenen Phasen der B-Zellreifung (modifiziert nach Küppers 2005)

1.4.6.5 Zytogenetik

In über 80% der CLL-Patienten zeigen sich zytogenetische Aberrationen in den leukämischen Zellen (Döhner *et al.*, 2000). Es konnte gezeigt werden, dass manche dieser Aberrationen hohe prognostische Relevanz haben. Es wurden demnach fünf genetische Kategorien mit signifikanter prognostischer Relevanz definiert (Abb. 1.12).

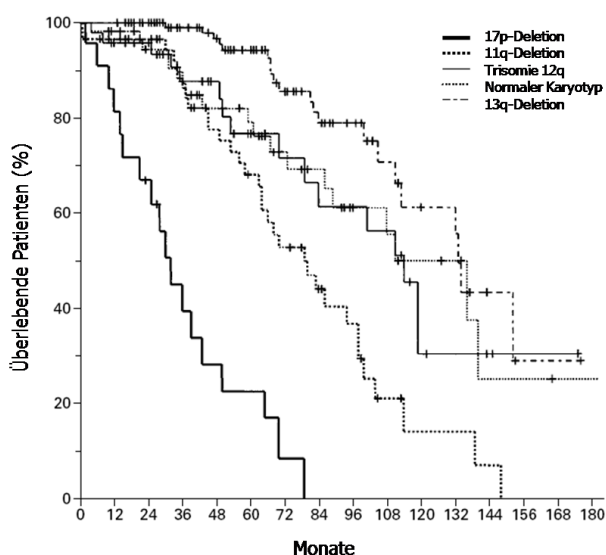


Abbildung 1.12 Kaplan-Meier-Plot: Lebenserwartung der Patienten der fünf genetischen Kategorien ab Diagnosezeitpunkt (Döhner *et al.*, 2000)

Wie im Kaplan-Meier Plot gezeigt, haben Patienten mit einer Deletion des Chromosomenarms 17p mit einer durchschnittlichen Überlebenszeit von 32 Monaten ab dem Zeitpunkt der Diagnose die schlechteste Prognose. Eine gute Prognose haben hingegen Patienten mit einer

13q-Deletion als einzige zytogenetische Aberration. Die durchschnittliche Überlebenszeit für diese Gruppe beträgt 133 Monate. Eine Übersicht und die Zuteilung zu den genetischen Kategorien sind in Tabelle 1.6 beschrieben. Aberrationen mit schlechter Prognose wie 17p- oder 11q-Deletionen sind häufig zusätzlich mit einem unmutierten VH-Status assoziiert, während beispielsweise Patienten mit normalem Karyotyp in der Regel eine mutierten VH-Status aufweisen.

Tabelle 1.6 Zuteilung der CLL-Patienten zu genetischen Kategorien und Prognose

Genetische Kategorie	Definition	% der Patienten	Durchschnittliche Überlebenszeit vom Tag der Diagnose an [Monate]
17p-Deletion	jeder Patient mit 17p-Deletion	7	32
11q-Deletion	Patienten mit 11q-Deletion, aber ohne 17p-Deletion	17	79
12q-Trisomie	Patienten mit 12q-Trisomie, aber ohne 11q- und 17p-Deletion	14	111
normaler Karyotyp	Patienten ohne zytogenetische Aberrationen	18	114
13q-Deletion	Patienten mit 13q-Deletion als einziger Aberration	36	133

(nach Döhner *et al.*, 2000)

1.4.7 Therapie

1.4.7.1 Behandlungskriterien

Die Entscheidung über den Zeitpunkt der Therapie muss individuell getroffen werden. Da je nach Subgruppe auch ein indolenter Verlauf möglich ist, ist eine Therapie nicht notwendigerweise vom Zeitpunkt der Diagnose an angezeigt, sondern wird in der Regel erst beim Auftreten von Symptomen begonnen.

Als Grundlage für eine Therapieeinleitung dienen die Stadieneinteilungen nach Binet und Rai. Patienten im frühen Stadium (Rai 0, Binet A) werden lediglich bis zum Auftreten von Anzeichen von Progression beobachtet. Patienten in diesem Stadium profitieren nachgewiesenerweise nicht von einer Behandlung mit alkylierenden Agenzien (CLL Trialists' Collaborative Group 1999). Im Gegenteil, bei diesen Patienten traten in einer Studie vermehrt epitheliale Tumoren nach chemotherapeutischer Behandlung auf (Dighiero *et al.*, 1998). Patienten im Stadium B oder C (Binet) bzw. I-IV (Rai) profitieren hingegen in der Regel von einer Behandlung. Grundsätzlich besteht die Indikation zur Therapie bei Patienten im Binet Stadium C (Rai III-IV) und bei Patienten im Stadium B (Rai I-II) bei Auftreten von Symptomen (DGHO).

Durch den Verlust des Tumorsuppressors p53 führt die Deletion von 17p zu einer Behandlungsresistenz (Döhner *et al.*, 1995; Turgut *et al.*, 2007; Zenz *et al.*, 2009). Daher ist bei diesen Patienten unabhängig vom Rai-bzw. Binet-Status eine frühzeitige Behandlung mit alternativen bzw. zusätzlichen Therapeutika angezeigt.

1.4.7.2 Therapie

Die Behandlung erfolgt in der Regel palliativ, da die einzige kurative Behandlungsmöglichkeit in der allogenen Stammzelltransplantation besteht, die jedoch aufgrund des häufig fortgeschrittenen Lebensalters und schlechten Allgemeinzustandes der Patienten nicht in Frage kommt (Dreger *et al.*, 2007 ; DGHO).

Zur palliativen Behandlung werden Zytostatika (die Standardtherapie ist derzeit die Kombination von Cyclophosphamid und Fludarabin) verabreicht. Die Kombination dieser Standardtherapie mit monoklonalen Antikörpern (z.B. Rituximab) wird zur Zeit getestet, da es aus mehreren Studien Hinweise auf Verlängerung der progressionsfreien Zeit und der Lebenserwartung mit dieser Kombinationstherapie gibt (Byrd *et al.*, 2003; Foon *et al.*, 2009; Robak *et al.*, 2010), und somit die Kombinationstherapie der neue Standard für die Erstbehandlung von Patienten mit gutem Allgemeinzustand werden könnte. Auch Therapien mit epigenetischen Wirkmechanismen werden untersucht: die Anwendung von 5-Azacytidin bei Fludarabin-resistenten CLL-Patienten wird derzeit in einer Phase II-Studie getestet (M.D. Anderson Cancer Center).

1.5 Medulloblastom

Das Medulloblastom ist ein embryonaler Tumor des Cerebellums, der zur Familie der Primitiven Neuroektodermalen Tumoren (PNET) gehört und vor allem im Kindesalter auftritt. Es ist der häufigste maligne Gehirntumor bei Kindern und macht ca. 25% aller intrakraniellen pädiatrischen Tumoren aus; Jungen erkranken häufiger als Mädchen. Dieser Tumor ist sehr aggressiv, da er - wie alle PNET-Tumoren - invasiv und schnell wächst und häufig Metastasen im Bereich des Gehirns und der Wirbelsäule bildet.

1.5.1 Entstehung

Medulloblastome entstehen in der Regel im vierten Ventrikel des Gehirns, zwischen dem Stammhirn und dem Cerebellum. Man nimmt an, dass Medulloblastome aus unreifen oder embryonalen Zellen in einem sehr frühen Entwicklungsstadium bzw. aus cerebralen Stammzellen entstehen, die u.a. durch Veränderungen in bestimmten Signalwegen nicht weiter in andere Zelltypen differenzieren.

1.5.2 Biologie und genetische Veränderungen

Ein Signalweg, der eine überhöhte Aktivität in einer Subgruppe der Medulloblastome zeigt, ist der *Sonic Hedgehog* (Shh) Signalweg (Marino 2005). Dieser ist während der Entwicklung

von Vertebraten in die Organogenese und Entwicklung des Gehirns involviert, und spielt eine Rolle bei der Kontrolle der Zellteilung von adulten Stammzellen und der Entstehung von Krebs. In Abwesenheit des Liganden SHH inhibiert der Rezeptor und Tumorsuppressor PATCHED (PTCH) die Aktivität des Shh-Signalwegs und somit die transkriptionelle Aktivierung seiner Zielgene. Bindet SHH an PTCH, inhibiert es diesen und aktiviert somit die Signalkaskade, was unter anderem zur Proliferation der betreffenden Zellen führt (Abb. 1.13).

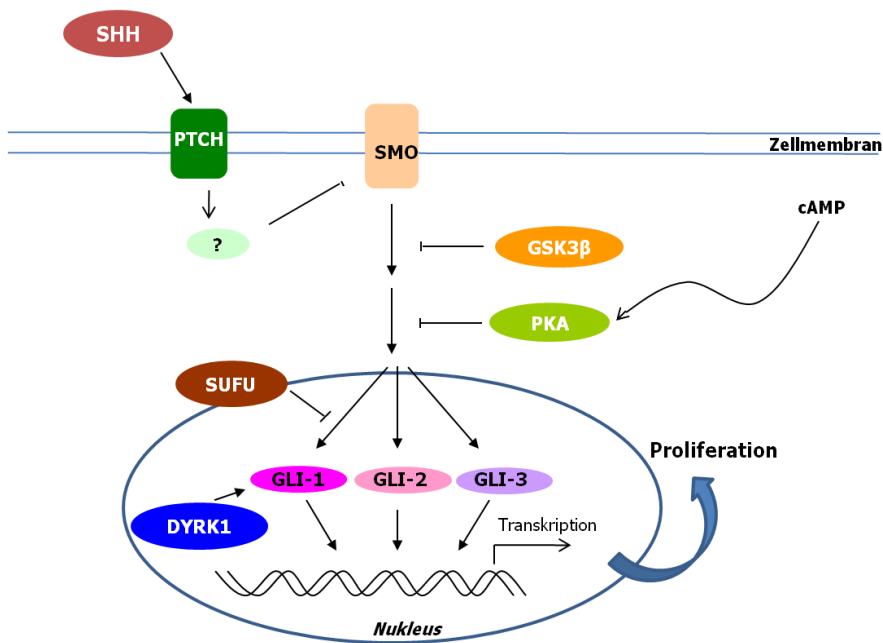


Abbildung 1.13 Der *Sonic Hedgehog*-Signalweg
PTCH inhibiert Smoothened (SMO) und damit die Aktivierung des Shh-Signalwegs. Nach Bindung des Liganden SHH an PTCH wird PTCH inhibiert, und SMO aktiviert über GLI die Zielgene des Signalwegs und führt somit zur Proliferation.

Der Wnt-Signalweg ist an der Embryogenese, Entwicklung und Karzinogenese beteiligt und spielt eine wichtige Rolle in neuronalen Stammzellen. Er zeigt in vielen Tumorarten eine überhöhte Aktivität, auch in einer Untergruppe der Medulloblastome. Die konstitutive Aktivität, z.B. verursacht durch die Expression einer dominant-aktiven Form von β -Catenin, einem Onkogen und Mediator Wnt-abhängiger Transkription, führt zu erhöhter Proliferation und verringerter Differenzierung (Marino 2005).

Die häufigste zytogenetische Veränderung ist die Bildung eines Isochromosoms 17q [i(17q)]. Der Verlust von 17p, alleine oder in Verbindung mit i(17q), wird häufig beobachtet. Mit dem Verlust von 17p geht - wie auch im Fall der CLL - ein Verlust des Tumorsuppressors p53 einher, was zur malignen Transformation der undifferenzierten Zellen beiträgt. Kürzlich wurde gezeigt, dass aber vor allem das Vorhandensein des i(17q) einen Einfluss auf die Aggressivität des Tumors hat. Wahrscheinlich trägt die Überexpression von dort lokalisierten Onkogenen, wie möglicherweise PPM1D und weiteren, noch zu untersuchenden Genen, zu

einer schlechteren Prognose bei Patienten mit dieser Aberration bei (s. Kapitel 1.5.6). Weitere häufige Aberrationen sind Zugewinne auf den Chromosomen 7 (in 30% der Fälle) und 1q (in 13% der Fälle) und Verluste auf den Chromosomen 11p, 10q und 8. Außerdem kann eine Amplifikation einzelner Chromosomenbanden vorliegen, wie 8q24.21, die das Proto-Onkogen *MYC* enthält und 7q21.2, die die Cyclin-abhängige Kinase CDK6 enthält (Mendrzyk *et al.*, 2005, Pfister *et al.*, 2009).

1.5.3 Epigenetische Veränderungen

Auch epigenetische Veränderungen sind an der Pathogenese des Medulloblastoms beteiligt. Beispielsweise wurde gezeigt, dass in diesen Tumoren eine Repression von Wnt-Inhibitoren der SFRP-Familie durch Hypermethylierung stattfindet; dies trägt zur Überaktivierung des Wnt-Signalwegs (Kongkham *et al.*, 2010) und damit zu erhöhter Proliferation und Tumorgenese bei. Außerdem wurde die DNA-Methylierung des Promotors von *PTCH1*, einem negativen Regulator des Shh-Signalwegs nachgewiesen (Diede *et al.*, 2010); epigenetische Repression stellt also neben genetischen Mutationen einen zusätzlichen Mechanismus zur Inaktivierung dieses Gens dar. Auch der Transkriptionsfaktor *ZIC2* ist häufig hypermethyliert. Er aktiviert den Promotor der α -CaM-Kinase II (CaMKII) - diese kann das Proto-Onkogen *ETS1* inhibieren und wirkt antagonistisch zum Wnt/ β -Catenin Signalweg. Die Hypermethylierung von *ZIC2* könnte so zu einer eingeschränkten Funktion von CaMKII beitragen. Außerdem interagiert *ZIC2* mit den GLI-Proteinen im Shh-Signalweg (Pfister *et al.*, 2007). RASSF1A Promotormethylierung wurde ebenfalls in der Mehrheit der Medulloblastom-Fälle gefunden. RASSF1A verursacht Zellzyklusarrest und ist in vielen Tumorentitäten hypermethyliert (Inda und Castresana, 2007).

Die Behandlung von Mäusen, die aufgrund einer Mutation im *PATCHED*-Gen Medulloblastome entwickeln, mit 5-Azacytidin in Kombination mit einem HDAC-Inhibitor verhindert erfolgreich die Entstehung von Tumoren (Ecke *et al.*, 2009); dies könnte bedeuten, dass eine epigenetische Therapie in Kombination mit der herkömmlichen Therapie auch bei Menschen mit Medulloblastom eine Option ist.

1.5.4 Diagnose

Diagnostiziert wird das Medulloblastom mit Hilfe von Computer- oder Magnetresonanztomographie. Histologisch weisen Medulloblastome eine hohe Zelldichte mit hoher Mitoserate auf, in den Zellen lassen sich runde bis ovale Kerne erkennen. Die Zellen sind häufig rosettenförmig angeordnet. Die Expression neuronaler Marker (z.B. Synaptophysin), aber auch glialer Marker wie GFAP, kann immunhistochemisch nachgewiesen werden.

1.5.5 Symptome

Symptome werden hauptsächlich durch den steigenden intrakraniellen Druck verursacht und schließen zunächst Kopfschmerzen, Übelkeit und Erbrechen, später dann auch Fallneigung, motorische und sensorische Störungen mit ein.

1.5.6 Prognose

Alter, das Vorhandensein von Metastasen, histologische Eigenschaften und die Vollständigkeit der Tumorentfernung spielen bei der Prognose von Patienten mit Medulloblastom eine Rolle. Auch der Grad der DNA-Methylierung kann einen Hinweis auf die Prognose geben: je höher der globale Methylierungsgrad der Tumoren, desto schlechter die Prognose der Patienten (Pfister *et al.*, 2007).

Genauer können Medulloblastome jedoch anhand ihres genetischen Profils in verschiedene prognostische Subgruppen eingeteilt werden (Pfister *et al.*, 2009; Tab. 1.7).

Tabelle 1.7 Einteilung der Medulloblastom-Patienten in prognostische Subgruppen anhand ihres genetischen Profils

Zytogenetisches Profil	Prognose
<ul style="list-style-type: none"> • 6q-Zugewinn • MYC/MYCN-Amplifikation 	schlechte Prognose
<ul style="list-style-type: none"> • 17q-Zugewinn oder Isochromosom 17q (i17q) • kein Zugewinn von 6q • keine MYC/MYCN-Amplifikation 	intermediäre Prognose
<ul style="list-style-type: none"> • 6q und 17q balanciert oder • 6q-Deletion 	gute Prognose

(Pfister *et al.*, 2009)

Diese Einteilung in prognostische Subgruppen ist wichtig für die Behandlung, da viele der überlebenden Patienten unter den Langzeitfolgen der Therapie leiden. Durch die Klassifizierung kann die Intensität der Therapie an die individuelle Situation angepasst werden.

1.5.7 Therapie

Die Therapie des Medulloblastoms erfolgt zunächst durch chirurgische Tumorentfernung, gefolgt von Chemo- und Strahlentherapie. Chemotherapie erfolgt durch eine Kombination verschiedener Therapeutika wie z.B. Lomustin, Cisplatin, Vincristin oder Cyclophosphamid. Außerdem werden häufig Kortikosteroide gegeben oder ein *Shunt* gelegt, um den intrakraniellen Druck zu verringern.

1.5.8 Medulloblastom-Mausmodell

Goodrich *et al.* entwickelten 1997 ein Medulloblastom-Mausmodell; diese Maus-Mutante entwickelt als adultes Tier ein Medulloblastom (Goodrich *et al.*, 1997). Dies wurde durch die inaktivierende Mutation eines Allels von *Patched* ($Ptch^{+/-}$) erreicht. Dadurch sind Smo und Gli1/Gli2 (Abb. 1.13) konstitutiv aktiv und aktivieren ihrerseits ihre Zielgene, was zur Proliferation der Körnerzellvorläufer im Gehirn führt. In 10-15% der Fälle hat dies die Entstehung eines Medulloblastoms zur Folge.

Durch die Kreuzung der $Ptch^{+/-}$ -Mutante mit einer iNos/Nos2-defizienten Maus wurde ein zweites Mausmodell entwickelt (Prof. Guido Reifenberger, unpubliziert). iNos ist eine induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase (*Nitric Oxide Synthase*). Stickstoffmonoxid-Synthasen katalysieren die Synthese von Stickstoffmonoxid (NO), das eine wichtige Rolle bei der Signalübertragung in Zellen spielt. NO ist involviert in Prozesse wie Zell-Zell-Kommunikation in Nerven- und Muskelzellen, dem Immunsystem und im kardiovaskulären System; unter anderem spielt es eine Rolle bei der Regulation der Proliferation und Differenzierung von neuronalen Vorläuferzellen (Ciani *et al.*, 2004). Außerdem begünstigt es die Tumorprogression durch Einflussnahme auf Invasivität, Proliferation und Angiogenese. Die Doppelmutante, die heterozygot bezüglich der Mutation von *Ptch* und homozygot bezüglich der Mutation von *Nos* ist ($Ptch^{+/-};Nos^{-/-}$), weist eine gegenüber der $Ptch^{+/-}$ -Einzelmutante höhere Tumorzinzidenz und eine geringere Überlebensrate auf. Außerdem erkranken diese Tiere früher.

2 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit war es, neue epigenetische Veränderungen zu identifizieren, die zur Pathogenese von Tumoren beitragen können. Zwei Tumorentitäten mit bekannten genotyp-abhängigen Prognosegruppen sollten untersucht werden, die Chronische Lymphatische Leukämie und das Medulloblastom. Hierfür wurden Patienten mit Chronischer Lymphatischer Leukämie und Medulloblastom-Mausmodelle einer Analyse mit aPRIMES, einer neuen Methode zur genomweiten DNA-Methylierungsanalyse, unterzogen.

Ein weiteres Ziel war es, herauszufinden, ob Unterschiede in der DNA-Methylierung an der unterschiedlichen Prognose bzw. Aggressivität von Tumoren innerhalb einer Entität beteiligt sein können. Desweiteren sollte untersucht werden, inwiefern sich der DNA-Methylierungsstatus auf die Genexpression in den untersuchten Tumorentitäten auswirkt.

Durch funktionelle Analysen sollte die Auswirkung der Deregulation von ausgewählten Kandidatengenen auf die Zellen analysiert werden.

Die Erkenntnisse aus dieser Arbeit werden zum besseren Verständnis der epigenetischen Mechanismen, die zur Pathogenese und unterschiedlichen Aggressivität von Tumoren führen, beitragen. Dies könnte bei der Entwicklung neuer diagnostischer Marker und neuer Therapieansätze von Nutzen sein.



3 Material

3.1 Chemikalien und Reagenzien

Chemikalie	Hersteller
1-Methyl-2-pyrrolidone	Sigma-Aldrich, München, D
ABsolute™ QPCR SYBR® Green Mixes	ABgene, Epsom, UK
Agar	Difco Laboratories, Detroit, USA
Agarose	Sigma-Aldrich, München, D
Ampicillin	Roche Diagnostics, Mannheim, D
Betain	Sigma-Aldrich, München, D
Borsäure	Sigma-Aldrich, München, D
Bovine Serum Albumine (BSA)	New England Biolabs, Frankfurt am Main, D
Bromphenolblau	Waldeck GmbH, Münster, D
Chloroform	Merck, Darmstadt, D
Cot-1 DNA®	Invitrogen, Karlsruhe, D
Cyanin 3-dCTP	Amersham Biosciences, Freiburg, D
Cyanin 5-dCTP	Amersham Biosciences, Freiburg, D
Desoxynukleotid(dNTP)-Set 100 mM	MBI Fermentas, St. Leon-Rot, D
Dithiothreitol (DTT)	Invitrogen, Karlsruhe, D
DNA Pol Puffer 1	Roche Diagnostics, Mannheim, D
EDTA 25 mM	Invitrogen, Karlsruhe, D
Ethanol	Sigma-Aldrich, München, D
Ethidiumbromid	Sigma-Aldrich, München, D
Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)	Merck, Darmstadt, D
Ficoll-Plaque™ Plus	Amersham Biosciences, Freiburg, D
First Strand Buffer	Invitrogen, Karlsruhe, D
Formamid	Merck, Darmstadt, D
Gene Ruler™ 1 kb DNA Ladder	MBI Fermentas, St. Leon-Rot, D
Glycerin	Roth, Karlsruhe, D
Hefe-Extrakt	Difco Laboratories, Detroit, USA
Kaliumchlorid (KCl)	Sigma-Aldrich, München, D
Kaliumdihydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄)	Roth, Karlsruhe, D
Mouse Cot-1 DNA®	Invitrogen, Karlsruhe, D
Natriumacetat (NaAc)	Roth, Karlsruhe, D
Natriumborat	Merck, Darmstadt, D
Natriumchlorid (NaCl)	Merck, Darmstadt, D
Natriumcitrat	Merck, Darmstadt, D
Natriumhydrogenphosphat (Na ₂ HPO ₄)	Sigma-Aldrich, München, D
NEB-Puffer	New England Biolabs, Frankfurt am Main, D
OFA-Puffer	Roche Diagnostics, Mannheim, D
Oligo-(dT) ₂₀ Nukleotide	Invitrogen, Karlsruhe, D
Pepton	Difco Laboratories, Detroit, USA
Propidium Iodide Staining Solution (PI)	BD Biosciences, San Jose, USA
Random Primer (Hexamers) 2,5x	Invitrogen, Karlsruhe, D
RNase freies Wasser	Ambion, Austin, USA
Salzsäure (HCl)	Merck, Darmstadt, D
SOC-Medium	Invitrogen, Karlsruhe, D
Stratagene Human Reference-RNA	Stratagene, La Jolla, USA
Succinic Anhydride	Sigma-Aldrich, München, D
T4 Gene 32 Protein	USB Corporation, Cleveland, USA
Tris-Base (Trizma® Base)	Sigma-Aldrich, München, D
Tris-Hydrochlorid	Roth, Karlsruhe, D
Trizol® Reagens	Invitrogen, Karlsruhe, D
TWEEN® 20	Sigma-Aldrich, München, D
ULTRAhyb™ Hybridisierungspuffer	Ambion, Austin, USA

3.2 Zellkulturreagenzien und -zusätze

Reagenz	Hersteller
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma-Aldrich, München, D
DMEM (Dulbecco 's Modified Eagle Medium)	Gibco BRL/Invitrogen, Karlsruhe, D
Fetal Calf Serum (FCS)	Biochrom AG, Berlin, D
LY294002	Cell Signaling Technology Inc., Danvers, USA
Nocodazol	AppliChem, Darmstadt, D
Penicillin (10,000 U/ml)	Gibco BRL/Invitrogen, Karlsruhe, D
Puromycin (10 mg/ml)	Invitrogen, Karlsruhe, D
Streptomycin (100 µg/ml)	Gibco BRL/Invitrogen, Karlsruhe, D

3.3 Enzyme

Enzym	Hersteller
BstUI	New England Biolabs, Frankfurt am Main, D
DNA Pol Mix	Roche Diagnostics, Mannheim, D
DNase Shrimp Recombinant (2 U/µl)	USB Corporation, Cleveland, USA
Eurotaq Polymerase	Biocat, Heidelberg, D
Exo-Klenow (E.coli DNA Polymerase I)	Invitrogen, Karlsruhe, D
HpaII	New England Biolabs, Frankfurt am Main, D
McrBC	New England Biolabs, Frankfurt am Main, D
Mse I	New England Biolabs, Frankfurt am Main, D
Proteinase K (20 mg/ml)	Invitrogen, Karlsruhe, D
RNAse (100 mg/ml)	Qiagen, Hilden, D
SuperScript II Reverse Transkriptase	Invitrogen, Karlsruhe, D
T4 DNA Ligase	Invitrogen, Karlsruhe, D

3.4 Sonstige Materialien

Material	Hersteller
Nexterion Slide E	Schott AG, Mainz, D
Amino-Silane coated Corning Gaps II	Corning, Acton, USA
Falcon™-Röhrchen, konisch (15 ml; 50 ml)	BD Biosciences, Heidelberg, D
Kryo-Röhrchen (1,8 ml)	Nunc, Wiesbaden, D
MACS Pre-Separation Filters, 30 µm	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, D
Mouse 4.6k CpG Island Array MCGI4.6Kv1	UHN Microarray Centre, Toronto, Kanada
MicroAmp Optical Adhesive Film	Applied Biosystems, Darmstadt, D
Mikrotiterplatten (384 Vertiefungen)	Steinbrenner Laborsysteme, Wiesenbach, D
PCR Reaktionsgefäße 0,2 ml	Molecular BioProducts, San Diego, USA
Pipettenspitzen (10 µl; 20 µl; 100 µl; 1000µl)	Starlab, Ahrensburg, D
Reaktionsgefäße „Safe-lock“ (1,5 ml; 2 ml)	Eppendorf, Hamburg, D
Rundboden-Röhrchen (Falcon™)	BD Biosciences, Heidelberg, D
Telechem SMP3 Pins	Telechem International, Sunnyvale, USA
Zellkulturflaschen	Nunc, Wiesbaden, D
OneShot® TOP10 Competent Cells	Invitrogen, Karlsruhe, D
Zellkulturplatten (6 Vertiefungen)	Nunc, Wiesbaden, D
Zellkulturschalen	BD Biosciences, Heidelberg, D

3.5 Kommerziell erhältliche Kits

Kit	Hersteller
ABI PRISM® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit	Applied Biosystems, Darmstadt, D
AllPrep DNA/RNA Mini	Qiagen, Hilden, D
Annexin V-PE Apoptosis Detection Kit I	BD Biosciences, Heidelberg, D

Kit	Hersteller
B Cell Nucleofector Kit	Lonza Cologne AG, Köln, D
BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	Applied Biosystems, Darmstadt, D
BioPrime [®] Array CGH Labeling System	Invitrogen, Karlsruhe, D
Cell Line Nucleofector Kit V	Lonza Cologne AG, Köln, D
Dual-Luciferase Reporter System Kit	Promega, Madison, USA
EndoFree [®] Plasmid Purification Kit	Qiagen, Hilden, D
Leucosep [®]	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, D
MACS CD19 MicroBeads & MS Columns	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, D
mMESSAGE mMachine T7 Ultra Kit	Ambion, Austin, USA
RNA 6000 Ladder	Ambion, Austin, USA
RNA 6000 Nano LabChip [®]	Agilent Technologies, Palo Alto, USA
RNeasy [®] Mini	Qiagen, Hilden, D
Vi-CELL XR Reagent Pack	Beckman Coulter GmbH, Krefeld, D

3.6 Primer

Gen	Sequenz <i>forward</i> Primer (5'→3')	Sequenz <i>reverse</i> Primer (5'→3')
Primer für die Sequenzierreaktion		
pGEM	GGCCGCGGGATATCACTA	CTCAAGCTATGCATCCAACG
Primer für aPRIMES		
ddMSEI	TAAGTACAG	-
Lib1	AGTGGGATTCTGCTGTCACT	-
Primer für qRT-PCR		
MTP18	CGCTTGGGCTGTTGACCATCCC	CAGGTACCAGAGTATGATCAGGAGGA
TRIB2	GATGATTCCCTCTCCGACAA	AAGAGGGAGCTGGGTTCAAT
PGK1	AAGTGAAGCTCGGAAAGCTTCTAT	TGGGAAAAGATGCTTCTGGG
DCTN2	ACTAGCGACCTACCTGAGGA	TCATAGGCAGCATTAGGATTG AC
LaminB1	CTGGAAATGTTTGCATCGAAG A	GCCTCCCATTGGTTGATCC
GAPDH	AGG TGA AGG TCG GAG TCA AC	CATGTAGTGAGGTCAATGAAGG

Alle Primer wurden von Eurofins MWG Operon (Ebersberg, Deutschland) bezogen.

3.7 Lösungen und Puffer

3.7.1 Standardlösungen und -puffer

Lösung	Zusammensetzung
1x PBS (Phosphate Buffered Saline)	137 mM NaCl 2,7 mM KCl 9,2 mM Na ₂ HPO ₄ 1,8 mM KH ₂ PO ₄ pH 7,4
20x SSC (Saline-Sodiumcitrate)	3 M NaCl 0,3 M Na-Citrat 2xH ₂ O pH 7,0
1x TBE (Tris-Borat-EDTA)	89 mM Borsäure 89 mM Tris-Base 2 mM EDTA, pH 8
Gelelektrophorese Ladepuffer (6x)	30% Glycerin (vol.) 0,25% Bromphenolblau
TE-Puffer (Tris-EDTA)	10 mM Tris-HCl 1 mM EDTA, pH 8

3.7.2 Puffer für aPRIMES

Lösung	Zusammensetzung
Spottingpuffer	3x SSC 1,5 M Betain
Waschpuffer I („WASH A“)	50% Formamid 2x SSC 0,1% (vol.) TWEEN® 20 pH 7,0
Waschpuffer II („2xSSC“)	2x SSC 0,05% (vol.) TWEEN® 20 pH 7,0
PBS-Waschpuffer	1x PBS 0,05% (vol.) TWEEN® 20 pH 7,0
Blockierungslösung („Pat Brown“)	325 ml 1-Methyl-2-pyrrolidone 6 g Succinic Anhydride →durch Schütteln lösen 15 ml 1 M Natriumborat pH 8,0

3.7.3 Puffer für arrayCGH

Lösung	Zusammensetzung
Waschpuffer I („WASH A“)	50% Formamid 2x SSC 0,1% (vol.) TWEEN® 20 pH 7,0
Waschpuffer II („2x SSC“)	2x SSC 0,05% (vol.) TWEEN® 20 pH 7,0
PBS-Waschpuffer	1x PBS 0,05% (vol.) TWEEN® 20 pH 7,0
arrayCGH-Blockierungslösung	50 mM Ethanolamin 0,1% (v/v) SDS 0,1 M Tris (pH 9)

3.7.4 Nährmedien

Lösung	Zusammensetzung
LB (<i>lysogeny broth</i>) - Medium	10 g Pepton 5 g Hefe-Extrakt 10 g NaCl ad 1 l ddH ₂ O 20 min bei 121°C und 1000hPa autoklavieren
LB (<i>lysogeny broth</i>) - Platten	10 g Pepton 5 g Hefe-Extrakt 10 g NaCl 15 g Agar ad 1 l ddH ₂ O 20 min bei 121°C und 1000hPa autoklavieren

3.8 Plasmide

Name	Herkunft
pCMV6-XL4- TRIB2	OriGene Technologies Inc., Rockville, USA
pCMX (Leervektor)	Umesono <i>et al.</i> , 1991
pmaxGFP	Lonza Cologne AG, Köln, D
pCMV-Renilla-Luciferase	Dr. Mathas, Prof. Doerken, Max-Delbrueck Center in Berlin
p-6xNFKB-Firefly-Luciferase	Dr. Mathas, Prof. Doerken, Max-Delbrueck Center in Berlin

3.9 Geräte

Gerät	Hersteller
ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer	Applied Biosystems, Foster City, USA
ABI PRISM 7900 Sequence Detection System	Applied Biosystems, Foster City, USA
Agilent 2100 Bioanalyzer	Agilent Technologies Inc., Santa Clara, USA
Agilent DNA Microarray Scanner	Agilent Technologies, Palo Alto, USA
Amaxa Nucleofector™	Lonza Cologne AG, Köln, D
Biofuge Fresco	Heraeus Instruments, Hanau, D
Brutschrank Thermo Forma	Thermo Fisher Scientific, Langenselbold, D
Eppendorf Mastercycler Gradient	Eppendorf, Hamburg, D
FACSCanto™ II	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, D
Gelelektrophorese Power Supply	E-C Apparatus Corporation, USA
GeneTAC hybridization station™	Genomic solutions (GeneMachines), Ann Arbor, USA
Heizblock QBT	Grant Instruments, Cambridge, UK
HMT 702 C Mikrowellenofen	Robert Bosch GmbH, Stuttgart, D
Mithras LB940 Luminometer	Berthold Technologies, Bad Wildbad, D
NanoDrop® ND-1000 spectrometer	NanoDrop, Wilmington, USA
Pipetten (2 µl, 10 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl)	Gilson, Middleton, USA
OmniGrid Spotting Roboter	Genomic Solutions, Ann Arbor, USA
Sterilbank Hera Safe	Thermo Fisher Scientific, Langenselbold, D
Stratalinker 2400 UV-Crosslinker	Stratagene, La Jolla, USA
UV-Transilluminator	BioRad, Hercules, USA
Vakuumzentrifuge (Concentrator 5301)	Eppendorf, Hamburg, D
Varifuge 3.0	Heraeus Instruments, Hanau, D
Vi-CELL XR 2.03	Beckman Coulter GmbH, Krefeld, D
Vortex Mixer	Neo lab 7-2020, Heidelberg, D
Wasserbad SW22	Julabo Labortechnik, Seelbach, D

3.10 Software

Software	Zulieferer/Quelle
Agilent Expert 2100	Agilent Technologies, Palo Alto, USA
BD FACS Diva	BD Biosciences, San Jose, USA
BLAST	http://www.ensembl.org/Multi/blastview/ http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/
ChipYard®	http://www.dkfz.de/genetics/ChipYard
GenePix Pro 6.1	Axon Instruments, Burlingame, USA
Microsoft Excel 2003	Microsoft, Redmond, USA
Microsoft Powerpoint 2003	Microsoft, Redmond, USA
Microsoft Windows 2003	Microsoft, Redmond, USA
PAM	Tibshirani <i>et al.</i> , 2002
PHP	http://php.net/index.php

Software	Zulieferer/Quelle
PIMS ©	http://www.dkfz.de/en/genetics/pages/projects/bioinformatics/PIMS.html
Primer3	offene Quelle (http://frodo.wi.mit.edu/)
R 2.2.1	offene Quelle (http://www.r-project.org/)
SAM	Tusher <i>et al.</i> , 2001
SDS 2.2.2™	Applied Biosystems, Foster City, USA
Staden Package	offene Quelle (http://staden.sourceforge.net/)
Zotero	http://www.zotero.org/

3.11 Datenbanken

Name	Adresse
Ensembl	http://www.ensembl.org (Version 48)
NCBI	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/
OMIM	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim
PubMed	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed
UHN Microarray Annotation	http://data.microarrays.ca/

3.12 Biologisches Material

3.12.1 CLL-Patientenproben

Alle Patientenproben wurden von H. Döhner and S. Stilgenbauer, Universitätsklinikum Ulm, erhalten.

3.12.1.1 Patientenproben für aPRIMES

Karyotyp	Probennummer	Eingangsnummer	IgVH-Status
11q-	11-13	01PB836	unmutiert
	11-14	02PB2430	unmutiert
	11-8	05PB1314	unmutiert
	11-10	01PB458	unmutiert
	11-1	02PB3167	unmutiert
	11-9	05KM1677	unmutiert
	11-6	04PB3227	unmutiert
	17p-	17-11	00PB1237
17-10		01PB624	unmutiert
17-12		98PB167	unmutiert
10		05PB2740	unmutiert
17-2		03PB247	unmutiert
17-1		02PB2757	unmutiert
17-3		04PB2689	unmutiert
17-4		05PB861	unmutiert
17-5		99pb181	unmutiert
normal		N-10	07PB2140
	N-3	00pb2372	mutiert
	N-4	00pb83	mutiert
	N-7	02PB2859	mutiert
	N-11	07PB2444	mutiert
	N-1	04PB2957	mutiert
	N-6	02PB2759	mutiert

Karyotyp	Probennummer	Eingangsnummer	IgVH-Status
13q-	13-3	96PB853	unmutiert
	13-7	97PB1642	unmutiert
	13-1*	06PB4291	unmutiert
	13-2*	06PB6648	unmutiert
	13-1	02PB35	unmutiert
	9	05PB3784	mutiert
	8	05PB3867	unmutiert
	5	05PB3727	unmutiert
	4	05PB4062	unmutiert

3.12.1.2 Patientenproben für Expressionsanalyse

Karyotyp	Probennummer	Eingangsnummer	IgVH Status
13q-	13-1	02PB35	unmutiert
	13-1*	06PB4291	unmutiert
	13-2	06PB6648	unmutiert
	13-25	n.a.	unmutiert
	13-36	n.a.	mutiert
	13-40	n.a.	mutiert
	13-44	n.a.	n.a.
	13-45	n.a.	n.a.
17p-	17-1	02PB2757	unmutiert
	17-2	03PB247	unmutiert
	17-8	04PB1528	unmutiert
	17-10	01PB624	unmutiert
	17-11	00PB1237	unmutiert
	17-12	98PB167	unmutiert
	17-14	99PB292	unmutiert
	17-15 (=17-5)	99pb181	unmutiert

3.12.1.3 Patientenproben für funktionelle Analyse

Karyotyp	Probennummer	Eingangsnummer	IgVH Status
13q-	94	n.a.	n.a.
13q-	96	n.a.	mutiert

3.12.2 Kontrollen (CD19-positive Lymphozyten)

Alle Kontrollproben wurden von H. Döhner and S. Stilgenbauer, Universitätsklinikum Ulm, erhalten.

3.12.2.1 Kontrollen für aPRIMES

Probennummer	Interne Nummer	Alter (Jahre)
C-1	BC-1	63
C-2	BC-2	49
C-3	BC-3	67
C-4	BC-4	67
C-9	BC-9	60
C-10	BC-10	57
C-12	BC-12	47
C-13	BC-13	57
C-16	BC-16	60

3.12.2.2 Kontrollen für Expressionsanalyse

Probennummer	Alter
c-1	n.a.
c-2	n.a.
c-3	n.a.
c-4	n.a.

3.12.3 Zelllinien

Name	Beschreibung	Herkunft
MEC-1	humane CLL-Zelllinie (ACC 497); Stacchini <i>et al.</i> , 1999	DSMZ, Braunschweig, D

3.12.4 Proben für die Analyse des Medulloblastom-Mausmodells

Genotyp	Probennummer	Mausnummer	Alter (Tage)
Wildtyp	7	1M 629 KH	31
	19	1M 634 KH	31
	16	1M 79 KH	365
	14	1M 80 KH	378
Ptch ^{+/-}	10	2M 223 MB	218
	12	2M 454 KH	45
	5	2M 126 KH	343
	13	2M 127 KH	343
	20	2M 432 KH	49
	9	2M 679 MB	165
	15	2M 683 MB	192
	8	2M 758 MB	259
Ptch ^{+/-} ;Nos ^{-/-}	11	4M 182 KH	358
	6	4M 197 KH	419
	4	4M 250 MB	143
	2	4M 620 MB	232
	1	4M 626 MB	119
	17	4M 645 KH	33
	18	4M 671 KH	27
	3	4M 673 MB	170

Abkürzungen:

MB= Medulloblastom/Tumor, KH= Kleinhirn/Cerebellum

1M= wt, 2M= Ptch^{+/-}, 4M= Ptch^{+/-}; Nos^{-/-}

Alle Mausproben wurden von G.Reifenberger, Institut für Neuropathologie, Düsseldorf, erhalten.

4 Methoden

4.1 Zellbiologische Methoden

4.1.1 Isolierung der Lymphozytenfraktion aus Blut

Aus 50 ml Heparinblut von Kontrollpersonen wurden für die aPRIMES-Analyse zunächst die Lymphozyten nach Anweisung des Herstellers mit Leucosep[®] (Greiner Bio-One) und Ficoll (Ficoll-Plaque[™] Plus, Amesham Biosciences) separiert. Diese Methode beruht auf Dichtegradienten-Zentrifugation.

Das Leucosep[®]-Röhrchen enthält eine poröse Trennscheibe aus Polyethylen, um nach erfolgter Separation eine Rekontamination der angereicherten Lymphozytenfraktion mit Erythrozyten und Granulozyten zu vermeiden. Unterhalb der Trennscheibe wurden 15 ml Separationsmedium (Ficoll) vorgelegt und 10 min in PBS/4 mM EDTA vorverdünntem antikoaguliertem Blut bei 1000 rpm und RT im Ausschwingrotor ohne Bremse zentrifugiert.

4.1.2 Sortieren von Zellen nach Oberflächenmolekülen

Aus der wie oben beschrieben isolierten Lymphozytenfraktion wurden dann die B-Zellen mittels *Magnetic Cell Sorting* unter Verwendung von an magnetische *Beads* gekoppelten CD19-Antikörpern isoliert (*MACS CD19 MicroBeads*; s. Protokoll des Herstellers). Hierbei werden die B-Zellen, an die der CD19-Antikörper gebunden hat, durch den magnetischen *Bead* in einer Säule in einem magnetischen Feld zurückgehalten, während alle anderen Zellen depletiert werden. Danach wird die Säule aus dem magnetischen Feld entfernt und die B-Zellen mit Puffer eluiert. Die Reinheit der eluierten Fraktion wurde anschließend mittels Durchflusszytometermessung kontrolliert.

Patientenproben wurden dieser Prozedur nicht unterzogen, da sie krankheitsbedingt einen so hohen prozentualen Anteil an B-Zellen bzw. leukämische B-Zellen enthalten, dass eine Isolierung nicht notwendig ist.

4.1.3 Kultivierung und Passagieren von Zellen

MEC-1-Zellen wurden in 75cm² Zellkulturflaschen unter Standardbedingungen bei 37°C, 5% CO₂ und 95% Luftfeuchtigkeit gehalten. Als Medium wurde DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) mit 10% fötalem Kälberserum (FCS) und 50 U/ml Penicillin und 50 µg/ml Streptomycin verwendet. Wenn die Zellen eine Dichte von ca. 2x10⁶ Zellen/ml erreicht hatten, wurden sie je nach Wachstumsgeschwindigkeit mit frischem Medium verdünnt, in der Regel in einem Verhältnis von 1:4.

Primäre CLL-Zellen wurden für die hier durchgeführten Versuche in von HS-5-Zellen, einer Stromazelllinie, konditioniertem Medium kultiviert.

Für die Behandlung mit LY294002 wurde die entsprechende Menge in DMSO gelöst und mit Kulturmedium vermischt. Als Kontrolle wurde DMSO in gleicher Konzentration verwendet. Die

Behandlung erfolgte 24 Stunden nach Aussaat bzw. Splitten. Nocodazol und Puromycin wurden direkt in entsprechender Konzentration dem Medium zugegeben.

4.1.4 Einfrieren und Auftauen von Zellen

Zum Einfrieren wurden die Zellen durch Zentrifugation bei 700 rpm pelletiert und in Einfriermedium (Kultiviermedium + 10% DMSO; ca. 5×10^6 Zellen pro 1,5 ml) resuspendiert. Danach wurden sie zunächst eine Stunde auf Eis gelagert, dann bis zu einer Woche bei -80°C und anschließend in Tanks mit flüssigem Stickstoff überführt.

Die Zellen wurden bei 37°C aufgetaut und direkt in vorgewärmtes Kulturmedium überführt. Ein Mediumswechsel erfolgte nach 24 Stunden, um das für Zellen schädliche DMSO zu entfernen.

4.1.5 Zellzahl- und Zellviabilitätsbestimmung

Die Zellzahl- und Zellviabilitätsbestimmung wurde mit dem Vicell XR-Gerät 2.03 durchgeführt. Das vom Hersteller erhältliche *Reagent Pack* enthält alle notwendigen Lösungen wie Trypanblau, Desinfektionslösung, Reinigungslösung und Puffer. Für die Messung werden 500 μl Zellsuspension direkt eingesetzt, durch das Gerät mit Trypanblau vermischt, in eine Kapillare gesaugt und die Zellzahl optisch bestimmt. Hierfür nimmt das Gerät mit Hilfe einer CCD-Kamera 50 digitale Bilder der durch die Kapillare strömenden Zellen auf. Dann werden durch die Gerätesoftware verschiedene Parameter wie Zellzahl, Durchmesser und Form (Zirkularität) errechnet. Für die Ermittlung der Zellviabilität wird die Helligkeit ermittelt, was die Unterscheidung zwischen mit Trypanblau gefärbten (tot) und ungefärbten Zellen (lebend) ermöglicht. Die Ergebnisse werden in absoluten Zahlen und prozentual dargestellt und können exportiert werden.

4.1.6 Transfektion

Für die Transfektion der Zellen mit dem gewünschten Gen wurde das kommerziell erhältliche Nucleofector™ System von Lonza (ehemals Amaxa) verwendet. Es beruht auf dem Prinzip der Elektroporation in Kombination mit geeigneten Puffern (Nucleofector™ Lösung), die jeweils spezifisch für bestimmte Zelltypen optimiert worden sind.

Die Zellen wurden, da sie sich in der logarithmischen Wachstumsphase befinden sollten, 1-2 Tage vor der Transfektion gesplittet. Am Tag der Transfektion wurden pro Ansatz $1-5 \times 10^6$ Zellen bei 700 rpm und Raumtemperatur abzentrifugiert, in 100 μl der empfohlenen Nucleofector™ Lösung resuspendiert (empfohlene Lösung für die hier verwendete Zelllinie MEC-1: Lösung V) und zusammen mit 3 μg der zu transfizierenden Plasmid-DNA in eine Küvette gegeben. Die Küvette wurde in das Nucleofector™-Gerät gestellt und das empfohlene Programm gestartet (empfohlenes Programm für die hier verwendete Zelllinie MEC-1: Programm X001). Danach wurde die Zellsuspension sofort in auf 37°C vorgewärmtes

Medium überführt. Als Negativkontrolle wurde ein Leervektor ohne Insert (pCMX), als Positivkontrolle ein GFP-exprimierendes Plasmid (pmaxGFP) verwendet.

Die Transfektion primärer Zellen erfolgte ebenfalls mit dem Nucleofector™ System. Hierfür wurde das B Cell Nucleofector Kit und jeweils 1×10^7 Zellen und 5 µg mRNA pro Ansatz verwendet.

4.1.7 Durchflusszytometrie

Mit Hilfe der Durchflusszytometrie können Größe, Viabilität und Granularität einzelner Zellen bestimmt werden. Außerdem ist es möglich, die Expression von Oberflächenproteinen auf Einzelzellen mit Hilfe fluoreszierender Farbstoffe zu analysieren.

Die Durchflusszytometrie beruht auf dem Prinzip der Emission von optischen Signalen. Die je nach Versuchsziel behandelten Zellen werden einzeln in einem laminaren Strom an einem Laser vorbeigeleitet. Durch Analyse der durch das Auftreffen auf die Zellen hervorgerufenen Streuung der Laserstrahlen können Größe und Granularität bestimmt werden. Die Streuung der Lichtstrahlen in Ausbreitungsrichtung des Laserstrahls (Vorwärtsstreulicht oder *Forwardscatter/FSC*) gibt Aufschluss über die Zellgröße; die Streuung durch Strukturen innerhalb der Zelle im 90°-Winkel gibt Aufschluss über die Granularität der Zellen (Seitwärtsstreulicht oder *Sidescatter/SSC*). Sind die Zellen zusätzlich noch mit fluoreszierenden Farbstoffen angefärbt, werden diese durch den Laserstrahl angeregt und emittieren Licht in einer für den Farbstoff spezifischen Wellenlänge. Die Signale werden von einem Detektor erfasst.

Die Analyse der Zellen, Optik und Datenprozessierung erfolgten mit dem Durchflusszytometer FACSCantoII. Dieses verfügt über einen Argon-Ionen-Laser mit einer Anregungswellenlänge von 488 nm und über einen Helium-Ionen-Laser mit einer Anregungswellenlänge von 635 nm. Insgesamt können mit diesem Gerät acht verschiedene Farben gemessen werden.

4.1.7.1 Messung von Apoptose

Apoptose ist durch bestimmte morphologische Veränderungen der Zelle gekennzeichnet, wie z.B. Verlust der Membranasymmetrie, Plasmakondensation und DNA-Fragmentierung. Eines der ersten Ereignisse in apoptotischen Zellen ist die Translokation des Membranphospholipids Phosphatidylserin (PS) von der zytosolischen auf die extrazelluläre Seite der Membran. Das Phospholipid-bindende Protein Annexin V besitzt eine starke Affinität zu PS und kann daher - gekoppelt an einen Fluoreszenzfarbstoff wie z.B. Phycoerythrin (PE)- zum Nachweis frühapoptotischer Zellen verwendet werden.

Im Spätstadium der Apoptose und in nekrotischen Zellen kommt es zum Verlust der Membranintegrität, was das Eindringen von Substanzen in die Zelle ermöglicht. Somit ist bei

Zellen in diesem Stadium ein Anfärben der DNA mit interkalierenden Agenzien wie 7-Amino-Actinomycin D (7-AAD) möglich. Somit sind lebende Zellen negativ für Annexin V und 7-AAD, frühapoptotische Zellen sind Annexin V-positiv und 7-AAD-negativ und spätapoptotische Zellen positiv für Annexin V und 7-AAD.

Für die Messung der Apoptose wurde das *Annexin V-PE Apoptosis Detection Kit* verwendet: 5×10^5 - 1×10^6 Zellen werden mit Hilfe eines Filters (*MACS Pre-Separation Filter*) vereinzelt und bei 1200 rpm 10 min abzentrifugiert. Das Pellet wird in 30 μ l Annexin-7-AAD-Puffer resuspendiert und 15 min bei 4°C inkubiert. Nach Zugabe von 150 μ l 1x *Binding Buffer* wird die Messung am Durchflusszytometer durchgeführt.

Annexin-7-AAD-Puffer (laut Protokoll des Herstellers)	
Reagenz	Menge
Annexin V-PE	100 μ l
7-AAD	100 μ l
10x Binding Buffer	800 μ l

Um eine optimale Einstellung der Parameter zu gewährleisten, wurde vor dem eigentlichen Experiment ein Vorversuch mit Puromycin (0,5-2 μ g/ml, 48 Stunden) durchgeführt, der auch als Positivkontrolle diente.

Die Auswertung erfolgt durch das Auftragen des 7-AAD-Signals gegen das Annexin V-PE-Signal im Dotplot. So kann man die oben beschriebenen drei Fraktionen unterscheiden und den Anteil der Zellen in dem jeweiligen Stadium errechnen.

4.1.7.2 Zellzyklusanalyse

Die Zellzyklusanalyse basiert auf der Interkalation des Farbstoffs Propidiumiodid (PI) in die DNA. Durch Messung der Menge an PI im Durchflusszytometer lässt sich der DNA-Gehalt in den einzelnen Zellen ermitteln und so Rückschlüsse auf die Phasen des Zellzyklus ziehen. Proliferierende Zellen besitzen in der G1-Phase einen einfachen DNA-Gehalt, der sich im Laufe der S-Phase verdoppelt. In der G2/M-Phase liegt der doppelte DNA-Gehalt vor.

Die Zellen werden zunächst in Ethanol fixiert. Dies dient der Permeabilisierung der Zellmembran, was das Eindringen des Farbstoffs PI ermöglicht. Hierfür werden $1-2 \times 10^6$ Zellen mit Hilfe eines Filters vereinzelt, 5 min bei 1000 rpm abzentrifugiert und das Pellet in 50 μ l 1x PBS (4°C) resuspendiert. Unter Schütteln (400 rpm) werden dann langsam 800 μ l 70%iges Ethanol (-20°C) hinzugegeben. Danach werden die Zellen mindestens 1 Stunde bei -20°C inkubiert oder bis zu 2 Tagen bei -20°C gelagert. Für die Messung werden die Zellen mit dem 3-fachen Volumen 1x PBS (4°C) gewaschen und 5 min bei 1000 rpm abzentrifugiert. Das Zellpellet wird in 200 μ l PI/RNase-Puffer resuspendiert, 15-30 min bei 37°C unter Lichtschutz inkubiert und am Durchflusszytometer gemessen. Die RNase dient dazu, falsch-positive Ergebnisse durch Interkalation des Farbstoffs in doppelsträngige RNA zu verhindern.

PI/RNase-Puffer	
Reagenz	Menge [Konzentration]
PI (Propidiumiodid) 1 mg/ml	50 µl [50 µg/ml]
RNase 100 mg/ml	2 µl [200 µg/ml]
1x PBS	948 µl
lichtgeschützt aufbewahren	

Um eine optimale Einstellung der Parameter zu gewährleisten, wurde vor dem eigentlichen Experiment ein Vorversuch mit Nocodazol (0,5 µg/ml für 16 Stunden), einer Substanz, die Zellzyklusarrest in der G2/M-Phase verursacht, durchgeführt.

Auswertung:

Durch Messung der Größe im FSC können etwaige Dupletten erkannt und von der Analyse ausgeschlossen werden, da diese durch ihren zweifachen DNA-Gehalt ein falsches Ergebnis liefern würden. Für die Auswertung werden FSC, SSC und PI linear erfasst und im Histogramm Zellzahl gegen PI-Signal aufgetragen. Die gemessene Fluoreszenz ist proportional zum DNA-Gehalt, somit zeigen sich Peaks in folgender Reihenfolge: G1-Phase, S-Phase, G2/M-Phase.

4.1.8 Dual-Luziferase-Reporter-Assay zur Messung der NFκB-Aktivität

Der Dual-Luziferase-Reporter-Assay ist ein genetisches Reporter-System zur Untersuchung der Regulation der Genexpression. Hier werden zwei individuelle Reporterenzyme in einem System kombiniert. Die Expression vom experimentellen Reporter (*Firefly*-Luziferase) reagiert auf Veränderungen der experimentellen Konditionen (z.B. der Überexpression eines Gens), während die Aktivität des ko-transfizierten Kontrollreporters (*Renilla*-Luziferase) eine interne Kontrolle darstellt. Die Normalisierung der Aktivität der *Firefly*-Luziferase auf die Aktivität der *Renilla*-Luziferase minimiert die experimentelle Variation die durch Unterschiede in Zellviabilität oder Transfektionseffizienz entsteht.

Das *Firefly*-Luciferase-Plasmid, das hier verwendet wurde, enthält das *Firefly*-Luziferase-Gen unter der Kontrolle eines Promotors, der aus sechs Bindestellen für NFκB besteht (Bergmann *et al.*, 1998). Das *Renilla*-Plasmid enthält das *Renilla*-Luziferase-Gen unter der Kontrolle eines konstitutiven Promotors (beide Plasmide wurden freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Dr. Mathas/Prof. Doerken vom Max-Delbrueck Center in Berlin).

Für die Untersuchung wurden hier jeweils 5×10^6 MEC-1-Zellen mit 3 µg des TRIB2-Expressionsvektors oder eines Leervektors (Kontrolle) und den beiden Reporterplasmiden (0,83 µg des *Firefly*-Plasmids und 0,42 µg des *Renilla*-Plasmids) in Triplikaten ko-transfiziert. Nach 24 Stunden wurde die NFκB-Aktivität durch Zugabe von 50 ng/ml TNFα induziert. Nach 0, 3, 6 und 9 Stunden wurde die Luziferase-Aktivität mit Hilfe des Dual-Luciferase Reporter System-Kits (Promega) und eines Luminometers (LB-940 Mithras Multilabel Reader, Berthold Technologies) erfasst. Hierfür wurden die transfizierten Zellen zunächst 10 min bei 1000 rpm

und Raumtemperatur abzentrifugiert. Die Zellpellets wurden mit jeweils 65 µl 1x *Passive Lysis Buffer* (Promega) 15 min auf einem Schüttler bei 310 rpm lysiert. 15 µl jedes Lysats wurden in Triplikaten in eine für das Luminometer geeignete Platte mit 96 Vertiefungen pipettiert. Die *Firefly*-Aktivität wurde nach Zugabe von 100 µl LAR II-Reagenz (Promega) gemessen - dies generiert ein stabiles Lumineszenz-Signal. Nach der Quantifizierung der *Firefly*-Lumineszenz wurde durch Zugabe von 100 µl *Stop-and-Glow*-Reagenz (Promega) die *Firefly*-Lumineszenz unterdrückt und die *Renilla*-Luziferase-Reaktion initiiert. Danach wurde die Aktivität der *Renilla*-Luziferase gemessen.

Nach Normalisierung der *Firefly*-Luziferaseaktivität auf die *Renilla*-Luziferase-Aktivität ist ein direkter Vergleich der NFκB-Aktivität im Nukleus in verschiedenen Proben, z.B. vor und nach Überexpression eines Gens, möglich.

4.2 Transformation, Amplifikation von Plasmid-DNA und mRNA-Synthese

4.2.1 Transformation von Bakterien

Für die Vervielfältigung der Plasmid-DNA wurden OneShot[®] TOP10 Competent Cells von Invitrogen verwendet. Es wurden 50 ng Plasmid-DNA pro Ansatz eingesetzt und zusammen mit den kompetenten Bakterien 30 min auf Eis inkubiert. Danach wurden die Zellen 30 s bei 42°C einem Hitzeschock ausgesetzt und wieder auf Eis überführt. Nach Zugabe von 250 µl SOC-Medium wurden die Zellen bei 37°C eine Stunde bei 200 rpm geschüttelt. Danach wurden die Zellen auf vorgewärmten LB-Selektions-Platten mit Ampicillin ausplattiert und über Nacht bei 37°C inkubiert.

Am nächsten Tag wurden einzelne Kolonien ausgewählt (gepickt) und mit Hilfe einer Pipettenspitze in 5 ml flüssiges LB-Medium mit 0,1 mg/ml Ampicillin überführt (angeimpft) und wieder über Nacht bei 200 rpm und 37°C geschüttelt (Vorkultur). Um eine große Menge des Plasmids zu erhalten wurde die Vorkultur in einen Erlenmeyer-Kolben mit 300 ml LB-Ampicillin-Medium überführt und unter gleichen Bedingungen wie zuvor inkubiert.

4.2.2 Aufreinigung von Plasmid-DNA aus Bakterien

Zur Aufreinigung der Plasmid-DNA aus Bakterien wurde das EndoFree[®] Plasmid Purification Kit von Qiagen nach Angaben des Herstellers verwendet.

4.2.3 mRNA-Synthese für die Transfektion primärer Zellen

Die mRNA wurde mit dem mMESSAGE mMACHINE T7 Ultra Kit (Ambion) - unter Verwendung des Plasmids pCMV6-XL4- TRIB2 Template - nach Protokoll des Herstellers synthetisiert und die Qualität mit dem Agilent Bioanalyzer (Kap. 4.4.2) überprüft.

4.3 Extraktion und Analyse von DNA

4.3.1 DNA-Extraktion aus Zellen und Patientenproben

Nach Aufreinigung der Lymphozytenfraktion aus dem Blut der Patienten (s. Kap. 4.1.1) wurde diese direkt für die DNA-Extraktion verwendet. Aus den Proben von Kontrollpersonen wurde nach der Separation der Lymphozyten mittels *Magnetic Cell Sorting* (s. Kap. 4.1.2) die CD19-positive Fraktion isoliert, was der B-Zellpopulation entspricht, und diese dann in die DNA-Extraktion eingesetzt.

Die Extraktion der DNA wurde mittels AllPrep DNA/RNA Mini-Kit von Qiagen nach Anleitung des Herstellers durchgeführt.

4.3.2 Photometrische Bestimmung der DNA-Konzentration

Die Konzentration wässriger DNA-, RNA- und Proteinlösungen können photometrisch bestimmt werden. Für die Bestimmung der DNA-Konzentrationen wurde der NanoDrop® ND-1000 verwendet, dessen Vorteil die Möglichkeit zur Messung geringer Probevolumen (1-2 µl) ist. Nukleinsäuren zeigen aufgrund der in ihnen enthaltenen Basen ein Absorptionsmaximum bei 260 nm im ultravioletten Bereich, Proteine dagegen absorbieren hauptsächlich bei 280 nm. Bei 260 nm entspricht eine Absorption von 1 bei einem Lichtweg von 1 cm jeweils einer Konzentration von 50 µg/ml doppelsträngiger DNA, 33 µg/ml einzelsträngiger DNA und 40 µg/ml RNA. Hieraus kann die Konzentration der Lösung errechnet werden.

Für die Reinheitsbestimmung der Lösung wird das Verhältnis zwischen den gemessenen Absorptionen bei 260 und 280 nm herangezogen. Bei reinen Nukleinsäure-Lösungen liegt der Quotient der beiden Werte (A_{260}/A_{280}) zwischen 1,8 und 2,0. A_{260}/A_{280} Werte unter 1,8 weisen auf Kontaminationen durch Proteine und aromatischen Substanzen hin, wogegen A_{260}/A_{280} Werte über 2,0 auf RNA-Kontaminationen hindeuten.

Es wurden jeweils 1,5 µl unverdünnter Probenlösung auf die Messvorrichtung aufgetragen und die Absorption der Lösung bei 260 nm und 280 nm bestimmt.

4.3.3 Elektrophoretische Auftrennung der DNA

DNA kann - durch ihre negative Ladung - durch Anlegen einer Spannung in einem Agarosegel ihrer Größe nach aufgetrennt werden. Die benötigte Menge Agarose (je nach DNA-Fragmentgröße 0,8-2%) wird in 1xTBE-Puffer durch Aufkochen in der Mikrowelle gelöst und nach dem Abkühlen auf ca. 60°C in einen Elektrophoreseschlitten gegossen und ein Kamm verwendet, um Aussparungen für das Laden der Proben zu erhalten.

Die Proben-DNA wird mit DNA-Ladepuffer versetzt, der durch das enthaltene Glycerin das Absinken der Proben in die Geltaschen bewirkt und außerdem zwei Farbstoffe als Laufmarker enthält. Als Größenmarker wird die Gene Ruler™ 1 kb DNA Ladder von MBI Fermentas verwendet, die DNA-Fragmente definierter Größe enthält.

Das Gel wird in einer Elektrophoresekammer in 1xTBE Puffer je nach Fragmentgröße bei einer Spannung 100-120 V gefahren und das Gel danach 10 min in einem Ethidiumbromidbad inkubiert. Hierbei wird die DNA durch Interkalation des Ethidiumbromids in die α -Helix angefärbt. Dadurch kann die DNA mit Hilfe von UV-Licht im Gel sichtbar gemacht und fotografisch dokumentiert werden. Hierfür wurde der UV-Transilluminator ($\lambda = 254$ nm) von BioRad verwendet.

4.3.4 „array-based Profiling of Reference-independent Methylation Status“ (aPRIMES)

aPRIMES - array-based Profiling of Reference-Independent Methylation Status (Pfister *et al.*, 2007) - ist eine Hochdurchsatzmethode zur genomweiten Untersuchung von DNA-Methylierung.

4.3.4.1 Herstellung der Arrays

Für die Herstellung der Arrays zur Analyse humaner Proben wurde eine Klonbibliothek bestehend aus 10.560 Bakterienklonen von UK HGMP (<http://www.hgmp.mrc.ac.uk>) verwendet, die CpG-angereicherte DNA-Sequenzen enthalten. Ursprünglich wurde diese Bibliothek von Cross *et al.* hergestellt (Cross *et al.*, 1994). Für die Zuordnung der Klone zu ihrer Position im Genom wurde die Datenbank PIMS[©] (Kap. 4.5.2) verwendet.

Um die CpG-Sequenzen zu amplifizieren wurde Aliquots der einzelnen Sequenzen in 1 ml LB-Medium mit Ampicillin (50 μ g/ml) über Nacht bei 37°C kultiviert und in eine PCR eingesetzt.

PCR-Ansatz (96-Napf-Format)	
Reagenz	Menge/Konzentration
Bakterienkultur	2 μ l
DMSO	10%
dNTPs	180 μ M
pGEM Primer, for & rev	jew. 150 nM
MgCl ₂	1,8 mM
Eurotaq-Polymerase	2 U

PCR-Programm		
Schritt	Temperatur	Dauer
Initiale Denaturierung	94°C	3 min
35 Zyklen:		
Denaturierung	94°C	30 s
Annealing	58°C	30 s
Elongation	72°C	60 s
Aufbewahrung	4°C	

Um die Spezifität der PCR-Produkte zu erhöhen und homogenere Produktkonzentrationen zu erhalten, wurde eine Re-Amplifikation mit 5 μ l des Produkts der ersten PCR in einer zweiten PCR durchgeführt. Dies geschah unter identischen Bedingungen, mit Ausnahme der Erhöhung der Annealing-Temperatur auf 60°C.

Für die Herstellung der Arrays wurden jeweils 30 µl der Re-Amplifikations-Produkte in einer Vakuumentrifuge getrocknet und in 12 µl Spottingpuffer resuspendiert. Dann wurden sie mit Hilfe eines Roboters (Spotting Roboter, Omnigrid) in Triplikaten auf Aminosilan-beschichtete Glaträger (Mikroarrays; Corning Gaps II) aufgebracht (sog. „Spotten“).

Die äußeren Bedingungen hierfür waren 20°C Raumtemperatur und 40% Luftfeuchtigkeit. Nach dem „Spotten“ wurde die DNA durch UV-Licht auf dem Glaträger fixiert, die Glaträger für 2 Stunden bei 80°C gebacken und wieder mit UV-Licht bestrahlt.

Für die Analyse der Mausmodelle wurde ein kommerziell erhältlicher Array von UHN Toronto verwendet (MCGI4.6Kv1).

4.3.4.2 Vorbereitung der Proben

MseI-Verdau

Die genomische Proben-DNA wurde zunächst nach folgendem Protokoll mit dem Restriktionsenzym MseI verdaut, um DNA-Fragmente von 100 bis 1500 bp Länge zu erhalten. Hierdurch entstehen außerdem TA-Überhänge an den 5'-Enden der Fragmente, die später die Ligation des Adapters ermöglichen.

MseI-Verdau	
Reagenz	Menge/Konzentration
genomische DNA	500 ng
10xNEB Puffer 2	1 µl
BSA	0,1 µl
MseI	1 µl
H₂O	ad 10,0 µl
3 Std. bei 37°C, Inaktivierung bei 60°C 20 min, Aufbewahrung bei 15°C	

Pre-Annealing der Adapter und Ligation

In diesem Schritt bindet der ddMse11-Linker an den ebenfalls einzelsträngig vorliegenden Primer Lib1 und bildet so den Adapter für die spätere Amplifikation.

Mit dem Pre-Annealing sollte 1 Stunde vor Ende des MseI-Verdau begonnen werden.

Pre-Annealing	
Reagenz	Menge/Konzentration
OFA-Puffer	1 µl
Lib1	1 µl
ddMse11	1 µl
H₂O	3 µl
Gradient von 65°C auf 15°C (in Schritten von 1°C pro Minute)	

Nach Abkühlen auf 15°C werden die Mse-Fragmente hinzugegeben und der Ligationsansatz hinzugefügt.

Ligation	
Reagenz	Menge/Konzentration
MseI-Fragmente aus MseI-Verdau	10 µl
T4-Ligase	1 µl
10 mM ATP	2 µl
H₂O	1 µl
Ligation über Nacht bei 15°C	

Methylierungs-sensitiver und methylierungs-spezifischer Verdau

Um die relative Methylierung einzelner CpG-Islands zu ermitteln wurden jeweils 50% des Ansatzes einem methylierungs-spezifischen (d.h. ausschließlich methylierte CGIs werden geschnitten) bzw. einem methylierungs-sensitivem (d.h. ausschließlich unmethylierte CGIs werden geschnitten) Verdau unterzogen.

1) Methylierungs-sensitiver Verdau: Um einen vollständigen Verdau nicht-methylierter CGI-Sequenzen zu gewährleisten, wurden hier 2 Restriktionsenzyme verwendet.

a) HpaII-Verdau

HpaII-Verdau	
Reagenz	Menge/Konzentration
50% der ligierte MseI-Fragmente aus dem vorherigen Schritt	10 µl
HpaII	1 µl
10x NEB-Puffer 1	1 µl
H₂O	3 µl
3 Std. bei 37°C, Inaktivierung bei 60°C 20 min	

b) BstU1-Verdau

BstUI-Verdau	
Reagenz	Menge/Konzentration
gesamtes Volumen des HpaII-Verdau	15 µl
BstUI	1 µl
10x NEB-Puffer 1	0,5 µl
H₂O	3,5 µl
3 Std. bei 60°C	

2) Methylierungsspezifischer Verdau:

McrBC-Verdau	
Reagenz	Menge/Konzentration
50% der ligierte MseI-Fragmente aus dem vorherigen Schritt	10 µl
McrBC	1 µl
10x NEB-Puffer 2	1,5 µl
BSA	0,25 µl
GTP	0,25 µl
H₂O	7 µl
8 Std. bei 37°C, Inaktivierung bei 60°C 20 min	

Proteinase K-Verdau

Um Proteine (z.B. Restriktionsenzyme) zu entfernen, die die nachfolgenden Reaktionen stören könnten, wurden die Proben mit Proteinase K verdaut.

Hierfür wurden zu jeder Probe 2 µl Proteinase K (20 mg/ml) hinzugegeben, 1 Stunde bei 52°C inkubiert und anschließend die Proteinase K 10 min bei 80°C inaktiviert.

Linker-PCR

Dieser Schritt dient der Amplifikation der DNA mit Hilfe der ligierten Adapter. Um ein Auffüllen der 3'-Enden der Fragment-Adapter-Konstrukte zu erreichen, ist eine initiale Inkubation bei 72°C vorgesehen.

Linker-PCR-Ansatz

Reagenz	Menge/Konzentration
Template (gesamte Probe)	20 µl
Lib1	1 µl
DNA Pol Puffer 1	2 µl
10 mM dNTP	1 µl
DNA Pol Mix (DNA-Polymerase)	1 µl
H ₂ O	5 µl

Linker-PCR-Programm

Schritt	Temperatur	Dauer
Initialer Schritt	72°C	3 min
20 Zyklen:		
Denaturierung	94°C	30 s
Annealing	65°C	30 s
Elongation	72°C	90 s
Finale Extension	72°C	10 min
Aufbewahrung	4°C	

Die Produkte wurden durch Gelelektrophorese (s. Kap. 4.3.3) überprüft.

Markierung der DNA mittels Random Priming

In diesem Schritt werden die beiden Fraktionen mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert. Hierfür werden degenerierte Oligonukleotidprimer, sog. Random Primer, verwendet die nach Bindung an die Template-DNA als Startstelle für das Klenow-Fragment der DNA-Polymerase I dienen. Während der Polymerase-Reaktion werden fluoreszenzmarkierte dCTP-Nukleotide (Cy3-dCTP und Cy5-dCTP) eingebaut. Die Fraktion, die mit methylierungssensitiv geschnitten wurde, wird mit Cy5 markiert, die Fraktion, die methylierungsspezifisch geschnitten wurde und somit unmethylierte CpG-Islands enthält, wird mit Cy3 markiert. Die Zugabe von Betain dient dem Herabsetzen der Annealingtemperatur.

Random Priming	
Reagenz	Menge/Konzentration
DNA (=Linker-PCR-Produkt)	14 µl
2,5x Random Primer	30 µl
5 M Betain	22 µl
→Denaturierung bei 95°C für 10 min, dann auf Eis für 10 min	
10xdNTP-Mix *	7,5 µl
Cy3-dCTP bzw. Cy5-dCTP	1 µl
Exo-Klenow (Polymerase I)	1 µl
mischen, über Nacht bei 37°C markieren (12-16 Stunden)	

* 20 µl 100 mM dATP + 20 µl 100 mM dGTP + 20 µl 100 mM dTTP
+ 10 µl 100 mM dCTP ad 1 ml ddH₂O

Ethanol-Präzipitation

Für die Fällung wurden jeweils 75 µl beider Markierungsreaktionen einer Probe vereint und zusammen mit 150 µg Cot-1 DNA[®] mit 10% 3 M Natrium-Acetat (pH 5,2) und 2,5x Volumen 100% Ethanol bei -80°C 20-30 min gefällt. Durch die Fällung werden nicht-inkorporierte Nukleotide, Primer etc. entfernt. Die Zugabe von Cot-1 DNA[®] - kommerziell erhältlich, mit repetitiven Sequenzen angereicherter plazentaler DNA - dient dem Blockieren repetitiver Sequenzen. Danach wird die Probe 30 min bei 13.000 rpm und 4°C zentrifugiert, der Überstand abgenommen und das Pellet durch Schütteln bei 42°C und 500 rpm und wiederholtes Vortexen in 130 µl UltraHyb-Puffer resuspendiert (30 min - 2 Stunden).

Blockieren der Arrays

Um unspezifische Bindungsstellen auf den Arrays zu blockieren, wurden die Glaträger 20 min mit Blockierungslösung („Pat Brown“) behandelt (lichtgeschützt), durch eine aufsteigende Ethanolreihe (jew. 2 min) getrocknet und zentrifugiert (1000 rpm, 2 min, RT).

Hybridisierung

Die Proben wurden zunächst 10 min bei 75°C auf einem Heizblock denaturiert und dann langsam wieder auf 42°C abgekühlt, um eine schrittweise Renaturierung zu gewährleisten.

Für die Hybridisierung wird die GeneTAC Hybridization Station™ verwendet. Die Proben wurden wie vom Hersteller vorgesehen auf die Arrays aufgebracht und bei 42°C mind. 36 Stunden hybridisiert.

Nach Beendigung der Hybridisierung wurden die Arrays in 2xSSC mit 0,05% TWEEN[®] 20 (15 min, 43°C, 80 rpm) und 1x PBS mit 0,05% TWEEN[®] 20 (15 min, RT, 20 rpm) unter Schütteln gewaschen, durch Zentrifugation bei 1000 rpm (3 min) getrocknet und die Fluoreszenzintensitäten beider Kanäle (Cy3=532 nm; Cy5=635 nm) mit dem Mikroarray-Scanner (Agilent G2565B Microarray Scanner System) erfasst.

Die Scannerdaten wurden mit Hilfe der Software GenePix Pro 6.1 visuell dargestellt und manuell überarbeitet und kontrolliert. Danach wurden die Intensitäten beider Kanäle als log₂-Quotient von Cy3 über Cy5 zur weiteren Verarbeitung in einer Textdatei gespeichert.

Auswertung

Die Auswertung, Normalisierung und Qualitätskontrolle erfolgte mit der in der Abteilung Molekulare Genetik (DKFZ) entwickelten Plattform ChipYard[®] (s. Kap. 4.5.1).

4.3.5 „array Comparative Genomic Hybridization“ (arrayCGH)

Matrix-CGH (*Comparative Genomic Hybridization*) – oder auch *arrayCGH* genannt – ist eine Methode zur hochauflösenden Analyse genomischer Imbalancen in Tumorgeweben (Solinas-Toldo *et al.*, 1997). Nach unterschiedlicher Fluoreszenzmarkierung von Referenz- und Tumor-DNA werden diese auf bekannte humane DNA-Fragmente kohybridisiert. Dies ermöglicht den Nachweis von Zugewinnen und Verlusten von genetischem Material anhand der Signalverhältnisse. Die Fluoreszenzsignale werden mit einem Scanner erfasst und statistisch ausgewertet.

Verwendet wurde eine Klonbibliothek bestehend aus 3200 BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) genomischen Fragmenten, mit von der Mapping Core und Map Finishing Gruppe des Wellcome Trust Sanger Instituts (Nigel Carter und Heike Fiegler) verifizierten Sequenzen. Zusätzlich wurden 3000 gen- und regionspezifische genomische Fragmente vom RZPD (Deutsches Ressourcenzentrum für Genomforschung GmbH, Berlin, D) und von der CalTech BAC library bestellt. Die vollständige Liste der auf dem Chip befindlichen genomischen Fragmente ist auf GEO (<http://ncbi.nlm.nih.gov/geo>) unter der Plattformzugangsnummer GPL1432 zu finden. Die Präparation der BAC-Plasmide und die Herstellung der Matrix-CGH-Arrays erfolgten in der Abteilung Molekulare Genetik des DKFZ wie bei Zielinski *et al.* (Zielinski *et al.*, 2005) beschrieben.

Für die Analyse werden Proben- und Kontroll-DNA (verwendet wurde DNA von Pools aus Blut gesunder Probanden) mittels Random Priming markiert. Diese Markierung basiert auf der Amplifikation der DNA mit Hilfe des Klenow-Fragments der DNA-Polymerase I unter Verwendung degenerierter Oligonukleotidprimer (sog. Random Primer) und fluoreszenzmarkierter Nukleotide (dCTPs) und wurde wie auch schon für aPRIMES beschrieben durchgeführt (s. Kap. 4.3.4.2). Die Tumor-DNA wurde mit Cy3-dCTP, die Kontroll-DNA mit Cy5-dCTP markiert.

Random Priming	
Reagenz	Menge/Konzentration
DNA	400 ng
2,5x Random Primer	30 µl
5M Betain	22 µl
H₂O	ad 66 µl
Denaturierung bei 95°C für 10 min, dann auf Eis für 10 min	
10xdNTP-Mix *	7,5 µl
Cy3-dCTP bzw. Cy5-dCTP	1 µl
Exo-Klenow (Polymerase I)	1 µl
mischen, über Nacht bei 37°C markieren (12-16 Stunden)	

* 20 µl 100 mM dATP + 20 µl 100 mM dGTP + 20 µl 100 mM dTTP
+ 10 µl 100 mM dCTP ad 1 ml ddH₂O

Auch die Ethanol-Präzipitation erfolgt wie im vorherigen Kapitel beschrieben.

Lediglich die Blockierung der Arrays wurde nach einem anderen Protokoll durchgeführt:

Die Arrays (Nexterion Slide E, Schott AG) wurden 15 min bei 50°C in arrayCGH-Blockierungslösung (Zusammensetzung s. Material, Kap. 3.7.3) geblockt, zweimal in ddH₂O gewaschen und 3 min bei 1000 rpm trocken zentrifugiert.

Die Hybridisierung der Arrays und die Erfassung der Intensitäten mittels Scanner erfolgten wiederum wie bei aPRIMES (Kap. 4.3.4), die Auswertung mit der hausintern entwickelten Plattform ChipYard[®] (Kap. 4.5.1).

Das Ergebnis wurde als Diagramm dargestellt, bei dem auf der y-Achse das log₂-Verhältnis von Tumor- zu Kontroll-DNA und auf der x-Achse die jeweiligen Klone nach chromosomaler Reihenfolge aufgetragen waren. So lassen sich genomische Imbalancen und deren Lokalisation erkennen.

4.3.6 Sequenzierung

Zur Bestimmung der Nukleotidsequenz der CpG-Klone wurde eine DNA-Sequenzierung nach der Didesoxy-Methode durchgeführt.

Im Reaktionsgemisch befinden sich Desoxynukleotid-Triphosphate (dNTPs) und Didesoxyribonukleotid-Triphosphate (ddNTP). Im Verlauf der DNA-Sequenzierungsreaktion fügt die DNA-Polymerase zum Template komplementäre dNTPs ein, bis der Einbau eines ddNTP die Elongation terminiert, da an ddNTPs keine weiteren Nukleotide angefügt werden können. Die ddNTPs sind mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert, um die vier verschiedenen Basen unterscheiden zu können. So erhält man statistisch an jeder Basenposition eine Terminierung, die später basenspezifisch detektiert werden kann. Die zu sequenzierende DNA wurde mit ABI PRISM[®] BigDye[™] Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems ABI PRISM) aufgearbeitet. Folgende Komponenten und Bedingungen wurden verwendet:

Ansatz		
Reagenz	Menge	
Big Dye v3.1	3,0 µl	
10 µM Primer (pGEM-for bzw. pGEM-rev)	0,3 µl	
DNA	80-150 ng	
steriles H₂O	ad 11,0 µl	

Programm		
Schritt	Temperatur	Dauer
Initiale Denaturierung	96°C	3 min
25 Zyklen:		
Denaturierung	96°C	30 s
Annealing	51°C	15 s
Elongation	60°C	4 min
Aufbewahrung	15°C	

Der Ansatz wurde nach der Fällung mit 100% Ethanol und 3 M Natriumacetat aufgereinigt, in 10 µl Formamid aufgenommen und im ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer analysiert. Die Reaktionsprodukte wurden im elektrischen Feld in einer Matrix getrennt. Kurze DNA-Stränge migrieren schneller in Richtung der positiv geladenen Elektrode und werden am Ende von einem Laser erfasst. Der Laser regt die Farbstoffe zur Emission fluoreszenter Strahlung an, die schließlich von einem Detektor erfasst und in elektrische Signale umgewandelt werden. Die Software des angeschlossenen Computers rechnet aus der Wellenlänge der detektierten Signale auf die jeweils eingebaute Base zurück. So entsteht letztlich ein Sequenzmuster als Elektropherogramm, das eine zur ursprünglich sequenzierten Matrize komplementäre Basenabfolge zeigt. Die Elektropherogramme der Sequenzierungen wurden mit Hilfe der Software Staden Package Version 1.6.0 analysiert und mit der NCBI-Software BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) mit dem menschlichen Genom verglichen, um die Lokalisation der Klone im Genom festzustellen.

4.4 Extraktion und Analyse von RNA

4.4.1 RNA Extraktion

Die Extraktion der RNA aus Blut wurde mittels AllPrep DNA/RNA Mini Kit von Qiagen nach Anleitung des Herstellers durchgeführt.

Die Extraktion der RNA aus Zelllinien erfolgte mit dem RNeasy[®] Mini Kit nach einem modifizierten Protokoll. Hierfür wurden $1-5 \times 10^6$ Zellen nach Abzentrifugieren bei 900 rpm zunächst in 1 ml Trizol[®] resuspendiert, je nach Notwendigkeit bei -80°C gelagert und 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Zugabe von 200 µl Chloroform und Vermischen durch kräftiges Schütteln wurden die Proben 15 min bei 12000 rpm und 4°C zentrifugiert. Die wässrige obere Phase wurde in ein neues Eppendorfgefäß überführt und mit dem gleichen Volumen 100% Ethanol vermischt. Danach wurde weiter nach dem Protokoll des Herstellers

verfahren und die Proben auf die im Kit enthaltenen Zentrifugationssäulen geladen (Schritt 5 im Protokoll).

Die isolierte RNA wurde im letzten Schritt mit 30 µl RNase-freiem Wasser eluiert.

Konzentration und Qualität wurden mit Hilfe des RNA 6000 Nano LabChip®Kits und des Agilent 2100 Bioanalyzers oder des Nanodrop® ND-1000 Spektrometers bestimmt.

4.4.2 Qualitative und quantitative Analyse von RNA mit dem RNA 6000 Nano LabChip®Kit und Agilent 2100 Bioanalyzer

Diese Methode basiert auf dem Prinzip der Kapillarelektrophorese und ermöglicht die Bestimmung der Qualität und Konzentration von RNA. Hierbei wird die RNA auf einen mit Gel geladenen Chip aufgetragen, mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert und in einem elektrischen Feld ihrer Fragmentgröße nach aufgetrennt. Die Fluoreszenz wird mittels eines Detektors registriert, worauf man aus Fluoreszenzintensität und Laufzeiten auf die Menge an RNA einer bestimmten Größe in einer Probe schließen kann.

Hierfür wird der im Kit enthaltene Nano LabChip® zunächst nach Protokoll des Herstellers mit Gel-Farbstoff-Mix geladen und durch Druck in allen Vertiefungen verteilt. Nach Pipettieren des RNA 6000 Nano Markers wird jeweils 1 µl der hitzedenaturierten RNA und ein Größenmarker hinzugefügt und durch Vortexen vermischt. Danach erfolgt die Auswertung mit dem Agilent 2100 Bioanalyzer.

Die Software erstellt für jede Probe ein Elektropherogramm und errechnet die sog. RNA *Integrity Number* (RIN) aus dem Mengenverhältnis der 18S- und 28S-RNA, das sich aus dem Integral des entsprechenden Peaks ergibt. Dieses sollte zwischen 2,1 und 2,7 liegen. Anhand der RIN kann die RNA-Integrität auf einer Skala von 1 bis 10 beurteilt werden: 10 entspricht vollständig intakter RNA, ein Wert von 1 entspricht komplett degradiertes RNA. Die Konzentration der Probe wird anhand des Vergleichs mit dem RNA 6000 Nano Marker ermittelt.

4.4.3 Reverse Transkription (RT)

Bei der RT-Reaktion wird mRNA durch das Enzym Reverse Transkriptase in cDNA (*complementary DNA*) umgeschrieben, die dann in eine quantitative Real-Time-PCR eingesetzt werden kann.

Hierfür wurde folgender Ansatz verwendet:

Ansatz und Programm	
Reagenz	Menge
RNA	1 µg
5x First strand buffer	2 µl
DNase	1 µl
mit H₂O auf 11 µl auffüllen	
20 min bei Raumtemperatur stehen lassen	

nach Inkubationszeit:	
EDTA 25 mM	1 µl
Oligo (dT)₂₀ Primer 300 ng/µl	1 µl
dNTPs (10 mM)	1 µl
10 min bei 65°C, dann 10 min bei 25°C	
5x First strand buffer	2 µl
DTT (0,1M)	2 µl
H₂O	1 µl
2 min bei 42°C	
Superscript II (200U/µl)	1 µl
T4 Gene 32 Protein 2 mg/ml	0,2 µl
50 min bei 42°C, dann 10 min bei 95°C; bei 4°C aufbewahren	

4.4.4 Quantitative Real-Time-PCR

Die quantitative Real-Time-PCR ermöglicht die Messung und Quantifizierung der Expression ausgewählter Gene auf mRNA-Ebene.

Primer Design

Die Primer für die jeweiligen Gene wurden nach folgenden Kriterien ausgewählt:

- Produktlänge 100-150 bp
- Annealing-Temperatur ca. 60°C für beide Primer
- lokalisiert auf 2 verschiedenen Exons, mit dazwischenliegendem Intron von mind. 1000 bp Länge (um Amplifikation von genomischer DNA zu verhindern)
- maximale Länge der Primer 28 bp
- keine Selbst-Komplementarität

Hierzu wurde das Programm Primer3 verwendet.

Nach Erstellen der Primer-Sequenz wurde diese mit Hilfe von BLAST mit dem humanen Transkriptom verglichen, um die Spezifität der Primer zu garantieren.

Die Synthese erfolgte durch die Firma MWG, Ebersberg.

Durchführung

Diese Methode basiert auf der Verwendung von SYBR[®] Green, einem Farbstoff, der in doppelsträngige DNA interkaliert. Ungebundenes SYBR[®] Green emittiert nur ein sehr schwaches Fluoreszenzsignal. Erst wenn sich während der PCR-Reaktion doppelsträngige cDNA-Moleküle bilden, lagert sich SYBR[®] Green in die DNA ein. Der DNA-Farbstoff-Komplex absorbiert Licht im blauen Bereich ($\lambda_{\max}=488$ nm) und emittiert grünes Licht ($\lambda_{\max}=522$ nm). Die Gesamt-Fluoreszenz erhöht sich proportional zur Konzentration doppelsträngiger DNA und wird am Ende jedes PCR-Zyklus gemessen. Dadurch kann die Menge des entstandenen PCR-Produkts quantifiziert werden. Am Ende der Reaktion wird zusätzlich eine Schmelzkurve des Endprodukts erstellt.

Ansatz	
Reagenz	Menge
SYBR® Green Mix	6 µl
forward Primer 100 µM	0,01 µl
reverse Primer 100 µM	0,01 µl
H₂O	3,98 µl
cDNA (Template)	2 µl

Der SYBR® Green Mix enthält Reaktionspuffer, Thermo-Start™ DNA-Polymerase (eine chemisch modifizierte Thermoprime Plus DNA-Polymerase, die inaktiv ist bis sie durch hohe Temperatur aktiviert wird) und dNTPs.

Für die relative Quantifizierung wird eine Verdünnungsreihe für jedes gemessene Gen pipettiert (cDNA im Verhältnis 1:1, 1:2, 1:8, 1:32, 1:64), aus der dann eine Standardkurve errechnet werden kann. Zusätzlich zum Zielgen werden Haushaltsgene für die spätere Normalisierung gemessen. Alle Proben werden in Duplikaten gemessen.

Programm		
Schritt	Temperatur	Dauer
Initialer Schritt	50°C	2 min
DNA-Polymerase-Aktivierung	95°C	15 min
45 Zyklen:		
Denaturierung	95°C	15 s
Annealing	60°C	1 min
Messung der Schmelzkurve		
	95°C	15 s
	60°C	15 s
	95°C	15 s

Analyse

Die quantitative Bestimmung der Genexpression basiert auf der Bestimmung des sog. Ct-Werts (*threshold cycle*). Dieser entspricht der Anzahl der Zyklen bis die Fluoreszenz einen bestimmten Schwellenwert erreicht, der über der Hintergrund-Fluoreszenz liegt. Dies entspricht wiederum einer bestimmten Menge an akkumuliertem PCR-Produkt. Das Software-Programm SDS 2.2.2™ errechnet den Ct-Wert automatisch für jede Probe (durch Auftragen der Zykluszahl gegen die Fluoreszenz im Amplifikationsplot). Dieser Wert ist proportional zur eingesetzten cDNA-Menge. Für die relative Quantifizierung wird eine Standardkurve erstellt: der Logarithmus der eingesetzten cDNA-Menge der Verdünnungsreihe wird gegen den jeweiligen Ct-Wert aufgetragen und so eine lineare Regressionskurve gebildet.

Anhand dieser ist es möglich, vom gemessenen Ct-Wert der Probe auf die enthaltene Menge an cDNA zu schließen, indem die Amplifikationseffizienz ϵ (Gleichung 1) berechnet wird. Da die Effizienz direkt mit der eingesetzten cDNA-Menge korreliert (Gleichung 2), kann diese zum Vergleich verschiedener Proben herangezogen werden.

Gleichung 1: $\epsilon = 10^{(-1/\text{Steigung})}$; Gleichung 2: $N_{CT} = N_0 \times \epsilon^{CT}$

Um experimentelle Variation zu kompensieren (z.B. Ungenauigkeiten in der eingesetzten RNA Menge), wird die Expression des Zielgens auf zwei bis vier Haushaltsgene normalisiert, indem das Verhältnis zwischen der cDNA-Menge des Gens und dem Durchschnittswert der cDNA-Menge der Haushaltsgene nach folgender Gleichung gebildet wird:

Verhältnis = ϵ Zielgen / ϵ (Mittelwert Haushaltsgene).

Diese Normalisierung basiert auf der Annahme, dass sich die Expression bestimmter Gene durch die Versuchsbedingungen nicht verändert. Diese Gene werden je nach verwendetem Zellsystem und Versuchsansatz gewählt. Hier wurden die Haushaltsgene PGK1, DCTN2, LaminB1 und GAPDH verwendet.

4.4.5 Genomweite Expressionsanalyse (Illumina®)

Die genomweite Analyse des Expressionsprofils ist ein Verfahren, um die Expression möglichst vieler Gene gleichzeitig zu untersuchen. Hier wurde der Sentrix HumanWG-6 v2.0 Bead Chip der Illumina® Plattform genutzt. Dieser enthält Sonden von über 24.500 Genen der NCBI Reference Sequence Datenbank. Bei dieser Methode werden, im Gegensatz zur aPRIMES-Plattform, die Proben lediglich mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert und so die relative Expression der Gene zueinander gemessen. Die Präparation der RNA erfolgte wie oben beschrieben. Die cDNA-Synthese und Hybridisierung wurden von der Zentralen Einheit für Genom und Proteom des DKFZ nach Protokoll des Herstellers (Illumina®) durchgeführt. Die Qualitätskontrolle, Normalisierung und Auswertung erfolgte wiederum mit ChipYard®, für die Annotation der Sonden auf dem Chip zu den entsprechenden Genen wurde die Datenbank PIMS® verwendet.

4.5 Software und Programme

4.5.1 ChipYard®

Für die Qualitätskontrolle, Auswertung und Normalisierung von Arrays wurde die in der Abteilung für Molekulare Genetik entwickelte Plattform ChipYard® (www.dkfz.de/genetics/ChipYard) verwendet, die auf den Programmiersprachen R und PHP basiert.

Die mit dem Programm GenePix Pro 6.1 manuell überarbeiteten Scannerdaten werden vom Programm in Textform gespeichert (als log₂-Quotient der Intensitäten von Cy3 über Cy5) und in ChipYard® hochgeladen.

Diese ermöglicht die Archivierung, Verarbeitung und Analyse großer Datenmengen wie z.B. Mikroarray-Daten. Sie enthält eine Datenbank, in der experimentelle Ergebnisse, Patientendaten und Verarbeitungsschritte verknüpft werden.

4.5.1.1 aPRIMES

Zur Qualitätskontrolle werden die Rohdaten zunächst nach folgenden Kriterien beurteilt (Grenzwerte in Klammern):

1. minimalem Signalwert (500)
2. dem Quotienten zwischen Intensität des Spots und lokalem Hintergrund ($> 1,5$), um Signale von unspezifisch an die Arrayoberfläche gebundenen Molekülen zu kompensieren
3. dem Quotienten zwischen mittlerer und medianer Intensität des Spots (≤ 3) zur Evaluierung der Homogenität
4. der Standardabweichung zwischen den Replikaten (≤ 0.2), um die Konsistenz der Werte zu überprüfen

Spots, die den Qualitätskriterien nicht entsprachen, wurden automatisch von der weiteren Analyse ausgeschlossen (durch Kennzeichnung mit NA=*not available*). Desweiteren wurden Klone, die in technischen Replikaten eine sehr hohe Varianz aufwiesen, nicht für die Analyse verwendet.

Danach erfolgte die globale Normalisierung der Daten (Smyth und Speed 2003):

1. um Spotting- und positionsbedingte Unterschiede zu eliminieren wurde zunächst die Normalisierungsmethode *plate* angewandt (*plate - normalization for printorder effects*)
 2. in einem zweiten Schritt wurde jeder Array separat mit der Methode *print-tip loess* normalisiert, um die log₂-Verhältnisse innerhalb des Arrays zu normalisieren (*within-array normalization*)
 3. um zwischen den Arrays zu normalisieren (*between-array normalization*), also die verschiedenen Experimente vergleichbar zu machen, wurde die Methode *scale* verwendet
- Die Ergebnisse wurden in eine Excel-Tabelle exportiert und im Verhältnis Cy3/Cy5 dargestellt, dies entspricht dem Verhältnis unmethyliert/methyliert.

4.5.1.2 arrayCGH

Zur Qualitätskontrolle werden die Rohdaten zunächst nach folgenden Kriterien beurteilt (Grenzwerte in Klammern):

1. minimalem Signalwert (3000)
2. dem Quotienten zwischen Intensität des Spots und lokalem Hintergrund ($> 1,5$), um Signale von unspezifisch an die Arrayoberfläche gebundenen Molekülen zu kompensieren
3. dem Quotienten zwischen mittlerer und medianer Intensität des Spots (≤ 3) zur Evaluierung der Homogenität
4. der Standardabweichung zwischen den Replikaten ($\leq 0,2$),

um die Konsistenz der Werte zu überprüfen

Die Normalisierung erfolgte für jeden Array separat (*within-array normalization*) nach der Methode *print-tip loess* (Smyth und Speed 2003). Die Daten wurden in Excel exportiert und das Tumorprofil anhand des Quotienten Cy3-Intensität(Tumor)/Cy5-Intensität(Kontrolle) in einer Graphik dargestellt.

4.5.2 PIMS[®]

Datenbank, die Klonsequenzen und die entsprechenden Annotationen (Lokalisation im Genom, Geninformationen) aus der Ensembl-Datenbank enthält.

4.5.3 „Basic Local Alignment Search Tool“ (BLAST)

BLAST (Altschul *et al.*, 1990) ist eine Software zur Analyse biologischer Sequenzdaten, die den Vergleich von experimentell ermittelten Sequenzdaten mit bereits vorhandenen Sequenzen einer Datenbank ermöglicht.

Die Informationen über Gensequenzen wurden der Webseite des National Center of Biotechnology Information (NCBI) der National Library of Medicine (NLM), Bethesda, USA, entnommen (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Die Informationen über die Funktion etc. der Gene wurden der Datenbank OMIM (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) entnommen.

4.5.4 „Significance Analysis of Microarrays“ (SAM)

SAM (Significance Analysis of Microarrays) ist eine statistische Methode um signifikante Gene in einer Reihe von Mikroarray-Experimenten zu identifizieren. Sie wurde von Tusher, Tibshirani und Chu entwickelt (Tusher *et al.*, 2001). Die Software wurde von Balasubramanian Narasimhan und Robert Tibshirani geschrieben. Für die Analyse werden Genexpressionsdaten o.ä. von Mikroarray-Experimenten mit einer bestimmten Variablen (*response variable*) verwendet. Diese Variable kann z.B. eine Gruppierung nach behandelt/nicht-behandelt, Tumortyp oder Prognose sein. Der Parameter *paired* wird gewählt, wenn es sich um die gleichen Patienten z.B. vor und nach einer Behandlung handelt, *unpaired* wenn es zwei verschiedene Patientengruppen sind. SAM errechnet einen statistischen Wert d_i für jedes Gen i , indem es die Korrelation zwischen Genexpression und der *response variable* misst. Es führt wiederholte Permutationen der Daten durch, um festzustellen, ob die Expression bestimmter Gene signifikant mit der *response variable* zusammenhängt.

Der Grenzwert für die Signifikanz wird durch den *tuning parameter* delta bestimmt, der vom Benutzer basierend auf der *false discovery rate* (FDR) gewählt werden kann. Die FDR entspricht der statistisch zu erwartenden Anzahl von falsch-positiven Genen in einer Analyse.

Für die Analyse der aPRIMES-Methylierungsarrays wurden 100 Permutationen und der Parameter *unpaired* verwendet.

4.5.5 „Predictive Analysis of Microarrays“ (PAM)

Das Ziel dieser Methode ist es, Patienten oder andere Proben basierend auf z.B. Genexpressionsdaten zu klassifizieren. Das Programm gruppiert ähnliche Expressionsmuster und verwendet hierfür die „*nearest shrunken centroid*“ Clustermethode (Tibshirani *et al.*, 2002). Nach Einteilung der Patienten nach patientenrelevanten Informationen, wie z.B. Prognose, bestimmt das Programm die Signifikanz dieser Klassifizierung mittels *false discovery rate* (FDR). Diese entspricht der statistisch zu erwartenden Anzahl von falsch-positiven Genen in einer Analyse. Das Programm identifiziert dann die kleinste Anzahl an Genen (Set), die notwendig ist, um einen Patienten unbekannter Herkunft in eine der vorher festgelegten Gruppen zu klassifizieren und ermittelt einen *misclassification error*, der angibt, wieviel Prozent der Patienten mit den verwendeten Klassifizierungskriterien falsch klassifiziert werden würden.

4.5.6 Student's t-test

Der Student's t-test ist ein statistischer Hypothesentest auf der Basis der Studentischen t-Verteilung, einer Wahrscheinlichkeitsverteilung, die 1908 von William Sealey Gosset entwickelt wurde.

Unter bestimmten Bedingungen ist der standardisierte Mittelwert normalverteilter Daten nicht mehr normalverteilt, sondern t-verteilt. Dies ist der Fall, wenn die zur Standardisierung des Mittelwerts benötigte Varianz des Merkmals unbekannt ist und mit der Stichprobenvarianz geschätzt werden muss. Die t-Verteilung zeigt für kleine Werte des Parameters n eine größere Breite und Flankenbetonung als die Normalverteilung. Hypothesentests, bei denen die t-Verteilung Verwendung findet, bezeichnet man als t-Tests. Die Signifikanz des Ergebnisses wird als p-Wert angegeben. Der **p-Wert** (auch Überschreitungswahrscheinlichkeit, Signifikanzwert, engl. *p-value* von *probability*) ist eine Kennzahl zur Auswertung von statistischen Tests. Je kleiner der p-Wert, desto signifikanter ist das Ergebnis. Hier wurde ein Grenzwert von 5% - also ein p-Wert von 0,05 - festgelegt.

5 Ergebnisse

Epigenetische Veränderungen können zur Entstehung und Progression von Krebs beitragen. Um neue Erkenntnisse über tumorspezifische DNA-Methylierungsmuster und deren Zusammenhang mit der Entstehung der Chronischen Lymphatischen Leukämie (CLL) und des Medulloblastoms zu erlangen, wurden in der vorliegenden Arbeit die DNA-Methylierung und damit verbundene Veränderungen der Genexpression bei CLL-Patienten und in einem Medulloblastom-Mausmodell untersucht. Hierdurch sollte die mögliche Rolle einzelner Gene bei der Entstehung der Krankheit erforscht werden. Desweiteren sollte die Untersuchung Aufschluss über epigenetische Veränderungen geben, die zu der Variabilität in Prognose und Aggressivität der Tumoren innerhalb einer Entität führen könnten.

5.1 Untersuchung der DNA-Methylierungsmuster in der Chronischen Lymphatischen Leukämie und ihren prognostischen Subgruppen

Es ist bekannt, dass sich CLL-Patienten nach bestimmten karyotypischen Veränderungen in prognostische Subgruppen kategorisieren lassen (Döhner *et al.*, 2000). Um in der vorliegenden Studie ein breites Spektrum an Patienten abzudecken, wurden diese basierend auf Karyotypen und IgVH-Status von sehr schlechter Prognose bis indolentem Verlauf ausgewählt und mittels aPRIMES, einer Methode zur genomweiten DNA-Methylierungsanalyse, untersucht. aPRIMES ist für diese Untersuchung die am besten geeignete Methode, da genomische Imbalancen das Ergebnis nicht verfälschen und so alle Patientengruppen direkt untereinander und mit der Kontrolle verglichen werden können. Die folgenden Subgruppen wurden ausgewählt: Patienten mit 17p-Deletion und unmutiertem IgVH-Status (im Folgenden als 17p- bezeichnet), Patienten mit 11q-Deletion und ebenfalls unmutiertem IgVH-Status (im Folgenden als 11q- bezeichnet). Desweiteren zwei Gruppen mit besserer Prognose, Patienten mit normalem Karyotyp und mutiertem IgVH-Status so wie Patienten mit der häufigsten Aberration, der 13q-Deletion, unabhängig vom IgVH-Status (im Folgenden als 13q- bezeichnet); (Tab. 5.1).

Die Expression der Gene, die zwischen den Kontrollen und den CLL-Patienten differenziell methyliert waren, wurde mittels genomweiter Expressionsanalyse gemessen, um die Auswirkungen der tumorspezifischen Methylierung auf die Genexpression zu untersuchen. Ausgewählte Kandidatengene wurden einer funktionellen Analyse unterzogen, um herauszufinden, inwiefern diese in CLL-Pathogenese involviert sein könnten. Ein weiterer Schwerpunkt war der Vergleich zwischen Patientengruppen mit unterschiedlicher Prognose und der mögliche Einfluss der DNA-Methylierung und Genexpression auf diese Variabilität.

5.1.1 Methylierungsanalyse mittels aPRIMES

Es wurden insgesamt 39 Patientenproben vier verschiedener prognostischer Subgruppen und zehn Proben aus peripherem Blut gesunder Probanden mittels aPRIMES untersucht (Abb. 5.1). Proben von 32 Patienten und neun Kontrollproben entsprachen den in Methoden (Kap. 4.5.1.1) beschriebenen Qualitätskriterien und wurden für die weitere Analyse verwendet (Tab. 5.1).

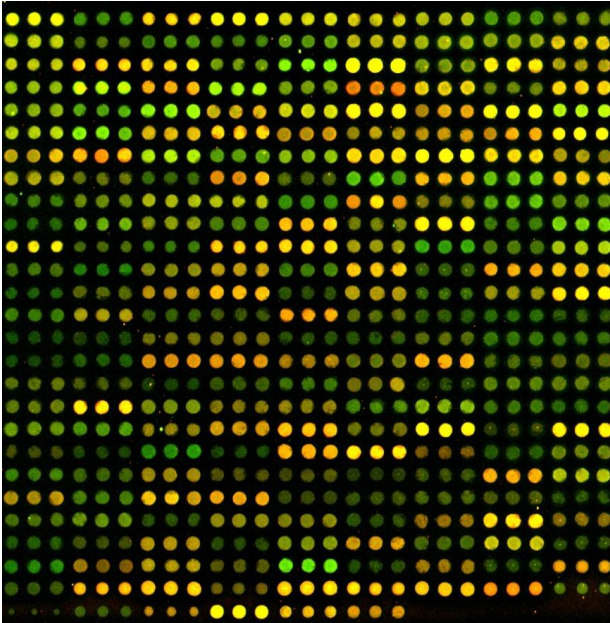


Abbildung 5.1 aPRIMES eines Patienten mit 17p-Deletion

Die Abbildung zeigt einen Ausschnitt eines aPRIMES-Arrays (Patient 17-4). Zu sehen sind die auf den genomischen Klonen hybridisierten, fluoreszenzmarkierten Probenfragmente. Grüne Spots zeigen unmethylierte CpG-Islands an, gelbe Spots allelisch oder partiell methylierte und rote Spots methylierte CpG-Islands.

Tabelle 5.1 Patientenproben und Kontrollen für die Methylierungsanalyse

Karyotyp	IgVH Status	Prognose [Monate Überleben ab Diagnose]	% der Patienten	Anzahl Proben
17p-Deletion	unmutiert	32	7%	9
11q-Deletion	unmutiert	79	17%	7
normaler Karyotyp	mutiert	111	18%	7
13q-Deletion	gemischt	133	36%	9
Kontrolle	-	-	-	9

Die gesunden Probanden wurden dem Alter der Patienten entsprechend ausgewählt und die aus dem Blut separierte Lymphozytenfraktion mit dem B-Zellantikörper CD19 sortiert, um einen ähnlichen Prozentsatz an B-Zellen wie im Blut von CLL-Erkrankten zu erreichen. Bei Patientenproben wurde lediglich die Lymphozytenfraktion separiert, da diese krankheitsbedingt einen so hohen prozentualen Anteil an B-Zellen bzw. leukämischen B-Zellen enthält, dass eine Isolierung nicht notwendig ist.

Die Proben wurden wie in Methoden (Kap. 4.3.4) beschrieben behandelt und auf Mikroarrays hybridisiert, die mit CpG-reichen Sequenzen angereicherte genomische DNA-Klone enthielten. Nach Erfassen der Fluoreszenzintensitäten wurden die Daten mit der hausintern entwickelten Software ChipYard[®] auf ihre Qualität hin geprüft und normalisiert.

In allen Patienten wurden Veränderungen der DNA-Methylierung gegenüber den Kontrollen gefunden. Die Ergebnisse wurden mit verschiedenen bioinformatischen Methoden ausgewertet.

5.1.2 Untersuchung der Klassifizierbarkeit der genetischen Subgruppen mittels *Predictive Analysis of Microarrays*

Um die Klassifizierbarkeit nach genetischen Subgruppen und die Homogenität innerhalb der Gruppen bezüglich des Methylierungsmusters zu ermitteln, wurde eine Analyse mittels *Predictive Analysis of Microarrays* (PAM; Tibshirani *et al.*, 2002) durchgeführt. PAM ist eine Methode, um Patienten basierend auf z.B. Genexpressionsdaten zu klassifizieren. Das Programm gruppiert ähnliche Expressionsmuster und verwendet hierfür die *nearest shrunken centroid* Clustermethode (Tibshirani *et al.*, 2002). Patienten werden nach patientenrelevanten Informationen wie z.B. der Prognose eingeteilt, und das Programm bestimmt die Signifikanz dieser Klassifizierung mittels *false discovery rate* (FDR). Diese entspricht der statistisch zu erwartenden Anzahl von falsch-positiven Genen in einer Analyse. Das Programm identifiziert dann die kleinste Anzahl an Genen bzw. Klonen (Set), die notwendig ist, um einen Patienten unbekannter Herkunft in eine der vorher festgelegten Gruppen zu klassifizieren und ermittelt einen *misclassification error*, der angibt, wieviel Prozent der Patienten mit den verwendeten Klassifizierungskriterien falsch klassifiziert werden würden.

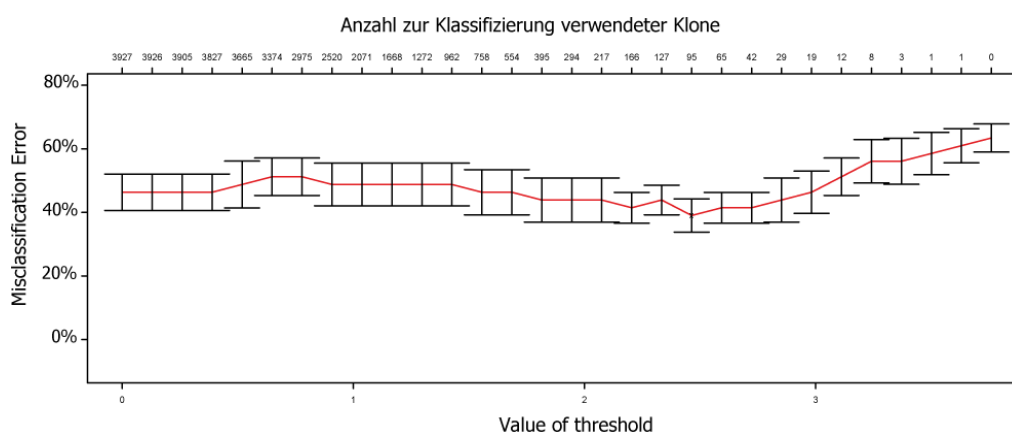


Abbildung 5.2 PAM Analyse aller 5 Patientengruppen

Auf der y-Achse ist der *misclassification error* aufgetragen, auf der x-Achse (oben) die für die Klassifizierung verwendete Anzahl von Klonen (Set). Auf der x-Achse (unten) ist der *Value of threshold* aufgetragen, ein Grenzwert, der vom Benutzer für die Klassifizierung definiert wird, gewählt nach kleinstmöglichem *misclassification error*.

Die Analyse aller Gruppen zeigte zunächst einen sehr hohen misclassification error von über 40%, unabhängig von der Anzahl der zur Klassifizierung verwendeten Klone (Abb. 5.2). Das bedeutet, dass die Patienten nicht gut nach ihrem Methylierungsmuster klassifiziert werden können. Wurden die Gruppen einzeln betrachtet (Abb. 5.3), ließ sich jedoch erkennen, dass dies in erster Linie durch zwei der Subgruppen verursacht wurde, die 11q-Gruppe und die Gruppe mit normalem Karyotyp.

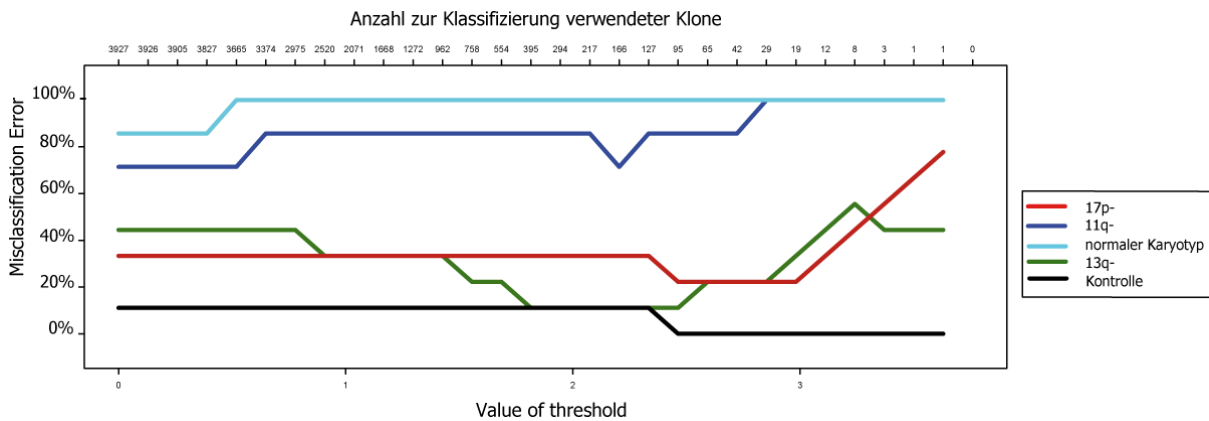


Abbildung 5.3 PAM Analyse aller 5 Patientengruppen: separate Darstellung der Gruppen
Auf der y-Achse ist der *misclassification error* aufgetragen, auf der x-Achse (oben) die für die Klassifizierung verwendete Anzahl von Klonen (Set). Je geringer der *misclassification error* desto besser ist die jeweilige Gruppe klassifizierbar. Auf der x-Achse (unten) ist der *Value of threshold* aufgetragen, ein Grenzwert, der vom Benutzer für die Klassifizierung definiert wird, gewählt nach kleinstmöglichem *misclassification error*.

Diese zwei Gruppen wiesen einen hohen *misclassification error* von 80% für 11q- und 100% für die Gruppe mit normalem Karyotyp auf. Dies bedeutet, dass 80% bzw. 100% der Patienten dieser Gruppen in eine falsche Gruppe klassifiziert würden, verursacht durch ein heterogenes Methylierungsmuster. Die Subgruppen 13q- und 17p- und die Kontrollgruppe dagegen hatten ein homogenes, für die jeweilige Gruppe spezifisches Methylierungsmuster, erkennbar an einem deutlich geringeren *misclassification error* zwischen 10 und 25% (Abb. 5.3). Daher wurde eine erneute PAM-Analyse durchgeführt, bei der ausschließlich die Gruppen 13q-, 17p- und Kontrollen verwendet wurden (Abb. 5.4). Hier ist der durchschnittliche *misclassification error* mit ca. 20% deutlich niedriger und damit akzeptabel.

Mit diesen Gruppen ist der Vergleich zwischen Gesunden und jeweils einer Gruppe mit guter Prognose (13q-) und schlechter Prognose (17p-) möglich. Die Identifizierung von Kandidatengenen wurde daher mit diesen Gruppen durchgeführt. Die beiden anderen Gruppen wurden nicht weiter bioinformatisch analysiert.

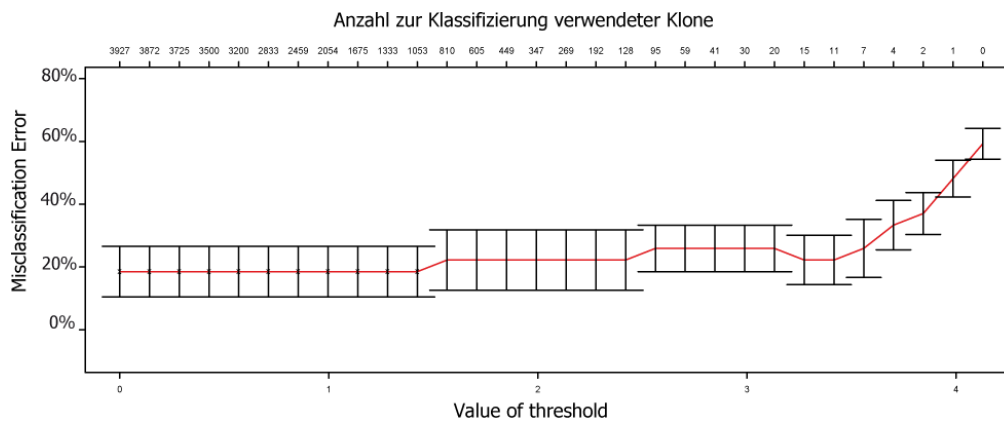


Abbildung 5.4 PAM Analyse der Gruppen 13q-, 17p- und Kontrollen

Auf der y-Achse ist der *misclassification error* aufgetragen, auf der x-Achse (oben) die für die Klassifizierung verwendete Anzahl von Klonen (Set). Auf der x-Achse (unten) ist der *Value of threshold* aufgetragen, ein Grenzwert, der vom Benutzer für die Klassifizierung definiert wird, gewählt nach kleinstmöglichem *misclassification error*.

5.1.3 *Significance Analysis of Microarrays* identifiziert differenziell methylierte CpG-Islands

Zur Identifikation von differenziell methylierten CpG-Islands wurde eine *Significance Analysis of Microarrays* (SAM) durchgeführt (Tusher *et al.*, 2001). Dieses Programm identifiziert CGIs, die innerhalb einer bestimmten Gruppe weniger Varianz aufweisen als zwischen den Gruppen. Zur statistischen Beurteilung wurde die *false discovery rate* (FDR) zugrunde gelegt. Als Grenzwert für die Signifikanz wurde eine FDR von 2,5% ausgewählt, was einer sehr stringenten Auslegung entspricht. Die Daten wurden unter zwei verschiedenen Aspekten betrachtet. Einmal wurden die Veränderungen untersucht, die generell zur Entstehung und Progression von CLL beitragen können, also in allen untersuchten Patienten ähnlich verändert gegenüber den Kontrollen waren; hierfür wurden die Patienten der Gruppen 13q- und 17p- zu einer Gruppe zusammengefasst (im Folgenden als CLL bezeichnet). Exemplarisch ist hier der Vergleich dieser Gruppe mit der Kontrollgruppe mittels SAM gezeigt (Abb. 5.5). Hierbei wurden 515 signifikant differenziell methylierte Klone gefunden, die FDR beträgt 2,37%, was einer theoretisch ermittelten Anzahl von 12,23 falsch-positiven Klonen entspricht. In der Abbildung rot markierte Klone sind im Tumor gegenüber der Kontrolle signifikant hypermethyliert, grün markierte Klone hypomethyliert. Schwarz markierte Klone, die sich innerhalb des von den blauen Geraden gekennzeichneten Bereichs befinden, weisen lediglich eine nicht signifikante Varianz zwischen den verschiedenen Gruppen auf.

Signifikante Klone: 515
 Geschätzte Anzahl falsch positiver Klone (Median): 12,23
 FDR(%): 2,37

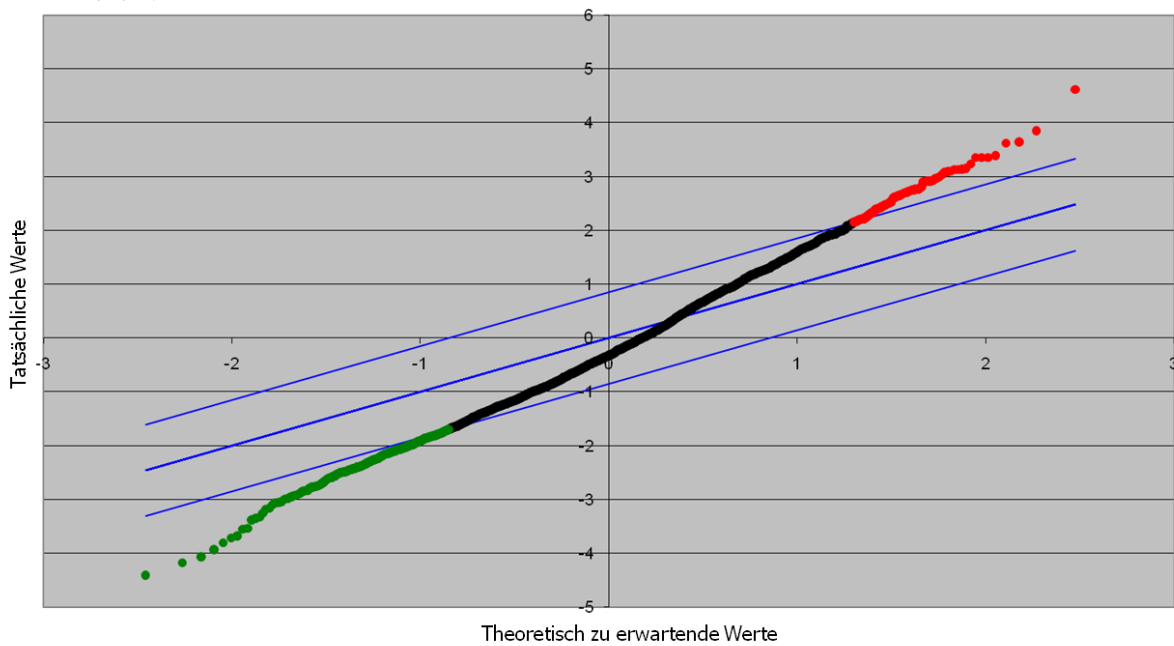


Abbildung 5.5 SAM-Analyse: Vergleich CLL gegen Kontrolle

Auf der x-Achse sind die nach Anwendung der Permutationen zu erwartenden Werte dargestellt, auf der y-Achse die tatsächlich ermittelten Werte; so können signifikant differenziell methylierte Klone identifiziert werden. Rot markierte Klone sind in Patienten signifikant hypermethyliert, grün markierte Klone sind in Patienten im Vergleich zu Kontrollen hypomethyliert. Schwarz markierte Klone innerhalb des Bereichs der blauen Geraden weisen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auf.

Außerdem war es wichtig, Veränderungen in der Methylierung von CpG-Islands zu identifizieren, die spezifisch für eine der Subgruppen waren und die möglicherweise eine Auswirkung auf die unterschiedliche Prognose dieser beiden Patientengruppen haben. Dafür wurden zunächst die beiden Subgruppen einzeln mit den Kontrollen verglichen (Kategorie **A**: Vergleich 13q- gegen Kontrolle und **B**: Vergleich 17p- gegen Kontrolle), um später subgruppenspezifisch methylierte Klone identifizieren zu können.

In Tabelle 5.2 ist eine Übersicht aller Vergleiche dargestellt. Die vollständige Auflistung der differenziell methylierten CGIs befindet sich im Anhang (Anhang 8.1).

Tabelle 5.2 Ergebnisse der SAM-Analyse

Kategorie (s. auch Abb. 5.6)	SAM Vergleich von	Anzahl signifikant differenziell methylierter CpG-Islands	davon hypomethyliert in Tumorprobe	davon hypermethyliert in Tumorprobe
A	13q- und Kontrolle	407	308	99
B	17p- und Kontrolle	979	756	223
C	CLL und Kontrolle	515	411	104

Beim Vergleich von 13q- mit der Kontrollgruppe (Kategorie **A**) ergaben sich 407 signifikant veränderte CGIs, davon waren 308 hypomethyliert und 99 hypermethyliert (Tab. 5.2). Beim Vergleich von 17p- mit der Kontrollgruppe (Kategorie **B**) ergaben sich 979 bezüglich ihres Methylierungsstatus signifikant veränderte CGIs, hiervon waren 756 hypomethyliert und 223 hypermethyliert im Vergleich zur Kontrolle. Beim Vergleich von CLL-Proben und Kontrollen (Kategorie **C**) ergaben sich 515 gemeinsame differenziell methylierte CGIs, davon 411 hypomethyliert und 104 hypermethyliert. In allen Subgruppen ist eine generelle Hypomethylierung zu erkennen. Dies steht im Einklang mit der beschriebenen genomweiten Hypomethylierung der repetitiven Sequenzen in Tumoren, was zu genomischer Instabilität führen kann (Robertson 2005) und damit zur Tumorentstehung beiträgt. Außerdem kann die Demethylierung von Promotor-CGIs die Aktivierung von Onkogenen zur Folge haben (Nakamura *et al.*, 1998). Ein geringerer, aber doch wesentlicher Anteil der CpG-Islands ist hypermethyliert, was zur Repression der Expression assoziierter Gene führen kann. Dies ist ein bekannter Mechanismus zur Ausschaltung von Tumorsuppressorgenen (Jones und Baylin 2002). Vergleicht man die Anzahl differenziell methylierter CpG-Islands in den Kategorien A und B fällt auf, dass in der 17p-deletierten Gruppe - also in der Gruppe mit der schlechteren Prognose - eine größere Anzahl Veränderungen gefunden wurde (n=979) als in der 13q-deletierten Gruppe mit der besseren Prognose (n=407) (Tab. 5.2).

Dieser Vergleich ist aber nicht ausreichend für die Identifizierung von CGIs, die nur in einer der Subgruppen im Vergleich zur Kontrolle differenziell methyliert waren, also subgruppenspezifische Methylierung aufwiesen. Daher wurde eine Schnittmenge gebildet, wie in Abbildung 5.6 gezeigt: hier ist die Schnittmenge der Gruppen **A** (SAM-Vergleich zwischen 13q- und Kontrolle) und **B** (SAM-Vergleich zwischen 17p- und Kontrolle) dargestellt und für die weitere Analyse wurden die Subkategorien **a** (spezifisch differenziell methyliert in 13q-) und **b** (spezifisch differenziell methyliert in 17p-) verwendet (Tab. 5.3). Diese Art des Vergleichs wurde gewählt, da bei einem direkten Vergleich der Subgruppen 13q- und 17p- der Methylierungsstatus der Kontrolle nicht berücksichtigt werden würde.

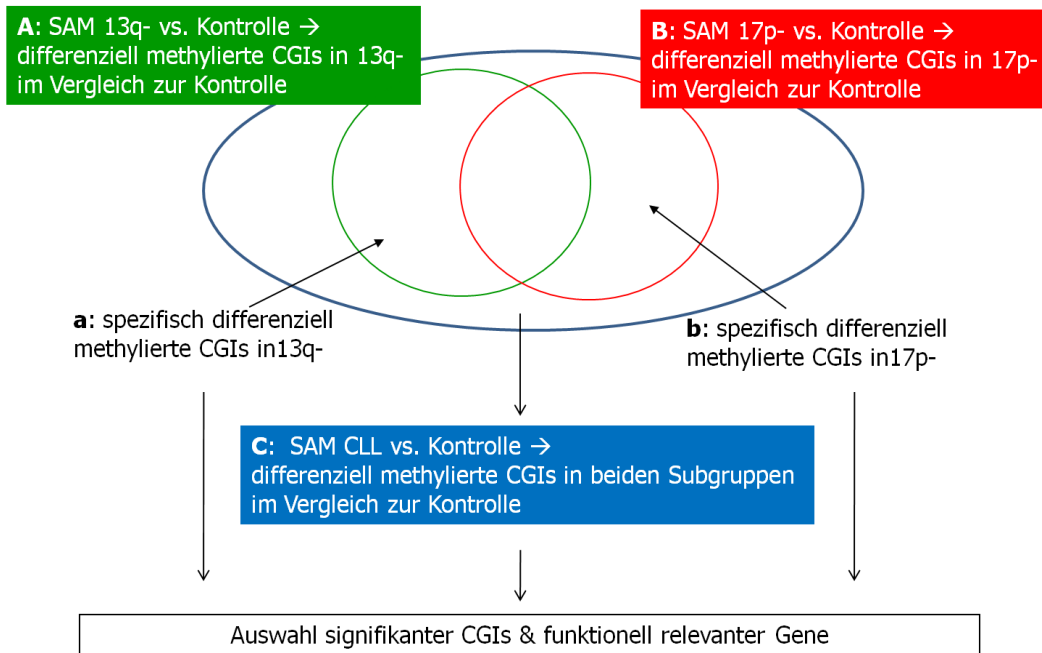


Abbildung 5.6 Identifizierung subgruppenspezifisch methylierter Klone

Tabelle 5.3 Ermittlung subgruppenspezifisch methylierter Klone

Kategorie in Abb. 5.6	Anzahl signifikant differenziell methylierter CpG-Islands	davon hypomethyliert	davon hypermethyliert
a spezifisch für 13q-	225	162	63
b spezifisch für 17p-	797	610	187

5.1.4 Identifizierung von mit differenziell methylierten CpG-Islands assoziierten Genen

Mit Hilfe von PIMS[®], einer abteilungsinternen Datenbank, die die Klonsequenzen und die entsprechenden Annotationen (Lokalisation im Genom, Geninformationen) aus der Ensembl-Datenbank enthält, wurden die Lokalisation der CGIs im Genom und die mit diesen CGIs assoziierten Gene ermittelt. Als assoziierte Gene wurden jene Gene definiert, deren Transkriptionsstart in einer maximalen Distanz von ca. 5kb (*downstream* vom CpG-Island) bzw. 1,5kb (*upstream* vom CpG-Island) liegt.

5.1.4.1 Validierung der Klonidentität durch Sequenzieren

Um die Annotation der als Kandidaten identifizierten Klone und assoziierten Gene zu validieren, wurden Klone ausgewählt und sequenziert. Die Auswahl erfolgte nach Funktion der assoziierten Gene, das heißt es wurden Gene mit krebisrelevanter Funktion wie Zellzyklus- und Apoptoseregulation ausgesucht, bzw. Gene, die schon als Tumorsuppressor- oder Onkogene bekannt waren. Zusätzlich wurden Klone sequenziert, die in den SAM-Analysen als hochsignifikant angezeigt wurden (bestimmt anhand der FDR; FDR=0), für die aber noch keine krebisrelevante Funktion bekannt war. Dies ergab insgesamt eine Anzahl von

96 sequenzierten Klonen. Die Sequenzen wurden mit dem BLAST-Algorithmus (Altschul *et al.*, 1990) mit dem menschlichen Genom verglichen; so konnte die Identität der CGIs festgestellt und mit den Daten in der PIMS-Datenbank abgeglichen werden. Falsch annotierte Klone wurden ein zweites Mal in umgekehrter Richtung sequenziert und bei Übereinstimmung der Ergebnisse beider Sequenzierreaktionen neu annotiert.

62 der sequenzierten Klone waren korrekt annotiert, 14 falsch - diese wurden neuen Positionen im Genom zugeordnet; 20 Klone konnten auch in einer zweiten Sequenzierreaktion nicht zuverlässig sequenziert werden, wahrscheinlich aufgrund des hohen CG-Gehalts. Daraus ergaben sich 76 Klone mit verifizierter Annotation (s. Anhang 8.2). 48 hiervon waren mit Genen assoziiert. Manche der CGIs lagen nahe dem Transkriptionsstart von zwei Genen: eines der Gene lag von der Position der CpG-Islands aus gesehen in Richtung des Plus-Strangs der DNA, ein anderes in Richtung des Minus-Strangs. Daraus ergaben sich 56 Kandidatengene.

5.1.4.2 In CLL differenziell methylierte CpG-Islands sind mit krebssrelevanten Genen assoziiert

Die Hypermethylierung von Promotor-CGIs führt oft zur Repression der Transkription der entsprechenden Gene, während die Demethylierung dieser Sequenzen zu Re-Expression reprimierter Gene führen kann. Von den differenziell methylierten CGIs konnten einige Genen zugeordnet werden, die krebssrelevante Funktionen besitzen (Tab. 5.4 und 5.5).

Tabelle 5.4 Mit hypomethylierten CGIs assoziierte Gene

	CLL (Gruppe C*)	13q-spezifisch (Gruppe a*)	17p-spezifisch (Gruppe b*)
Apoptose	-	-	-
Zellzyklus & Proliferation	CCND1 (CpG005206) RASSF5 (CpG001093) <i>SETD8 (CpG004825)</i>	-	ZBTB32 (CpG008878)
DNA-Reparatur, genomische Stabilität, Replikation	<i>SETD8 (CpG004825)</i>	-	ORC4L (CpG000113)
p53-Inhibitoren	SETD8 (CpG004825)	-	HNRPUL1 (CpG003398)
bekannt aus anderen Entitäten	-	TTYH2 (CpG000369)	GHR (CpG009329) RNF31 (CpG007616) WBP7_H (CpG8878) COX6B2 (CpG008593)
Sonstige	EIF1B (CpG007583)	TRAPPC3 (CpG001600) ITGAV (CpG006019) ARMC2 (CpG000334) MAP7D1 (CpG001600)	PRMT1 (CpG003635) MBD5 (CpG000113) C14ORF122 (CpG000034)

In Klammern sind die Klon-Nummern (CGI-ID) des jeweiligen durch SAM-Analysen ermittelten CpG-Islands angegeben; in einigen Fällen besitzen zwei Klone die selbe Lokalisation, dann sind beide CGI-IDs angegeben; kann ein Gen mehreren Funktionen zugeordnet werden, wird es kursiv geschrieben. * Gruppen s. Abb. 5.6

Tabelle 5.5 Mit hypermethylierten CGI's assoziierte Gene

	CLL (Gruppe C*)	13q-spezifisch (Gruppe a*)	17p-spezifisch (Gruppe b*)
Apoptose	TRIB2 (CpG002115)	-	-
Zellzyklus & Proliferation	MASTL (CpG000105)	-	PA2G4 (CpG010271) JMJD5 (CpG002367)
DNA-Reparatur, genomische Stabilität, Replikation	UBE2I (CpG002172)	MARK1 (CpG000192) NEIL2 (CpG003953) CEP350/CAP350 (CpG007341)	XRCC6 (CpG006227) EME1 (CpG002222) LRR1Q2 (CpG006756) SGOL2 (CpG007817) HIST1H2BJ (CpG002870 und CpG002966) H2A1_HUMAN (CpG002870 und CpG002966)
p53-Aktivatoren/-Stabilisatoren	C17ORF81/DERP6 (CpG005310)	MRPL41 (CpG001296)	-
bekannt aus anderen Entitäten	-	ZIC2 (CpG004308) HOXD3 (CpG004648)	-
Sonstige	C3ORF9/KTELC1 (CpG001282) ZNF215 (CpG001591 und CpG001687) DULLARD (CpG005310)	CBX5/HP1 (CpG002307) HNRNPA1 (CpG002307) ZDHHC6 (CpG002944) VTI1A (CpG002944) ZC3H13 (CpG001003)	CHORDC1 (CpG000716) CCDC52 (CpG4903) EMR2 (CpG002126)

In Klammern sind die Klon-Nummern (CGI-ID) des jeweiligen durch SAM-Analysen ermittelten CpG-Islands angegeben; in einigen Fällen besitzen zwei Klone die selbe Lokalisation, dann sind beide CGI-IDs angegeben; kann ein Gen mehreren Funktionen zugeordnet werden, wird es kursiv geschrieben. * Gruppen s. Abb. 5.6

In häufig deletierten chromosomalen Regionen wurden nicht vermehrt methylierte Klone gefunden, was nach der „two-hit-hypothesis“ von Knudson (Knudson, 1971) zu erwarten gewesen wäre. Auf dem Chromosomenarm 13q war in der 13q-deletierten Subgruppe lediglich ein CGI differenziell methyliert. Dieses war assoziiert mit dem Gen *ZIC2*, das schon im Medulloblastom als häufig hypermethyliert beschrieben wurde (Pfister *et al.*, 2007). Ähnlich verhielt es sich in der Gruppe mit 17p-Deletion; nur zwei der hypermethylierten CGI's in dieser Gruppe lagen auf dem Chromosomenarm 17p.

Einige der Kandidatengene sind ihrerseits an der epigenetischen Regulation beteiligt, wie zum Beispiel H2A1 (Histon), PRMT1 (H4-spezifische Histonmethyltransferase), SETD8 (H4-Lysin-Methyltransferase), JMJD5 (Histon-Lysin-Demethylase) und CBX5/HP1, ein Methyl-Lysin-bindendes Protein, das mit DNMT1 interagiert und so eine Repression der Genexpression verursacht.

5.2 Untersuchung der Genexpression in der CLL und Korrelation mit dem Methylierungsstatus

Um zu analysieren, ob Veränderungen in der Methylierung bei den CLL-Patienten auch mit einer Veränderung der Expression der entsprechenden Gene einhergehen und somit durch Genregulation zur Pathogenese beitragen, wurde mit Patienten- und Kontrollproben der entsprechenden Gruppen ein Mikroarray-basiertes Verfahren zur Expressionsanalyse angewandt und die Expression mit dem Methylierungsstatus verglichen.

5.2.1 Genomweite Expressionsanalyse

Die genomweite Genexpressionsanalyse wurde mit dem HumanWG-6 v2.0 Bead Chip von Illumina[®] durchgeführt. Bei dieser Methode werden, im Gegensatz zur aPRIMES-Plattform, die Proben lediglich mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert und die relative Expression der Gene zueinander gemessen. Die Qualitätskontrolle, Normalisierung und Auswertung erfolgte wiederum mit ChipYard[®], für die Annotation der Sonden auf dem Chip zu den entsprechenden Genen wurde die Datenbank PIMS[®] verwendet. Auch für die Expressionsanalyse wurde die aus dem Blut gesunder Probanden isolierte Lymphozytenfraktion mit dem B-Zellantikörper CD19 sortiert, während die Lymphozyten aus dem Blut der Patienten direkt für die RNA-Extraktion verwendet wurden. Es wurde Blut von insgesamt 16 Patienten und jeweils zwei männlichen und weiblichen gesunden Probanden verwendet; letztere wurden als Pools in unterschiedlicher Zusammensetzung hybridisiert (Tab. 5.6). Zwei der Patientenproben entsprachen nicht den Qualitätskriterien und wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

Tabelle 5.6 Patientenproben und Kontrollen für die Expressionsanalyse

Karyotyp	IgVH Status	Anzahl der Patienten		
		Daten zu Methylierung und Expression	nur Daten zu Expression	insgesamt
17p-Deletion	unmutiert	5	1	6
13q-Deletion	gemischt	2	6	8
Kontrollen (CD19+)	-	-	4	4

5.2.2 Korrelation der Genexpression mit dem Methylierungsstatus und Auswahl der Kandidatengene für die funktionelle Analyse

Für 36 der ursprünglich 56 ausgewählten Kandidatengene konnten sowohl Daten zu Methylierungsstatus als auch Expression gewonnen werden. Für die restlichen 20 Kandidaten waren entweder keine Sonden auf dem Expressionsarray vorhanden oder sie wurden aufgrund von unzureichender Qualität oder geringer Signalintensität von der Analyse ausgeschlossen. Bei 20 dieser 36 Kandidaten korrelierten Methylierungsstatus und Genexpression, das heißt erhöhte Methylierung korrelierte mit verringerter mRNA-Expression

und umgekehrt. Eine Auswahl dieser Gene ist im Folgenden graphisch dargestellt. Ausgewählt wurden diejenigen Kandidatengene mit den größten Veränderungen in der Expression und möglicher krebsrelevanter Funktion.

5.2.2.1 Aberrante Regulation von differenziell methylierten Genen in CLL-Patienten

Die in Abbildung 5.7 dargestellten Gene sind in beiden untersuchten Subgruppen im Vergleich zu den Kontrollen differenziell methyliert und exprimiert¹; das heißt die aberrante Regulation dieser Gene könnte - unabhängig von Subgruppe und Prognose - bei der Pathogenese der CLL eine Rolle spielen.

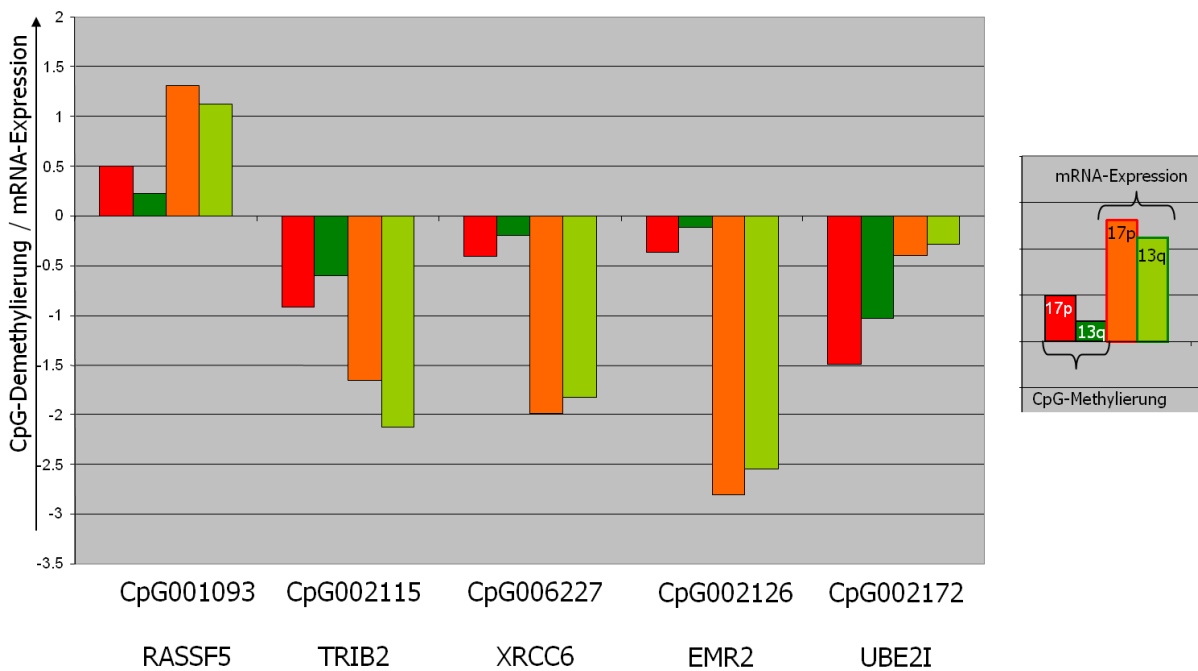


Abbildung 5.7 Expression und Methylierungsstatus ausgewählter Kandidaten
 Die Werte (mediane) der Patienten sind jeweils normalisiert auf die mediane der Kontrollen; auf der y-Achse sind die log₂-Werte dargestellt; je höher der Wert, desto weniger methyliert ist das betreffende CpG-Island und desto höher ist die Expression des entsprechenden Gens. Alle Methylierungsdaten weisen die in der SAM-Analyse festgelegte Signifikanz von FDR < 2,5% auf. Die Expression der dargestellten Gene in den CLL-Patienten unterscheidet sich signifikant von der Genexpression in den Kontrollen (*RASSF5*, *TRIB2*, *XRCC6* und *UBE2I* weisen eine p-Wert von <0,003 auf, *EMR2* einen p-Wert von <0,08).

¹ Anmerkung zur Darstellung von DNA-Methylierung und Expression (Abb. 5.7)
 Da die Methylierungsanalyse eine semiquantitative Methode darstellt, gibt der Wert lediglich Auskunft über die Tendenz bzw. den relativen Methylierungsstatus eines CpG-Islands - also Hypo- oder Hypermethylierung im Vergleich beispielsweise zu einer Kontrolle oder einer anderen Gruppe - nicht über den absoluten Methylierungsstatus. Dargestellt ist der log₂-Quotient von unmethyliert über methyliert, das bedeutet, je geringer der Wert, desto häufiger ist das betreffenden CpG-Island methyliert, und desto geringer die zu erwartenden Expression. Im Falle der Expressionsanalyse wird lediglich die Expression einzelner Gene durch Bestimmung der mRNA-Menge gemessen; der Vergleich mit einer anderen Gruppe wird durch direkten Vergleich der Werte für das jeweilige Gen angestellt. Alle Werte wurden auf die Kontrollen normalisiert, das heißt aus dem log₂-Quotient lässt sich errechnen, um das Wievielfache die Methylierung bzw. Expression im Vergleich zur Kontrolle verändert ist.

In einigen Fällen war ein bestimmtes CpG-Island nur in einer der Subgruppen signifikant methyliert, die Expression war jedoch in beiden Subgruppen reduziert. So war zum Beispiel das mit *XRCC6* assoziierte CpG-Island nur in der Gruppe 17p- signifikant methyliert, während in der 13q-Gruppe nicht alle Patienten ein methyliertes CGI besaßen. Dennoch war im median eine Tendenz zur Methylierung zu erkennen und die Expression von *XRCC6* war in beiden Gruppen reprimiert im Vergleich zu den Kontrollen, möglicherweise durch einen weiteren Mechanismus der Transkriptionsregulation.

RASSF5 (Ras-association domain family protein 5; auch: NORE1), hypomethyliert und überexprimiert in CLL, liegt auf Chromosom 1q32.1, gehört zur Unterfamilie der Ras-Effektoren und besitzt eine Ras-Assoziierungs-Domäne. Es wurde gezeigt, dass *RASSF5* Zellzyklusarrest in der G1- und M-Phase verursachen kann und an der Induktion von Apoptose durch bestimmte Ras-GTPasen beteiligt ist (Feig und Buchsbaum 2002; Khokhlatchev *et al.*, 2002; Avruch *et al.*, 2006).

TRIB2, tribbles homolog 2, ist, aufgrund seiner Involvierung in Apoptoseinduktion und der Sequenzhomologie zu einem NFκB-Inhibitor, einer der interessantesten Kandidaten und wird daher in Kapitel 5.3.1 ausführlicher beschrieben und untersucht.

XRCC6 (X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 6; auch: Ku70) liegt auf Chromosom 22q13.2 und spielt eine wichtige Rolle bei der DNA-Reparatur. Der *Knock-out* dieses Gens verursacht chromosomale Instabilität, beschleunigt nach Behandlung mit Karzinogenen das Tumorwachstum in der Leber von Mäusen (Teoh *et al.*, 2008), und verursacht neoplastische Transformation in Fibroblasten (Li *et al.*, 1998).

EMR2 (EGF-like module-containing, mucin-like, hormone receptor-like 2) ist hypermethyliert und geringer exprimiert in CLL-Patienten als in den Kontrollen. *EMR2* liegt auf Chromosom 19p13.12 und gehört zur Familie der Epidermalen Wachstumsfaktoren (Epidermal growth factor (EGF)-7-transmembrane (TM7) proteins). Diese sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die vor allem auf Monozyten und Neutrophilen gefunden werden (Lin *et al.*, 2000) und eine Rolle in der Differenzierung, Reifung und Aktivierung von Blutzellen der myeloischen Linie spielen (Chang *et al.*, 2007).

Beim Vergleich aller CLL-Patienten mit der Kontrolle mittels SAM wurde das CpG-Island CpG002172 als signifikantestes hypermethyliertes CGI ermittelt (FDR<0,1). Auch beim Einzelvergleich der Subgruppen (13q-, 17p-, 11q- und normaler Karyotyp) mit der Kontrolle wurde es jeweils unter den signifikantesten fünf CGIs gefunden (FDR<0,1). Der Methylierungsstatus dieses CGIs unterscheidet sich in jeder der CLL-Subgruppen signifikant von dem der Kontrollen, wie in Abbildung 5.8 durch einen Wahrscheinlichkeitstest (Student's t-test) gezeigt; der p-Wert beträgt $\leq 0,002$. Das CpG-Island CpG002172 liegt in der Nähe des Transkriptionsstarts von *UBE2I* (Ubiquitin-conjugating enzyme E2I; auch: human homolog of

the yeast UBC9), einem Protein, das als SUMO (small ubiquitin-related modifier)-konjugierendes Enzym an DNA-Reparatur und möglicherweise, wie sein Homolog in *Saccharomyces cerevisiae*, an der Zellzykluskontrolle beteiligt ist (Shen *et al.*, 1996; Shi *et al.*, 2000; Hoege *et al.*, 2002). Jedoch scheint die Expression dieses Gens nicht durch dieses CGI reguliert zu werden, da trotz starker Hypermethylierung nur eine minimale Reduktion der Genexpression zu beobachten ist (Abb. 5.7). Die Hypermethylierung dieses CpG-Islands konnte auch in einem weiteren hämatopoetischen Tumor, dem Mantelzell-Lymphom (MCL), nachgewiesen werden (Abb. 5.9).

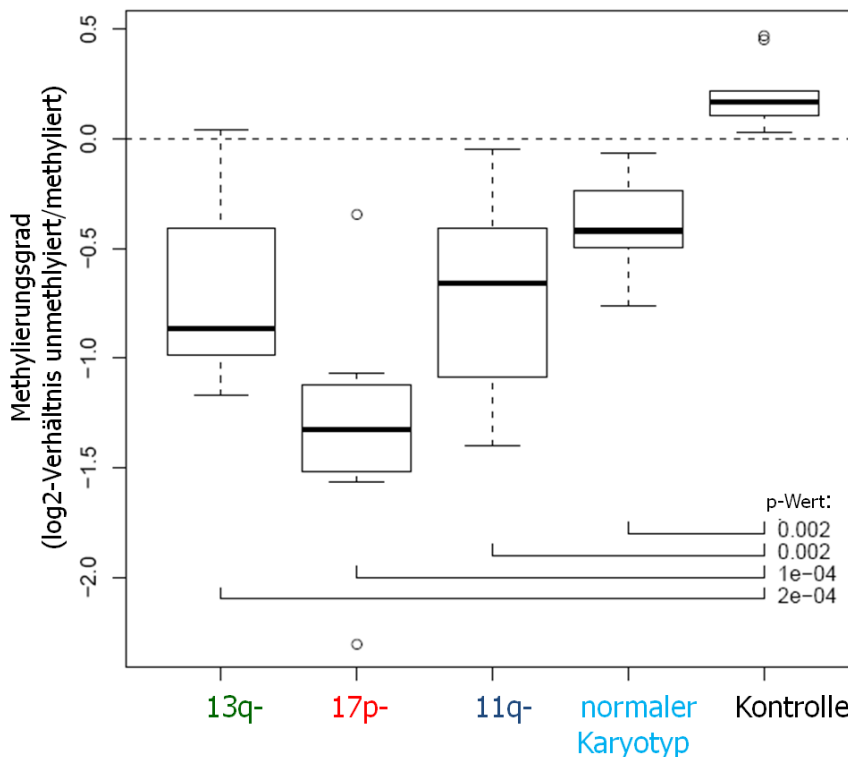


Abbildung 5.8 CpG002172-Methylierungsstatus in den verschiedenen Subgruppen der CLL
 Die Abbildung des Student's t-test zeigt auf der y-Achse den Methylierungsstatus als log2-Verhältnis unmethyliert/methyliert an, auf der x-Achse sind die einzelnen Subgruppen aufgetragen. Das CpG-Island CpG002172 ist in allen CLL-Subgruppen signifikant hypermethyliert ($\leq 0,002$).

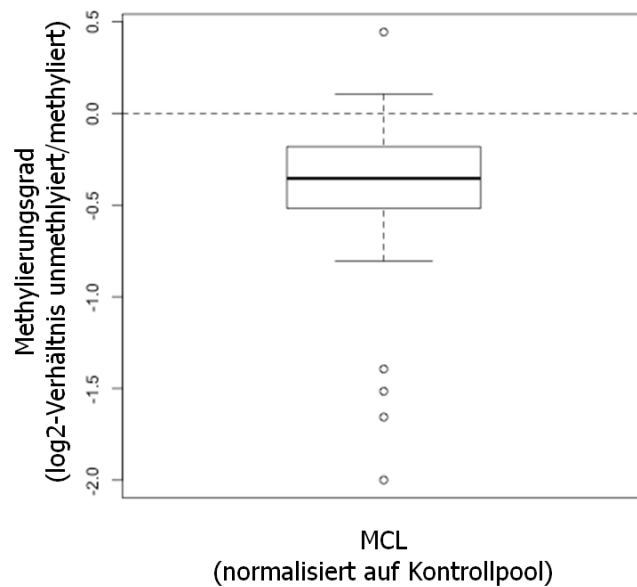


Abbildung 5.9 CpG002172-Methylierungsstatus in MCL-Patienten
 Die Abbildung zeigt den Methylierungsstatus (y-Achse) des CpG-Islands CpG002172 in 29 MCL-Patienten relativ zum entsprechenden Kontrollpool (in Kooperation mit Dr. Christof Schläger). Das CpG-Island CpG002172 ist in den Patienten hypermethyliert.

5.2.2.2 Subgruppenspezifische Veränderungen von DNA-Methylierung und Genexpression

5.2.2.2.1 *ZBTB32* ist subgruppenspezifisch methyliert und exprimiert

Bei der Ermittlung von Kandidatengen, die subgruppenspezifische Methylierung aufweisen (Kapitel 5.1.3, Abb. 5.6), wurde *ZBTB32* (Zinc finger and BTB domain containing 32; auch: FAZF) identifiziert: das entsprechende CGI war spezifisch hypomethyliert in der Patientengruppe mit 17p-Deletion (Tab. 5.4, Gruppe b). Auch die Genexpression wies mit einer 10-fachen Überexpression einen großen Unterschied zwischen 17p-Patienten und Kontrollen auf, wie in Abbildung 5.10 dargestellt.

Das Gen liegt auf Chromosom 19q13.12, gehört zur BTB/POZ-Zinc-Finger-Familie von Transkriptionsfaktoren, die in B-Zell-Differenzierung, Regulierung von DNA-Schäden, Zellzyklusprogression und Entwicklung involviert sind (Kelly und Daniel 2006). Je nach Differenzierungsstadium variiert das Expressionslevel von *ZBTB32* in hämatopoetischen Zellen. Die Überexpression von *ZBTB32* in diesen Zellen kann Arrest in der G1-Phase des Zellzyklus oder Apoptose auslösen (Dai *et al.*, 2002).

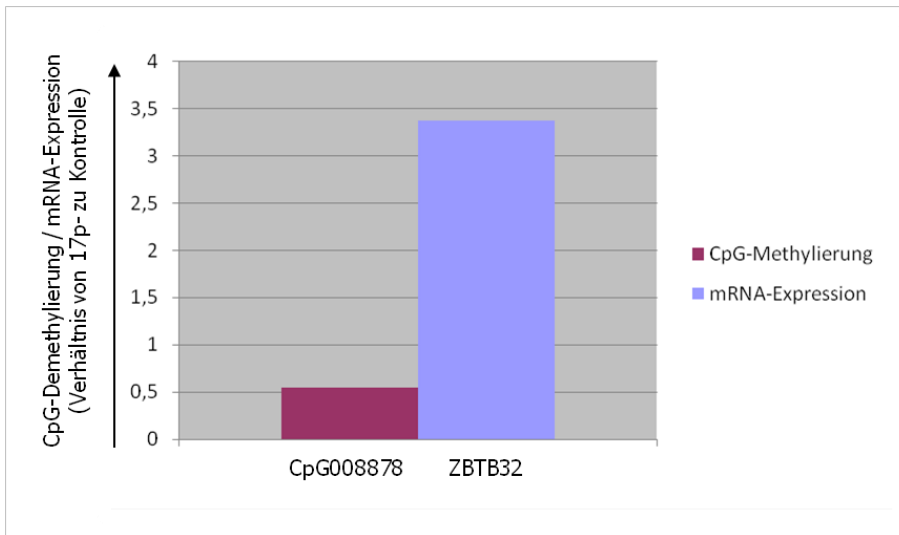


Abbildung 5.10 Methylierungsstatus und Expression von CpG008878/ ZBTB32 in 17p-Patienten im Verhältnis zur Kontrolle
 Dargestellt sind jeweils die Mediane aller Probanden der betreffenden Gruppe (als log2). Das CpG-Island CpG008878 ist gegenüber den Kontrollen hypomethyliert und die Genexpression von ZBTB32 um das 10-fache erhöht. Die Methylierungsdaten weisen die in der SAM-Analyse festgelegte Signifikanz von $FDR < 2,5\%$ auf. Die Expressionsdaten weisen eine Signifikanz von $p < 0,0002$ auf.

5.2.2.2.2 Identifizierung weiterer differenziell methylierter und exprimierter Gene in den verschiedenen Subgruppen

Zusätzlich zu den in Kapitel 5.1.3 beschriebenen Analysen wurden zwei weitere SAM-Analysen durchgeführt: die Gruppen 13q- und 17p- wurden einem direkten Vergleich unterzogen, ohne die Kontrollen mit einzubeziehen. Dies wurde sowohl für die Methylierungsdaten als auch für die Expressionsdaten durchgeführt (Abb. 5.11 und Tab. 5.7; eine vollständige Auflistung befindet sich in Anhang 8.1.4 und 8.1.5). Dann wurde die Schnittmenge gebildet, um Gene zu identifizieren, die die statistisch signifikantesten Änderungen sowohl in der DNA-Methylierung als auch in der Genexpression aufwiesen. Hierbei wurden zwei Kandidatengene gefunden, *DVL3* und *MTP18*, die in beiden Gruppen hochsignifikant waren ($FDR < 5\%$). Der Vergleich der Expression und des Methylierungsstatus dieser Gene ist in Abb. 5.12 dargestellt.

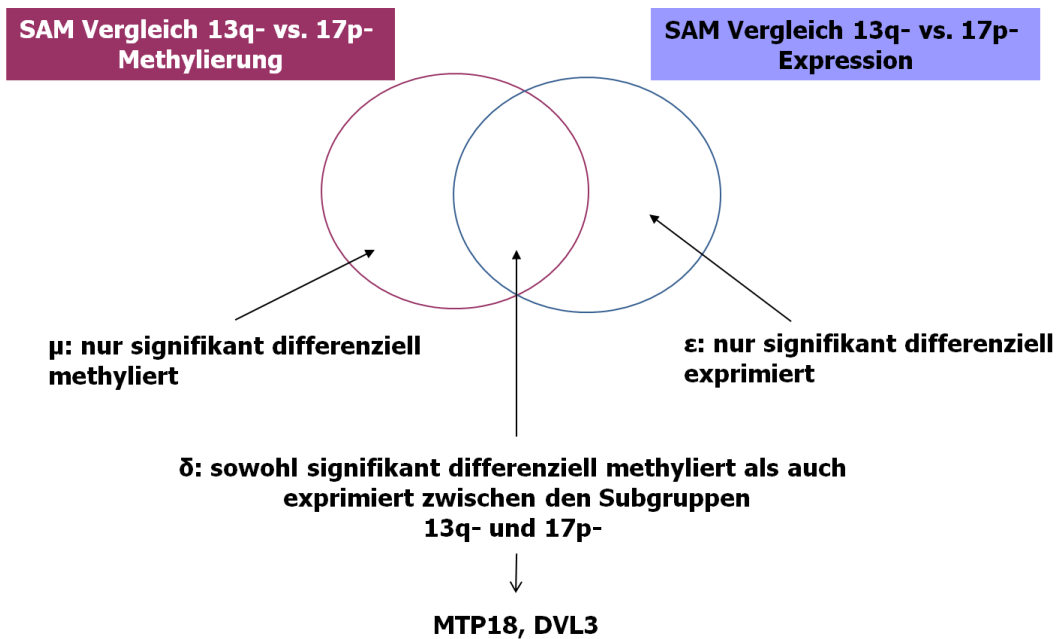


Abbildung 5.11 Identifizierung signifikant differenziell methylierter und exprimierter Gene in den Subgruppen 13q- und 17p-

Tabelle 5.7 Ergebnisse der SAM-Analyse aus dem direkten Vergleich der Subgruppen 13q- und 17p-

Kategorie in Abb. 5.11	Vergleich 13q- vs. 17p-	Anzahl signifikant differenziell methylierter bzw. exprimierter Kandidaten	davon hypomethyliert bzw. überexprimiert in 13q-	davon hypermethyliert bzw. geringer exprimiert in 13q-
μ	Methylierung	280	112	168
ε	Expression	688	206	482
δ	Schnittmenge	2	1	1

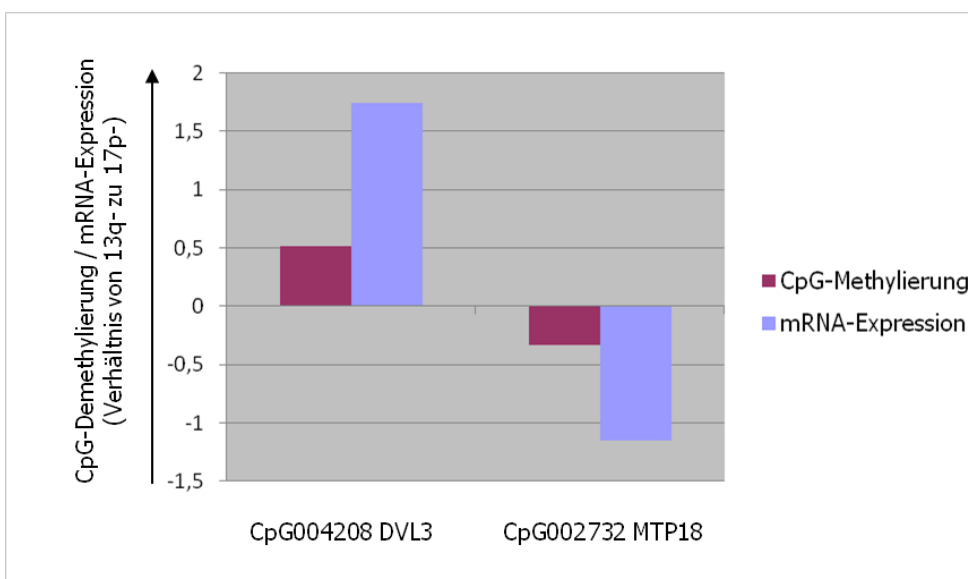


Abbildung 5.12 Expression und Methylierungsstatus subgruppenspezifischer Kandidaten. Dargestellt ist das Verhältnis Methylierung bzw. Expression (jeweils log₂) 13q-/17p- (Kategorie δ). Alle Daten weisen den für diese Analyse festgelegten Signifikanzwert von FDR < 5% auf.

DVL3, Dishevelled 3, ein Homolog des dishevelled-Gens (*dsh*) in *Drosophila* (Pizzuti *et al.*, 1996), ist hypomethyliert und 3,4-fach überexprimiert in 13q- im Vergleich zu 17p-. *DVL3* liegt auf Chromosom 3q27.1 und ist eine von drei Dishevelled Isoformen (Semenov und Snyder 1997), die eine wichtige Rolle bei der Weiterleitung des Signals im Wnt-Signalweg spielen (Wharton 2003; Lee *et al.*, 2008). Der Wnt-Signalweg ist an der Embryogenese, Entwicklung und Karzinogenese beteiligt und zeigt in vielen Tumorarten eine überhöhte Aktivität, unter anderem auch in der CLL (Lu *et al.*, 2004). Hier trägt er zur Apoptoseresistenz der CLL-Zellen bei.

Eine zweite Isoform, *DVL2*, zeigte ebenfalls eine geringere Expression in der 13q- Gruppe im Vergleich zur 17p- Gruppe (Daten nicht gezeigt). *DVL2* liegt auf 17p13.1 (Greco *et al.*, 1996; NCBI-Datenbank), daher ist die geringere Expression hier wahrscheinlich auf die in dieser Gruppe vorliegende Deletion von Chromosomenarm 17p zurückzuführen. Zu *DVL2* liegen keine Daten zur Methylierung vor, da auf dem Methylierungsarray kein entsprechendes CGI vorhanden ist.

Im Vergleich zur Kontrolle zeigte sich, dass *DVL2* und *DVL3* in 13q- überexprimiert waren. Dies stimmt mit der in der Literatur beschriebenen Überaktivierung des Wnt-Signalwegs in CLL überein. Die Gruppe 17p- wies jedoch ein geringeres Expressionslevel auf, das ungefähr der Kontrolle entsprach (*DVL3*) bzw. sogar geringer war (*DVL2*), was darauf hinweisen könnte, dass dieser Signalweg nicht in allen Patienten, sondern subgruppenabhängig hochreguliert ist. Zu *DVL1* konnten aus den vorliegenden Untersuchungen keine Daten gewonnen werden.

MTP18 (mitochondrial protein, 18kDa) war in 13q- im Vergleich zu 17p- signifikant hypermethyliert und 2,2-fach geringer exprimiert. Es lokalisiert auf Chromosom 22q12.2 und wurde als transkriptionelles Zielgen des PI3-Kinase-Signalwegs beschrieben (Tondera *et al.*, 2004). *MTP18* wird im nächsten Kapitel näher untersucht.

5.3 Funktionelle Analyse der Kandidatengene in der CLL

5.3.1 Die Funktion von *TRIB2* in der CLL

Die SAM-Analyse der Methylierungsdaten zeigte das mit *TRIB2* assoziierte CGI als signifikant hypermethyliert in CLL (Gruppe C) an (Tab. 5.5). Die Expression war im Vergleich zu den Kontrollen stark reduziert, in der 17p-deletierten Gruppe 3-fach, in der 13q-deletierten Gruppe 4,3-fach (Abb. 5.7). Sowohl Methylierungsstatus als auch Expression dieses Gens sind also signifikant verändert. *TRIB2* (tribbles homolog 2; auch: *Trb2*, GS3955) liegt auf Chromosom 2p24.3. Es wurde gezeigt, dass *TRIB2* Apoptose auslösen kann (Lin *et al.*, 2007) - die epigenetische Repression von *TRIB2* könnte also zur Apoptoseresistenz von CLL-Zellen beitragen. Außerdem weist *TRIB2* eine hohe Sequenzhomologie zu *SINK* (auch: *TRIB3*), einem negativen Regulator von NFκB, auf (Wu *et al.*, 2003). Es ist bekannt, dass der NFκB-

Signalweg in CLL eine überhöhte Aktivität zeigt (Furman *et al.*, 2000; Zaninoni *et al.*, 2003) und essentiell für das Überleben der CLL-Zellen ist (Cuní *et al.*, 2004). Hier konnte in der genomweiten Expressionsanalyse gezeigt werden, dass die Expression von *SINK/TRIB3* in CLL-Patienten im Vergleich zu Kontrollen signifikant reduziert ist (Abb. 5.13). Zur CGI-Methylierung von *TRIB3* lagen keine Daten auf dem Array vor.

Aufgrund der oben erwähnten Daten aus der Methylierungs- und Expressionsanalyse und der für die Entwicklung der CLL möglicherweise wichtigen Funktion wurde dieses Gen funktionell untersucht. Dabei wurde der Frage nachgegangen, ob *TRIB2* - wie *SINK* - ebenfalls NF κ B negativ reguliert und Apoptose in CLL-Zellen auslöst.

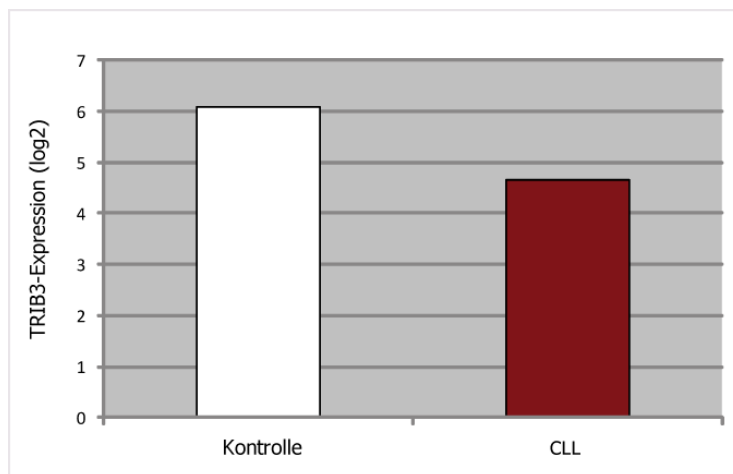


Abbildung 5.13 *TRIB3/SINK*-Expression in CLL-Patienten und Kontrollen

Auf der y-Achse sind die Ergebnisse der genomweiten Expressionsanalyse zur *TRIB3*-Expression (log2) dargestellt. Die *TRIB3*-Expression ist in CLL-Patienten im Vergleich zu den Kontrollen um das 2,7-fache reduziert (p-Wert < 0,001).

5.3.1.1 Einfluss der Überexpression von *TRIB2* auf die NF κ B-Aktivität in MEC-1-Zellen

Um zu untersuchen, ob *TRIB2* NF κ B negativ regulieren kann, wurde ein NF κ B-Assay durchgeführt. Hierfür wurden MEC-1-Zellen mit den folgenden Plasmiden transfiziert: einem *TRIB2*-Expressionsvektor, einem Vektor mit dem Renilla-Luziferase-Gen unter der Kontrolle eines konstitutiven Promotors zur Normalisierung der Luziferaseaktivität und einem Vektor mit dem Firefly-Luziferase-Gen unter der Kontrolle des NF κ B-Promotors zur Messung der NF κ B-Aktivität. Nach 24 Stunden wurde der NF κ B-Signalweg mit TNF α stimuliert und die Luziferase-Aktivität zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen. Zur Kontrolle wurde einmal ein Leervektor anstelle des *TRIB2*-Expressionsvektors transfiziert (pCMX) und einmal lediglich die beiden Luziferasevektoren ohne dritten Vektor (*mock*) eingesetzt.

Eine Stunde nach TNF α -Stimulation war eine deutliche Aktivierung des NF κ B-Signalwegs zu erkennen. Hier war eine Tendenz zur Repression des NF κ B-Signalwegs durch die *TRIB2*-Überexpression festzustellen, die Daten ließen aber keinen eindeutigen Schluss zu. Die Aktivierung von NF κ B war am stärksten bei Transfektion mit pCMX und deutlich schwächer

bei Transfektion mit dem TRIB2-Expressionsvektor. Bei der *mock*-Kontrolle war kaum eine Aktivierung erkennbar (Daten nicht gezeigt).

5.3.1.2 Die Überexpression von TRIB2 allein führt nicht zu Apoptose in primären B-Zellen

In einem weiteren Ansatz sollte herausgefunden werden, ob die Überexpression von *TRIB2* in CLL-Zellen Apoptose auslöst. Hierfür wurden primäre CLL-Zellen verwendet, also Zellen, die direkt aus dem Blut zweier verschiedener Patienten gewonnen wurden. Diese wurden mit *TRIB2*-mRNA transfiziert und nach 48 Stunden wurde ein Apoptose-Assay (Annexin-Assay) durchgeführt. Die Umschreibung der cDNA in mRNA war hier notwendig, da schon allein die Transfektion mit Plasmid-DNA bei primären CLL-Zellen Apoptose auslöst. Als Kontrolle dienten Zellen, bei denen lediglich das Transfektionsprotokoll durchgeführt wird, jedoch ohne Zusatz von mRNA. Die Überexpression von *TRIB2* wurde mittels qRT-PCR nachgewiesen (Daten nicht gezeigt).

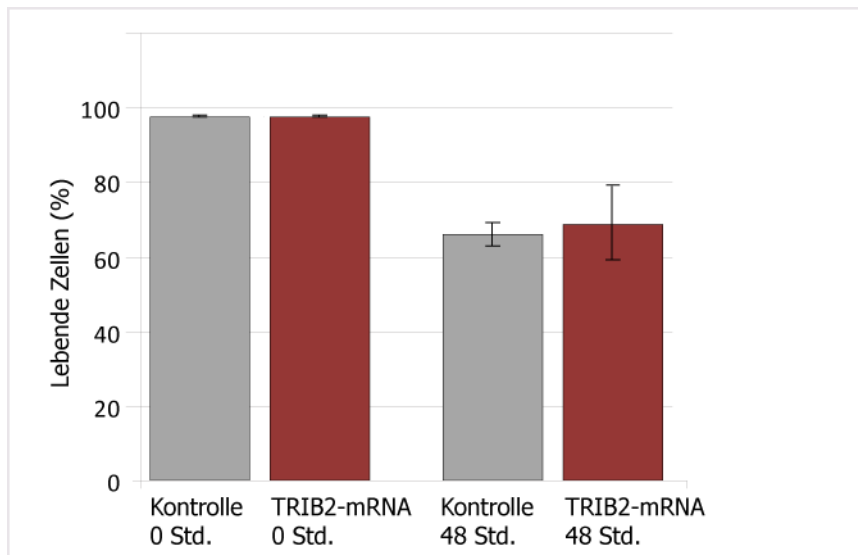


Abbildung 5.14 Apoptose-Assay 48 Stunden nach Transfektion mit TRIB2-mRNA
1x10⁷ primäre CLL-Zellen von zwei verschiedenen Patienten wurden in Replikaten mit jeweils 5 µg TRIB2-mRNA transfiziert. Nach 48 Stunden wurde ein Apoptose-Assay durchgeführt. Auf der y-Achse ist der prozentuale Anteil lebender Zellen aufgetragen (jeweils median aus allen Messungen).

Wie aus Abbildung 5.14 ersichtlich, führte die Transfektion von *TRIB2*-mRNA zwar bei ca. 30% der Zellen zu Apoptose, dies war aber auch bei der Kontrolle der Fall. Daraus lässt sich schließen, dass nicht die Überexpression von *TRIB2*, sondern die Anwendung des Transfektionsprotokolls hier den Zelltod verursacht. Dieses Phänomen ist bei vielen Zelltypen bekannt, da diese Prozedur Zellstress und somit häufig die Aktivierung von apoptotischen Signalwegen auslöst. Der Einfluss von *TRIB2* auf die Induktion von Apoptose ließ sich also in diesem Experiment nicht nachweisen.

5.3.2 Die Funktion von MTP18 in den prognostischen Subgruppen 13q- und 17p-

In Kapitel 5.2.1.3 wurde durch SAM-Analysen gezeigt, dass *MTP18* (mitochondrial protein, 18kDa) in Patienten mit einer 13q-Deletion im Vergleich zu Patienten mit 17p-Deletion signifikant hypermethyliert und geringer exprimiert war. Tondera *et al.* beschrieben *MTP18* als transkriptionelles Zielgen des PI3-Kinase-Signalwegs (Tondera *et al.*, 2004). Der PI3-Kinase-Signalweg spielt eine Rolle bei Zellwachstum, Proliferation, Differenzierung und bei Tumoren. Seine Aktivität ist, wie auch die des NFκB-Signalwegs, wichtig für das Überleben von CLL-Zellen und trägt zur Apoptoseresistenz bei (Ringshausen *et al.*, 2002; Cuní *et al.*, 2004). Desweiteren wurde gezeigt, dass der *knock down* von *MTP18* Apoptose in einigen Zelllinien auslösen kann (Tondera *et al.*, 2004).

Im folgenden Ansatz sollte herausgefunden werden, ob die Hypermethylierung des mit *MTP18* assoziierten CGIs in 13q- und die möglicherweise damit verbundene Repression der Genexpression einen Einfluss auf die unterschiedliche Prognose der beiden Subgruppen haben könnte. Hierfür wurde angenommen, dass die vergleichsweise höhere Expression von *MTP18* in 17p- mit verringerter Apoptose korreliert und dass durch Inhibition der PI3-Kinase in diesen Zellen die *MTP18*-Expression reduziert und in den Zellen Apoptose ausgelöst wird, so dass eine ähnliche Situation wie in 13q- Zellen entsteht. Für diesen Versuch wurde die CLL-Zelllinie MEC-1 verwendet, die eine 17p-Deletion aufweist (Abb. 5.15).

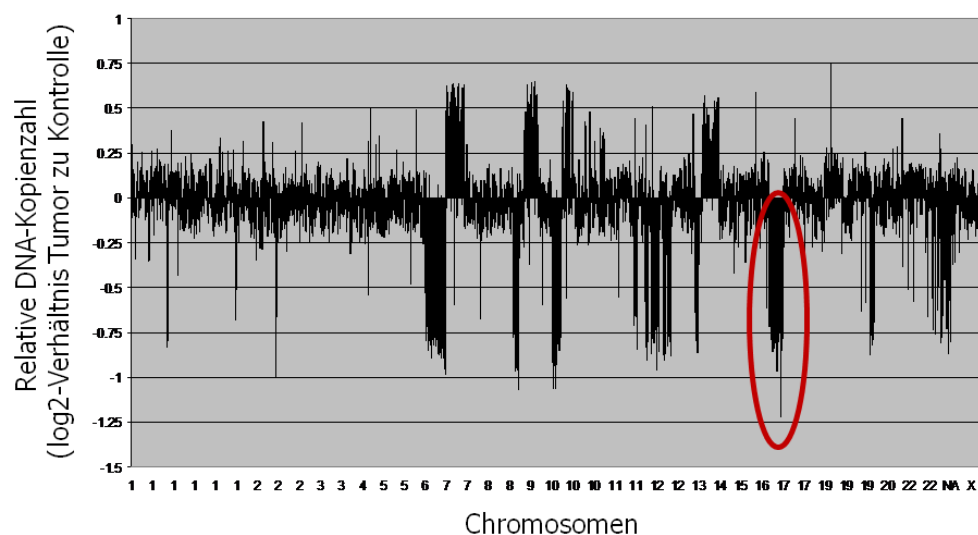


Abbildung 5.15 arrayCGH der CLL-Zelllinie MEC-1

Auf der y-Achse ist der log₂-Quotient der Fluoreszenzintensität der Tumorprobe gegen die der Kontrolle aufgetragen; diese ist proportional zur DNA-Kopienanzahl. DNA-Zugewinne im Tumor werden durch Balken nach oben dargestellt, DNA-Verluste im Tumor durch Balken nach unten. Auf der x-Achse sind die Chromosomen in numerischer Reihenfolge aufgetragen. Die deletierte Region von Chromosom 17 ist rot markiert.

Die Zellen wurden mit einem beschriebenen Inhibitor des PI3-Kinase-Signalwegs, LY294002, behandelt und die *MTP18*-Expression sowie Proliferation, Zelltod und Zellzyklus jeweils nach 48 und 72 Stunden in Triplikaten untersucht.

5.3.2.1 *MTP18* ist ein transkriptionelles Zielgen der PI3-Kinase in CLL-Zellen

48 Stunden nach Inhibition des PI3-Kinase-Signalwegs war bereits eine deutliche Reduktion (ca. 60%) der *MTP18*-Expression zu beobachten (Abb. 5.16). *MTP18* ist also ein mögliches Zielgen dieses Signalwegs in CLL-Zellen. Dass die Expression nach 72 Stunden im Vergleich zum 48 Stunden-Wert wieder leicht erhöht war, lag vermutlich daran, dass die Zellen nur einmalig behandelt wurden und die Wirkung des Inhibitors nach 72 Stunden nachgelassen hatte.

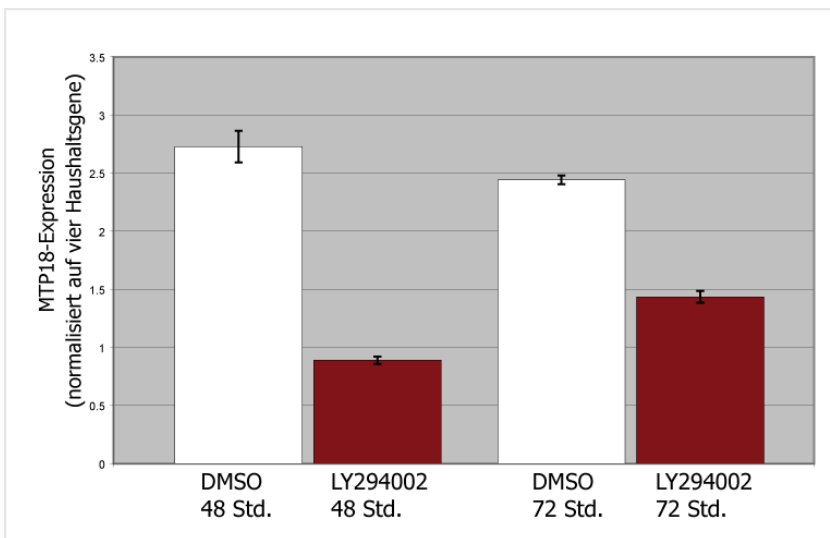


Abbildung 5.16 *MTP18*-Expression

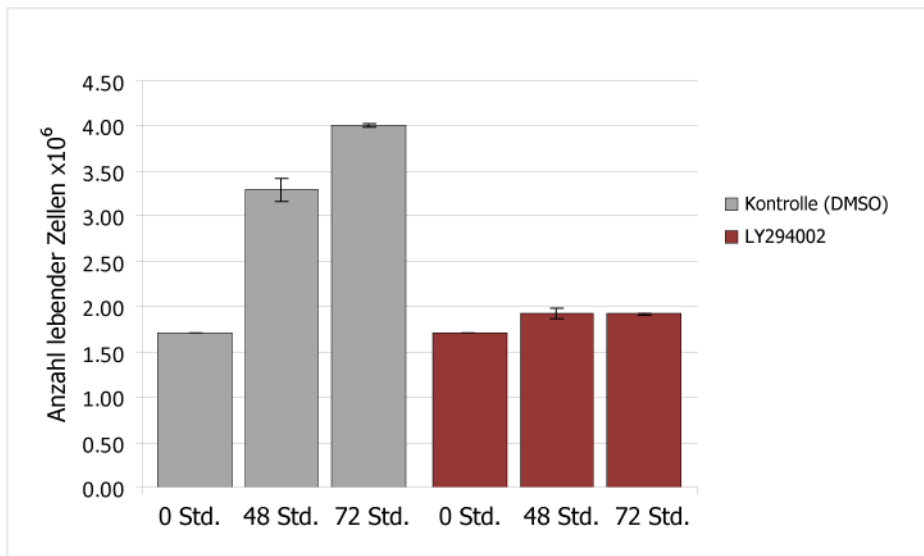
5x10⁶ MEC-1-Zellen wurden in Triplikaten mit 50 µM LY294002 bzw. DMSO in gleicher Konzentration als Kontrolle behandelt, RNA nach 48 bzw. 72 Std. isoliert und die *MTP18*-Expression per qRT-PCR gemessen. Auf der y-Achse ist das Verhältnis der *MTP18*-Expression zur Expression der 4 Haushaltsgene *DCTN2*, *PGK1*, *GAPDH* und *LaminB1* (jeweils median der Triplikate) dargestellt.

5.3.2.2 Zellwachstum und Zelltod nach PI3-Kinase Inhibition

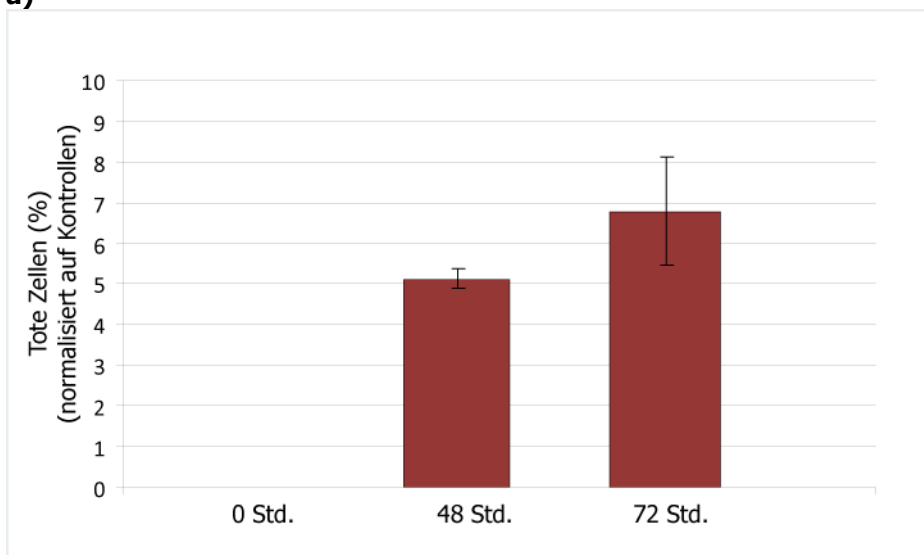
Um das Zellwachstum nach PI3-Kinase-Inhibition und die damit verbundene Reduktion der *MTP18*-Expression zu untersuchen, wurden Anzahl und Viabilität der Zellen aus dem oben beschriebenen Versuch (Kap. 5.3.2.1) nach 48 und 72 Stunden bestimmt.

Nach 48 Stunden hatte sich die Zellzahl in der Kontrolle nahezu verdoppelt, es konnte eine Erhöhung der Anzahl um 94% beobachtet werden, während die mit dem Inhibitor behandelten Zellen lediglich einen Zuwachs von 12% aufwiesen. Nach 72 Stunden war in der Kontrollpopulation eine weitere Zunahme der Zellzahl auf 235 % der ursprünglichen Anzahl zu verzeichnen, während bei den behandelten Zellen kein weiterer Zuwachs stattfand. Hier zeigte sich, dass nach Inhibition der PI3-Kinase eine fast vollständige Stagnation der Zellteilung eintrat (Abb. 5.17a).

Im gleichen Versuch wurde die Anzahl toter Zellen bestimmt (Abb. 5.17b). Diese stieg in den behandelten Zellen nach 48 Stunden um 5% und nach 72 Stunden um ca. 7% im Vergleich zur Kontrolle an.



a)



b)

Abbildung 5.17 Zellwachstum und Zelltod nach PI3-Kinase-Inhibition

5x10⁶ MEC-1-Zellen wurden in Triplikaten mit 50 μ M LY294002 bzw. DMSO in gleicher Konzentration als Kontrolle behandelt und die Zellzahl und Viabilität mittels ViCell-XR 2.03 bestimmt. a) Auf der y-Achse ist die Anzahl der lebenden Zellen aufgetragen (jeweils median aus Triplikaten, x10⁶). b) Auf der y-Achse ist der prozentuale Anteil toter Zellen aufgetragen (jeweils median aus Triplikaten), normalisiert auf den Anteil toter Zellen in den Kontrollen.

5.3.2.3 Zellzyklusanalyse nach PI3-Kinase Inhibition

Um festzustellen, ob die Inhibition der PI3-Kinase und die damit verbundene Reduktion der *MTP18*-Expression Zellzyklusarrest auslöst, wurde eine Zellzyklusanalyse durchgeführt.

Nach 48 Stunden (Daten nicht gezeigt) und 72 Stunden (Abb. 5.18; einzelne Analysen s. Anhang 8.3) waren in der behandelten Zellpopulation in jeder Zyklusphase weniger Zellen als in der Kontrolle zu beobachten, also kein Arrest in einer bestimmten Phase des Zellzyklus.

Wie auch schon zuvor gezeigt, (Kap. 5.3.2.2) erhöhte sich jedoch der Anteil der toten Zellen, hier von insgesamt 11,7% auf 27,1%.

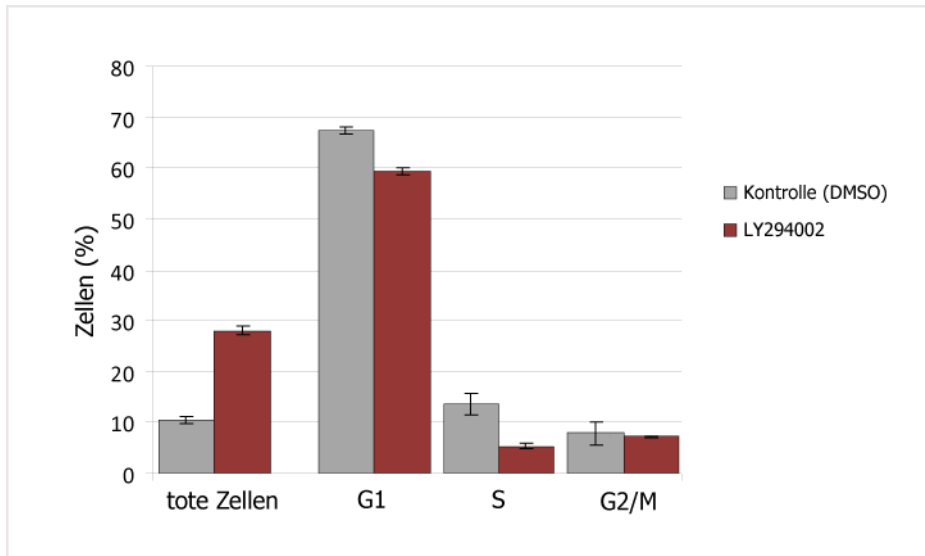


Abbildung 5.18 Zellzyklusanalyse nach PI3-Kinase-Inhibition

5x10⁶ MEC-1-Zellen wurden in Triplikaten mit 50 µM LY294002 bzw. DMSO in gleicher Konzentration als Kontrolle behandelt und nach 48 und 72 Stunden eine Zellzyklusanalyse mit PI durchgeführt. Auf der y-Achse ist der Median des prozentualen Anteils der Zellen in einer bestimmten Zellzyklusphase dargestellt.

5.4 Untersuchung des DNA-Methylierungsmusters im Medulloblastom-Mausmodell

Um neue, in die Pathogenese des Medulloblastoms involvierte epigenetische Veränderungen in der DNA-Methylierung zu identifizieren wurden die verschiedenen Mutations-Varianten des Medulloblastom-Mausmodells - die Einzelmutante $Ptch^{+/-}$ und die Doppelmutante $Ptch^{+/-};Nos^{-/-}$ - einer Methylierungsanalyse mit aPRIMES unterzogen. Hierfür wurde ein kommerziell erhältlicher Array von UHN Toronto verwendet, der ca. 4.600 murine CGI-Klone enthielt. Die Informationen über die Lokalisation der CpG-Islands im Genom und assoziierte Gene wurde der UHN Microarray-Datenbank entnommen (<http://data.microarrays.ca/>), und die gewonnenen DNA-Methylierungsdaten mit dem Genexpressionsprofil (in Kooperation mit Daniel Haag, Molekulare Genetik, DKFZ) verglichen.

Für die Methylierungsanalyse wurden folgende Genotypen und Altersklassen untersucht (Tab. 5.8):

Tabelle 5.8 Proben für die Methylierungsanalyse des Medulloblastom-Mausmodells

Genotyp	Bezeichnung	Gewebe	Jungtiere (ca. 6 Wochen)	Adulte Tiere (ca. 1 Jahr)
Wildtyp	1M	Cerebellum	2	2
$Ptch^{+/-};Nos^{+/+}$	2M	Cerebellum	2	2
$Ptch^{+/-};Nos^{+/+}$	2M	Tumor	-	4
$Ptch^{+/-};Nos^{-/-}$	4M	Cerebellum	2	2
$Ptch^{+/-};Nos^{-/-}$	4M	Tumor	-	4

5.4.1 *Unsupervised Clustering* unterscheidet zwischen Tumoren und Kontrollen, aber nicht zwischen verschiedenen Genotypen

Im Unsupervised Cluster der Methylierungsprofile (Abb. 5.19) ist zu erkennen, dass es keine signifikanten Unterschiede zwischen den DNA-Methylierungsmustern der einzelnen Genotypen gibt, aber deutliche Unterschiede zwischen Tumoren und gesunden Cerebelli.

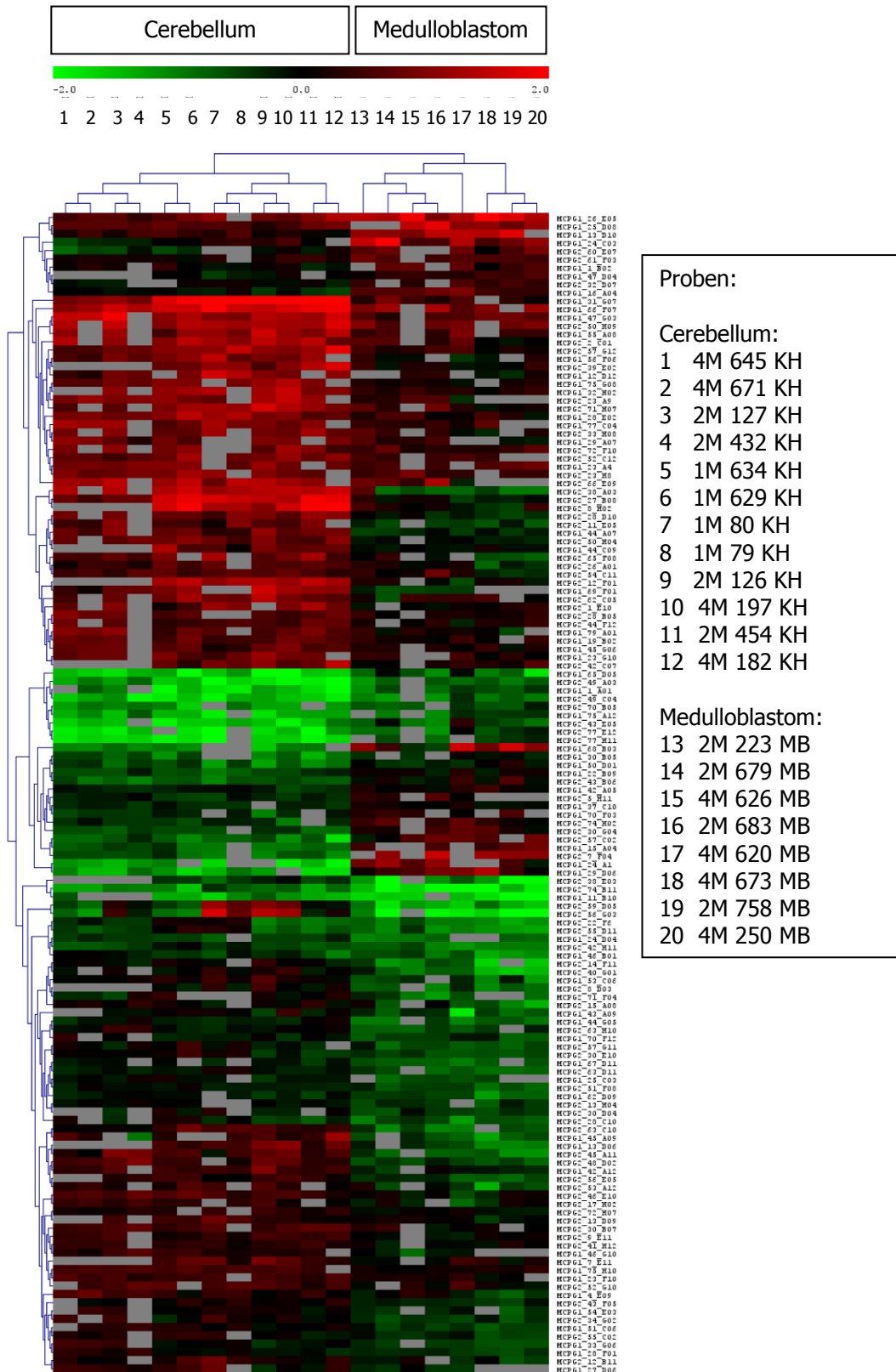


Abbildung 5.19 Unsupervised Cluster der aPRIMES-Daten
1M=Wildtyp, 2M=Ptch^{+/-};Nos^{+/+}, 4M=Ptch^{+/-};Nos^{-/-}; KH=Kleinhirn/Cerebellum;
MB=Medulloblastom; die Zahlen geben die Probennummer an. Grün markierte Felder:
hypomethylierte CGIs; rot markierte Felder: hypermethylierte CGIs. Die Tumorproben gruppieren
getrennt von den Proben der gesunden Gewebe, aber unabhängig vom Genotyp.

5.4.2 Untersuchung der verschiedenen Genotypen im Hinblick auf Unterschiede in der CGI-Methylierung und Expression

Um Unterschiede zwischen Tieren verschiedenen Alters, gesunden Cerebelli und Tumoren und den verschiedenen Mausmodellen zu untersuchen, wurden die folgenden Vergleiche angestellt (Abb. 5.20):

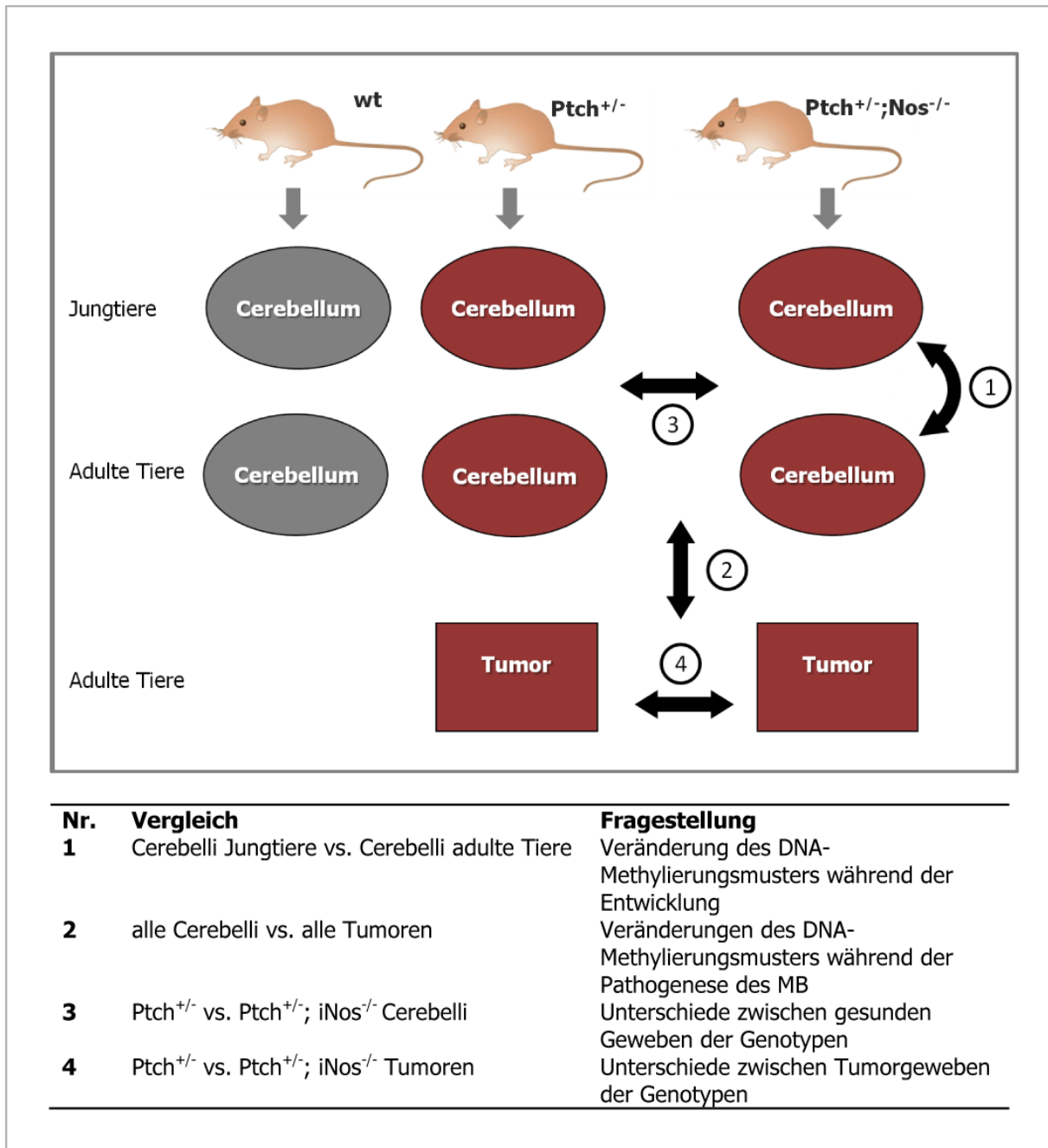


Abbildung 5.20 Vergleiche der verschiedenen Geno- und Gewebetypen

Für jeden Vergleich (Abb. 5.20, 1-4) wurde jeweils eine SAM-Analyse mit den Methylierungsdaten und den Expressionsdaten durchgeführt (Abb. 5.21) und festgestellt, ob Methylierungsstatus und Expression korrelieren.

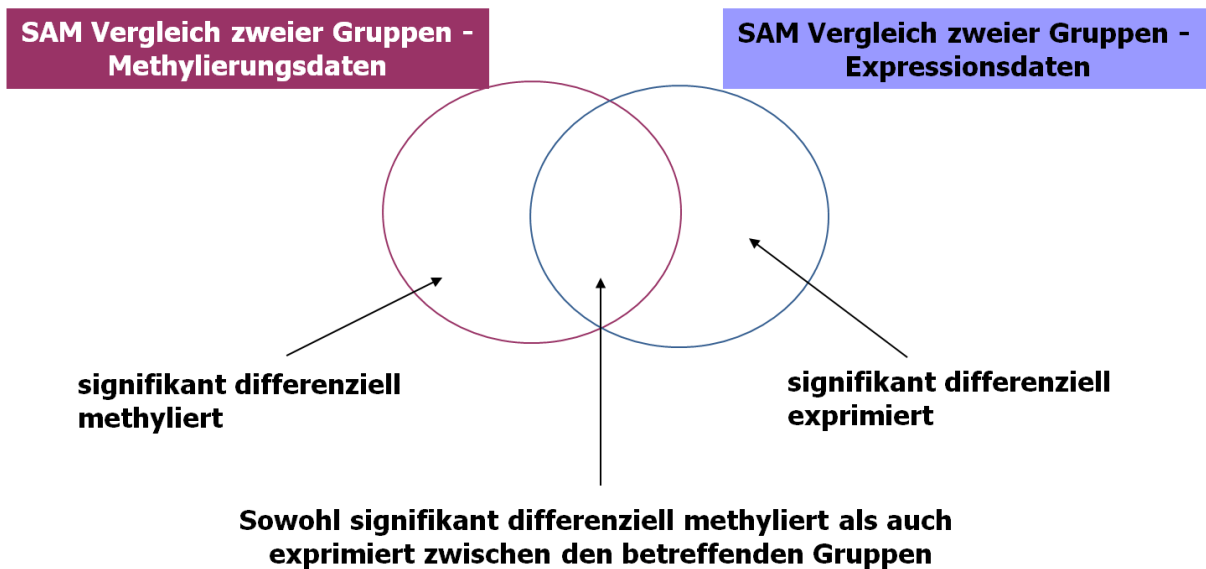


Abbildung 5.21 Ermittlung signifikant methylierter und exprimierter Gene in den Mausmodellen

5.4.2.1 Vergleich der Cerebelli junger Tiere mit den Cerebelli adulter Tiere

Es ist bekannt, dass sich die DNA-Methylierung im Laufe des Entwicklungs- und Alterungsprozesses verändert. Beispielsweise werden im Laufe der Differenzierung Pluripotenzgene durch Heterochromatisierung und DNA-Methylierung stillgelegt (Cedar und Bergmann 2009). Um altersspezifische Unterschiede in Methylierung und Expression zu untersuchen, wurden die Cerebelli junger Tiere mit denen adulter Tiere verglichen (Vergleich 1 aus Abb. 5.20).

In der SAM-Analyse der Methylierungsdaten wurden lediglich acht signifikant differenziell methylierte CpG-Islands identifiziert, von denen fünf mit Genen assoziiert waren (Tab. 5.9). Diese überschneiden sich aber nicht mit den Genen aus der SAM-Analyse der Expressionsdaten. Zu zwei der CGIs lagen keine Angaben zur Annotation vor. Von Interesse ist hier vor allem das CpG-Island UHNmmcpG0011393, da dieses in einer Region des Genoms liegt, die viele regulatorische RNAs, sogenannte piRNAs, enthält. Diese können von der Expressionsanalyse nicht erfasst werden, da sie lediglich eine Länge von 26 bis 31 Nukleotiden aufweisen.

Da es offenbar nur sehr geringe Unterschiede im Methylierungsmuster zwischen den verschiedenen Altersklassen gab, wurden für die nächste Analyse alle Cerebelli unabhängig vom Alter zusammengefasst, um eine größere Anzahl Proben für die statistische Analyse zu erhalten.

Tabelle 5.9 Differenziell methylierte CGIs beim Vergleich der Cerebelli adulter und junger Tiere

Klon	UHN	Assoziiertes Gen	
		Symbol	Name
hypermethylierte CGIs in adulten Tieren			
MCPG1_54_F09	UHNmmcpG0004851	Snx6	Sorting Nexin 6
MCPG2_59_D05	UHNmmcpG0012881	Ctdspl2	CTD (carboxy-terminal domain) small phosphatase-like 2
MCPG2_74_B11	UHNmmcpG0014303	St3gal5	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 5
MCPG1_19_D09	UHNmmcpG0007151	Wdr72	WD repeat domain 72
MCPG2_43_H05	UHNmmcpG0011393	piR-25222, piR-131871 u.a.	regulatorische piRNAs
hypomethylierte CGIs in adulten Tieren			
MCPG1_7_B02	UHNmmcpG0000420	D13Wsu177e	DNA segment, Chr 13, Wayne State University 177, expressed

Zu zwei Klonen (UHNmmcpG0013261(hypermethyliert), UHNmmcpG0001161 (hypomethyliert)) waren keine Angaben in der UHN-Datenbank vorhanden.

Definition assoziierter Gene: der Transkriptionsstart liegt in einem Abstand von 10kb *upstream* oder *downstream* vom CGI

5.4.2.2 Vergleich gesunder Cerebelli mit Tumoren

Beim Vergleich der gesunden Cerebelli mit den Tumoren mittels SAM (Vergleich 2 aus Abb. 5.20) konnten 121 differenziell methylierte CpG-Islands gefunden werden (s. Anhang 8.4). Das bedeutet, die Tumoren weisen im Vergleich zum gesunden Gewebe Unterschiede im Methylierungsmuster auf, was auch schon im *Unsupervised Cluster* (Abb. 5.19) gezeigt werden konnte. 18 der mit diesen CpG-Islands assoziierten Gene wurden ebenfalls in der SAM-Analyse der Expressionsdaten dieser Gruppen identifiziert, bei neun hiervon korrelierten Expression und Methylierungsstatus (Tab. 5.10).

Tabelle 5.10 Differenziell methylierte CGIs beim Vergleich von Cerebelli gesunder Tiere und Tumorgewebe

Klon	UHN	Assoziierte Gene	
		Symbol	Name
hypomethylierte CGIs im Medulloblastom			
MCPG1_23_F10	UHNmmcpG0002195	Psrc1	Proline/serine-rich coiled-coil protein 1
MCPG1_23_A4	UHNmmcpG0001993	Nfkbil2	I-kappa-B-related protein
MCPG1_42_C11	UHNmmcpG0003773	Mcm5	DNA replication licensing factor MCM5 (CDC46 homolog)
MCPG1_46_B01	UHNmmcpG0003835	Brpf1	bromodomain and PHD finger containing, 1
MCPG1_66_H05	UHNmmcpG0005495	Pnrc2	Proline-rich nuclear receptor coactivator 2
MCPG2_11_E05	UHNmmcpG0008285	Csrp2	Cysteine and glycine-rich protein 2
hypermethylierte CGIs im Medulloblastom			
MCPG2_77_H11	UHNmmcpG0014663	Gabrd	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit delta precursor
MCPG2_32_D07	UHNmmcpG0010291	Eml2	Echinoderm microtubule-associated protein-like 2 (EMAP-2)
MCPG1_63_H04	UHNmmcpG0005095	Kcnc3	Potassium voltage-gated channel subfamily C member 3 (auch: KSHIID).

Definition assoziierter Gene: der Transkriptionsstart liegt in einem Abstand von 10kb *upstream* oder *downstream* vom CGI

Ein Kandidat aus dieser Liste, Mcm5 (minichromosome maintenance deficient 5, cell division cycle 46), war besonders interessant, da das humane Homolog MCM5 p53-vermittelten Zellzyklusarrest aufheben kann (Abb. 5.22 b), einen wichtigen Schutz vor maligner Transformation. Das entsprechende CpG-Island (UHNmmcpG0003773) war hypomethyliert in den Tumoren und das Gen überexprimiert (Abb. 5.22a).

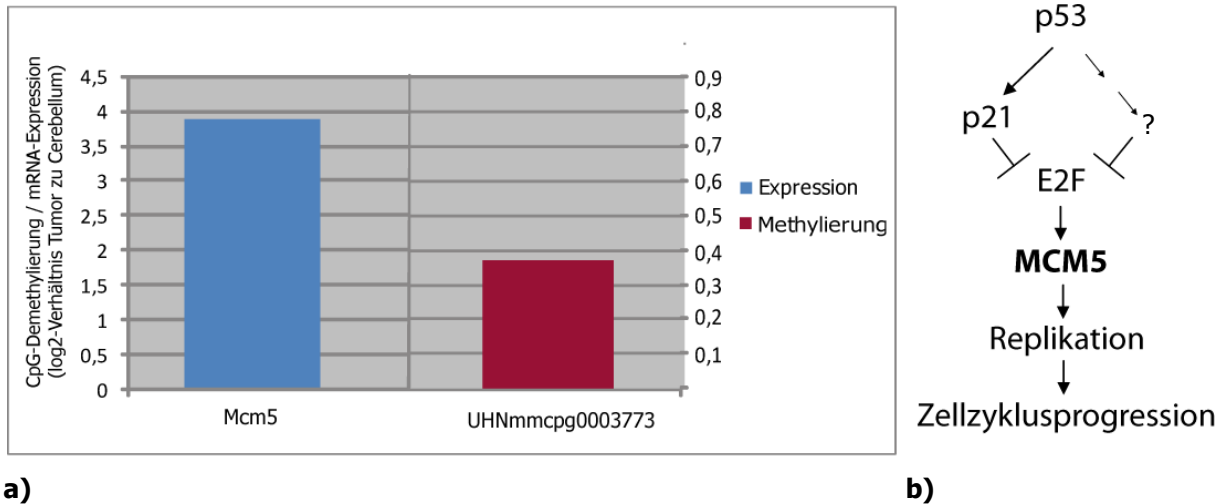


Abbildung 5.22 Expression, Methylierungsstatus und Funktion von MCM5
a) Methylierungsstatus und Genexpression (Daten D.Haag) von UHNmmcpG0003773/Mcm5, dargestellt ist das log₂-Verhältnis Tumor über Cerebellum
b) Die Funktion von MCM5 (modifiziert nach Agarwal *et al.*, 2007)
MCM5 kann trotz p53-induziertem Wachstumsarrest die Aktivierung von Replikation und Zellzyklusprogression verursachen. p53 aktiviert p21, das Wachstumsarrest durch Inhibition von E2F initiiert. Ist E2F präsent, kann es MCM5 und damit Replikation und Zellzyklusprogression aktivieren. Der gleiche Effekt kann auch durch Überexpression von MCM5 verursacht werden.

Für viele der weiteren signifikant veränderten Gene muss die Funktion im Zusammenhang mit der Entstehung des Medulloblastoms noch untersucht werden. Beispielsweise war *Brpf1* (bromodomain and PHD finger containing, 1) signifikant verändert, das entsprechende CpG-Island (UHNmmcpG0003835) war in den Tumoren hypomethyliert und das Gen fast dreifach überexprimiert. *Brpf1* ist ein Protein mit einer Metallionen-bindenden Domäne, über dessen Funktion jedoch noch nicht viel bekannt ist. Ähnlich verhält es sich mit *Eml2* (echinoderm microtubule associated protein like 2), das eine reduzierte Expression und ein hypermethyliertes CpG-Island (UHNmmcpG0010291) in den Tumoren aufweist. *Eml2* ist wahrscheinlich am Aufbau von Mikrotubuli beteiligt, ihm konnte jedoch noch keine eindeutige Funktion zugeordnet werden. UHNmmcpG0001993/*Nfkbil2*, ein Inhibitor von NFκB, war in den Tumoren hypomethyliert und überexprimiert.

5.4.2.3 Vergleich der verschiedenen Tumor-Modelle

5.4.2.3.1 Vergleich der Cerebelli der verschiedenen Genotypen

Aus dem Vergleich der Cerebelli der zwei Tumor-Modelle miteinander ($Ptch^{+/-}$ vs. $Ptch^{+/-};Nos^{-/-}$; Vergleich 3 aus Abb. 5.20) wurde nur ein CpG-Island (UHNmmcpG0005621) als signifikant differenziell angezeigt, hierzu konnte aber kein assoziiertes Gen ermittelt werden.

5.4.2.3.2 Vergleich der Tumoren der verschiedenen Genotypen

Auch beim Vergleich der Tumoren der Tumor-Modelle (Vergleich 4 aus Abb. 5.20) ergaben sich keine bedeutsamen Unterschiede zwischen den Genotypen: nur ein einzelnes CpG-Island (UHNmmcpG0004648) war differenziell methyliert, diesem konnte aber kein Gen zugeordnet werden.



6 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, neue epigenetische Veränderungen zu identifizieren, die zur Pathogenese von verschiedenen Tumorentitäten beitragen können. Hierfür wurden Patienten mit Chronischer Lymphatischer Leukämie und verschiedene Medulloblastom-Mausmodelle mittels genomweiter DNA-Methylierungsanalyse untersucht.

6.1 Veränderungen des DNA-Methylierungsmusters im Medulloblastom-Mausmodell

In dieser Arbeit wurden zwei Medulloblastom-Mausmodelle einer Methylierungsanalyse mit aPRIMES unterzogen, um neue, in die Pathogenese des Medulloblastoms involvierte Veränderungen der DNA-Methylierung zu identifizieren und Unterschiede zwischen den beiden Mausmodellen zu untersuchen, die zur unterschiedlichen Aggressivität der Tumoren beitragen könnten.

Bei der Analyse der Methylierungsmuster in Mäusen verschiedener Altersstufen wurde das CpG-Island UHNmmcpG0011393 als signifikant hypermethyliert in adulten Tieren im Vergleich zu jungen Tieren identifiziert (Tab. 5.9). Dieses liegt in einer Region des Genoms, in der viele regulatorische RNAs, sogenannte piRNAs (piwi-interacting RNA), lokalisiert sind. Diese sind sehr kurze RNAs (26-31 Nukleotide), die mit PIWI in einem RNA-Proteinkomplex interagieren und in *gene silencing* involviert sind. Die meisten piRNAs weisen eine *antisense*-Sequenz zu Transposons auf und sind daher an der Repression dieser DNA-Elemente beteiligt. Das Silencing von Transposons findet in Keimbahnzellen und im sich entwickelnden Embryo statt, daher werden in adulten somatischen Zellen keine piRNAs gefunden (Seto *et al.*, 2007; Klattenhof *et al.*, 2008; Malone und Hannon, 2009). Somit ist anzunehmen, dass die Transkription dieser piRNAs in den hier untersuchten adulten Tieren durch DNA-Methylierung reprimiert wird. In den jüngeren Tieren hat diese Repression noch nicht stattgefunden. Es wurden nur wenige weitere Unterschiede in der DNA-Methylierung gefunden. Dies liegt vermutlich daran, dass die hier verwendeten Jungtiere mit einem Alter von sechs Wochen schon zu alt für diese Art Vergleich sind, da die Gehirnentwicklung zu diesem Zeitpunkt schon nahezu abgeschlossen ist. Ideal wäre es, neonatale Tiere zu verwenden, aufgrund der sehr geringen Größe des Cerebellums in diesen Tieren ist es allerdings sehr schwierig, Probenmaterial in ausreichender Menge zu bekommen.

Unterschiede im DNA-Methylierungsmuster und die damit verbundene Veränderung der Genexpression können auch zur Tumorgenese des Medulloblastoms in diesem Tumormodell beitragen. Einen ersten Hinweis auf Unterschiede im DNA-Methylierungsmuster zwischen Tumoren und gesundem Gewebe gibt das *Unsupervised Clustering* (Abb. 5.19): hier gruppieren die Tumorproben eindeutig getrennt von den Kontrollen, was auf signifikant differenzielle Methylierung schließen lässt. Desweiteren zeigten sich in der SAM-Analyse 121

differenziell methylierte CpG-Islands, und die Expression einiger der assoziierten Gene war ebenfalls signifikant verändert, wie die SAM-Analyse der Expressionsdaten zeigte. Hier wurde *Mcm5* als Kandidat identifiziert, das in den Tumoren hypomethyliert und überexprimiert ist (Tab. 5.10; Abb. 5.22a). Die Mitglieder der MCM-Familie (MCM 2-7) sind stark konservierte Replikations-Initiations-Faktoren. MCM-Proteine sind integriert in prä-replikative Proteinkomplexe, die sich in der G1-Phase des Zellzyklus bilden, und ermöglichen die Replikation durch Entwinden der DNA. MCM-Proteine werden in allen Phasen des Zellzyklus gefunden, aber nicht in ruhenden Zellen der G0-Phase und in seneszenten Zellen. Somit bilden sie eine neue Klasse von Proliferationsmarkern (Maiorano *et al.*, 2006). Die Überexpression von *MCM5* könnte also zu der erhöhten Proliferationsrate von Medulloblastomzellen beitragen. Es wurde auch gezeigt, dass MCM5 p53-vermittelten Zellzyklusarrest aufheben kann (Agarwal *et al.*, 2007; Abb. 5.22). Der Tumorsuppressor p53 kontrolliert die Expression von Genen, die nach DNA-Schädigung an der Induktion von Zellzyklusarrest und Apoptose und der DNA-Reparatur beteiligt sind. Die häufig im Medulloblastom vorliegende Deletion des Chromosomenarms 17p verursacht den Verlust von p53 - wird die Funktion dieses Tumorsuppressors durch die epigenetische Dysregulation seiner Kontrollelemente weiter geschwächt, wird die maligne Transformation begünstigt. Außerdem wird MCM5 als diagnostischer Marker im Meningiom und anderen Tumorentitäten diskutiert (Saydam *et al.*, 2010).

Bezüglich der Aggressivität der Tumoren bei den verschiedenen Genotypen scheinen Unterschiede in der DNA-Methylierung keine Rolle zu spielen: dies zeigte sich dadurch, dass alle Tumorproben unabhängig vom Genotyp im *Unsupervised Clustering* (Abb. 5.19) verteilt waren und durch die SAM-Analyse keine bedeutsamen Unterschiede in DNA-Methylierung identifiziert werden konnten (Kap. 5.4.2.3).

Es ist sehr wahrscheinlich, dass bei Verwendung größerer Arrays oder anderer Methoden, die mehr der im Mausgenom vorhandenen CpG-Islands abdecken (z.B. *High-throughput-Bisulfite-Sequencing*, s. auch Kapitel 6.3), mehr Kandidatengene identifiziert werden können, die eine Rolle bei der Pathogenese des Medulloblastoms spielen. Ein Nachteil dieser Untersuchung war die sehr geringe Überschneidung der sowohl auf der Methylierungsplattform als auch auf dem Expressionsarray enthaltenen Gene (ca. 20%).

6.2 Veränderungen des DNA-Methylierungsmusters in der CLL

In dieser Arbeit wurden 32 CLL-Patienten und neun Kontrollpersonen mittels aPRIMES auf tumorspezifische Veränderungen im DNA-Methylierungsmuster hin untersucht. Dies ist die erste Untersuchung von CLL-Patienten mit dieser neu entwickelten Methode zur Analyse von genomweiter DNA-Methylierung. Ein wichtiger Vorteil dieser Methode war hier vor allem, dass genomische Imbalancen das Ergebnis nicht beeinflussen, da über 80% der CLL-Patienten Aberrationen aufweisen.

Um die Auswirkungen dieser epigenetischen Veränderungen auf die Genexpression assoziierter Gene und damit auf die Entwicklung der CLL zu evaluieren, wurden Genexpressionsprofile erstellt und funktionelle Analysen ausgewählter Kandidatengene durchgeführt. Außerdem war es ein Ziel, Veränderungen zu identifizieren, die zu der Variabilität innerhalb der Patientengruppe beitragen. Hierfür wurden Patienten verschiedener prognostischer Subgruppen in die Untersuchung miteinbezogen.

6.2.1 Das DNA-Methylierungsmuster in der CLL

Veränderungen im Methylierungsmuster wurden bei allen Patienten gefunden. Solche Veränderungen können durch verschiedene Mechanismen zur Entstehung von Neoplasien, in diesem Fall der CLL, beitragen (Esteller 2005).

Bei den Patienten der Subgruppen 13q- und 17p- liegen gruppenspezifische Veränderungen vor, die PAM-Analyse zeigt ein für die Klassifizierung ausreichendes, distinktes Methylierungsmuster (Abb. 5.3 und Abb. 5.4). Es besteht also möglicherweise ein Zusammenhang zwischen dem Methylierungsmuster und der Prognose - 13q-deletierte Patienten haben eine sehr gute mittlere Lebenserwartung, während 17p-deletierte Patienten eine schlechte Prognose haben. Patienten mit einer 11q-Deletion oder einem normalen Karyotyp sind nicht anhand ihres Methylierungsmusters klassifizierbar (Abb. 5.3). Die Gründe hierfür könnten darin liegen, dass in diesen Gruppen nur wenige spezifische Veränderungen auftreten, die für die Klassifizierung aus statistischen Gründen nicht ausreichend sind oder, dass die entscheidenden Veränderungen von der Untersuchung nicht erfasst werden können, da der CpG-Insel-Array nur eine Abdeckung von etwa 30% aller CpG-Inseln aufweist. Es könnte auch sein, dass diese Patientengruppen eine weitere, noch unbekanntere Unterteilung in Subgruppen aufweisen, wodurch sie in der PAM-Analyse nicht als homogene Gruppen erscheinen. Diese Subgruppen könnten möglicherweise durch Untersuchung einer größeren Anzahl von Patienten identifiziert werden.

Aufgrund dessen wurden in dieser Arbeit die Patienten mit 11q-Deletion und normalem Karyotyp bei den weiteren statistischen Analysen nicht berücksichtigt, und die Gruppen 13q- und 17p- im Weiteren als Gruppe der CLL-Patienten zusammengefasst, um die statistische Aussagekraft zu verstärken.

Im Vergleich zu den Kontrollen war in der SAM-Analyse in den Patienten eine generelle Hypomethylierung zu erkennen (Tab. 5.2). Betrifft diese Hypomethylierung repetitive Sequenzen, kann dies genomische und chromosomale Instabilität verursachen (Esteller und Herman 2002), was zur Entstehung der zahlreichen zytogenetischen Veränderungen, die in CLL-Zellen vorliegen, beitragen könnte, wie Aneuploidie (z.B. Trisomie 12) und chromosomalen Aberrationen (Deletionen der Chromosomenarme 13q, 17p etc.).

Aberrante Methylierung von CpG-Islands in der Promotorregion von Genen hingegen kann zu Veränderungen der Genexpression führen. Daher wurden einzelne CpG-Islands und damit assoziierte Gene näher betrachtet.

6.2.2 Differenzielle Methylierung von CpG-Islands in CLL-Patienten und ihre Bedeutung für die Pathogenese

6.2.2.1 Differenziell methylierte CpG-Islands sind mit krebsrelevanten Genen assoziiert

Bei den mit hypomethylierten CGIs assoziierten Genen in der Gruppe der CLL-Patienten fanden sich Gene (Tab. 5.4), die die Entstehung von Tumoren begünstigen können, wie *SETD8*, ein Inhibitor des Tumorsuppressors p53, und *CyclinD1/CCND1*. Cyclin D1 gehört zu den Cyclinen der G1-Phase und ist essentiell für die Progression in die nächste Phase des Zellzyklus. Es wurde auch bereits gezeigt, dass Cyclin D1 in den leukämischen Zellen von ca. 25% der CLL-Patienten überexprimiert ist (Korz *et al.*, 2002), was zunächst verwunderlich ist, da CLL-Zellen in der Regel in der G1-Phase arretiert sind. Eine mögliche Erklärung für die geringe Auswirkung dieser Überexpression auf die Zellzyklusprogression ist einerseits das vergleichsweise geringe Ausmaß der Überexpression von *Cyclin D1* in CLL-Zellen, verglichen mit hochproliferativen malignen Erkrankungen wie z.B. dem Mantelzelllymphom. Zudem wird der Effekt der *CyclinD1*-Überexpression durch die Überexpression von Zellzyklusinhibitoren, wie z.B. dem CDK (*Cyclin-dependent-kinase*)-Cyclin-Komplex-Inhibitor CDKN1B/p27, abgeschwächt (Korz *et al.*, 2002).

Auch hypermethylierte CpG-Islands wurden gefunden (Tab. 5.5). Hypermethylierung ist ein Ereignis, das häufig mit der Repression der Genexpression assoziierter Gene verbunden ist. Unter den hypermethylierten CGIs in der Gruppe der CLL-Patienten waren einige mit Genen assoziiert, deren Rolle bei der Pathogenese der CLL noch untersucht werden muss, die aber schon in Zusammenhang mit anderen tumorrelevanten Erkrankungen gebracht wurden, wie z.B. *KTELC1* (auch: C3ORF9) und *ZNF215*. *KTELC1* ist in Patienten mit Chronischer Myelomonozytärer Leukämie (CMML), einer Form des Myelodysplastischen Syndroms, ebenfalls herunterreguliert (Karadonta *et al.*, 2009). Die Disruption von *ZNF215* spielt eine Rolle bei der Entwicklung des Beckwith-Wiedemann Syndroms (BWS) (Alders *et al.*, 2000), einer mit Veränderungen im Imprinting assoziierten Erkrankung. BWS-Patienten haben vor

allem im Kindesalter ein erhöhtes Risiko an Tumoren zu erkranken, vor allem am sogenannten Wilms-Tumor.

6.2.2.1.1 Die Dysregulation von p53 auf epigenetischer Ebene

p53 hat eine wesentliche Funktion bei der Zellzykluskontrolle und Apoptose bei DNA-Schäden und spielt damit eine wichtige Rolle bei Krebs. Außerdem ist die Dysfunktion bzw. der Verlust dieses Gens mitverantwortlich für die Therapieresistenz von Tumoren, wie auch im Fall der CLL-Patienten mit 17p-Deletion (Zenz *et al.*, 2009; Turgut *et al.*, 2007). In dieser Arbeit wurden in jeder Patientengruppe differenziell methylierte CGIs gefunden (Tab. 5.4 und 5.5), die den Schluss nahelegen, dass im Laufe der CLL-Pathogenese p53 auch durch epigenetische Mechanismen inaktiviert bzw. in seiner Funktion beeinträchtigt wird. In der Gruppe mit 13q-Deletion war die Promotorregion von *MRPL41* hypermethyliert, dessen Aufgabe die Aktivierung und Stabilisierung von p53 darstellt. In allen hier untersuchten Patienten lag eine Hypermethylierung des mit *C17ORF81/DERP6* assoziierten CpG-Islands vor; DERP6 ist in die p53-vermittelte Gentranskription involviert (Yuan *et al.*, 2006).

Andererseits wurde eine Hypomethylierung - und damit mögliche Re-Expression- von Genen beobachtet, die p53 inhibieren, wie *SETD8* (alle CLL-Patienten) und *HNRPUL1* (Gruppe 17p-). So könnte aberrante DNA-Methylierung dazu beitragen, die Funktion von p53 weiter zu beeinträchtigen. Dies kann an der für die CLL bekannten Apoptoseresistenz beteiligt sein und durch Beeinträchtigung der Zellzykluskontrolle das Auftreten von Mutationen begünstigen.

Häufig findet man bei 17p-deletierten Patienten zusätzlich eine Mutation des verbleibenden p53-Allels (Zenz *et al.*, 2008). Die epigenetische Dysregulation von mit p53 interagierenden Proteinen könnte somit einen weiteren Mechanismus darstellen, das vom verbleibenden Allel exprimierte p53 negativ zu beeinflussen. Dies könnte auch Auswirkung auf die Entstehung einer Therapieresistenz haben.

6.2.2.1.2 Differenzielle Methylierung epigenetischer Regulatoren

Es wurden in dieser Arbeit auch differenziell methylierte CGIs in der Promotorregion von Genen gefunden, die ihrerseits an der epigenetischen Regulation beteiligt sind, wie dem Histon H2A1, der H4-spezifische Histonmethyltransferase PRMT1, der H4-Lysin-Methyltransferase SETD8, der Histon-Lysin-Demethylase JMJD5 und dem Methyl-Lysin-bindenden Protein CBX5/HP1. CBX5/HP1 interagiert mit der DNA-Methyltransferase DNMT1 und veranlasst dadurch die Stilllegung von Genen (Smallwood *et al.*, 2007). Veränderte Expression von epigenetischen Modifikatoren wie Histonmethyltransferasen oder DNMTs verursachen Veränderungen in der Regulation ihre Zielgene und können so ebenfalls zu maligner Transformation beitragen.

Aufgrund dieser Deregulation und den daraus resultierenden epigenetischen Veränderungen sind epigenetisch wirksame Therapien bei der Behandlung von CLL eine vielversprechende Option.

6.2.2.2 Veränderung der Genexpression von differenziell methylierten Genen

Um festzustellen, ob die Veränderung des Methylierungsstatus einzelner CGIs mit Veränderungen in der Genexpression der assoziierten Gene einhergeht, wurde eine genomweite Genexpressionsanalyse durchgeführt.

Besonders starke Änderungen der Genexpression im Vergleich zu Kontrollen konnte für die Gene *RASSF5/NORE1*, *XRCC6/Ku70*, *EMR2* und *TRIB2* nachgewiesen werden (Abb. 5.7).

RASSF5 ist hypomethyliert und überexprimiert in CLL und kann unter anderem Zellzyklusarrest in der G1-Phase verursachen (Feig und Buchsbaum 2002; Khokhlatchev *et al.*, 2002; Avruch *et al.*, 2006). Die Überexpression von *RASSF5* ist ein eher ungewöhnlicher Befund, da *RASSF5* in vielen Tumorarten hypermethyliert und als Tumorsuppressor beschrieben ist - dies ist jedoch dadurch erklärbar, dass die meisten Tumoren erhöhte proliferative Aktivität aufweisen und die *RASSF5*-Expression hierfür unterdrückt werden muss. CLL-Zellen hingegen weisen einen Arrest in der G1-Phase des Zellzyklus auf - die Überexpression von *RASSF5* könnte daher an der Induktion dieses Zellzyklusarrests beteiligt sein. Für *RASSF5* ist zwar auch eine pro-apoptotische Funktion beschrieben worden, die aber in CLL-Zellen vermutlich aus verschiedenen Gründen nicht ausgeübt werden kann: zum Einen besitzen CLL-Zellen eine Resistenz gegenüber Apoptose-induzierenden Signalen; zum Anderen ist bereits beschrieben worden, dass diese Funktion von verschiedenen weiteren Faktoren abhängt. Beispielsweise verursacht die Überexpression von *RASSF5* bei einigen Zellen lediglich Wachstumsarrest und verzögert die Progression durch die G1-Phase des Zellzyklus, ohne dass Anzeichen für Apoptose nachweisbar sind (Aoyama *et al.*, 2004). In anderen Untersuchungen wiederum wurde gezeigt, dass die Funktion von *RASSF5* von weiteren Faktoren wie der Aktivität bestimmter Signalwege abhängt, z.B. löst *RASSF5* in Abwesenheit von aktiviertem Ras p21-vermittelten Zellzyklusarrest, und nicht Apoptose aus (Calvisi *et al.*, 2009).

XRCC6 (X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 6, auch: Ku70) spielt eine wichtige Rolle bei der DNA-Reparatur. Der Knock-out dieses Gens verursacht chromosomale Instabilität (Teoh *et al.*, 2008). Auch bei 80% der CLL-Patienten liegen zytogenetische Aberrationen vor. Die Repression dieses Gens durch Methylierung des Promotor-CpG-Islands könnte während der Pathogenese der CLL an der Entstehung der genomischen und chromosomalen Aberrationen beteiligt sein. Dieser Effekt wird noch verstärkt durch den in CLL-Zellen häufig vorkommenden Verlust von p53, da dessen Funktion wichtig für DNA-Reparatur und Apoptoseinduktion nach DNA-Schäden ist.

EMR2 (EGF-like module-containing, mucin-like Hormone receptor 2) ist hypermethyliert und geringer exprimiert in Zellen der CLL als in Kontrollen. *EMR2* spielt in der Differenzierung, Reifung und Aktivierung von Blutzellen der myeloischen Linie eine Rolle (Chang *et al.*, 2007). Daher wäre auch eine ähnliche Rolle in Blutzellen der lymphatischen Linie denkbar. Dies könnte im Zusammenhang mit der Entstehung der CLL von Bedeutung sein, da der Verlust der Fähigkeit zur Differenzierung eine wichtige Rolle bei Krebs spielt - dies erweitert das Wachstums- und Teilungspotential der betroffenen Zellen.

Bei einigen Genen konnte beobachtet werden, dass, obwohl die Methylierung des betreffenden CGIs nur in einer der Subgruppen signifikant erhöht ist, die Genexpression dennoch in beiden Subgruppen herunterreguliert ist; dies ist beispielsweise bei *XRCC6* der Fall (Tab. 5.5 und Abb. 5.7). Dieser Effekt kann durch andere Mechanismen, die mit dieser Methode nicht nachweisbar sind, verursacht werden; diese können Deletionen, Mutationen, weitere Transkriptionsregulationsmechanismen oder anderen epigenetischen Modifikationen wie Histonmodifikationen sein. Dies könnte als „*second hit*“ im Sinne der Knudson „*two-hit-hypothesis*“ interpretiert werden, die in ihrer heutigen Form besagt, dass für die Entstehung von Krebs beide Allele eines Tumorsuppressors durch Mutation, Deletion, Translokation oder auch Epimutation ausgeschaltet werden müssen (Knudson 1971).

6.2.2.3 CpG002172 - ein Tumormarker?

Das CpG-Island CpG002172 scheint nicht an der Regulation des per definitionem assoziierten Genes, *UBE2I*, beteiligt zu sein, da trotz starker Hypermethylierung nur eine minimale Reduktion der Genexpression zu beobachten ist (Abb. 5.7). Dennoch ist dieses CGI von potentieller Bedeutung, da es sich als eines der signifikantesten hypermethylierten CGIs in allen Subgruppen der CLL im Vergleich zu den Kontrollen zeigte. Selbst in den Gruppen, die ansonsten ein heterogenes DNA-Methylierungsmuster aufwiesen (11q- und normaler Karyotyp), war dieses CpG-Island signifikant hypermethyliert (Abb. 5.8).

Möglicherweise liegt in der Nähe, z.B. auf dem komplementären Strang, ein noch unbekanntes, aber für die CLL relevantes Gen. Eine weitere Möglichkeit ist, dass möglicherweise auch Gene, die außerhalb der definierten Distanz liegen, durch ein CpG-Island reguliert werden können, also die Definition von assoziiertem Gen erweitert werden muss.

Ein von der Genregulation unabhängiger Aspekt ist die mögliche Verwendung des CpG-Islands als Biomarker. Biomarker gewinnen immer mehr an Bedeutung, beispielsweise als Tumormarker zur Früherkennung von malignen Erkrankungen oder auch als prognostische oder prädiktive Marker, um den Krankheitsverlauf bzw. das Ansprechen auf Therapien vorhersagen zu können.

Die Vorteile von Methylierungsmarkern sind, dass mittlerweile in allen Tumorentitäten Veränderungen des DNA-Methylierungsstatus gefunden wurden und somit diese Art Marker auf breiter Basis anwendbar ist. Desweiteren gibt es mittlerweile schnelle und zuverlässige Methoden für die Untersuchung der Methylierung einzelner Regionen, wie z.B. methylierungsspezifische PCR. Ein weiterer Vorteil ist, dass DNA als Untersuchungsmaterial dient; DNA ist relativ stabil, kann leicht isoliert werden und auch nach der Isolierung lange Zeit aufbewahrt werden. Beispielsweise kann die Hypermethylierung von p16 und/oder MGMT bereits 3 Jahre vor der Diagnose eines *Squamous Cell Lung Carcinomas* im Sputum von Probanden nachgewiesen werden und stellt somit einen exzellenten Früherkennungsmarker dar (Palmisano *et al.*, 2000; Mulero-Navarro und Esteller 2008). Leukämien sind aufgrund der leichten Zugänglichkeit des Probenmaterials geeignet für die Detektion von Markern, da die DNA aus peripherem Blut gewonnen werden kann. Das CpG-Island CpG002172 könnte somit als Tumormarker für CLL jeglicher Subgruppe etabliert werden. Außerdem ist dieses CGI in den leukämischen Zellen von Patienten, die am Mantelzell-Lymphom (MCL) - einer weiteren Form von Non-Hodgkin-Lymphomen - erkrankt sind, ebenfalls hypermethyliert (Abb. 5.9; in Kooperation mit Dr. Christof Schläger). Auch hier zeigte es sich beim Vergleich der Kontrollen und MCL-Patienten mittels SAM als signifikantestes CGI (Daten nicht gezeigt). Daher sollten - nach Validierung dieses Markers mit einer unabhängigen Methode in einem anderen Patientenkollektiv - weitere maligne Erkrankungen des Blutes auf diesen Marker hin getestet werden, da dies einen Tumormarker für weitere Tumoren der lymphatischen Linie oder sogar für alle hämatopoetischen Tumoren darstellen könnte. Außerdem sollte der Zeitpunkt bestimmt werden, zu dem die Methylierung dieses CpG-Islands stattfindet. Ist dies der Fall, bevor erste klinische Symptome auftreten, könnte dieser Marker bei der Früherkennung Anwendung finden.

6.2.2.4 Die Funktion von *TRIB2* in der CLL

Das mit *TRIB2* assoziierte CpG-Island zeigte in der SAM Analyse eine signifikante Hypermethylierung in der Gruppe der CLL-Patienten an (Tab. 5.5), und die Genexpression war gegenüber den Kontrollen stark reduziert (Abb. 5.7).

Die Überexpression von *TRIB2* kann in hämatopoetischen Zellen Apoptose induzieren (Lin *et al.*, 2007). Es wäre also möglich, dass die Repression der *TRIB2*-Expression an der Apoptoseresistenz der CLL-Zellen beteiligt ist. Daher wurde in dieser Arbeit das Resultat der Re-Expression dieses Gens auf CLL-Zellen untersucht. Durch die Überexpression von *TRIB2* konnte jedoch in primären CLL-Zellen keine Apoptose ausgelöst werden (Abb. 5.14). Dies könnte daran liegen, dass die Expressionsänderung dieses Gens alleine nicht ausreichend ist, um einen phänotypischen Effekt auf die Apoptose- bzw. Überlebensrate dieser Zellen

auszuüben, da CLL-Zellen in der Lage sind, die Induktion von Apoptose durch vielfältige Mechanismen zu kompensieren.

Um die Auswirkung der *TRIB2*-Expression auf CLL-Zellen weiter zu untersuchen, sollten nach Überexpression dieses Gens Apoptose-relevante Signalkaskaden beobachtet werden; hier gibt es möglicherweise einen Effekt, der aber in der Zelle an anderen Stellen aufgehoben wird und somit phänotypisch nicht sichtbar ist. Die Induktion von Apoptose funktioniert durch das Zusammenspiel vieler Mechanismen. Möglicherweise ist daher die Manipulation weiterer Gene notwendig. Außerdem könnte untersucht werden, ob *TRIB2* einen Einfluss auf das Überleben hat, wenn aktiv Apoptose induziert wird, beispielweise durch ein Chemotherapeutikum.

Eine weiterer interessanter Aspekt der Repression der *TRIB2*-Expression in CLL-Zellen war, dass *TRIB2* eine hohe Sequenzhomologie zu *SINK* (auch: *TRIB3*), einem Inhibitor des NFκB-Signalwegs, aufweist (Wu *et al.*, 2003). Der NFκB-Signalweg zeigt in CLL-Zellen eine überhöhte Aktivität (Furman *et al.*, 2000; Zaninoni *et al.*, 2003) und ist essentiell für das Überleben der CLL-Zellen (Cuní *et al.*, 2004).

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die Expression von *SINK/TRIB3* in CLL-Patienten reduziert ist (Abb. 5.13). Somit könnte die Repression von *TRIB2* als möglicher weiterer Inhibitor dieses Signalwegs die überhöhte Aktivität mitverursachen. In dem in dieser Arbeit durchgeführten NFκB-Aktivitätsassay konnte der Einfluss von *TRIB2* auf die Aktivität von NFκB nicht eindeutig nachgewiesen werden. Eine weitere Möglichkeit bezüglich der Funktion von *TRIB2* ist, dass *TRIB2*, wie für die zwei Homologe *TRIB1* und *TRIB3* gezeigt (Kiss-Toth *et al.*, 2004), in die Regulation des MAPK (*mitogen-activated protein kinase*)-Signalwegs involviert ist. Der MAPK-Signalweg ist unter anderem an Embryogenese, Differenzierung, Zellwachstum und Apoptose beteiligt, ist konstitutiv aktiv in CLL-Zellen und wichtig für das Überleben dieser Zellen in Kultur (Ringshausen *et al.*, 2004).

6.2.3 Unterschiede in der DNA-Methylierung zwischen den prognostischen Subgruppen

Eine Schwierigkeit bei der Behandlung von CLL-Patienten ist das heterogene Erscheinungsbild und der hochvariable Verlauf dieser Krankheit bei verschiedenen Patienten. Daher wurden prognostische Marker entwickelt, um eine Voraussage über den Verlauf der Krankheit geben zu können. CLL-Patienten können unter anderem anhand ihrer genetischen Aberrationen und des Mutationsstatus ihrer Immunglobulingene (IgVH-Status) in prognostische Subgruppen unterteilt werden. Allerdings sind die Ursachen für diese Variabilität noch nicht vollständig aufgeklärt. Daher wurden zwei dieser prognostischen Gruppen hier näher im Hinblick auf epigenetische Ursachen für diese Unterschiede untersucht. Eine Gruppe bestand aus Patienten mit einer 13q-Deletion als einziger

Aberration, welche mit 36% der Patienten die größte Subgruppe darstellt. Diese Patienten haben eine sehr gute Prognose, sie bedürfen in der Regel keiner Behandlung und haben oft eine normale Lebenserwartung. Diesen gegenüber steht die Gruppe der Patienten, die eine 17p-Deletion in ihren leukämischen Zellen aufweisen. Diese Deletion, als alleinige Deletion oder in Kombination mit weiteren, führt zu einer sehr aggressiven Form der CLL, die nicht selten mit Therapieresistenz einhergeht. Diese Gruppe hat die schlechteste Prognose innerhalb der CLL-Patienten mit einer Lebenserwartung von 32 Monaten ab dem Zeitpunkt der Diagnose.

Es wurden in einer PAM-Analyse signifikante Unterschiede in den DNA-Methylierungsmustern dieser beiden Subgruppen gefunden; es besteht also möglicherweise ein Zusammenhang zwischen dem DNA-Methylierungsmuster und der Prognose. Beim Vergleich mittels SAM mit der Kontrolle wurde eine größere Anzahl Veränderungen in der 17p-deletierten Gruppe - also in der Gruppe mit der schlechteren Prognose - gefunden, sowohl in Bezug auf Hypomethylierung als auch auf Hypermethylierung (Tab. 5.2). Daraus lässt sich schließen, dass hier mehr transformierende Veränderungen auf epigenetische Ebene stattgefunden haben, die zu einer aggressiveren Form der Erkrankung beitragen, z.B. durch Verstärkung der Therapie- und Apoptoseresistenz. Da 17p-deletierte Patienten die meisten aberrant methylierten CpGs aufweisen, könnten vor allem Patienten dieser Gruppe von der Therapie mit epigenetisch wirksamen Agenzien profitieren, da diese besonders häufig resistent gegenüber der Standardtherapie mit Chemotherapeutika sind.

Nach der „*two-hit-hypothesis*“ von Knudson (Knudson 1971) könnte man erwarten, dass viele der hypermethylierten Klone in häufig deletierten Regionen, wie den Chromosomenarmen 13q oder 17p, gefunden werden. Dies war jedoch hier nicht der Fall: auf dem Chromosomenarm 13q war in der 13q-deletierten Subgruppe lediglich ein CGI differenziell methyliert. Dieses war assoziiert mit dem Gen *ZIC2*, das schon im Medulloblastom als häufig hypermethyliert beschrieben wurde (Pfister *et al.*, 2007). Ähnlich verhielt es sich in der Gruppe mit 17p-Deletion; nur zwei der hypermethylierten CGIs in dieser Gruppe lagen auf dem Chromosomenarm 17p. Dennoch gab es, wie oben beschrieben, in den Ergebnissen dieser Arbeit Hinweise auf dieses Modell, das besagt, dass beide Allele eines Tumorsuppressors für die Entstehung von Krebs inaktiviert werden müssen: die Expression von *XRCC6* wird sowohl durch epigenetische als auch durch andere, hier nicht weiter untersuchte Mechanismen reprimiert.

6.2.3.1 In verschiedenen Subgruppen sind Gene unterschiedlicher Funktion differenziell methyliert

Auffällig war bei der Patientengruppe mit 17p-Deletion, dass viele der hypermethylierten - und damit möglicherweise reprimierten - Gene wichtig für die DNA-Reparatur und genomische Stabilität sind (*XRCC6*, *EME1*, *LRRIQ2*, *SGOL2*, *HIST1H2BJ*, *H2A1*; Tab. 5.5). Dies könnte dazu beitragen, dass Patienten dieser Gruppe häufig zusätzlich zur 17p-Deletion weitere Aberrationen aufweisen.

Desweiteren waren CGIs in der Promotorregion von Genen hypermethyliert, die in die Proliferation involviert sind: *JMJD5* und *PA2G4/EBP1*. Dies steht im Einklang damit, dass CLL-Zellen kaum proliferative Aktivität aufweisen. *JMJD5* aktiviert epigenetisch die Expression von Cyclin A1 und damit die Proliferation, während *loss-of function* dieses Gens zu Zellzyklusarrest führt (Hsia *et al.*, 2010). Die Überexpression einer Isoform von *PA2G4* stimuliert ebenfalls die Proliferation und inhibiert Apoptose (Liu *et al.*, 2006).

Hypomethyliert war in dieser Gruppe z.B. GHR (*Growth Hormone Receptor*), dessen Expression auch während der Tumorgenese von kolorektalen Tumoren hochreguliert wird (Wu *et al.*, 2007).

Auch in der Patientengruppe mit 13q-Deletion wurden hypermethylierte Gene gefunden, die wichtig für DNA-Reparatur und genomische Stabilität sind (*MARK*, *NEIL2*, *CEP350*), wenn auch weniger als in 17p-. Viele der in dieser Gruppe differenziell methylierten Gene können noch keiner eindeutigen krebsrelevanten Funktion zugeordnet werden.

Die hier durchgeführten Untersuchungen lassen den Schluss zu, dass in der Patientengruppe mit 13q-Deletion weniger krebsrelevante Gene differenziell methyliert sind, beispielsweise wurden keine Gene gefunden, die direkt an Proliferation/Zellzyklus oder Apoptose beteiligt waren. Dies stimmt mit der geringeren Aggressivität dieses Tumortyps überein.

6.2.3.2 Veränderung der Genexpression von differenziell methylierten Genen

Bei der Ermittlung subgruppenspezifisch methylierter Gene wurde das CpG-Island CpG008878 und das damit assoziierte Gen *ZBTB32* (Zinc finger and BTB domain containing 32; auch: FAZF) identifiziert. Das CGI war signifikant hypomethyliert in 17p- (Tab. 5.4) und *ZBTB32* wies bezüglich der Expression die größten Unterschiede zwischen Kontrollen und Patienten dieser Gruppe auf (Abb. 5.10). Das Gen gehört zur BTB/POZ-Zink-Finger-Familie von Transkriptionsfaktoren, die in B-Zell-Differenzierung, Regulierung von DNA-Schäden, Zellzyklusprogression und Entwicklung involviert sind (Kelly und Daniel 2006). Je nach Differenzierungsstadium variiert das Expressionslevel von *ZBTB32* in hämatopoetischen Zellen: in hämatopoetischen Vorläuferzellen ist das Expressionsniveau hoch, vor allem in der frühen proliferativen Phase, und sinkt dann während der terminalen Differenzierung zu

myeloischen und erythroiden Linien ab (Dai *et al.*, 2002). Für die lymphatische Linie wurde dies noch nicht untersucht, aber ein ähnlicher Verlauf ist denkbar.

17p-deletierte Patienten weisen wie die hämatopoetischen Vorläuferzellen eine hohe *ZBTB32*-Expression auf. Dies stimmt mit dem Verlauf der B-Zellreifung und dem Zeitpunkt der Transformation überein: findet die Transformation in einem frühen Stadium der B-Zellreifung statt, sind die Krebszellen weniger differenziert und die Krankheit aggressiver, nachweisbar an den unmutierten IgVH-Genen. Diese werden bei fast allen 17p-deletierten Patienten gefunden.

Durch einen direkten Vergleich der gruppenspezifischen Daten (Abb. 5.11) konnten zwei weitere Gene ermittelt werden, deren Methylierungsstatus und Expression sich signifikant in den beiden Subgruppen unterschieden: *DVL3* und *MTP18*. Diese werden in den folgenden Kapiteln beschrieben.

6.2.3.2.1 Aktivität des Wnt-Signalwegs in der CLL

Der Wnt-Signalweg ist konstitutiv aktiv in der CLL (Lu *et al.*, 2004) und ist an der Apoptoseresistenz beteiligt. Es wurde gezeigt, dass auch epigenetische Mechanismen in die Deregulierung dieses Signalwegs involviert sind, z.B. durch Hypermethylierung von Wnt-Inhibitoren (Chim *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2006a), wobei keine Unterschiede zwischen prognostischen Gruppen gefunden wurden.

Die drei Isoformen von Dishevelled - *DVL1*, 2 und 3 - spielen eine wichtige Rolle bei der Weiterleitung des Signals im Wnt-Signalweg (Wharton 2003; Lee *et al.*, 2008). In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass *DVL3* in Patienten mit 17p-Deletion hypermethyliert und geringer exprimiert ist (Abb. 5.12). Ähnlich verhält es sich mit *DVL2*, das ebenfalls eine geringere Expression in dieser Gruppe aufweist (Daten nicht gezeigt). Dieser Befund spricht zunächst für Unterschiede zwischen verschiedenen prognostischen Subgruppen bezüglich der Aktivität des Signalwegs.

Es wäre also möglich, dass Patienten mit 17p-Deletion eine Ausnahme von der generellen Überaktivierung des Wnt-Signalwegs in CLL darstellen - oder, dass die verringerte Expression der beiden Gene an anderer Stelle kompensiert wird. Für eine Kompensation spricht, dass mehrere Studien Hinweise darauf geben, dass andere Aktivatoren in Patienten mit unmutierten IgVH-Genen - die bei fast allen 17p-deletierten Patienten gefunden werden - hochreguliert sind, wie z.B. die Gene der Wnt-Familie (Memarian *et al.*, 2009; Lu *et al.*, 2004).

6.2.3.3 Funktion von MTP18 und des PI3-Kinase-Signalwegs in der CLL

Das mitochondriale Protein MTP18 ist in Patienten mit einer 13q-Deletion im Vergleich zu Patienten mit 17p-Deletion signifikant hypermethyliert und geringer exprimiert (Abb. 5.12). Über die Funktion von MTP18 ist nur wenig bekannt. Aus lediglich zwei veröffentlichten Publikationen weiß man, dass *MTP18* in manchen Zelltypen ein Zielgen der PI3-Kinase ist und der knock-down dieses Gens Apoptose auslösen kann. Der PI3-Kinase-Signalweg hat eine wichtige Bedeutung für viele Tumorarten und auch für die CLL, da die konstitutive Aktivität dieses Signalwegs an der Apoptoseresistenz der CLL-Zellen beteiligt ist (Ringshausen *et al.*, 2002).

Durch die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente konnte gezeigt werden, dass *MTP18* in Zellen der CLL ein Zielgen des PI3-Kinase Signalwegs ist (Abb. 5.16). Um die mögliche Auswirkung der unterschiedlichen Genexpression in den prognostischen Subgruppen näher zu untersuchen, wurden funktionelle Analysen durchgeführt. Um eine ähnliche Situation wie in 13q-deletierten Patienten zu simulieren, wurde die PI3-Kinase in einer Zelllinie eines Patienten, der eine 17p-Deletion aufwies, inhibiert. Daraus ergab sich, dass nach Inhibition der PI3-Kinase und damit verbundener Reduktion der *MTP18*-Expression ein Wachstumsstop in CLL-Zellen mit 17p-Deletion eintritt (Abb. 5.17a). In einem Teil der Zellen wurde Apoptose ausgelöst (Abb. 5.17b). Eine Zellzyklusanalyse ergab, dass kein Arrest in einer bestimmten Phase des Zellzyklus eintritt (Abb. 5.18), wie dies z.B. nach Behandlung mit dem Zellzyklusinhibitor und Chemotherapeutikum Nocodazol der Fall ist, der eine Akkumulation der MEC1-Zellen in der G2/M-Phase auslöst (Daten nicht gezeigt). Vielmehr scheint die Zellzyklusprogression - unabhängig von der Zellzyklusphase, in der sich die Zellen gerade befinden, gestoppt zu werden. Möglicherweise ist dies ein erster Schritt bei der Induktion der Apoptose.

So könnte die Aktivität des PI3-Kinase-Signalwegs, verbunden mit Unterschieden in der *MTP18*-Expression, zu der unterschiedlichen Prognose von 13q- und 17p-deletierten Patienten beitragen. Dies ist in Abb. 6.1 veranschaulicht: in 17p-Patienten liegt möglicherweise eine höhere PI3-Kinase Aktivität vor, verbunden mit hoher *MTP18*-Expression, erhöhter Apoptoseresistenz und besserem Überleben; liegt in 13q-Patienten eine geringere PI3-Kinase Aktivität vor, verbunden mit der verringerten Expression von *MTP18*, würde dies zu einer erhöhten Apoptoserate führen.

Weitere Untersuchungen sollten die PI3-Kinase Aktivität in verschiedenen Subgruppen zum Ziel haben, denn die unterschiedliche Aktivität könnte ebenfalls zu der Variabilität bezüglich der Prognose beitragen. Die Rolle der PI3-Kinase in den verschiedenen Subgruppen wurde bisher noch nicht genauer untersucht; lediglich Untersuchungen zur Genexpression wurden angestellt, welche aber keine Aussage über die Aktivität zulassen. Außerdem kann die

PI3-Kinase als *therapy target* dienen (Herman *et al.*, 2008) - sollte sich herausstellen, dass die PI3-Kinase-Aktivität tatsächlich in Patienten mit 17p-Deletion höher ist, wäre die Behandlung dieser Patienten mit PI3-Kinase-Inhibitor besonders vielversprechend und würde eine Alternative für therapieresistente Patienten darstellen.

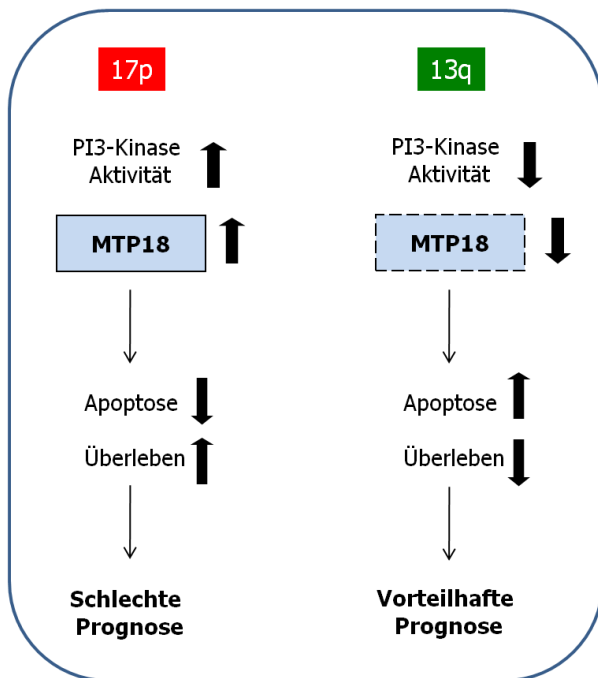


Abbildung 6.1 Die Funktion von MTP18 und des PI3-Kinase-Signalwegs in verschiedenen Subgruppen der CLL

6.2.4 Übersicht über epigenetische Veränderungen in der CLL

Die in dieser Arbeit identifizierten Veränderungen der DNA-Methylierung geben Hinweise auf weitere Ursachen und Mechanismen, die zur Entstehung der CLL beitragen. Abbildung 6.2 gibt noch einmal einen Überblick über die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse im Kontext mit weiteren Ursachen.

Außerdem wurden mögliche Gründe für Unterschiede unter den Patienten bezüglich der Prognose gefunden. Die Gruppe mit der schlechteren Prognose (Patienten mit 17p-Deletion) wies generell mehr Veränderungen im DNA-Methylierungsmuster auf. Außerdem waren von diesen Veränderungen mehr krebsrelevante Gene betroffen, wie z.B. Gene, die wichtig für die Aufrechterhaltung der genomischen Stabilität sind. Auch Unterschiede in der Aktivität bestimmter Signalwege können zur Variabilität der Prognose beitragen, wie z.B. die des PI3-Kinase-Signalwegs. Daher könnten Therapien, die die Inhibition bestimmter Signaltransduktionswege zum Ziel haben, besonders für 17p-deletierte Patienten von Vorteil sein.

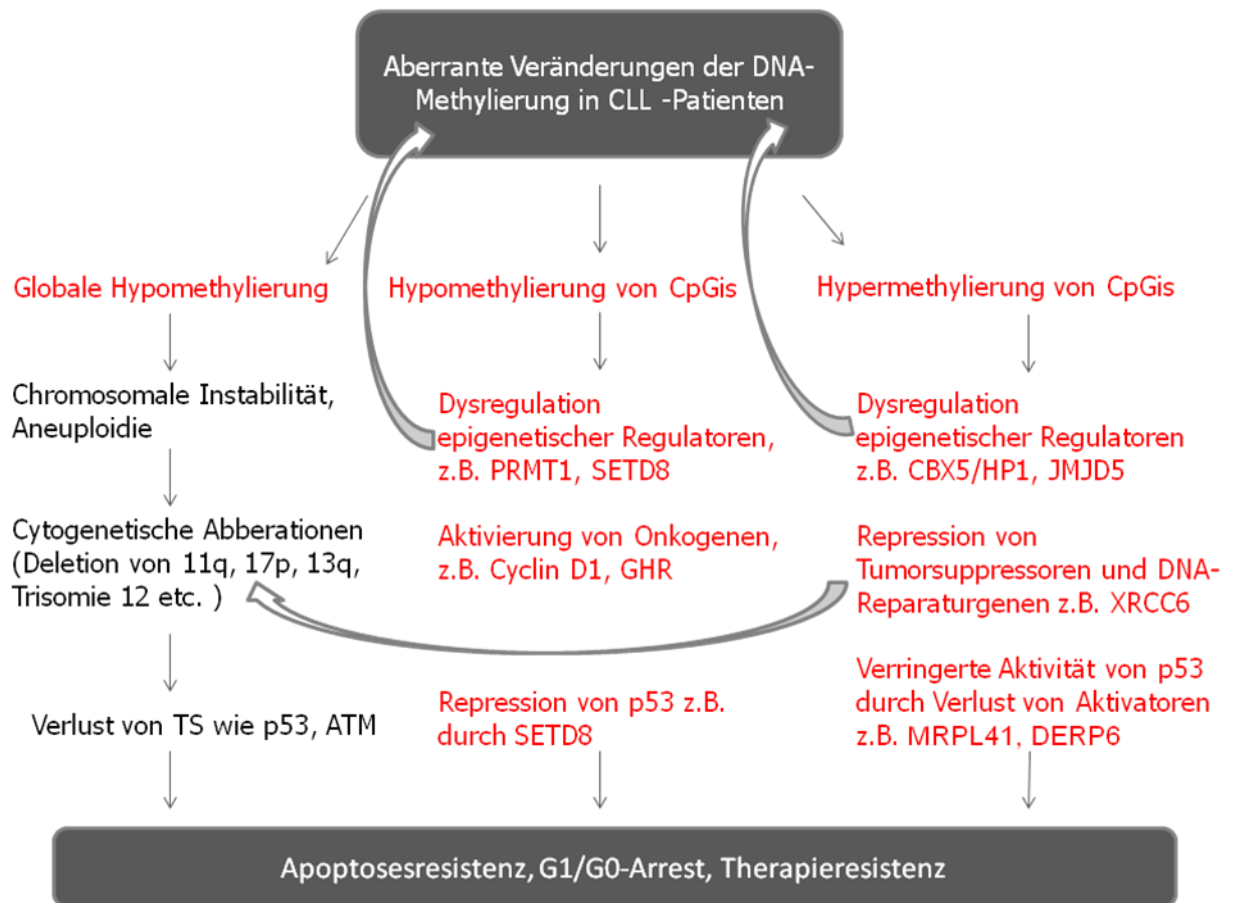


Abbildung 6.2 Zusammenfassung
Übersicht über Mechanismen in der CLL, die durch epigenetische Veränderungen zur Pathogenese beitragen. Rot markiert sind Ergebnisse aus dieser Arbeit. TS=Tumorsuppressor

6.3 Schlussbemerkung und Ausblick

In dieser Arbeit wurden zwei Tumorentitäten, die Chronische Lymphatische Leukämie und das Medulloblastom, auf aberrante Veränderungen der DNA-Methylierung und damit verbundene Veränderungen der Genexpression hin untersucht. Wie erwartet, wurden in beiden Entitäten Veränderungen dieser Art gefunden, die zur Pathogenese beitragen können. Die beiden untersuchten Tumorarten weisen nicht nur bezüglich ihrer Lokalisation und ihres Ursprungsgewebes sondern auch in ihren biologischen Eigenschaften auf: die Zellen der CLL zeichnen sich aus durch Apoptoseresistenz und Arrest in der G0-Phase des Zellzyklus, während Medulloblastomzellen, unter anderem durch die Amplifikation des Onkogens *MYC*, eine hohe Proliferationsrate aufweisen. Dies spiegelt sich auch in den epigenetischen Veränderungen wider: im Medulloblastom war *Mcm5* hypomethyliert und überexprimiert, ein Replikations-Initiations-Faktor, der Zellzyklusarrest aufheben kann. In Patienten mit CLL hingegen wurden Gene als hypomethyliert und überexprimiert gefunden, die Zellzyklusarrest auslösen können, wie *RASSF5*. Gene dagegen, die die Proliferation begünstigen, waren häufig hypermethyliert, wie zum Beispiel *JMJD5* und *PA2G4/EBP1* in Patienten mit 17p-Deletion. Dennoch gibt es Gemeinsamkeiten zwischen den beiden Tumorentitäten, wie z.B. auf genetischer Ebene den Verlust des Chromosomenarms 17p und damit des Tumorsuppressors p53. Daher waren die hier erbrachten Hinweise interessant, dass in beiden Entitäten die Funktion von p53 zusätzlich durch epigenetische Mechanismen beeinträchtigt wird.

Um in der Zukunft zusätzliche Veränderungen der DNA-Methylierung und Genexpression identifizieren zu können, die relevant für die Pathogenese und Prognose der CLL und des Medulloblastoms sind, sollten weitere Untersuchungen mit Methoden durchgeführt werden, die mehr der im menschlichen Genom vorhandenen CpG-Islands bzw. Gene abdecken. Für die Analyse der DNA-Methylierung ist insbesondere das *High-throughput-Bisulfite-Sequencing* (Taylor *et al.*, 2007) geeignet, da diese Methode nicht auf bestimmte CpG-Islands limitiert ist, so dass keine Einschränkung durch die Anzahl der Klone wie bei einem Array existiert; daher stellt dies eine wirklich genomweite Methode dar. Außerdem erreicht man damit durch die hohe Sequenzierentiefe eine ausgezeichnete Sensitivität.

7 Literaturverzeichnis

- Agarwal, Mukesh K, A R M Ruhul Amin, und Munna L Agarwal. "DNA replication licensing factor minichromosome maintenance deficient 5 rescues p53-mediated growth arrest." *Cancer Research* 67, Nr. 1 (Januar 1, 2007): 116-121.
- Alders, M, A Ryan, M Hodges, J Bliiek, A P Feinberg, O Privitera, A Westerveld, P F Little, und M Mannens. "Disruption of a novel imprinted zinc-finger gene, ZNF215, in Beckwith-Wiedemann syndrome.." *American Journal of Human Genetics* 66, Nr. 5 (Mai 2000): 1473-1484.
- Allis, C. David, T Jenuwein, D Reinberg 2006 Epigenetics. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Altschul, S F, W Gish, W Miller, E W Myers, und D J Lipman. "Basic local alignment search tool." *Journal of Molecular Biology* 215, Nr. 3 (Oktober 5, 1990): 403-410.
- Amir, R E, I B Van den Veyver, M Wan, C Q Tran, U Francke, und H Y Zoghbi. "Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2." *Nature Genetics* 23, Nr. 2 (Oktober 1999): 185-188.
- Aoyama, Yumi, Joseph Avruch, und Xian-Feng Zhang. "Nore1 inhibits tumor cell growth independent of Ras or the MST1/2 kinases." *Oncogene* 23, Nr. 19 (April 22, 2004): 3426-3433.
- Austen, Belinda, Judith E Powell, Azra Alvi, Ian Edwards, Laura Hooper, Jane Starczynski, A Malcolm R Taylor, Christopher Fegan, Paul Moss, und Tatjana Stankovic. "Mutations in the ATM gene lead to impaired overall and treatment-free survival that is independent of IGVH mutation status in patients with B-CLL." *Blood* 106, Nr. 9 (November 1, 2005): 3175-3182.
- Avruch, Joseph, Maria Praskova, Sara Ortiz-Vega, Matthew Liu, und Xian-Feng Zhang. "Nore1 and RASSF1 regulation of cell proliferation and of the MST1/2 kinases." *Methods in Enzymology* 407 (2006): 290-310.
- Bell, A C, und G Felsenfeld. "Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the Igf2 gene." *Nature* 405, Nr. 6785 (Mai 25, 2000): 482-485.
- Bergmann, M, L Hart, M Lindsay, P J Barnes, und R Newton. "IkappaBalpha degradation and nuclear factor-kappaB DNA binding are insufficient for interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha-induced kappaB-dependent transcription. Requirement for an additional activation pathway." *The Journal of Biological Chemistry* 273, Nr. 12 (März 20, 1998): 6607-6610.
- Binet, J L, A Auquier, G Dighiero, C Chastang, H Piguet, J Goasguen, G Vaugier, u. a. "A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis." *Cancer* 48, Nr. 1 (Juli 1, 1981): 198-206.
- Bird, A, M Taggart, M Frommer, O J Miller, und D Macleod. "A fraction of the mouse genome that is derived from islands of nonmethylated, CpG-rich DNA." *Cell* 40, Nr. 1 (Januar 1985): 91-99.
- Bird, A P, und A P Wolffe. "Methylation-induced repression--belts, braces, and chromatin." *Cell* 99, Nr. 5 (November 24, 1999): 451-454.
- Boelens, Jerina, Sofie Lust, Barbara Vanhoecke, und Fritz Offner. "Chronic lymphocytic leukaemia." *Anticancer Research* 29, Nr. 2 (Februar 2009): 605-615.
- Bourc'his, Déborah, und Timothy H Bestor. "Meiotic catastrophe and retrotransposon reactivation in male germ cells lacking Dnmt3L." *Nature* 431, Nr. 7004 (September 2, 2004): 96-99.
- Bruniquel, Denis, und Ronald H Schwartz. "Selective, stable demethylation of the interleukin-2 gene enhances transcription by an active process." *Nature Immunology* 4, Nr. 3 (März 2003): 235-240.
- Byrd, John C, Bercedis L Peterson, Vicki A Morrison, Kathleen Park, Robert Jacobson, Eva Hoke, James W Vardiman, Kanti Rai, Charles A Schiffer, und Richard A Larson. "Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential

- treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 9712 (CALGB 9712)." *Blood* 101, Nr. 1 (Januar 1, 2003): 6-14.
- Calin, George A, Amelia Cimmino, Muller Fabbri, Manuela Ferracin, Sylwia E Wojcik, Masayoshi Shimizu, Cristian Taccioli, u. a. "miR-15a and miR-16-1 cluster functions in human leukemia." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, Nr. 13 (April 1, 2008): 5166-5171.
- Calvisi, Diego F, Howard Donninger, Michele D Vos, Michael J Birrer, Laura Gordon, Virna Leaner, und Geoffrey J Clark. "NORE1A tumor suppressor candidate modulates p21CIP1 via p53." *Cancer Research* 69, Nr. 11 (Juni 1, 2009): 4629-4637.
- Center for History and New Media. "Schnelleinstieg," o. J.
http://zotero.org/support/quick_start_guide.
- Chang, Gin-Wen, John Q Davies, Martin Stacey, Simon Yona, Dawn M E Bowdish, Jörg Hamann, Tse-Ching Chen, Chun-Yen Lin, Siamon Gordon, und Hsi-Hsien Lin. "CD312, the human adhesion-GPCR EMR2, is differentially expressed during differentiation, maturation, and activation of myeloid cells." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 353, Nr. 1 (Februar 2, 2007): 133-138.
- CLL Trialists' Collaborative Group. "Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials." *Journal of the National Cancer Institute* 91, Nr. 10 (Mai 19, 1999): 861-868.
- Chen, Wen G, Qiang Chang, Yingxi Lin, Alexander Meissner, Anne E West, Eric C Griffith, Rudolf Jaenisch, und Michael E Greenberg. "Derepression of BDNF transcription involves calcium-dependent phosphorylation of MeCP2." *Science (New York, N.Y.)* 302, Nr. 5646 (Oktober 31, 2003): 885-889.
- Cheng, Jonathan C, Cindy B Matsen, Felicidad A Gonzales, Wei Ye, Sheldon Greer, Victor E Marquez, Peter A Jones, und Eric U Selker. "Inhibition of DNA methylation and reactivation of silenced genes by zebularine." *Journal of the National Cancer Institute* 95, Nr. 5 (März 5, 2003): 399-409.
- Chim, C S, R Pang, und R Liang. "Epigenetic dysregulation of the Wnt signalling pathway in chronic lymphocytic leukaemia." *Journal of Clinical Pathology* 61, Nr. 11 (November 2008): 1214-1219.
- Ciani, Elisabetta, Sabina Severi, Andrea Contestabile, Renata Bartesaghi, und Antonio Contestabile. "Nitric oxide negatively regulates proliferation and promotes neuronal differentiation through N-Myc downregulation." *Journal of Cell Science* 117, Nr. 20 (September 15, 2004): 4727-4737.
- Cimmino, Amelia, George Adrian Calin, Muller Fabbri, Marilena V Iorio, Manuela Ferracin, Masayoshi Shimizu, Sylwia E Wojcik, u. a. "miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, Nr. 39 (September 27, 2005): 13944-13949.
- Corcoran, Martin, Anton Parker, Jenny Orchard, Zadie Davis, Michaela Wirtz, Oliver J Schmitz, und David Oscier. "ZAP-70 methylation status is associated with ZAP-70 expression status in chronic lymphocytic leukemia." *Haematologica* 90, Nr. 8 (August 2005): 1078-1088.
- Crespo, Marta, Francesc Bosch, Neus Villamor, Beatriz Bellosillo, Dolors Colomer, María Rozman, Silvia Marcé, Armando López-Guillermo, Elies Campo, und Emili Montserrat. "ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia." *The New England Journal of Medicine* 348, Nr. 18 (Mai 1, 2003): 1764-1775.
- Cross, S H, J A Charlton, X Nan, und A P Bird. "Purification of CpG islands using a methylated DNA binding column." *Nature Genetics* 6, Nr. 3 (März 1994): 236-244.
- Cuní, S, P Pérez-Aciego, G Pérez-Chacón, J A Vargas, A Sánchez, F M Martín-Saavedra, S Ballester, J García-Marco, J Jordá, und A Durántez. "A sustained activation of PI3K/NF-kappaB pathway is critical for the survival of chronic lymphocytic leukemia B cells." *Leukemia: Official Journal of the Leukemia Society of America, Leukemia*

- Research Fund, U.K* 18, Nr. 8 (August 2004): 1391-1400.
- Dai, Mu-Shui, Nathalie Chevallier, Stacie Stone, Michael C Heinrich, Melanie McConnell, Tanja Reuter, Hal E Broxmeyer, Jonathan D Licht, Li Lu, und Maureen E Hoatlin. "The effects of the Fanconi anemia zinc finger (FAZF) on cell cycle, apoptosis, and proliferation are differentiation stage-specific." *The Journal of Biological Chemistry* 277, Nr. 29 (Juli 19, 2002): 26327-26334.
- Damle, R N, T Wasil, F Fais, F Ghiotto, A Valetto, S L Allen, A Buchbinder, u. a. "Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia." *Blood* 94, Nr. 6 (September 15, 1999): 1840-1847.
- Deiss, L P, E Feinstein, H Berissi, O Cohen, und A Kimchi. "Identification of a novel serine/threonine kinase and a novel 15-kD protein as potential mediators of the gamma interferon-induced cell death." *Genes & Development* 9, Nr. 1 (Januar 1, 1995): 15-30.
- Diede, Scott J, Jamie Guenthoer, Linda N Geng, Sarah E Mahoney, Michael Marotta, James M Olson, Hisashi Tanaka, und Stephen J Tapscott. "DNA methylation of developmental genes in pediatric medulloblastomas identified by denaturation analysis of methylation differences." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, Nr. 1 (Januar 5, 2010): 234-239.
- Dighiero, G, und T J Hamblin. "Chronic lymphocytic leukaemia." *Lancet* 371, Nr. 9617 (März 22, 2008): 1017-1029.
- Dighiero, G, K Maloum, B Desablens, B Cazin, M Navarro, R Leblay, M Leporrier, u. a. "Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia." *The New England Journal of Medicine* 338, Nr. 21 (Mai 21, 1998): 1506-1514.
- Döhner, H, K Fischer, M Bentz, K Hansen, A Benner, G Cabot, D Diehl, R Schlenk, J Coy, und S Stilgenbauer. "p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias." *Blood* 85, Nr. 6 (März 15, 1995): 1580-1589.
- Döhner, H, S Stilgenbauer, A Benner, E Leupolt, A Kröber, L Bullinger, K Döhner, M Bentz, und P Lichter. "Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia." *The New England Journal of Medicine* 343, Nr. 26 (Dezember 28, 2000): 1910-1916.
- Dreger, P, P Corradini, E Kimby, M Michallet, D Milligan, J Schetelig, W Wiktor-Jedrzejczak, D Niederwieser, M Hallek, und E Montserrat. "Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the EBMT transplant consensus." *Leukemia: Official Journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K* 21, Nr. 1 (Januar 2007): 12-17.
- Ecke, Ines, Frauke Petry, Albert Rosenberger, Svantje Tauber, Sven Mönkemeyer, Ina Hess, Christian Dullin, u. a. "Antitumor effects of a combined 5-aza-2'deoxyctidine and valproic acid treatment on rhabdomyosarcoma and medulloblastoma in Ptch mutant mice." *Cancer Research* 69, Nr. 3 (Februar 1, 2009): 887-895.
- Ehrlich, M, M A Gama-Sosa, L H Huang, R M Midgett, K C Kuo, R A McCune, und C Gehrke. "Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues of cells." *Nucleic Acids Research* 10, Nr. 8 (April 24, 1982): 2709-2721.
- Ehrlich, Melanie. "The ICF syndrome, a DNA methyltransferase 3B deficiency and immunodeficiency disease." *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)* 109, Nr. 1 (Oktober 2003): 17-28.
- Eichhorst, Barbara, und Michael Hallek. "Revision of the guidelines for diagnosis and therapy of chronic lymphocytic leukemia (CLL)." *Best Practice & Research. Clinical Haematology* 20, Nr. 3 (September 2007): 469-477.
- Erhardt, Sylvia, Frank Lyko, Justin F-X Ainscough, M Azim Surani, und Renato Paro. "Polycomb-group proteins are involved in silencing processes caused by a transgenic element from the murine imprinted H19/Igf2 region in Drosophila." *Development Genes and Evolution* 213, Nr. 7 (Juli 2003): 336-344.
- Esteller, Manel. "Aberrant DNA methylation as a cancer-inducing mechanism." *Annual Review*

- of Pharmacology and Toxicology* 45 (2005): 629-656.
- Esteller, Manel, und James G Herman. "Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours." *The Journal of Pathology* 196, Nr. 1 (Januar 2002): 1-7.
- Fabris, Sonia, Laura Mosca, Katia Todoerti, Giovanna Cutrona, Marta Lionetti, Daniela Intini, Serena Matis, u. a. "Molecular and transcriptional characterization of 17p loss in B-cell chronic lymphocytic leukemia." *Genes, Chromosomes & Cancer* 47, Nr. 9 (September 2008): 781-793.
- Feig, Larry A, und Rachel J Buchsbaum. "Cell signaling: life or death decisions of ras proteins." *Current Biology: CB* 12, Nr. 7 (April 2, 2002): R259-261.
- Feinberg, A P, und B Vogelstein. "Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts." *Nature* 301, Nr. 5895 (Januar 6, 1983): 89-92.
- Feinberg, Andrew P. "The epigenetics of cancer etiology." *Seminars in Cancer Biology* 14, Nr. 6 (Dezember 2004): 427-432.
- Feinberg, Andrew P, und Benjamin Tycko. "The history of cancer epigenetics." *Nature Reviews. Cancer* 4, Nr. 2 (Februar 2004): 143-153.
- Foon, Kenneth A, Michael Boyiadzis, Stephanie R Land, Stanley Marks, Anastasios Raptis, Louis Pietragallo, Dennis Meisner, u. a. "Chemoimmunotherapy with low-dose fludarabine and cyclophosphamide and high dose rituximab in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 27, Nr. 4 (Februar 1, 2009): 498-503.
- Fraga, Mario F, Esteban Ballestar, Maria F Paz, Santiago Ropero, Fernando Setien, Maria L Ballestar, Damia Heine-Suñer, u. a. "Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, Nr. 30 (Juli 26, 2005): 10604-10609.
- Frommer, M, L E McDonald, D S Millar, C M Collis, F Watt, G W Grigg, P L Molloy, und C L Paul. "A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands.." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89, Nr. 5 (März 1, 1992): 1827-1831.
- Furman, R R, Z Asgary, J O Mascarenhas, H C Liou, und E J Schattner. "Modulation of NF-kappa B activity and apoptosis in chronic lymphocytic leukemia B cells." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 164, Nr. 4 (Februar 15, 2000): 2200-2206.
- Ghia, Paolo, Andrés M Ferreri, und Federico Caligaris-Cappio. "Chronic lymphocytic leukemia." *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 64, Nr. 3 (Dezember 2007): 234-246.
- Goodrich, L V, L Milenković, K M Higgins, und M P Scott. "Altered neural cell fates and medulloblastoma in mouse patched mutants." *Science (New York, N.Y.)* 277, Nr. 5329 (August 22, 1997): 1109-1113.
- Greco, T L, D J Sussman, und S A Camper. "Dishevelled-2 maps to human chromosome 17 and distal to Wnt3a and vestigial tail (vt) on mouse chromosome 11." *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society* 7, Nr. 6 (Juni 1996): 475-476.
- Hallek, Michael, Bruce D Cheson, Daniel Catovsky, Federico Caligaris-Cappio, Guillaume Dighiero, Hartmut Döhner, Peter Hillmen, u. a. "Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines." *Blood* 111, Nr. 12 (Juni 15, 2008): 5446-5456.
- Hamblin, T J, Z Davis, A Gardiner, D G Oscier, und F K Stevenson. "Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia." *Blood* 94, Nr. 6 (September 15, 1999): 1848-1854.
- Hammarlund, Marianne, Martin M Corcoran, William Wilson, Chaoyong Zhu, Stefan Einhorn,

- Olle Sangfelt, und Dan Grandér. "Characterization of a novel B-CLL candidate gene--DLEU7--located in the 13q14 tumor suppressor locus." *FEBS Letters* 556, Nr. 1 (Januar 2, 2004): 75-80.
- Hanada, M, D Delia, A Aiello, E Stadtmauer, und J C Reed. "bcl-2 gene hypomethylation and high-level expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia." *Blood* 82, Nr. 6 (September 15, 1993): 1820-1828.
- Hanahan, D, und R A Weinberg. "The hallmarks of cancer." *Cell* 100, Nr. 1 (Januar 7, 2000): 57-70.
- Herman, J G, A Merlo, L Mao, R G Lapidus, J P Issa, N E Davidson, D Sidransky, und S B Baylin. "Inactivation of the CDKN2/p16/MTS1 gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all common human cancers." *Cancer Research* 55, Nr. 20 (Oktober 15, 1995): 4525-4530.
- Herman, Sarah E M, Amber L Gordon, Amy J Wagner, Nyla A Heerema, Weiqiang Zhao, Joseph M Flynn, Jeffrey Jones, u. a. "The phosphatidylinositol 3-kinase- $\{\delta\}$ inhibitor CAL-101 demonstrates promising pre-clinical activity in chronic lymphocytic leukemia by antagonizing intrinsic and extrinsic cellular survival signals." *Blood* (Juni 3, 2010). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20522708>.
- Hoegel, Carsten, Boris Pfander, George-Lucian Moldovan, George Pyrowolakis, und Stefan Jentsch. "RAD6-dependent DNA repair is linked to modification of PCNA by ubiquitin and SUMO." *Nature* 419, Nr. 6903 (September 12, 2002): 135-141.
- Hsia, Datsun A, Clifford G Tepper, Mamata R Pochampalli, Elaine Y C Hsia, Chie Izumiya, Steve B Huerta, Michael E Wright, Hong-Wu Chen, Hsing-Jien Kung, und Yoshihiro Izumiya. "KDM8, a H3K36me2 histone demethylase that acts in the cyclin A1 coding region to regulate cancer cell proliferation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, Nr. 21 (Mai 25, 2010): 9671-9676.
- Huang, T H, M R Perry, und D E Laux. "Methylation profiling of CpG islands in human breast cancer cells." *Human Molecular Genetics* 8, Nr. 3 (März 1999): 459-470.
- Inda, María-del-Mar, und Javier S Castresana. "RASSF1A promoter is highly methylated in primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system." *Neuropathology: Official Journal of the Japanese Society of Neuropathology* 27, Nr. 4 (August 2007): 341-346.
- Jelinek, D F, R C Tschumper, S M Geyer, N D Bone, G W Dewald, C A Hanson, M J Stenson, T E Witzig, A Tefferi, und N E Kay. "Analysis of clonal B-cell CD38 and immunoglobulin variable region sequence status in relation to clinical outcome for B-chronic lymphocytic leukaemia." *British Journal of Haematology* 115, Nr. 4 (Dezember 2001): 854-861.
- Jones, P L, G J Veenstra, P A Wade, D Vermaak, S U Kass, N Landsberger, J Strouboulis, und A P Wolffe. "Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription." *Nature Genetics* 19, Nr. 2 (Juni 1998): 187-191.
- Jones, Peter A, und Stephen B Baylin. "The fundamental role of epigenetic events in cancer." *Nature Reviews. Genetics* 3, Nr. 6 (Juni 2002): 415-428.
- Kaminskas, Edvardas, Ann Farrell, Sophia Abraham, Amy Baird, Li-Shan Hsieh, Shwu-Luan Lee, John K Leighton, u. a. "Approval summary: azacitidine for treatment of myelodysplastic syndrome subtypes." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 11, Nr. 10 (Mai 15, 2005): 3604-3608.
- Karadonta, A-V, M G Alexandrakis, T V Kourelis, A Manola, K Garlemou, N E Stathakis, und D Kyriakou. "Abnormal expression of C3ORF9 gene in patients with myelodysplastic syndromes." *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* 22, Nr. 3 (September 2009): 787-793.
- Kelly, Kevin F, und Juliet M Daniel. "POZ for effect--POZ-ZF transcription factors in cancer and development." *Trends in Cell Biology* 16, Nr. 11 (November 2006): 578-587.
- Khokhlatchev, Andrei, Shahrooz Rabizadeh, Ramnik Xavier, Maria Nedwidek, Tao Chen, Xian-feng Zhang, Brian Seed, und Joseph Avruch. "Identification of a novel Ras-regulated proapoptotic pathway." *Current Biology: CB* 12, Nr. 4 (Februar 19, 2002): 253-265.

- Kiss-Toth, Endre, Stephanie M Bagstaff, Hye Y Sung, Veronika Jozsa, Clare Dempsey, Jim C Caunt, Kevin M Oxley, u. a. "Human tribbles, a protein family controlling mitogen-activated protein kinase cascades." *The Journal of Biological Chemistry* 279, Nr. 41 (Oktober 8, 2004): 42703-42708.
- Kitada, S, J Andersen, S Akar, J M Zapata, S Takayama, S Krajewski, H G Wang, u. a. "Expression of apoptosis-regulating proteins in chronic lymphocytic leukemia: correlations with In vitro and In vivo chemoresponses." *Blood* 91, Nr. 9 (Mai 1, 1998): 3379-3389.
- Klattenhoff, C., und W. Theurkauf. "Biogenesis and germline functions of piRNAs." *Development* 135, Nr. 1 (11, 2007): 3-9.
- Klose, Robert J, und Adrian P Bird. "Genomic DNA methylation: the mark and its mediators." *Trends in Biochemical Sciences* 31, Nr. 2 (Februar 2006): 89-97.
- Klose, Robert J, Shireen A Sarraf, Lars Schmiedeberg, Suzanne M McDermott, Irina Stancheva, und Adrian P Bird. "DNA binding selectivity of MeCP2 due to a requirement for A/T sequences adjacent to methyl-CpG." *Molecular Cell* 19, Nr. 5 (September 2, 2005): 667-678.
- Knudson, A G. "Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 68, Nr. 4 (April 1971): 820-823.
- Kongkham, P N, P A Northcott, S E Croul, C A Smith, M D Taylor, und J T Rutka. "The SFRP family of WNT inhibitors function as novel tumor suppressor genes epigenetically silenced in medulloblastoma." *Oncogene* 29, Nr. 20 (Mai 20, 2010): 3017-3024.
- Kornberg, R D. "Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA." *Science (New York, N.Y.)* 184, Nr. 139 (Mai 24, 1974): 868-871.
- Korz, Christian, Armin Pscherer, Axel Benner, Daniel Mertens, Claudia Schaffner, Elke Leupolt, Hartmut Döhner, Stephan Stilgenbauer, und Peter Lichter. "Evidence for distinct pathomechanisms in B-cell chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma by quantitative expression analysis of cell cycle and apoptosis-associated genes." *Blood* 99, Nr. 12 (Juni 15, 2002): 4554-4561.
- Küppers, Ralf. "Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis." *Nature Reviews. Cancer* 5, Nr. 4 (April 2005): 251-262.
- Kuo, M H, und C D Allis. "Roles of histone acetyltransferases and deacetylases in gene regulation." *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology* 20, Nr. 8 (August 1998): 615-626.
- Lee, Yi-Nan, Yuan Gao, und Hsien-Yu Wang. "Differential mediation of the Wnt canonical pathway by mammalian Dishevelleds-1, -2, and -3." *Cellular Signalling* 20, Nr. 2 (Februar 2008): 443-452.
- Lehnertz, Bernhard, Yoshihide Ueda, Alwin A H A Derijck, Ulrich Braunschweig, Laura Perez-Burgos, Stefan Kubicek, Taiping Chen, En Li, Thomas Jenuwein, und Antoine H F M Peters. "Suv39h-mediated histone H3 lysine 9 methylation directs DNA methylation to major satellite repeats at pericentric heterochromatin." *Current Biology: CB* 13, Nr. 14 (Juli 15, 2003): 1192-1200.
- Li, E, T H Bestor, und R Jaenisch. "Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality." *Cell* 69, Nr. 6 (Juni 12, 1992): 915-926.
- Li, G C, H Ouyang, X Li, H Nagasawa, J B Little, D J Chen, C C Ling, Z Fuks, und C Cordon-Cardo. "Ku70: a candidate tumor suppressor gene for murine T cell lymphoma." *Molecular Cell* 2, Nr. 1 (Juli 1998): 1-8.
- Lin, H H, M Stacey, J Hamann, S Gordon, und A J McKnight. "Human EMR2, a novel EGF-TM7 molecule on chromosome 19p13.1, is closely related to CD97." *Genomics* 67, Nr. 2 (Juli 15, 2000): 188-200.
- Lin, Kou-Ray, Shern-Fwu Lee, Chien-Min Hung, Chung-Leung Li, Hsin-Fang Yang-Yen, und Jeffrey J Y Yen. "Survival factor withdrawal-induced apoptosis of TF-1 cells involves a TRB2-Mcl-1 axis-dependent pathway." *The Journal of Biological Chemistry* 282, Nr. 30 (Juli 27, 2007): 21962-21972.

- Liu, Te-Hui, Aparna Raval, Shih-Shih Chen, Jennifer J Matkovic, John C Byrd, und Christoph Plass. "CpG island methylation and expression of the secreted frizzled-related protein gene family in chronic lymphocytic leukemia." *Cancer Research* 66, Nr. 2 (Januar 15, 2006): 653-658.
- Liu, Zhixue, Jee-Yin Ahn, Xia Liu, und Keqiang Ye. "Ebp1 isoforms distinctively regulate cell survival and differentiation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, Nr. 29 (Juli 18, 2006): 10917-10922.
- Lu, Desheng, Yandong Zhao, Rommel Tawatao, Howard B Cottam, Malini Sen, Lorenzo M Leoni, Thomas J Kipps, Maripat Corr, und Dennis A Carson. "Activation of the Wnt signaling pathway in chronic lymphocytic leukemia." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, Nr. 9 (März 2, 2004): 3118-3123.
- Maiorano, Domenico, Malik Lutzmann, und Marcel Méchali. "MCM proteins and DNA replication." *Current Opinion in Cell Biology* 18, Nr. 2 (April 2006): 130-136.
- Malone, Colin D., und Gregory J. Hannon. "Small RNAs as Guardians of the Genome." *Cell* 136, Nr. 4 (2, 2009): 656-668.
- Marino, Silvia. "Medulloblastoma: developmental mechanisms out of control." *Trends in Molecular Medicine* 11, Nr. 1 (Januar 2005): 17-22.
- Matrai, Z, K Lin, M Dennis, P Sherrington, M Zuzel, A R Pettitt, und J C Cawley. "CD38 expression and Ig VH gene mutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia." *Blood* 97, Nr. 6 (März 15, 2001): 1902-1903.
- Meehan, R R, J D Lewis, S McKay, E L Kleiner, und A P Bird. "Identification of a mammalian protein that binds specifically to DNA containing methylated CpGs." *Cell* 58, Nr. 3 (August 11, 1989): 499-507.
- Memarian, Ali, Mohammad Hojjat-Farsangi, Hossein Asgarian-Omran, Vahid Younesi, Mahmood Jeddi-Tehrani, Ramazan Ali Sharifian, Jalal Khoshnoodi, Seyed Mohsen Razavi, Hodjatallah Rabbani, und Fazel Shokri. "Variation in WNT genes expression in different subtypes of chronic lymphocytic leukemia." *Leukemia & Lymphoma* 50, Nr. 12 (Dezember 2009): 2061-2070.
- Mendrzyk, Frank, Bernhard Radlwimmer, Stefan Joos, Felix Kokocinski, Axel Benner, Daniel E Stange, Kai Neben, u. a. "Genomic and protein expression profiling identifies CDK6 as novel independent prognostic marker in medulloblastoma." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 23, Nr. 34 (Dezember 1, 2005): 8853-8862.
- Merlo, A, J G Herman, L Mao, D J Lee, E Gabrielson, P C Burger, S B Baylin, und D Sidransky. "5' CpG island methylation is associated with transcriptional silencing of the tumour suppressor p16/CDKN2/MTS1 in human cancers." *Nature Medicine* 1, Nr. 7 (Juli 1995): 686-692.
- Mertens, Daniel, Stephan Wolf, Petra Schroeter, Claudia Schaffner, Hartmut Döhner, Stephan Stilgenbauer, und Peter Lichter. "Down-regulation of candidate tumor suppressor genes within chromosome band 13q14.3 is independent of the DNA methylation pattern in B-cell chronic lymphocytic leukemia." *Blood* 99, Nr. 11 (Juni 1, 2002): 4116-4121.
- Mertens, Daniel, Stephan Wolf, Cordula Tschuch, Cora Mund, Dirk Kienle, Sibylle Ohl, Petra Schroeter, u. a. "Allelic silencing at the tumor-suppressor locus 13q14.3 suggests an epigenetic tumor-suppressor mechanism." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, Nr. 20 (Mai 16, 2006): 7741-7746.
- Mulero-Navarro, Sonia, und Manel Esteller. "Epigenetic biomarkers for human cancer: the time is now." *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 68, Nr. 1 (Oktober 2008): 1-11.
- Nakamura, N, und K Takenaga. "Hypomethylation of the metastasis-associated S100A4 gene correlates with gene activation in human colon adenocarcinoma cell lines." *Clinical & Experimental Metastasis* 16, Nr. 5 (Juli 1998): 471-479.
- Nan, X, H H Ng, C A Johnson, C D Laherty, B M Turner, R N Eisenman, und A Bird.

- "Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex." *Nature* 393, Nr. 6683 (Mai 28, 1998): 386-389.
- Ooi, Steen K T, Anne H O'Donnell, und Timothy H Bestor. "Mammalian cytosine methylation at a glance." *Journal of Cell Science* 122, Nr. 16 (August 15, 2009): 2787-2791.
- Palmisano, W A, K K Divine, G Saccomanno, F D Gilliland, S B Baylin, J G Herman, und S A Belinsky. "Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum." *Cancer Research* 60, Nr. 21 (November 1, 2000): 5954-5958.
- Pfister, Stefan, Marc Remke, Axel Benner, Frank Mendrzyk, Grischa Toedt, Jörg Felsberg, Andrea Wittmann, u. a. "Outcome prediction in pediatric medulloblastoma based on DNA copy-number aberrations of chromosomes 6q and 17q and the MYC and MYCN loci." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 27, Nr. 10 (April 1, 2009): 1627-1636.
- Pfister, Stefan, Christof Schlaeger, Frank Mendrzyk, Andrea Wittmann, Axel Benner, Andreas Kulozik, Wolfram Scheurlen, Bernhard Radlwimmer, und Peter Lichter. "Array-based profiling of reference-independent methylation status (aPRIMES) identifies frequent promoter methylation and consecutive downregulation of ZIC2 in pediatric medulloblastoma." *Nucleic Acids Research* 35, Nr. 7 (2007): e51.
- Pizzuti, A, F Amati, G Calabrese, A Mari, A Colosimo, V Silani, L Giardino, u. a. "cDNA characterization and chromosomal mapping of two human homologues of the *Drosophila* dishevelled polarity gene." *Human Molecular Genetics* 5, Nr. 7 (Juli 1996): 953-958.
- Rae, F K, J D Hooper, H J Eyre, G R Sutherland, D L Nicol, und J A Clements. "TTYH2, a human homologue of the *Drosophila melanogaster* gene *tweety*, is located on 17q24 and upregulated in renal cell carcinoma." *Genomics* 77, Nr. 3 (Oktober 2001): 200-207.
- Rai, K R, und T Han. "Prognostic factors and clinical staging in chronic lymphocytic leukemia." *Hematology/Oncology Clinics of North America* 4, Nr. 2 (April 1990): 447-456.
- Rai, K R, A Sawitsky, E P Cronkite, A D Chanana, R N Levy, und B S Pasternack. "Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia." *Blood* 46, Nr. 2 (August 1975): 219-234.
- Raval, Aparna, David M Lucas, Jennifer J Matkovic, Kristi L Bennett, Sandya Liyanarachchi, Donn C Young, Laura Rassenti, u. a. "TWIST2 demonstrates differential methylation in immunoglobulin variable heavy chain mutated and unmutated chronic lymphocytic leukemia." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 23, Nr. 17 (Juni 10, 2005): 3877-3885.
- Raval, Aparna, Stephan M Tanner, John C Byrd, Elizabeth B Angerman, James D Perko, Shih-Shih Chen, Björn Hackanson, u. a. "Downregulation of death-associated protein kinase 1 (DAPK1) in chronic lymphocytic leukemia." *Cell* 129, Nr. 5 (Juni 1, 2007): 879-890.
- Richon, V M, T W Sandhoff, R A Rifkind, und P A Marks. "Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21WAF1 expression and gene-associated histone acetylation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, Nr. 18 (August 29, 2000): 10014-10019.
- Ringshausen, I, T Dechow, F Schneller, K Weick, M Oelsner, C Peschel, und T Decker. "Constitutive activation of the MAPkinase p38 is critical for MMP-9 production and survival of B-CLL cells on bone marrow stromal cells." *Leukemia: Official Journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K* 18, Nr. 12 (Dezember 2004): 1964-1970.
- Ringshausen, Ingo, Folker Schneller, Christian Bogner, Susanne Hipp, Justus Duyster, Christian Peschel, und Thomas Decker. "Constitutively activated phosphatidylinositol-3 kinase (PI-3K) is involved in the defect of apoptosis in B-CLL: association with protein kinase Cdelta." *Blood* 100, Nr. 10 (November 15, 2002): 3741-3748.
- Robak, Tadeusz. "Recent progress in the management of chronic lymphocytic leukemia." *Cancer Treatment Reviews* 33, Nr. 8 (Dezember 2007): 710-728.

- Robak, Tadeusz, Anna Dmoszynska, Philippe Solal-Céligny, Krzysztof Warzocha, Javier Loscertales, John Catalano, Boris V Afanasiev, u. a. "Rituximab plus fludarabine and cyclophosphamide prolongs progression-free survival compared with fludarabine and cyclophosphamide alone in previously treated chronic lymphocytic leukemia." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 28, Nr. 10 (April 1, 2010): 1756-1765.
- Robertson, Keith D. "DNA methylation and human disease." *Nature Reviews. Genetics* 6, Nr. 8 (August 2005): 597-610.
- Rush, Laura J, Aparna Raval, Pauline Funchain, Amy J Johnson, Lisa Smith, David M Lucas, Melania Bembea, u. a. "Epigenetic profiling in chronic lymphocytic leukemia reveals novel methylation targets." *Cancer Research* 64, Nr. 7 (April 1, 2004): 2424-2433.
- Santi, D V, A Norment, und C E Garrett. "Covalent bond formation between a DNA-cytosine methyltransferase and DNA containing 5-azacytosine." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81, Nr. 22 (November 1984): 6993-6997.
- Saydam, Okay, Ozlem Senol, Tienneke B M Schaaïj-Visser, Thang V Pham, Sander R Piersma, Anat O Stemmer-Rachamimov, Thomas Wurdinger, Saskia M Peerdeman, und Connie R Jimenez. "Comparative protein profiling reveals minichromosome maintenance (MCM) proteins as novel potential tumor markers for meningiomas." *Journal of Proteome Research* 9, Nr. 1 (Januar 2010): 485-494.
- Schaffner, C, I Idler, S Stilgenbauer, H Döhner, und P Lichter. "Mantle cell lymphoma is characterized by inactivation of the ATM gene." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, Nr. 6 (März 14, 2000): 2773-2778.
- Schaffner, C, S Stilgenbauer, G A Rappold, H Döhner, und P Lichter. "Somatic ATM mutations indicate a pathogenic role of ATM in B-cell chronic lymphocytic leukemia." *Blood* 94, Nr. 2 (Juli 15, 1999): 748-753.
- Semënov, M V, und M Snyder. "Human dishevelled genes constitute a DHR-containing multigene family." *Genomics* 42, Nr. 2 (Juni 1, 1997): 302-310.
- Serra-Barrionuevo, L. (2008) Functional characterization of candidate tumor suppressor genes localized in the critical chromosomal region 13q14. Faculty of Natural Sciences. University of Ulm, Ulm
- Seto, Anita G., Robert E. Kingston, und Nelson C. Lau. "The Coming of Age for Piwi Proteins." *Molecular Cell* 26, Nr. 5 (6, 2007): 603-609.
- Shen, Z, P E Pardington-Purtymun, J C Comeaux, R K Moyzis, und D J Chen. "Associations of UBE2I with RAD52, UBL1, p53, and RAD51 proteins in a yeast two-hybrid system." *Genomics* 37, Nr. 2 (Oktober 15, 1996): 183-186.
- Shi, Y, M Zou, N R Farid, und M C Paterson. "Association of FHIT (fragile histidine triad), a candidate tumour suppressor gene, with the ubiquitin-conjugating enzyme hUBC9." *The Biochemical Journal* 352 Pt 2 (Dezember 1, 2000): 443-448.
- Smallwood, Andrea, Pierre-Olivier Estève, Sriharsa Pradhan, und Michael Carey. "Functional cooperation between HP1 and DNMT1 mediates gene silencing." *Genes & Development* 21, Nr. 10 (Mai 15, 2007): 1169-1178.
- Smiraglia, Dominic J, und Christoph Plass. "The study of aberrant methylation in cancer via restriction landmark genomic scanning." *Oncogene* 21, Nr. 35 (August 12, 2002): 5414-5426.
- Smyth, Gordon K, und Terry Speed. "Normalization of cDNA microarray data." *Methods (San Diego, Calif.)* 31, Nr. 4 (Dezember 2003): 265-273.
- Solinas-Toldo, S, S Lampel, S Stilgenbauer, J Nickolenko, A Benner, H Döhner, T Cremer, und P Lichter. "Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances." *Genes, Chromosomes & Cancer* 20, Nr. 4 (Dezember 1997): 399-407.
- Stacchini, A, M Aragno, A Vallario, A Alfarano, P Circosta, D Gottardi, A Faldella, u. a. "MEC1 and MEC2: two new cell lines derived from B-chronic lymphocytic leukaemia in prolymphocytoid transformation." *Leukemia Research* 23, Nr. 2 (Februar 1999): 127-

136.

- Stilgenbauer, S, J Nickolenko, J Wilhelm, S Wolf, S Weitz, K Döhner, T Boehm, H Döhner, und P Lichter. "Expressed sequences as candidates for a novel tumor suppressor gene at band 13q14 in B-cell chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma." *Oncogene* 16, Nr. 14 (April 9, 1998): 1891-1897.
- Stilgenbauer, Stephan, Sandrine Sander, Lars Bullinger, Axel Benner, Elke Leupolt, Dirk Winkler, Alexander Kröber, Dirk Kienle, Peter Lichter, und Hartmut Döhner. "Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia: acquisition of high-risk genomic aberrations associated with unmutated VH, resistance to therapy, and short survival." *Haematologica* 92, Nr. 9 (September 2007): 1242-1245.
- Stresemann, Carlo, Bodo Brueckner, Tanja Musch, Helga Stopper, und Frank Lyko. "Functional diversity of DNA methyltransferase inhibitors in human cancer cell lines." *Cancer Research* 66, Nr. 5 (März 1, 2006): 2794-2800.
- Taylor, Kristen H, Robin S Kramer, J Wade Davis, Juyuan Guo, Deiter J Duff, Dong Xu, Charles W Caldwell, und Huidong Shi. "Ultradeep bisulfite sequencing analysis of DNA methylation patterns in multiple gene promoters by 454 sequencing." *Cancer Research* 67, Nr. 18 (September 15, 2007): 8511-8518.
- Teoh, Narci C, Yock Young Dan, Karen Swisshelm, Stacey Lehman, Jocelyn H Wright, Jamil Haque, Yansong Gu, und Nelson Fausto. "Defective DNA strand break repair causes chromosomal instability and accelerates liver carcinogenesis in mice." *Hepatology (Baltimore, Md.)* 47, Nr. 6 (Juni 2008): 2078-2088.
- Tibshirani, Robert, Trevor Hastie, Balasubramanian Narasimhan, und Gilbert Chu. "Diagnosis of multiple cancer types by shrunken centroids of gene expression." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, Nr. 10 (Mai 14, 2002): 6567-6572.
- Tondera, Daniel, Ansgar Santel, Rolf Schwarzer, Sybille Dames, Klaus Giese, Anke Klippel, und Jörg Kaufmann. "Knockdown of MTP18, a novel phosphatidylinositol 3-kinase-dependent protein, affects mitochondrial morphology and induces apoptosis." *The Journal of Biological Chemistry* 279, Nr. 30 (Juli 23, 2004): 31544-31555.
- Tschuch, C. (2006) Functional characterization of candidate genes in the pathogenesis of B cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). Medical Faculty. Ruperto-Carola-University, Heidelberg
- Tsirigotis, Panagiotis, Vassiliki Pappa, Stefanos Labropoulos, Sotirios Papageorgiou, Frinda Kontsioti, John Dervenoulas, Efsthios Papageorgiou, u. a. "Mutational and methylation analysis of the cyclin-dependent kinase 4 inhibitor (p16INK4A) gene in chronic lymphocytic leukemia." *European Journal of Haematology* 76, Nr. 3 (März 2006): 230-236.
- Turgut, Burhan, Ozden Vural, Funda S Pala, Gülsüm E Pamuk, Kiymet Tabakcioğlu, Muzaffer Demir, Seniz Ongören, Teoman Soysal, und Cetin Algüneş. "17p Deletion is associated with resistance of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells to in vitro fludarabine-induced apoptosis." *Leukemia & Lymphoma* 48, Nr. 2 (Februar 2007): 311-320.
- Tusher, V G, R Tibshirani, und G Chu. "Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, Nr. 9 (April 24, 2001): 5116-5121.
- Umesono, K, K K Murakami, C C Thompson, und R M Evans. "Direct repeats as selective response elements for the thyroid hormone, retinoic acid, and vitamin D3 receptors." *Cell* 65, Nr. 7 (Juni 28, 1991): 1255-1266.
- Verona, Raluca I, Melissa R W Mann, und Marisa S Bartolomei. "Genomic imprinting: intricacies of epigenetic regulation in clusters." *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 19 (2003): 237-259.
- Vrhovac, R, A Delmer, R Tang, J P Marie, R Zittoun, und F Ajchenbaum-Cymbalista. "Prognostic significance of the cell cycle inhibitor p27Kip1 in chronic B-cell lymphocytic leukemia." *Blood* 91, Nr. 12 (Juni 15, 1998): 4694-4700.

- Wahlfors, J, H Hiltunen, K Heinonen, E Hämäläinen, L Alhonen, und J Jänne. "Genomic hypomethylation in human chronic lymphocytic leukemia." *Blood* 80, Nr. 8 (Oktober 15, 1992): 2074-2080.
- Walsh, C P, J R Chaillet, und T H Bestor. "Transcription of IAP endogenous retroviruses is constrained by cytosine methylation." *Nature Genetics* 20, Nr. 2 (Oktober 1998): 116-117.
- Watt, F, und P L Molloy. "Cytosine methylation prevents binding to DNA of a HeLa cell transcription factor required for optimal expression of the adenovirus major late promoter." *Genes & Development* 2, Nr. 9 (September 1988): 1136-1143.
- Weinberg, R.A. (2007) *The Biology of Cancer*. Garland Science, New York City.
- Wharton, Keith A. "Runnin' with the Dvl: proteins that associate with Dsh/Dvl and their significance to Wnt signal transduction." *Developmental Biology* 253, Nr. 1 (Januar 1, 2003): 1-17.
- Wolf, S, D Mertens, C Schaffner, C Korz, H Döhner, S Stilgenbauer, und P Lichter. "B-cell neoplasia associated gene with multiple splicing (BCMS): the candidate B-CLL gene on 13q14 comprises more than 560 kb covering all critical regions." *Human Molecular Genetics* 10, Nr. 12 (Juni 1, 2001): 1275-1285.
- Wu, Min, Liang-Guo Xu, Zhonghe Zhai, und Hong-Bing Shu. "SINK is a p65-interacting negative regulator of NF-kappaB-dependent transcription." *The Journal of Biological Chemistry* 278, Nr. 29 (Juli 18, 2003): 27072-27079.
- Wu, Xiaoyu, Fukun Liu, Xuequan Yao, Weisu Li, und Che Chen. "Growth hormone receptor expression is up-regulated during tumorigenesis of human colorectal cancer." *The Journal of Surgical Research* 143, Nr. 2 (Dezember 2007): 294-299.
- Yee, Karen W L, und Susan M O'Brien. "Chronic lymphocytic leukemia: diagnosis and treatment." *Mayo Clinic Proceedings. Mayo Clinic* 81, Nr. 8 (August 2006): 1105-1129.
- Yuan, Jian, Wenwen Tang, Kuntian Luo, Xinya Chen, Xiuting Gu, Bo Wan, und Long Yu. "Cloning and characterization of the human gene DERP6, which activates transcriptional activities of p53." *Molecular Biology Reports* 33, Nr. 3 (September 2006): 151-158.
- Yuille, M R, A Condie, E M Stone, J Wilsher, P S Bradshaw, L Brooks, und D Catovsky. "TCL1 is activated by chromosomal rearrangement or by hypomethylation." *Genes, Chromosomes & Cancer* 30, Nr. 4 (April 2001): 336-341.
- Zaninoni, Anna, Francesca Guida Imperiali, Cristina Pasquini, Alberto Zanella, und Wilma Barcellini. "Cytokine modulation of nuclear factor-kappaB activity in B-chronic lymphocytic leukemia." *Experimental Hematology* 31, Nr. 3 (März 2003): 185-190.
- Zenz, Thorsten, Alexander Kröber, Katrin Scherer, Sonja Häbe, Andreas Bühler, Axel Benner, Tina Denzel, u. a. "Monoallelic TP53 inactivation is associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia: results from a detailed genetic characterization with long-term follow-up." *Blood* 112, Nr. 8 (Oktober 15, 2008): 3322-3329.
- Zenz, Thorsten, Julia Mohr, Jennifer Edelmann, Antonio Sarno, Patrick Hoth, Maria Heuberger, Hanne Helfrich, Daniel Mertens, Hartmut Döhner, und Stephan Stilgenbauer. "Treatment resistance in chronic lymphocytic leukemia: the role of the p53 pathway." *Leukemia & Lymphoma* 50, Nr. 3 (März 2009): 510-513.
- Zeschnick, M, B Schmitz, B Dittrich, K Buiting, B Horsthemke, und W Doerfler. "Imprinted segments in the human genome: different DNA methylation patterns in the Prader-Willi/Angelman syndrome region as determined by the genomic sequencing method." *Human Molecular Genetics* 6, Nr. 3 (März 1997): 387-395.
- Zielinski, Boris, Sandrine Grati, Grischa Toedt, Frank Mendrzyk, Daniel E Stange, Bernhard Radlwimmer, Dietmar R Lohmann, und Peter Lichter. "Detection of chromosomal imbalances in retinoblastoma by matrix-based comparative genomic hybridization." *Genes, Chromosomes & Cancer* 43, Nr. 3 (Juli 2005): 294-301.



8 Anhang

8.1 SAM Ergebnisse

8.1.1 Vergleich Methylierungsanalyse: 13q vs. Kontrolle

8.1.1.1 In 13q-deletierten Patienten hypermethylierte CpG-Islands

Gene ID	Score(d)	Numerator(r)	Denominator(s+s0)	Fold Change	q-value(%)
CpG007546	4,962727011	1,13264106	0,228229572	2,08181214	0
CpG004648	4,837969743	0,76795501	0,158734975	1,71463645	0
CpG001366	4,824682552	0,84258835	0,1746412	1,80277728	0
CpG002163	4,746218344	0,7349004	0,154839146	1,65577087	0
CpG002172	4,657428466	0,90715542	0,194776029	1,80440204	0
CpG002247	4,520379179	0,85802434	0,189812471	1,78766065	0
CpG001270	4,40126083	1,25428178	0,284982378	2,31763368	0
CpG001078	4,384663882	1,33754056	0,305049737	2,36681661	0
CpG000834	4,320301407	0,66419832	0,153738885	1,58231507	0
CpG008083	4,262714784	0,66500066	0,156004023	1,58003446	0
CpG001591	4,22681711	0,62023269	0,146737528	1,51561553	0
CpG000200	4,130597522	0,46784141	0,113262406	1,37330683	0
CpG002944	4,129896404	0,58030322	0,140512778	1,4763326	0
CpG000755	3,809086875	0,74901331	0,196638548	1,61313354	0
CpG008228	3,76481717	0,57774126	0,153457986	1,48013356	0
CpG005033	3,752258034	0,4902916	0,130665747	1,41866341	0
CpG0011286	3,667958788	0,40721236	0,111018792	1,31647087	0
CpG003953	3,628952534	0,57041852	0,157185446	1,4644304	0
CpG002942	3,582877186	0,76117121	0,212446917	1,64855693	0
CpG002806	3,533448495	0,60764425	0,171969182	1,48726378	0
CpG006422	3,524906276	0,64689444	0,183521032	1,51901598	0
CpG010252	3,477765762	0,88408239	0,254209874	1,74596665	0
CpG002307	3,435153436	0,36187307	0,105344079	1,28239958	0
CpG002229	3,40289898	0,56746317	0,166758746	1,47638421	0
CpG001671	3,384677752	0,45362241	0,134022332	1,35740113	0
CpG003835	3,382949035	0,45658927	0,134967824	1,36587304	0
CpG001688	3,381301472	0,57429723	0,169845025	1,45295977	0
CpG008369	3,358458488	0,61893916	0,184292632	1,54270263	0
CpG006144	3,356216178	0,56089313	0,167120681	1,49024648	0
CpG001958	3,340742667	1,16498025	0,348718943	2,18499002	0
CpG003259	3,32480626	0,40924197	0,123087463	1,3217271	0
CpG004066	3,31299545	0,33264533	0,100406213	1,25667768	0
CpG001985	3,302718077	0,59590753	0,180429428	1,48124303	0
CpG001442	3,301939904	0,50230589	0,15212448	1,41383075	0
CpG005712	3,279370844	0,7648183	0,233221048	1,70088804	0
CpG003387	3,257648085	0,86197184	0,264599434	1,68419114	0
CpG001687	3,244581604	0,56675809	0,174678327	1,46314866	0
CpG002159	3,224460512	0,57249573	0,177547757	1,4830223	0
CpG009291	3,217351441	0,74587448	0,231828726	1,5976597	0
CpG002133	3,196687928	0,38077804	0,119116426	1,30124996	0
CpG002669	3,195715888	1,08242725	0,338711978	1,91798073	0
CpG007653	3,148346936	0,68249286	0,216778162	1,53135883	0
CpG008064	3,116206337	0,82811915	0,26574593	1,71216831	0,368691
CpG007394	3,096977314	0,73389274	0,236970653	1,62516618	0,368691
CpG006853	3,08096076	0,47690173	0,154789939	1,38422457	0,368691
CpG000819	3,04880591	0,43745879	0,143485288	1,34893875	0,368691
CpG005644	3,029119646	0,49807055	0,164427492	1,41121138	0,368691
CpG009606	2,999770144	0,53371708	0,177919324	1,42351534	0,368691
CpG000746	2,967800315	0,53298185	0,179588177	1,41683902	0,368691
CpG005530	2,956942463	0,38798066	0,131210082	1,31312421	0,368691
CpG007381	2,946738524	0,4555845	0,154606355	1,35699142	0,368691
CpG001017	2,934823774	0,45592121	0,155348753	1,35115206	0,368691
CpG001622	2,927999381	0,38494208	0,131469318	1,30944164	0,368691
CpG003135	2,913628382	0,54049812	0,185506883	1,42028646	0,620529
CpG005273	2,907015073	0,73534554	0,252955529	1,64948722	0,620529
CpG002103	2,866370371	0,76608926	0,267268064	1,64272909	0,740588
CpG009375	2,862352837	0,33968688	0,118674006	1,26089077	0,740588
CpG001271	2,854596188	0,77818048	0,272606151	1,61741612	0,740588
CpG010269	2,836050483	0,38976262	0,13743148	1,30781796	0,740588

CpG000105	2,828684083	0,45009782	0,159119155	1,35871814	0,740588
CpG001003	2,796369908	0,30500377	0,109071323	1,23391627	0,740588
CpG001051	2,791050457	0,42255414	0,151396095	1,34473232	0,740588
CpG007341	2,77590501	0,44308625	0,159618663	1,34461999	1,079437
CpG003038	2,761882062	0,53129844	0,192368257	1,41596734	1,079437
CpG001984	2,760011746	0,40408998	0,14640879	1,33427331	1,079437
CpG000288	2,758528275	0,30840495	0,111800539	1,24513365	1,079437
CpG008955	2,75744214	0,47711143	0,173026815	1,38310337	1,079437
CpG000192	2,75720336	0,300261	0,108900563	1,23037073	1,079437
CpG001800	2,752483186	0,32252657	0,117176581	1,24225453	1,079437
CpG003163	2,751875159	0,3764092	0,136782805	1,29738283	1,079437
CpG011139	2,729351797	0,6239582	0,228610397	1,51957511	1,079437
CpG001353	2,727769475	0,46997885	0,172294195	1,35437568	1,079437
CpG010249	2,72703224	0,31746671	0,116414724	1,24215224	1,079437
CpG000239	2,725543656	0,60468717	0,221859287	1,44439085	1,079437
CpG010483	2,708790839	0,51527534	0,190223375	1,43484555	1,079437
CpG008837	2,696650988	0,49551116	0,183750571	1,39899512	1,333721
CpG000693	2,690792936	0,52753143	0,196050546	1,41240277	1,333721
CpG002902	2,68137344	0,60302123	0,224892671	1,46161551	1,333721
CpG001496	2,669186106	0,26124239	0,097873425	1,20074049	1,333721
CpG008301	2,653199924	0,37572272	0,141611159	1,28186731	1,333721
CpG005198	2,650744735	0,35109506	0,132451479	1,26476299	1,333721
CpG003534	2,647995611	0,38456813	0,145229896	1,30500364	1,333721
CpG005042	2,627572812	0,42707747	0,162536873	1,34175548	1,437428
CpG008405	2,625939113	0,35582061	0,135502233	1,26786503	1,437428
CpG005310	2,620061033	0,42014987	0,16035881	1,33864312	1,437428
CpG003735	2,600298956	0,43295131	0,16650059	1,32376357	1,897885
CpG006631	2,563670402	0,37834093	0,147577836	1,289745	1,897885
CpG009894	2,554777986	0,479082	0,187523926	1,35271425	1,897885
CpG000582	2,549424142	0,49133595	0,192724289	1,39071287	2,232074
CpG009839	2,541728108	0,40203054	0,158172125	1,33069476	2,232074
CpG001783	2,54037806	0,55152638	0,217104057	1,49028387	2,232074
CpG008027	2,537797484	0,4372992	0,172314459	1,33032501	2,232074
CpG004308	2,532370888	0,77554208	0,306251379	1,69092616	2,232074
CpG003277	2,52601275	0,42968263	0,170103112	1,36397342	2,232074
CpG002562	2,523608594	0,55756467	0,220939439	1,41614877	2,232074
CpG001282	2,520761618	0,58553301	0,232284165	1,49685316	2,232074
CpG004094	2,518230945	0,40716098	0,161685321	1,31928554	2,232074
CpG003739	2,509886865	0,50265932	0,200271703	1,39339314	2,232074
CpG000942	2,501224129	0,35226331	0,140836362	1,27170619	2,232074

8.1.1.2 In 13q-deletierten Patienten hypomethylierte CpG-Islands

Gene ID	Score(d)	Numerator(r)	Denominator(s+s0)	Fold Change	q-value(%)
CpG002277	-5,294404278	-1,69717443	0,320560037	0,33501837	0
CpG002261	-5,150430507	-0,75301132	0,146203568	0,58739244	0
CpG002186	-4,256931821	-0,78458052	0,184306575	0,56496129	0
CpG005723	-4,216694332	-0,56402305	0,133759529	0,67772738	0
CpG001976	-4,17673113	-0,76443856	0,183023166	0,57557892	0
CpG005587	-4,0601879	-0,75976583	0,187125781	0,58181192	0
CpG003429	-3,999671327	-0,70726509	0,176830802	0,602735	0
CpG004229	-3,96857518	-0,78866613	0,198727778	0,57322112	0
CpG000596	-3,891176343	-0,77387878	0,19888042	0,59098672	0
CpG003441	-3,785464497	-0,98626284	0,260539452	0,49732415	0
CpG005253	-3,759145902	-0,49880272	0,13269044	0,7042836	0
CpG001533	-3,715816105	-0,48514199	0,130561356	0,71676383	0
CpG003537	-3,695696478	-0,97584988	0,264050333	0,48352384	0
CpG009638	-3,693417415	-0,48808041	0,132148727	0,70699839	0
CpG006019	-3,67194481	-1,04612517	0,284896757	0,48632583	0
CpG001218	-3,66625802	-0,51503201	0,140478933	0,68907049	0
CpG005203	-3,651275053	-0,58441789	0,160058578	0,66880354	0
CpG004993	-3,622756587	-0,61720722	0,170369497	0,64409968	0
CpG003814	-3,60445492	-0,99721284	0,276661203	0,51170491	0
CpG003345	-3,59133612	-1,01042955	0,281351987	0,49684638	0
CpG007405	-3,537985541	-0,5503519	0,155555157	0,68611518	0
CpG004399	-3,452690063	-0,89501846	0,259223517	0,5242539	0
CpG002378	-3,438551342	-0,55276676	0,160755709	0,68210588	0
CpG005497	-3,435601144	-0,37346537	0,10870452	0,77536499	0

CpG004017	-3,3679092	-0,35934727	0,106697435	0,77716675	0
CpG000081	-3,348074263	-0,66944763	0,199950053	0,62612011	0
CpG007583	-3,337303866	-0,48955322	0,146691233	0,71647689	0
CpG004815	-3,326277239	-0,5860493	0,176187748	0,66088336	0
CpG006882	-3,325706629	-1,03992469	0,312692851	0,49578754	0
CpG002692	-3,322378155	-0,62001823	0,186618801	0,62832456	0
CpG004445	-3,305973816	-0,4607129	0,139357698	0,71982652	0
CpG004291	-3,298392247	-1,04638094	0,317239691	0,46385085	0
CpG002972	-3,296680406	-0,40605942	0,123172213	0,75610741	0
CpG003455	-3,288963114	-0,458948	0,139541851	0,73000475	0
CpG006991	-3,281518856	-0,38477927	0,117256455	0,76481406	0
CpG000684	-3,270424468	-0,52104253	0,159319542	0,70033058	0
CpG001054	-3,258249063	-1,14332969	0,350903099	0,48721241	0
CpG000094	-3,241837295	-0,55655508	0,171678906	0,66716398	0
CpG010302	-3,225256895	-0,54012058	0,16746591	0,66916392	0
CpG003608	-3,215224476	-0,7460003	0,232021219	0,58888873	0
CpG001948	-3,215049865	-0,3469363	0,107910083	0,78410702	0
CpG003340	-3,204774128	-0,35722731	0,111467234	0,77629541	0
CpG010528	-3,169766409	-0,50309772	0,1587176	0,69231054	0
CpG000475	-3,16660662	-0,5965351	0,188383078	0,66115074	0
CpG0011187	-3,165834467	-0,3520506	0,111203098	0,78009912	0
CpG005890	-3,164371124	-0,90881975	0,287203906	0,55175199	0
CpG006321	-3,159427687	-0,71690148	0,226908654	0,59456572	0
CpG009654	-3,153665013	-0,52889117	0,167706833	0,68552376	0
CpG001384	-3,137741704	-0,40317441	0,128491905	0,75375175	0
CpG0011238	-3,130671647	-0,56085693	0,179149075	0,66113112	0
CpG003133	-3,122877088	-0,48223037	0,154418621	0,71292186	0
CpG001314	-3,120501989	-0,41260359	0,132223465	0,74364105	0
CpG0011291	-3,111053545	-0,36730262	0,11806374	0,77331906	0
CpG007679	-3,104783584	-0,65301057	0,210324021	0,65727189	0
CpG001600	-3,091920912	-0,56626021	0,183141879	0,66157695	0
CpG003045	-3,0918665	-0,6353355	0,20548607	0,62470064	0
CpG002876	-3,08527996	-0,43144133	0,139838634	0,74339555	0
CpG007032	-3,083596644	-1,1179645	0,362552121	0,46284685	0
CpG010432	-3,079925116	-0,96941108	0,314751511	0,50061829	0
CpG001728	-3,072333381	-0,55641432	0,181104799	0,67136021	0
CpG010517	-3,041400598	-0,65817049	0,21640375	0,60602656	0
CpG002068	-3,041292209	-0,41132793	0,135247751	0,74824216	0
CpG000399	-3,039550241	-0,36719161	0,120804586	0,77799016	0
CpG005923	-3,035313599	-1,02609928	0,338053794	0,5006914	0
CpG000071	-3,033588325	-0,69106124	0,227803236	0,62442759	0
CpG004579	-3,027028505	-0,43369136	0,143272969	0,73589511	0
CpG003249	-3,02685947	-0,32473246	0,107283625	0,79741832	0
CpG001943	-3,004919402	-0,34404138	0,114492714	0,78341057	0
CpG009144	-2,99571472	-0,63857798	0,213163816	0,65621539	0
CpG002681	-2,994113873	-0,40573387	0,135510502	0,75753812	0
CpG005967	-2,985958937	-0,41921704	0,140396117	0,74123145	0
CpG008444	-2,978463908	-0,46445404	0,155937441	0,7270943	0
CpG008334	-2,977703497	-0,29382891	0,09867635	0,81592269	0
CpG000278	-2,968849414	-0,64096455	0,21589662	0,64219867	0,45789
CpG009574	-2,94151915	-0,83946591	0,28538516	0,52759934	0,45789
CpG000369	-2,930432384	-0,58063553	0,198139883	0,65049717	0,45789
CpG001144	-2,928678017	-0,32637163	0,111439916	0,79266511	0,45789
CpG001150	-2,923563171	-1,0464021	0,357920127	0,48551744	0,45789
CpG003742	-2,923068702	-0,68202151	0,233323803	0,61108334	0,45789
CpG001919	-2,923031613	-0,47185714	0,161427313	0,71694597	0,45789
CpG001763	-2,888432211	-0,39210442	0,135749913	0,75421376	0,45789
CpG0011205	-2,880588795	-0,42665909	0,148115235	0,73638646	0,45789
CpG000425	-2,878304912	-0,50819392	0,176560141	0,70693737	0,45789
CpG002558	-2,877232449	-0,38296953	0,133103439	0,75875049	0,45789
CpG006615	-2,870026585	-0,98663755	0,343772964	0,49525535	0,45789
CpG000359	-2,856653192	-0,59906374	0,20970825	0,65575309	0,45789
CpG007887	-2,841213661	-0,38462986	0,135375198	0,7678868	0,45789
CpG006370	-2,837892907	-0,43014848	0,151573189	0,73433866	0,45789
CpG002100	-2,824933498	-0,35656184	0,126219551	0,78490718	0,45789
CpG007633	-2,821248091	-0,36831335	0,130549791	0,78192051	0,45789
CpG010550	-2,803068739	-0,47590965	0,169781656	0,70674567	0,45789
CpG004837	-2,787540304	-0,51061863	0,183178922	0,70618775	0,45789
CpG005383	-2,786566958	-0,60223952	0,216122394	0,66320975	0,45789
CpG004379	-2,785142765	-0,56280579	0,202074306	0,66617492	0,45789

Anhang

CpG009414	-2,781268364	-0,59682589	0,214587667	0,6464468	0,45789
CpG001376	-2,78071194	-0,5155797	0,185412842	0,68309227	0,45789
CpG003825	-2,759441871	-0,28890638	0,104697396	0,81274539	0,45789
CpG003511	-2,754000376	-0,39529496	0,143534825	0,76308227	0,45789
CpG0011300	-2,751069209	-0,26833484	0,09753838	0,82701763	0,45789
CpG011104	-2,739687784	-0,50091726	0,182837352	0,69495293	0,45789
CpG001939	-2,739447316	-0,48387144	0,176631044	0,70043295	0,45789
CpG002994	-2,733454992	-0,58370114	0,213539693	0,66609262	0,45789
CpG002405	-2,728208299	-0,54811269	0,200905733	0,66396565	0,45789
CpG006463	-2,718569168	-0,61199488	0,22511654	0,61670906	0,45789
CpG000612	-2,705013806	-0,37843815	0,139902483	0,76697883	0,45789
CpG003071	-2,703373746	-0,34150261	0,1263246	0,79027753	0,45789
CpG006175	-2,701139314	-0,38427421	0,142263751	0,76892822	0,45789
CpG000544	-2,699945437	-0,30049146	0,111295381	0,80985621	0,45789
CpG007636	-2,699467259	-1,03621514	0,383859124	0,50054603	0,45789
CpG001854	-2,698375548	-0,30528654	0,113137159	0,81268258	0,45789
CpG006041	-2,693107098	-0,35747046	0,132735331	0,77445094	0,45789
CpG000660	-2,690787213	-0,30198029	0,112227487	0,80494207	0,45789
CpG002113	-2,685670921	-1,06897966	0,39803077	0,48119983	0,45789
CpG004335	-2,681460898	-0,3573508	0,133267204	0,77341726	0,620529
CpG005255	-2,675959201	-0,37255475	0,139222883	0,76688121	0,620529
CpG000568	-2,674779704	-0,39054323	0,146009494	0,76608107	0,620529
CpG004743	-2,671876247	-0,25605119	0,09583198	0,83380335	0,620529
CpG007254	-2,6657233	-0,33157343	0,124384038	0,79300141	0,620529
CpG005176	-2,6605065	-0,53360431	0,200564933	0,6762356	0,620529
CpG002873	-2,648597712	-0,40745341	0,153837409	0,74885951	0,620529
CpG010336	-2,647541895	-0,96731688	0,365364144	0,49822196	0,620529
CpG000672	-2,645833648	-0,38646986	0,14606733	0,76185818	0,620529
CpG000570	-2,641418089	-0,38973289	0,14754684	0,75621618	0,620529
CpG004371	-2,640764053	-0,59424616	0,225028115	0,64768978	0,620529
CpG001978	-2,639249824	-0,34423494	0,130429086	0,78080295	0,620529
CpG009882	-2,638257441	-0,52908276	0,200542506	0,69511083	0,620529
CpG007554	-2,62505831	-0,37155997	0,141543512	0,77293209	0,620529
CpG000980	-2,623831298	-0,74578741	0,284236036	0,57722224	0,620529
CpG003695	-2,619849058	-0,3482627	0,132932354	0,77836638	0,620529
CpG007099	-2,610125236	-0,84513215	0,323789884	0,55621843	0,620529
CpG009760	-2,609901829	-0,29122092	0,111583094	0,81590849	0,620529
CpG001386	-2,607152962	-0,65910751	0,252807382	0,58981831	0,620529
CpG007834	-2,606785106	-0,52697286	0,202154317	0,67675625	0,620529
CpG000576	-2,604223956	-0,6282566	0,241245227	0,65872718	0,620529
CpG010262	-2,60034567	-0,38308349	0,147320218	0,75918999	0,620529
CpG000376	-2,596699391	-0,2807063	0,108101191	0,8229015	0,620529
CpG000092	-2,586209831	-0,45385822	0,175491645	0,72386366	0,620529
CpG0011320	-2,585211561	-0,35227487	0,136265395	0,78157013	0,620529
CpG008778	-2,584769475	-0,41874592	0,162005133	0,74467452	0,620529
CpG010305	-2,5838532	-0,35780042	0,138475521	0,77185083	0,620529
CpG004851	-2,581352656	-0,35547647	0,137709379	0,77528749	0,620529
CpG004309	-2,574544426	-0,63334002	0,246000813	0,64004676	0,620529
CpG000279	-2,559948463	-0,52565343	0,205337503	0,69824097	0,620529
CpG007514	-2,559142231	-0,27831324	0,108752548	0,82330264	0,620529
CpG005420	-2,558797815	-0,34371846	0,134328102	0,78040393	0,620529
CpG010251	-2,558065018	-0,90793802	0,354931566	0,55170441	0,620529
CpG001859	-2,554669757	-0,34974274	0,136903306	0,79036023	0,740588
CpG004752	-2,553394322	-0,44823921	0,175546413	0,74478125	0,740588
CpG000334	-2,550515915	-0,73935648	0,289885066	0,60190436	0,740588
CpG000323	-2,546339015	-0,31798789	0,124880422	0,80144312	0,740588
CpG000358	-2,54563133	-0,37141767	0,14590395	0,76638952	0,740588
CpG008033	-2,543567461	-0,31086051	0,122214376	0,79834559	0,740588
CpG006057	-2,543177618	-0,71675596	0,281834803	0,5584048	0,740588
CpG000166	-2,54069342	-0,37902957	0,149183513	0,76673378	0,740588
CpG004741	-2,539216779	-0,39345782	0,154952435	0,76761337	0,740588
CpG003704	-2,521723193	-0,79381708	0,314791521	0,56272523	0,740588
CpG003436	-2,521522349	-0,34098308	0,135229051	0,78703165	0,740588
CpG011122	-2,507265314	-0,35074201	0,139890264	0,78392807	0,740588
CpG004405	-2,507147033	-0,66788385	0,266391974	0,63507885	0,740588
CpG001357	-2,505996377	-0,9656478	0,385334877	0,56960791	0,740588
CpG002501	-2,504913057	-0,4068755	0,162430986	0,74766545	0,740588
CpG005709	-2,503615516	-0,2913524	0,11637266	0,81719136	0,740588
CpG000438	-2,503597187	-0,44904427	0,179359633	0,74320972	0,740588
CpG000078	-2,499123809	-0,41863405	0,167512329	0,73075291	0,740588

CpG003263	-2,497938438	-0,3177834	0,127218268	0,79515327	0,740588
CpG0011330	-2,497759583	-0,55863058	0,223652662	0,63691065	0,740588
CpG009185	-2,493678801	-0,37746672	0,151369424	0,76318312	0,740588
CpG004106	-2,492537748	-0,3727987	0,149565918	0,77971031	0,740588
CpG002604	-2,492508	-0,46126764	0,185061649	0,73000305	0,740588
CpG005411	-2,490287808	-0,85848453	0,344733059	0,51909275	0,740588
CpG001245	-2,483133953	-0,30884789	0,124378265	0,806554	0,740588
CpG001945	-2,48154158	-0,41934823	0,168986986	0,73043617	0,740588
CpG000811	-2,476828819	-0,54271131	0,219115388	0,6501601	0,740588
CpG004119	-2,468932914	-0,71879552	0,29113611	0,63710463	0,740588
CpG0011304	-2,465970318	-0,46811502	0,189829951	0,72274026	0,740588
CpG005910	-2,462623547	-0,2813305	0,114240157	0,8212824	0,740588
CpG004349	-2,4541514	-0,38490838	0,156839706	0,7541141	0,740588
CpG003873	-2,454051967	-1,03608996	0,422195606	0,42305513	0,740588
CpG002253	-2,453545168	-0,39144164	0,159541242	0,74812342	1,079437
CpG009540	-2,440251767	-0,58309135	0,238947209	0,68515566	1,079437
CpG002884	-2,437058686	-0,3059872	0,125555941	0,80445324	1,079437
CpG009679	-2,43537819	-0,29143791	0,11966844	0,81056013	1,079437
CpG005215	-2,433450493	-0,34042339	0,139893287	0,78475908	1,079437
CpG000404	-2,429935109	-0,69163317	0,284630303	0,61977147	1,079437
CpG006259	-2,429103199	-0,32217506	0,132631275	0,79906503	1,079437
CpG001075	-2,425478325	-0,53697715	0,221390207	0,65122673	1,079437
CpG0011346	-2,420646417	-0,47333213	0,195539556	0,71832466	1,079437
CpG001076	-2,420357291	-0,32765802	0,135375888	0,79966333	1,079437
CpG008496	-2,417694891	-0,31623202	0,130798977	0,79739757	1,079437
CpG001775	-2,404932892	-0,47685194	0,198280769	0,70493229	1,079437
CpG008633	-2,401819919	-0,269517	0,11221366	0,83069461	1,079437
CpG001791	-2,393411389	-0,2803355	0,117128003	0,82079905	1,079437
CpG004825	-2,392160244	-0,45866788	0,191737942	0,71903603	1,079437
CpG0011207	-2,391700299	-0,41603614	0,173949948	0,73563798	1,079437
CpG004785	-2,387763614	-0,72491995	0,303597869	0,5751136	1,079437
CpG002088	-2,386819899	-0,55399233	0,232104789	0,65098545	1,079437
CpG0011210	-2,380345473	-0,58861499	0,247281326	0,61660006	1,079437
CpG002044	-2,372592918	-0,35925811	0,151420038	0,7795475	1,333721
CpG003207	-2,370889042	-0,38608049	0,162842074	0,75353075	1,333721
CpG001905	-2,370369145	-0,27281667	0,115094591	0,82520883	1,333721
CpG003213	-2,369632901	-0,62656276	0,264413427	0,65301412	1,333721
CpG0011306	-2,369206581	-0,40979514	0,172967245	0,74507966	1,333721
CpG004398	-2,369199856	-0,26510242	0,111895341	0,8341319	1,333721
CpG004843	-2,368384231	-0,41905466	0,176936942	0,75766655	1,333721
CpG004232	-2,36295757	-0,43950914	0,185999592	0,72528111	1,333721
CpG005313	-2,35763864	-0,17800793	0,075502635	0,88294942	1,333721
CpG000439	-2,353476283	-0,55022243	0,233791365	0,70231306	1,333721
CpG007076	-2,351569826	-0,32218734	0,137009472	0,78842467	1,333721
CpG001940	-2,344627952	-0,34027469	0,145129501	0,78200031	1,333721
CpG007930	-2,344527762	-0,49079299	0,209335543	0,68622708	1,333721
CpG002922	-2,341372718	-0,35110611	0,149957376	0,78001559	1,333721
CpG009415	-2,341328553	-0,43313471	0,184995271	0,7418763	1,333721
CpG000972	-2,334886112	-0,27075979	0,115962739	0,82372365	1,333721
CpG001667	-2,334015312	-0,38377944	0,164428843	0,75221783	1,333721
CpG005206	-2,332211968	-0,25379314	0,108820786	0,83708212	1,333721
CpG006913	-2,331700561	-0,30382842	0,130303362	0,80356351	1,333721
CpG000860	-2,330826634	-0,34805619	0,14932736	0,79061142	1,333721
CpG001954	-2,329689368	-0,32088021	0,137735193	0,79260271	1,333721
CpG006000	-2,328562581	-0,80373857	0,345165115	0,57444384	1,333721
CpG000958	-2,324405921	-0,46509849	0,200093489	0,72870795	1,333721
CpG002290	-2,31704871	-0,33404261	0,144167278	0,78433831	1,333721
CpG009088	-2,312111654	-0,6611029	0,285930351	0,58393245	1,333721
CpG005972	-2,312010102	-0,55029458	0,238015645	0,65729928	1,333721
CpG004009	-2,307370006	-0,23377165	0,101315198	0,84746829	1,333721
CpG002072	-2,305862106	-0,51679516	0,224122316	0,70627987	1,333721
CpG004731	-2,299480428	-0,21004693	0,091345388	0,86238929	1,437428
CpG002596	-2,297494827	-0,32628854	0,142019271	0,79249975	1,437428
CpG002581	-2,297492853	-0,40029186	0,174229861	0,75319531	1,437428
CpG008777	-2,286872621	-0,52670172	0,230315285	0,69426644	1,437428
CpG009444	-2,285810523	-0,32347479	0,14151426	0,8052337	1,437428
CpG002377	-2,278005445	-0,45704865	0,200635451	0,72852618	1,437428
CpG006044	-2,269191471	-0,46688021	0,205747383	0,71229436	1,437428
CpG007736	-2,264037456	-0,29524871	0,130408052	0,81255945	1,437428
CpG008296	-2,263391535	-0,268632	0,118685606	0,83124823	1,437428

Anhang

CpG003782	-2,259029949	-0,29024563	0,128482417	0,81107739	1,437428
CpG004494	-2,258325962	-0,26557935	0,117600097	0,83059658	1,437428
CpG008345	-2,25009126	-0,2526861	0,112300379	0,84250957	1,437428
CpG009835	-2,249512212	-0,40725951	0,181043477	0,73656255	1,437428
CpG006001	-2,247992239	-0,20607621	0,091671229	0,86932197	1,437428
CpG000631	-2,246291646	-0,35929515	0,159950359	0,78199899	1,437428
CpG009861	-2,245079337	-0,36599095	0,163019159	0,77537129	1,437428
CpG005119	-2,243936584	-0,30917217	0,137781154	0,80013007	1,437428
CpG011108	-2,243750491	-0,37266199	0,166088872	0,77384281	1,437428
CpG006295	-2,23985579	-0,32763756	0,146276183	0,78411604	1,437428
CpG000864	-2,239301563	-0,51787402	0,231265867	0,65504535	1,437428
CpG002177	-2,236521177	-0,44896195	0,2007412	0,7185911	1,437428
CpG0011313	-2,235920904	-0,2393151	0,107032007	0,84534422	1,437428
CpG009634	-2,233683046	-0,2630255	0,117754175	0,82946948	1,437428
CpG000238	-2,233407972	-0,50650499	0,226785698	0,67832402	1,437428
CpG006067	-2,229880978	-0,21746352	0,097522477	0,85940323	1,897885
CpG0011209	-2,229519272	-0,31437576	0,141006075	0,8096104	1,897885
CpG006668	-2,226563142	-0,54598827	0,245215714	0,64156943	1,897885
CpG006768	-2,226308129	-0,35274108	0,158442167	0,78649017	1,897885
CpG009090	-2,225306156	-0,31987372	0,143743692	0,79266931	1,897885
CpG006675	-2,221964187	-0,2942909	0,132446284	0,8114683	1,897885
CpG003009	-2,221785102	-0,3578002	0,161041767	0,77355248	1,897885
CpG000293	-2,217895762	-0,48917632	0,220558752	0,6932537	1,897885
CpG000810	-2,216436416	-0,46745643	0,210904505	0,68503549	1,897885
CpG0011317	-2,213477257	-0,39243524	0,177293552	0,74502601	1,897885
CpG0011323	-2,210265961	-0,40105527	0,181451136	0,73976098	1,897885
CpG001098	-2,208832542	-0,35359194	0,160080918	0,77711972	1,897885
CpG005285	-2,204189084	-0,22604016	0,10255026	0,85343253	1,897885
CpG005251	-2,202675486	-0,23147541	0,105088294	0,84605674	1,897885
CpG005423	-2,201651117	-0,46762548	0,212397628	0,70141508	1,897885
CpG008371	-2,201351081	-0,38613128	0,175406496	0,74521661	1,897885
CpG006123	-2,198688827	-0,31768229	0,144487151	0,78863143	1,897885
CpG001457	-2,198407391	-0,48537267	0,220783769	0,69893347	1,897885
CpG000861	-2,198226063	-0,26652791	0,121246816	0,83649604	1,897885
CpG000421	-2,197455772	-0,38116001	0,173455145	0,75003318	1,897885
CpG003982	-2,195025913	-0,28265308	0,128769815	0,81597253	1,897885
CpG007293	-2,186693489	-0,40816133	0,186656857	0,73410881	1,897885
CpG009944	-2,186207391	-0,30473129	0,1393881	0,79866151	1,897885
CpG007601	-2,183783931	-0,40646766	0,186129978	0,74823991	1,897885
CpG002653	-2,173701843	-0,24400469	0,112253063	0,8455253	1,897885
CpG008704	-2,171923901	-0,58975396	0,271535279	0,61874299	1,897885
CpG006483	-2,170096936	-0,29769182	0,137179043	0,80126011	1,897885
CpG000931	-2,161923619	-0,36127599	0,167108582	0,75549953	1,897885
CpG010030	-2,160309089	-0,29539091	0,136735486	0,80272941	1,897885
CpG009204	-2,1591136	-0,44243194	0,204913693	0,72677118	1,897885
CpG009843	-2,157529842	-0,2462392	0,114130149	0,84171629	1,897885
CpG000230	-2,156609388	-0,45180945	0,209499899	0,71290525	1,897885
CpG003234	-2,153933996	-0,38655792	0,179466001	0,76091312	1,897885
CpG003100	-2,153690316	-0,28980133	0,134560352	0,80997401	1,897885
CpG004122	-2,15080403	-0,39722079	0,184684791	0,75470349	1,897885
CpG001277	-2,15024977	-0,48229264	0,224296103	0,73823061	1,897885
CpG002750	-2,147078749	-0,25559543	0,119043343	0,83153674	1,897885
CpG003292	-2,145013685	-0,32236369	0,150285143	0,80451291	1,897885
CpG008486	-2,144055091	-0,29387504	0,137065062	0,80489053	1,897885
CpG004713	-2,143185815	-0,33535078	0,156473032	0,79678286	1,897885
CpG004023	-2,136646879	-0,6702524	0,313693576	0,5847133	2,232074
CpG011141	-2,134338691	-0,26855201	0,125824457	0,81884817	2,232074
CpG001212	-2,134239416	-0,48811534	0,228706928	0,67928772	2,232074
CpG000694	-2,133320458	-0,23056954	0,108080126	0,84960056	2,232074
CpG001349	-2,131808612	-0,32824761	0,153976115	0,78108442	2,232074
CpG006278	-2,129906318	-0,30163429	0,14161857	0,80196058	2,232074
CpG004429	-2,126679692	-0,32911844	0,154756938	0,80034411	2,232074
CpG007303	-2,125441719	-0,29314829	0,137923468	0,80868411	2,232074
CpG009889	-2,121768197	-0,31298638	0,147512052	0,80526273	2,232074
CpG002280	-2,117543771	-0,36079825	0,17038526	0,76210312	2,232074
CpG003268	-2,113625535	-0,26734249	0,126485265	0,83885461	2,232074
CpG001941	-2,110869272	-0,36773263	0,174209099	0,75521528	2,232074
CpG006068	-2,108437422	-0,39224082	0,18603389	0,76616732	2,232074
CpG004982	-2,106364359	-0,35526204	0,168661248	0,76325524	2,232074
CpG003243	-2,10332054	-0,2626149	0,124857286	0,8248091	2,232074

CpG007256	-2,102013343	-0,207435	0,098683958	0,86454409	2,232074
CpG000473	-2,101503183	-0,283618	0,134959585	0,81872296	2,232074
CpG004792	-2,10125113	-0,24658582	0,117351904	0,84216397	2,232074
CpG009069	-2,100874838	-0,31832214	0,151518851	0,78963329	2,232074

8.1.2 Vergleich Methylierungsanalyse: 17p- vs. Kontrolle

8.1.2.1 In 17p-deletierten Patienten hypermethylierte CpG-Islands

Gene ID	Score(d)	Numerator(r)	Denominator(s+s0)	Fold Change	q-value(%)
CpG002172	5,693125742	1,48588827	0,260996917	2,65950871	0
CpG010271	4,279808872	0,92869719	0,216995016	1,93401081	0
CpG004318	3,932474471	0,87817723	0,223314159	1,86616466	0
CpG004029	3,886986857	0,9256671	0,238145159	1,91545655	0
CpG001730	3,825668273	0,92354548	0,241407623	1,90773504	0
CpG008228	3,803631743	0,78904047	0,20744397	1,70501619	0
CpG010463	3,79172016	0,77276778	0,203804012	1,69212329	0
CpG001282	3,731612249	0,94637285	0,253609642	1,9549736	0
CpG006904	3,643667143	0,73156454	0,200776996	1,64783057	0
CpG001669	3,631217169	0,57006708	0,156990633	1,48237295	0
CpG001783	3,546681032	0,90750592	0,255874693	1,90976112	0
CpG001933	3,539286467	0,93234524	0,263427459	1,89323133	0
CpG001506	3,501193378	0,75132183	0,214590213	1,67039646	0
CpG008301	3,483009475	0,72494268	0,208136868	1,649485	0
CpG002785	3,453575218	0,58038375	0,168053022	1,49536877	0
CpG003007	3,40698214	0,69897365	0,205159177	1,63639243	0
CpG002268	3,395378022	1,03967884	0,306204149	1,89751978	0
CpG010003	3,387497837	0,80099446	0,23645608	1,73321094	0
CpG010483	3,370622415	0,70958059	0,210519158	1,65847361	0
CpG005801	3,369835793	0,77474553	0,229906017	1,77457234	0
CpG002856	3,348824921	0,6036557	0,180258962	1,53404494	0
CpG002050	3,345183012	0,7762485	0,232049637	1,68043581	0
CpG003526	3,318655046	0,79318996	0,239009463	1,69219464	0
CpG011139	3,3102964	0,75321991	0,227538511	1,69711101	0
CpG004035	3,299903282	0,63117363	0,191270343	1,56936133	0
CpG000966	3,277353904	0,52069645	0,15887709	1,43155152	0
CpG011156	3,259791859	0,91690436	0,281276965	1,9621838	0
CpG002146	3,251734245	0,65091269	0,200174012	1,56951056	0
CpG004694	3,237671449	0,72226912	0,223082896	1,67914651	0
CpG001170	3,211788817	0,84204869	0,262174364	1,75226944	0
CpG000716	3,188074886	0,81873399	0,256811404	1,67052411	0
CpG002754	3,180584629	0,47957684	0,150782607	1,39100155	0
CpG002942	3,161548172	0,57502107	0,181879586	1,5038	0
CpG003883	3,14297994	0,59333473	0,188780947	1,51273661	0
CpG002503	3,139558781	0,72424194	0,230682713	1,68676466	0
CpG004903	3,129679149	0,64231043	0,205232036	1,56722166	0
CpG000814	3,125026377	0,69850509	0,223519741	1,61322046	0
CpG002120	3,121176875	0,64856035	0,207793526	1,57725784	0
CpG009291	3,100259181	0,93852319	0,302724108	1,77704407	0
CpG003490	3,100114566	0,65130776	0,210091515	1,58811928	0
CpG002482	3,039746352	0,58616543	0,192833663	1,48240575	0
CpG009230	3,031057347	0,72762921	0,240057882	1,71242381	0
CpG006853	3,027665405	0,49606947	0,163845541	1,41920884	0
CpG009696	3,002614172	0,66203132	0,220484978	1,55571025	0
CpG000408	3,001144025	0,73832995	0,246016167	1,60343189	0
CpG001017	2,998656541	0,47488181	0,158364856	1,38599652	0
CpG000361	2,966776321	0,84620413	0,285226806	1,68011974	0
CpG010488	2,950874751	0,56757274	0,192340506	1,49242155	0
CpG002115	2,939553011	1,14222601	0,388571325	2,61295222	0
CpG003135	2,90900891	0,57128	0,196383036	1,47310453	0
CpG005003	2,90500872	0,5646276	0,19436348	1,47887617	0
CpG001105	2,899349176	0,65582496	0,2261973	1,56190253	0
CpG004619	2,893170697	0,87860634	0,303682855	1,84838318	0
CpG006429	2,881054402	0,62458422	0,216790151	1,51766624	0
CpG005217	2,873798499	0,52031513	0,18105484	1,4502491	0
CpG009457	2,871134384	0,55207238	0,192283712	1,46269067	0
CpG008469	2,87065492	0,67339443	0,234578676	1,62309323	0
CpG001366	2,853430466	0,72214699	0,253080283	1,62839355	0
CpG001687	2,843468019	0,58958657	0,207347707	1,48578439	0

Anhang

CpG004606	2,834280655	0,6370085	0,224751386	1,57611028	0
CpG007677	2,789232739	0,51042596	0,182998698	1,42849222	0,141917
CpG006058	2,777101154	0,56779913	0,20445749	1,5047361	0,141917
CpG001062	2,775251212	0,55546979	0,200151175	1,45430621	0,141917
CpG001837	2,758207962	0,86893815	0,315037214	1,72864661	0,141917
CpG006447	2,74090485	0,93907324	0,342614315	1,78892396	0,141917
CpG001270	2,732379326	0,9700522	0,35502106	1,86027795	0,141917
CpG007381	2,725417414	0,65483707	0,240270377	1,52131658	0,141917
CpG005310	2,684737637	0,47558891	0,177145397	1,40481456	0,141917
CpG002315	2,677445253	0,54577048	0,203840016	1,46810303	0,141917
CpG001441	2,665210088	0,70805345	0,265665153	1,59236037	0,224443
CpG002964	2,655572875	0,49874596	0,187811062	1,41710267	0,224443
CpG002168	2,648764984	0,5736062	0,216556096	1,48756672	0,224443
CpG002911	2,637695428	0,4285246	0,162461744	1,34756653	0,224443
CpG003394	2,635545906	0,44418968	0,168538018	1,36171951	0,224443
CpG004320	2,625964935	0,64339693	0,245013528	1,56008426	0,224443
CpG005818	2,611166539	0,50045607	0,191659959	1,42700302	0,224443
CpG004228	2,605438301	0,42084384	0,161525159	1,33816846	0,224443
CpG008369	2,601700802	0,5842201	0,224553144	1,51694278	0,224443
CpG002559	2,595105757	0,98195461	0,378387127	1,7435909	0,224443
CpG001446	2,591691543	0,52417885	0,202253565	1,44585625	0,224443
CpG005042	2,590823764	0,47598692	0,183720301	1,40062202	0,224443
CpG000605	2,588471979	0,48473047	0,187265104	1,40122679	0,224443
CpG002024	2,583262912	0,49477925	0,191532674	1,43160365	0,224443
CpG000190	2,574005436	0,45526458	0,176870094	1,36313499	0,224443
CpG003711	2,573633976	0,63687313	0,247460646	1,52288002	0,224443
CpG001826	2,558963379	0,5352483	0,209166066	1,41966203	0,224443
CpG001225	2,554036416	0,37996118	0,148768897	1,29886934	0,224443
CpG001158	2,548202337	0,41058903	0,161128898	1,31861086	0,224443
CpG000674	2,547560041	0,53017543	0,208111063	1,40949809	0,224443
CpG002198	2,545239027	0,71689911	0,281662784	1,67292139	0,224443
CpG003059	2,544894271	0,45629781	0,17929932	1,38323023	0,224443
CpG004471	2,542674468	0,47207146	0,185659418	1,3805769	0,224443
CpG001591	2,5269009	0,44933945	0,177822348	1,34965561	0,224443
CpG005530	2,52093698	0,42216361	0,167462977	1,34630749	0,224443
CpG005348	2,514502399	0,42590914	0,169381085	1,33741626	0,224443
CpG001619	2,510421474	0,46802487	0,186432784	1,37850236	0,224443
CpG002129	2,498890046	0,58871656	0,235591224	1,54797133	0,305451
CpG005644	2,496682039	0,56360352	0,225741007	1,4562678	0,305451
CpG008837	2,490387195	0,69003706	0,277080232	1,55031394	0,305451
CpG004953	2,472912648	0,47430667	0,191800818	1,4055433	0,305451
CpG004279	2,460165801	0,4502701	0,183024291	1,38603062	0,305451
CpG000701	2,454217064	0,47436041	0,193283802	1,39074813	0,305451
CpG009375	2,452704954	0,53679681	0,218859103	1,41277745	0,305451
CpG004222	2,44984307	0,61786316	0,2522052	1,49784532	0,305451
CpG001909	2,434896967	0,49328773	0,202590802	1,41939809	0,305451
CpG002163	2,430824164	0,50904231	0,209411408	1,40562312	0,305451
CpG002338	2,429493567	0,45691517	0,188070128	1,35176597	0,305451
CpG007005	2,42635628	0,39814444	0,164091499	1,32466913	0,436771
CpG007817	2,417460157	0,47865779	0,19800028	1,42427736	0,436771
CpG001274	2,416121077	0,65291315	0,270231965	1,48364077	0,436771
CpG003107	2,410829824	0,42879875	0,177863548	1,34026906	0,436771
CpG009888	2,404472906	0,55207702	0,229604178	1,46690794	0,436771
CpG004542	2,400019573	0,49226157	0,205107314	1,41356564	0,436771
CpG004022	2,389132522	0,70745024	0,29611176	1,64314804	0,436771
CpG000397	2,386625515	0,67615148	0,283308577	1,569464	0,436771
CpG001683	2,386506915	0,43514284	0,182334623	1,36689638	0,436771
CpG000493	2,381855301	0,43732348	0,183606231	1,34707933	0,436771
CpG001448	2,381499237	0,43568611	0,182946148	1,35055191	0,436771
CpG009762	2,376946705	0,62880727	0,264544116	1,49131997	0,436771
CpG010269	2,365303565	0,47565692	0,201097619	1,3872397	0,436771
CpG003545	2,362762171	0,60736249	0,257056127	1,50377318	0,436771
CpG003778	2,353679819	0,3710575	0,157649948	1,2864886	0,436771
CpG004032	2,348737731	0,62384264	0,26560762	1,59451517	0,436771
CpG002242	2,347692812	0,42140724	0,17949846	1,32386596	0,436771
CpG006144	2,346729141	0,58626568	0,249822472	1,48178743	0,436771
CpG000910	2,332252983	0,56386481	0,241768288	1,43335675	0,628594
CpG002222	2,3243267	0,41917637	0,180343136	1,33995049	0,628594
CpG002126	2,322497006	0,41822232	0,180074428	1,33805772	0,628594
CpG002387	2,318082197	0,42012153	0,181236682	1,31792492	0,628594

CpG001622	2,315641911	0,45310003	0,195669297	1,36086871	0,628594
CpG006416	2,313357103	0,65447766	0,282912507	1,60040076	0,628594
CpG002931	2,310669588	0,38637349	0,167212781	1,31687614	0,628594
CpG000327	2,308214309	0,35782706	0,155023324	1,27979915	0,628594
CpG005312	2,30079797	0,39899988	0,173418044	1,32945352	0,628594
CpG009176	2,299339347	0,30671253	0,133391588	1,24074353	0,628594
CpG001547	2,294879714	0,54471149	0,237359494	1,43133002	0,628594
CpG008565	2,28807348	0,45715344	0,199798407	1,38805847	0,628594
CpG003807	2,284979251	0,46259086	0,202448605	1,35247044	0,628594
CpG002367	2,284242092	0,35474333	0,155300233	1,27842731	0,628594
CpG002159	2,273987042	0,52380802	0,230347848	1,42119078	0,628594
CpG001425	2,271973588	0,43929824	0,193355345	1,33632065	0,8298
CpG001152	2,269842583	0,48541144	0,213852468	1,37001578	0,8298
CpG010095	2,269690836	0,46414099	0,204495249	1,36919941	0,8298
CpG002870	2,262492171	0,53875376	0,238124035	1,46238305	0,8298
CpG006503	2,25045437	0,36416225	0,161817209	1,28500522	0,8298
CpG006756	2,243322094	0,41667011	0,18573798	1,31578557	0,8298
CpG001096	2,241331352	0,66272182	0,295682216	1,5688758	0,8298
CpG003259	2,238773555	0,58909622	0,263133455	1,4257616	0,8298
CpG009130	2,238645231	0,59553698	0,266025618	1,49046384	0,8298
CpG010367	2,229749558	0,44484212	0,199503176	1,37460582	0,8298
CpG003956	2,227071469	0,3747686	0,168278659	1,29918944	0,8298
CpG003720	2,226835439	0,45676745	0,205119536	1,34165088	0,8298
CpG007883	2,224991304	0,382314	0,171827189	1,29907772	0,8298
CpG004902	2,22421503	0,59247189	0,266373475	1,44146296	0,8298
CpG002216	2,214045651	0,74875017	0,338181904	1,7863943	0,8298
CpG009107	2,206897371	0,62067716	0,281244233	1,51638505	1,03357
CpG003387	2,204640631	0,53062193	0,240684093	1,39137797	1,03357
CpG002815	2,204590089	0,45648626	0,207061738	1,39758861	1,03357
CpG000504	2,20273105	0,5795926	0,263124542	1,50677415	1,03357
CpG000866	2,184498971	0,55295513	0,253126752	1,46175035	1,03357
CpG000870	2,184073613	0,32710498	0,149768293	1,25899231	1,03357
CpG006227	2,178288503	0,42960486	0,197221285	1,34017083	1,03357
CpG000491	2,163530595	0,35837613	0,165644123	1,27882032	1,03357
CpG003468	2,161539382	0,37092268	0,171601165	1,27687438	1,03357
CpG002966	2,155045755	0,47931812	0,222416681	1,37949796	1,03357
CpG0011286	2,149795282	0,46325017	0,215485711	1,33640266	1,03357
CpG009572	2,144456544	0,44939292	0,209560285	1,39767036	1,328769
CpG004443	2,139343838	0,35258216	0,164808554	1,27241431	1,328769
CpG005489	2,137762458	0,44584981	0,208559099	1,36435019	1,328769
CpG009394	2,132139231	0,54194142	0,254177313	1,39125657	1,328769
CpG009792	2,131916377	0,43383763	0,203496551	1,34939075	1,328769
CpG007433	2,130310924	0,30422856	0,142809462	1,23763717	1,328769
CpG007666	2,128823607	0,36619805	0,172018971	1,27742105	1,328769
CpG006142	2,118913163	0,32905628	0,155294841	1,25800269	1,328769
CpG004232	2,117948689	0,39576305	0,186861492	1,31967332	1,328769
CpG004126	2,111415483	0,39777358	0,188391905	1,30744942	1,328769
CpG004094	2,108888698	0,57453928	0,272436984	1,41994491	1,328769
CpG002229	2,10501138	0,49756514	0,23637171	1,38033091	1,328769
CpG006485	2,09698644	0,71857815	0,342671813	1,52017771	1,328769
CpG002294	2,088140815	0,56653117	0,271308893	1,44043764	1,328769
CpG007647	2,083797498	0,61123963	0,293329667	1,45894055	1,68294
CpG009576	2,083204671	0,67469122	0,323871785	1,48117206	1,68294
CpG005072	2,078947812	0,43585302	0,209650777	1,35751225	1,68294
CpG000447	2,073889006	0,31146096	0,150182078	1,24346966	1,68294
CpG009713	2,069114746	0,51839277	0,250538434	1,41767742	1,68294
CpG0011329	2,065478671	0,4491382	0,217449935	1,39138597	1,68294
CpG001449	2,064074029	0,40238036	0,194944731	1,31783617	1,68294
CpG000403	2,058738378	0,57282621	0,278241381	1,48338622	1,68294
CpG004030	2,057211948	0,37388343	0,181742785	1,28954133	1,68294
CpG009858	2,05229657	0,57738985	0,281338407	1,41531146	1,68294
CpG000416	2,048037455	0,62948545	0,30736032	1,54714875	1,68294
CpG000774	2,047243765	0,35340383	0,172624207	1,28548047	1,68294
CpG009491	2,041122816	0,37880163	0,185584926	1,29111036	1,68294
CpG001937	2,035573286	0,30164225	0,148185402	1,23434562	1,68294
CpG002917	2,034051843	0,46287401	0,227562542	1,33001578	1,68294
CpG001315	2,028239382	0,25578578	0,126112226	1,1940226	1,68294
CpG001712	2,027583601	0,3622048	0,178638652	1,28661631	1,68294
CpG001462	2,023766901	0,54942032	0,271483995	1,47180361	1,68294
CpG000105	2,02317376	0,36696306	0,181379903	1,29219066	1,68294

CpG002908	2,021074091	0,34878221	0,172572697	1,27940465	1,68294
CpG006131	2,019474409	0,34727479	0,171962955	1,26929563	1,68294
CpG003411	2,019275482	0,36555787	0,181034176	1,27217483	1,68294
CpG001060	2,018427565	0,47819332	0,236913786	1,35717408	1,68294
CpG002676	2,016822734	0,38270661	0,18975719	1,30016102	1,68294
CpG008095	2,015674911	0,48038378	0,238324037	1,35139141	1,68294
CpG001082	2,015545347	0,24816898	0,123127461	1,18566583	1,68294
CpG001995	2,008886041	0,40775069	0,202973528	1,31451582	2,120059
CpG002095	2,008113337	0,6449342	0,321164243	1,59839454	2,120059
CpG004112	2,003371406	0,5083066	0,253725592	1,42892101	2,120059
CpG009709	1,99854605	0,39776002	0,199024697	1,30216781	2,120059
CpG002123	1,996738273	0,49741677	0,249114656	1,41275001	2,120059
CpG001841	1,993902449	0,48729518	0,244392691	1,35599783	2,120059
CpG002279	1,991401127	0,57106235	0,286764097	1,61665087	2,120059
CpG001263	1,991350791	0,36000505	0,180784345	1,28916568	2,120059
CpG0011305	1,987150542	0,43469952	0,218755204	1,37297599	2,120059
CpG005041	1,984525183	0,37497859	0,188951287	1,2976974	2,120059
CpG006274	1,983825711	0,3681012	0,185551177	1,29265879	2,120059
CpG001569	1,983588145	0,33205925	0,167403323	1,25264112	2,120059
CpG004136	1,977887391	0,44696995	0,225983519	1,35875129	2,120059
CpG002407	1,976110381	0,55845807	0,282604694	1,50495743	2,120059
CpG004375	1,97526761	0,5376324	0,272182055	1,51413368	2,120059
CpG001353	1,969149122	0,34185762	0,173606771	1,26418281	2,120059
CpG003000	1,968972128	0,47032243	0,23886698	1,35128679	2,120059

8.1.2.2 In 17p-deletierten Patienten hypomethylierte CpG-Islands

Gene ID	Score(d)	Numerator(r)	Denominator(s+s0)	Fold Change	q-value(%)
CpG005176	-5,119166435	-0,93529014	0,182703601	0,52521232	0
CpG005723	-4,914905783	-0,95593162	0,194496428	0,51160734	0
CpG002186	-4,64049246	-1,32919446	0,286433924	0,37259815	0
CpG001386	-4,475868131	-1,47455254	0,329445036	0,3285915	0
CpG011119	-4,344984252	-1,37851492	0,317265804	0,37801632	0
CpG009088	-4,096662294	-1,30139943	0,317673105	0,3776887	0
CpG008347	-4,01632451	-1,18232954	0,294380979	0,42442914	0
CpG001290	-4,009512538	-1,4062381	0,350725454	0,33747091	0
CpG001976	-3,980984601	-0,90378671	0,227025925	0,52460684	0
CpG003899	-3,958960426	-1,02880464	0,259867372	0,50318485	0
CpG007953	-3,929914795	-1,10288515	0,280638437	0,45208358	0
CpG006222	-3,911272232	-1,10507353	0,282535569	0,46600962	0
CpG009529	-3,898104947	-0,9545687	0,244880195	0,50491563	0
CpG001433	-3,890129704	-1,6134027	0,414742648	0,27672218	0
CpG009415	-3,8266872	-0,9188032	0,240104078	0,5265923	0
CpG000811	-3,814493946	-0,60753957	0,159271342	0,6535419	0
CpG0011300	-3,721551839	-0,64890834	0,174364987	0,62853451	0
CpG009574	-3,70725177	-1,21998987	0,329082012	0,40571519	0
CpG006463	-3,706789555	-0,54398032	0,146752417	0,68590791	0
CpG004096	-3,699760285	-1,70208952	0,460054	0,2475924	0
CpG000568	-3,690627838	-0,67286134	0,182316225	0,63120313	0
CpG004384	-3,660649366	-1,52340735	0,416157679	0,28986368	0
CpG011118	-3,649037343	-1,02040317	0,279636265	0,47364983	0
CpG009642	-3,63302492	-0,94964093	0,261391252	0,500071	0
CpG004785	-3,625798633	-1,23865822	0,341623557	0,39797	0
CpG004121	-3,618825776	-0,87656886	0,242224664	0,54027049	0
CpG001325	-3,607191469	-1,15937704	0,321407126	0,42567345	0
CpG001755	-3,592855518	-0,52821964	0,14701945	0,69407178	0
CpG009795	-3,511070944	-1,65591265	0,471626087	0,26296449	0
CpG005587	-3,47557124	-0,92371818	0,265774491	0,50661235	0
CpG004192	-3,469268639	-1,58965383	0,458210072	0,26826363	0
CpG0011231	-3,457776765	-0,97321756	0,281457602	0,47494977	0
CpG006737	-3,454491865	-1,8690727	0,541055754	0,19935688	0
CpG003690	-3,454368811	-1,01900673	0,294990716	0,4577689	0
CpG006458	-3,450124005	-0,67193143	0,194755734	0,62341592	0
CpG0011240	-3,443474457	-0,77909237	0,226251823	0,6016997	0
CpG001245	-3,440514065	-0,52696528	0,153164694	0,69585391	0
CpG0011184	-3,415922741	-0,8431733	0,246836174	0,54196919	0
CpG005255	-3,41547748	-0,66706702	0,195307106	0,62043824	0
CpG011117	-3,405162171	-0,92248569	0,270908004	0,52732327	0
CpG009835	-3,330134729	-1,43637661	0,431326875	0,29944166	0

CpG002414	-3,321346847	-0,58512516	0,176171048	0,67030931	0
CpG007361	-3,317274772	-0,67912216	0,204722915	0,63363921	0
CpG001529	-3,315457476	-1,26203012	0,380650371	0,37451675	0
CpG001957	-3,311972982	-0,59388844	0,179315604	0,66876487	0
CpG002873	-3,284595154	-0,61116301	0,186069508	0,65311834	0
CpG000113	-3,284484477	-0,46404099	0,141282747	0,72648861	0
CpG005203	-3,27608935	-0,70420983	0,214954403	0,61074	0
CpG009891	-3,273814923	-1,58512872	0,484183974	0,27080602	0
CpG004349	-3,263052011	-0,6054383	0,185543564	0,65090082	0
CpG004379	-3,249379028	-0,79114226	0,243474907	0,5682559	0
CpG006321	-3,243356243	-0,87404037	0,269486392	0,5301842	0
CpG004229	-3,235354312	-0,91080558	0,281516486	0,51233592	0
CpG0011218	-3,235111465	-0,59021747	0,182441155	0,65572541	0
CpG0011207	-3,220769262	-0,88569028	0,274993397	0,5122035	0
CpG002341	-3,187089303	-0,67640239	0,212232017	0,6291583	0
CpG000116	-3,162785591	-0,66934508	0,211631507	0,64592659	0
CpG004153	-3,160823761	-1,36601635	0,432170995	0,32093971	0
CpG006821	-3,153134387	-1,50820939	0,478320682	0,28144187	0
CpG009414	-3,14871912	-0,83157532	0,264099554	0,54569426	0
CpG008400	-3,136492428	-0,62126436	0,198076154	0,65371102	0
CpG009760	-3,136069369	-0,43927582	0,1400721	0,73859297	0
CpG000596	-3,135094539	-0,71100805	0,226789987	0,62141248	0
CpG001756	-3,128348831	-0,57272063	0,183074415	0,67781171	0
CpG0011187	-3,123764089	-0,75166768	0,240628823	0,57185519	0
CpG006438	-3,111850148	-0,78707059	0,252926893	0,55912569	0
CpG001337	-3,102184685	-0,7282277	0,234746727	0,589281	0
CpG0011234	-3,098119044	-0,61795876	0,199462563	0,64655708	0
CpG008251	-3,097066467	-1,21425056	0,392064742	0,37650278	0
CpG009834	-3,096517206	-0,83486204	0,269613242	0,53320479	0
CpG001218	-3,092231337	-0,75893202	0,245431838	0,56270791	0
CpG005423	-3,087577705	-0,56708302	0,183665993	0,67840358	0
CpG008202	-3,072701961	-0,43542293	0,141706855	0,74263704	0
CpG001144	-3,070872191	-0,42199946	0,137420065	0,74461116	0
CpG006873	-3,070356225	-0,63479002	0,206748003	0,64949842	0
CpG0011238	-3,068770616	-0,71437353	0,232788181	0,59022409	0
CpG008371	-3,062700114	-0,68269808	0,222907256	0,60458023	0
CpG009807	-3,059941566	-0,6677861	0,21823492	0,61521378	0
CpG004815	-3,059167824	-0,54909398	0,179491291	0,69222245	0
CpG004749	-3,053840099	-0,51691517	0,169267268	0,696323	0
CpG000684	-3,053807621	-0,71613773	0,234506497	0,60163854	0
CpG0011233	-3,053541927	-0,67852612	0,22220953	0,60891643	0
CpG0011205	-3,053502604	-0,49495628	0,1620946	0,7097083	0
CpG000734	-3,049767191	-0,54006602	0,177084344	0,68775169	0
CpG0011247	-3,039681087	-0,55770161	0,183473725	0,6802475	0
CpG000034	-3,02576252	-0,47963551	0,158517234	0,71966969	0
CpG001903	-3,019413794	-0,94950108	0,314465371	0,48189711	0
CpG002277	-3,010042503	-1,3054957	0,433713379	0,41260046	0
CpG007649	-2,99349169	-0,74305909	0,24822487	0,61283203	0
CpG010531	-2,977619712	-0,69260435	0,232603359	0,59536465	0
CpG001570	-2,97058352	-0,99239639	0,334074563	0,51914047	0
CpG000017	-2,961954101	-0,41798024	0,141116379	0,75025443	0
CpG0011317	-2,961208324	-0,66848229	0,225746456	0,61485267	0
CpG008756	-2,955398877	-1,04440747	0,353389683	0,4393379	0
CpG001423	-2,945048116	-0,4564967	0,155004837	0,73377967	0
CpG001372	-2,929664482	-0,45273919	0,15453619	0,73262161	0
CpG009889	-2,923227783	-0,52758078	0,180478848	0,69627646	0
CpG007777	-2,915355069	-0,81720578	0,280310893	0,54206455	0
CpG011147	-2,909799581	-0,54676003	0,187902986	0,67708508	0
CpG004268	-2,906704014	-0,71421766	0,245713929	0,57936254	0
CpG001212	-2,892193382	-1,28144554	0,443070491	0,33784115	0
CpG007608	-2,889624745	-1,01983716	0,352930657	0,4418114	0
CpG0011213	-2,884147302	-0,66312855	0,229921873	0,61197684	0
CpG007514	-2,87185009	-0,4402937	0,153313607	0,73515968	0
CpG002149	-2,868634549	-0,58950433	0,205499977	0,67469407	0
CpG001400	-2,864853287	-0,60375866	0,210746799	0,64686749	0
CpG000131	-2,862733055	-0,49398197	0,17255607	0,70889406	0
CpG000238	-2,844053533	-0,68776199	0,241824559	0,61557515	0
CpG004752	-2,841948927	-0,77855039	0,273949464	0,57122231	0
CpG000640	-2,825929576	-0,63553063	0,224892593	0,66652504	0
CpG007445	-2,819803897	-0,5482183	0,194417171	0,68350188	0

Anhang

CpG007208	-2,812412988	-0,77113634	0,274190292	0,56256482	0
CpG000847	-2,791321932	-0,70373201	0,252114241	0,61388735	0
CpG004825	-2,761822025	-0,53903111	0,195172282	0,69372061	0
CpG007154	-2,761459067	-0,4525957	0,163897307	0,73798898	0
CpG002405	-2,757197729	-0,66001883	0,239380304	0,61855825	0
CpG0011211	-2,75297227	-0,73412675	0,266666962	0,56754007	0
CpG006808	-2,752190515	-0,52382539	0,190330353	0,69320534	0
CpG000542	-2,750623227	-0,4689511	0,170489034	0,71731382	0
CpG005258	-2,747400924	-0,46732908	0,170098612	0,71615456	0
CpG003244	-2,74685711	-0,58098705	0,211509747	0,65862664	0
CpG009553	-2,738565134	-0,69027397	0,252056804	0,6107833	0
CpG0011198	-2,733918644	-0,95986569	0,35109519	0,47701312	0
CpG001033	-2,728485074	-0,50854906	0,186385134	0,70151918	0
CpG006972	-2,725327977	-0,70869923	0,260041813	0,59327622	0
CpG008815	-2,723474799	-0,64583172	0,237135192	0,62123794	0
CpG000909	-2,721540725	-0,48530093	0,178318453	0,72266666	0
CpG007736	-2,718945588	-0,42435087	0,156071849	0,74685792	0
CpG010213	-2,71699113	-0,36185197	0,133181137	0,77994082	0
CpG006057	-2,716432534	-0,68576299	0,252449851	0,60094377	0
CpG0011306	-2,71515582	-0,76941329	0,283377214	0,55644113	0
CpG007162	-2,698525323	-0,50498682	0,187134363	0,69459414	0
CpG011104	-2,690492342	-0,57805463	0,214850873	0,66267463	0
CpG005314	-2,688422436	-0,61831424	0,229991474	0,63539959	0
CpG001667	-2,673747242	-0,47871647	0,17904328	0,71118997	0
CpG007405	-2,670731561	-0,89652773	0,335686201	0,48307935	0
CpG003388	-2,666658051	-0,80931939	0,303495751	0,54115534	0
CpG001778	-2,666325306	-0,59285457	0,222348926	0,65692914	0
CpG001482	-2,665641987	-0,55959288	0,209927997	0,66353234	0
CpG010125	-2,665000717	-0,49711801	0,186535787	0,69821765	0
CpG001255	-2,664617535	-0,61027551	0,229029309	0,63855302	0
CpG003599	-2,661952031	-0,49943034	0,187618082	0,69933593	0
CpG003695	-2,645175776	-0,40478172	0,153026396	0,7534455	0
CpG0011250	-2,638845026	-0,71123918	0,269526695	0,60089189	0
CpG010528	-2,634479776	-0,50229768	0,190662947	0,69366091	0
CpG001935	-2,633677394	-0,44741378	0,169881771	0,73541232	0
CpG002378	-2,632294742	-0,80725765	0,30667449	0,52794261	0
CpG002840	-2,630827177	-0,41657197	0,158342581	0,75183677	0
CpG006377	-2,63064267	-0,33825812	0,128583832	0,78981113	0
CpG003243	-2,628947843	-0,51802569	0,197046774	0,68165389	0
CpG0011202	-2,613618235	-0,46830889	0,179180295	0,72046316	0
CpG000383	-2,607806043	-0,62058767	0,237973094	0,64702147	0
CpG006991	-2,604950567	-0,42778286	0,164219184	0,74098635	0
CpG005370	-2,601015833	-0,88008624	0,338362509	0,53100782	0
CpG003603	-2,600025993	-1,11255921	0,42790311	0,37675685	0
CpG001705	-2,599350005	-1,22773357	0,472323301	0,32840256	0
CpG001421	-2,598392524	-0,98412694	0,378744523	0,45091287	0
CpG002989	-2,598039797	-0,67791679	0,260933953	0,63297861	0
CpG005982	-2,59638658	-0,41198095	0,158674735	0,75697888	0
CpG002827	-2,596096561	-0,45141039	0,173880431	0,73594918	0
CpG000338	-2,594545197	-0,49827195	0,192045971	0,69956667	0
CpG002236	-2,591057525	-0,67704758	0,261301639	0,61330518	0
CpG001093	-2,590077578	-0,46723138	0,180392815	0,71971138	0
CpG002535	-2,58554979	-0,78721603	0,304467558	0,56194367	0
CpG009998	-2,580115542	-0,45123816	0,174890681	0,73074809	0
CpG002749	-2,574023073	-0,55728529	0,216503612	0,67108295	0
CpG003742	-2,569989397	-0,91347055	0,355437477	0,49431273	0
CpG005658	-2,568995888	-0,5185752	0,2018591	0,68865079	0
CpG006011	-2,56667079	-0,55086785	0,214623494	0,67192998	0
CpG000707	-2,566119602	-0,46830727	0,182496277	0,71629334	0
CpG000046	-2,565048734	-0,56397793	0,219870258	0,67816111	0
CpG005187	-2,559674144	-0,68495338	0,267593976	0,61227515	0
CpG009339	-2,558391842	-0,51177012	0,200035863	0,69961485	0
CpG0011245	-2,554002768	-0,73541336	0,287945404	0,56968181	0
CpG004445	-2,552069846	-0,48939714	0,19176479	0,70161697	0
CpG007262	-2,546777118	-0,3842104	0,150861417	0,76768323	0
CpG003032	-2,545539715	-0,40461799	0,158951748	0,75528797	0
CpG004603	-2,545220815	-0,35475229	0,139379769	0,78016733	0
CpG0011299	-2,540347044	-0,53227753	0,209529454	0,67757199	0
CpG000544	-2,529034917	-0,36545998	0,144505709	0,77566038	0
CpG002731	-2,52607643	-0,51287583	0,203032587	0,70641511	0

CpG000606	-2,521677598	-0,84504753	0,335113233	0,58492383	0
CpG002732	-2,516232089	-0,41108064	0,163371511	0,75402716	0
CpG009654	-2,514782034	-0,5351331	0,212795024	0,68010185	0
CpG001598	-2,510454912	-0,54629324	0,21760727	0,68238005	0
CpG003224	-2,510102476	-0,48121173	0,191709996	0,70745088	0
CpG000226	-2,505982641	-0,51723737	0,20640102	0,70853648	0
CpG011105	-2,502348336	-0,52152766	0,208415292	0,69166085	0
CpG001468	-2,502078831	-0,47662552	0,190491807	0,71757689	0
CpG002640	-2,499570571	-0,6308491	0,252382992	0,62247391	0
CpG007945	-2,499378873	-0,57285116	0,229197407	0,65083322	0
CpG009882	-2,494118049	-0,71760318	0,287718211	0,59011524	0
CpG002241	-2,493533988	-0,44497167	0,178450213	0,74509065	0
CpG006882	-2,488547704	-0,80130414	0,321996696	0,58367594	0
CpG004794	-2,479533329	-0,39250143	0,158296492	0,76174793	0
CpG0011210	-2,478995862	-0,57109616	0,230373986	0,65605386	0
CpG007887	-2,478852191	-0,41655584	0,168043841	0,753037	0
CpG0011356	-2,477288386	-0,61132762	0,24677289	0,63379572	0
CpG001660	-2,472568909	-0,49797808	0,201401092	0,71141607	0
CpG002887	-2,471482436	-0,48889639	0,197815037	0,71319359	0
CpG004409	-2,470530639	-0,64806933	0,262319893	0,65590951	0
CpG002613	-2,469815434	-0,5527423	0,22379903	0,69437035	0
CpG006094	-2,46000212	-0,3075563	0,125022777	0,81015499	0
CpG000960	-2,457930284	-0,69822434	0,284070034	0,62275896	0
CpG009944	-2,455518537	-0,40519674	0,165014736	0,74866005	0
CpG003234	-2,454073704	-0,52101057	0,21230437	0,69661831	0
CpG004302	-2,453420744	-0,75374512	0,307222121	0,5339544	0
CpG0011319	-2,451404422	-0,79872223	0,3258223	0,53018136	0
CpG002959	-2,442372604	-0,47843171	0,195888093	0,70670556	0
CpG002791	-2,43781364	-0,59734921	0,245034814	0,6492199	0
CpG001307	-2,433460727	-0,65336202	0,268490882	0,62757505	0
CpG001945	-2,429825791	-0,40750219	0,167708398	0,74964754	0
CpG001020	-2,428925889	-0,89010878	0,366461892	0,47868061	0
CpG001974	-2,425411439	-0,85901384	0,354172419	0,49127756	0
CpG008878	-2,424188427	-0,45676985	0,188421758	0,72397925	0
CpG009903	-2,420155286	-0,56606037	0,233894236	0,6510795	0
CpG009328	-2,415905523	-0,37206341	0,154005776	0,77402606	0,16015
CpG002517	-2,410295591	-0,54102003	0,22446211	0,70247005	0,16015
CpG004091	-2,409200183	-0,5182535	0,215114338	0,68757746	0,16015
CpG011106	-2,394764777	-1,13957867	0,475862466	0,3997012	0,16015
CpG009144	-2,387767429	-0,62311143	0,260959851	0,66044938	0,16015
CpG008923	-2,387318683	-1,61437544	0,676229548	0,14092231	0,16015
CpG000328	-2,386049419	-0,39018475	0,163527523	0,76385559	0,16015
CpG009914	-2,384341086	-0,60662613	0,254420868	0,62522954	0,16015
CpG010517	-2,378365365	-0,84501983	0,355294373	0,47949093	0,16015
CpG006086	-2,375787417	-0,57428876	0,24172565	0,65969901	0,16015
CpG009439	-2,375461183	-0,63098568	0,2656266	0,65217787	0,16015
CpG001014	-2,37413186	-0,41029356	0,172818353	0,75949197	0,16015
CpG006175	-2,369904167	-0,48284038	0,203738357	0,71086152	0,16015
CpG010126	-2,368463328	-0,45760112	0,193205915	0,74166551	0,16015
CpG000382	-2,364559298	-0,64389752	0,272311853	0,61736909	0,16015
CpG001403	-2,36392636	-0,4300373	0,181916539	0,73253767	0,16015
CpG001393	-2,360109421	-0,73798213	0,312689794	0,60383294	0,16015
CpG004709	-2,357916805	-0,87515248	0,371154944	0,48643101	0,16015
CpG008061	-2,353112109	-0,76254645	0,324058699	0,55206233	0,16015
CpG007477	-2,350391267	-0,43131268	0,183506759	0,7349232	0,16015
CpG000492	-2,348157773	-0,84124037	0,358255473	0,52357172	0,16015
CpG003047	-2,346600487	-0,88942173	0,379025631	0,48798313	0,16015
CpG001545	-2,342881171	-0,8663336	0,369772746	0,57915313	0,16015
CpG006365	-2,33642688	-0,44997949	0,192593011	0,73857117	0,16015
CpG000576	-2,333484263	-0,62664671	0,268545505	0,66769645	0,16015
CpG009348	-2,331771968	-0,41066737	0,176118152	0,7521548	0,16015
CpG009430	-2,331666424	-0,40409376	0,173306848	0,75011104	0,16015
CpG0011304	-2,330202372	-0,59769881	0,256500818	0,64653955	0,16015
CpG004393	-2,329604884	-0,45013166	0,19322232	0,73327072	0,16015
CpG003424	-2,324934565	-0,41445981	0,178267303	0,74933295	0,16015
CpG003292	-2,319405861	-0,60594082	0,261248294	0,63508222	0,16015
CpG002453	-2,314158708	-0,43006481	0,185840674	0,74789797	0,16015
CpG0011183	-2,304373126	-0,55527338	0,240965046	0,67284805	0,16015
CpG009204	-2,304170679	-0,54437251	0,236255288	0,67954237	0,16015
CpG000028	-2,303812808	-0,3305743	0,143490085	0,79412234	0,16015

Anhang

CpG000346	-2,300885052	-0,35926319	0,156141301	0,78205169	0,16015
CpG0011309	-2,299803562	-0,50864814	0,221170257	0,68939794	0,16015
CpG0011275	-2,299171641	-0,41949602	0,182455285	0,73661127	0,16015
CpG0011283	-2,295377694	-0,53836436	0,234542823	0,6638513	0,16015
CpG0011222	-2,293783148	-0,56085367	0,24451033	0,66651551	0,16015
CpG002209	-2,293371622	-0,40278125	0,175628426	0,75816227	0,16015
CpG008981	-2,292788369	-0,5854663	0,255351215	0,63834425	0,16015
CpG000627	-2,290060108	-0,50745894	0,221591973	0,71333683	0,16015
CpG009020	-2,286922756	-0,360056	0,157441261	0,77500892	0,16015
CpG000560	-2,285197318	-0,47468517	0,207721743	0,71437933	0,16015
CpG001859	-2,281870868	-0,42768432	0,187427049	0,74578449	0,16015
CpG004507	-2,27904761	-0,37978642	0,1666426	0,76898589	0,16015
CpG003340	-2,275910235	-0,35163983	0,154505141	0,77882813	0,16015
CpG006178	-2,270492741	-0,43315421	0,190775422	0,73565524	0,16015
CpG000612	-2,2695027	-0,40423408	0,178115708	0,7540687	0,16015
CpG000073	-2,268187702	-0,44348786	0,195525204	0,72177206	0,16015
CpG0011223	-2,267165646	-0,74633861	0,329194564	0,54289335	0,16015
CpG007317	-2,266013031	-0,34443887	0,152002159	0,78350736	0,16015
CpG004984	-2,265571415	-0,35456873	0,156503001	0,78081867	0,16015
CpG001874	-2,265042756	-0,57828936	0,255310572	0,6510091	0,16015
CpG001878	-2,263199851	-0,4575252	0,202158548	0,71301464	0,16015
CpG004348	-2,259552523	-0,62228613	0,275402373	0,63944554	0,16015
CpG001361	-2,249301214	-0,73159773	0,325255562	0,56094465	0,252039
CpG004523	-2,249031507	-0,8963248	0,398538124	0,46845945	0,252039
CpG006483	-2,248959617	-0,30523031	0,135720672	0,8088375	0,252039
CpG011120	-2,248661504	-0,74742642	0,332387251	0,53216231	0,252039
CpG006379	-2,245393888	-0,4101125	0,182646127	0,75584369	0,252039
CpG002682	-2,24513016	-0,42568479	0,189603613	0,73683404	0,252039
CpG003130	-2,242272777	-0,90046877	0,401587524	0,48471344	0,252039
CpG002804	-2,240382014	-0,40945658	0,182761949	0,74665593	0,252039
CpG005636	-2,238689078	-0,4940646	0,220693713	0,70130918	0,252039
CpG000583	-2,238064668	-0,52817289	0,235995366	0,67949513	0,252039
CpG001870	-2,233236865	-0,74421031	0,33324289	0,5476207	0,252039
CpG001457	-2,231639399	-0,53981896	0,241893453	0,68290857	0,252039
CpG008852	-2,229666334	-0,85317224	0,382645701	0,47177889	0,252039
CpG004311	-2,223611311	-0,34458388	0,15496588	0,78553846	0,252039
CpG009021	-2,215135334	-0,39801149	0,17967818	0,76625626	0,252039
CpG000489	-2,213595174	-0,44696448	0,201917895	0,72064746	0,252039
CpG007358	-2,213484221	-0,46541897	0,210265323	0,71334096	0,252039
CpG0011320	-2,21217707	-0,49320101	0,22294825	0,69293438	0,252039
CpG006668	-2,204881911	-0,65842251	0,298620305	0,58518188	0,252039
CpG0011330	-2,201445324	-0,53971925	0,245165867	0,66312437	0,252039
CpG010175	-2,200224239	-0,62508597	0,28410103	0,6051848	0,252039
CpG000366	-2,198581888	-0,58158317	0,264526499	0,67630816	0,252039
CpG005034	-2,195673068	-0,40362834	0,183828978	0,74999553	0,252039
CpG001775	-2,195500413	-0,5853632	0,26661949	0,64355411	0,252039
CpG000270	-2,192692683	-0,7332637	0,334412436	0,6335036	0,252039
CpG001089	-2,191340481	-0,27459703	0,125310072	0,82717941	0,252039
CpG005109	-2,186432861	-0,46207319	0,211336557	0,71191913	0,252039
CpG003018	-2,181678051	-0,42010736	0,192561576	0,73844553	0,252039
CpG010550	-2,177332918	-0,52678389	0,241939985	0,67087798	0,252039
CpG005717	-2,176401266	-0,40597705	0,186535938	0,75163365	0,252039
CpG006035	-2,175912258	-0,60947176	0,280099418	0,64112114	0,252039
CpG006067	-2,175146641	-0,32913171	0,151314723	0,79297919	0,252039
CpG003894	-2,174529543	-0,51301934	0,235921992	0,7054878	0,252039
CpG009426	-2,165933929	-0,40061308	0,184960898	0,75777302	0,252039
CpG004796	-2,164922581	-0,37728984	0,174274056	0,7674154	0,252039
CpG002709	-2,159098493	-0,51691161	0,239410853	0,68639772	0,252039
CpG008069	-2,157748803	-0,6318819	0,292843122	0,62043962	0,252039
CpG003436	-2,157155206	-0,39545284	0,183321461	0,75592541	0,252039
CpG001177	-2,153654643	-0,9176531	0,42609111	0,44295626	0,252039
CpG0011349	-2,15038068	-0,45002833	0,209278448	0,72251463	0,252039
CpG005816	-2,149084249	-0,69765166	0,324627415	0,5595717	0,252039
CpG003590	-2,148588553	-0,56740413	0,264082265	0,64333603	0,252039
CpG000628	-2,14851415	-0,33230587	0,154667762	0,79754779	0,252039
CpG009843	-2,142338094	-0,32702284	0,152647633	0,79765516	0,252039
CpG0011229	-2,142194506	-0,56109179	0,261923832	0,64875653	0,252039
CpG007533	-2,138568683	-0,70007962	0,327358959	0,58312462	0,252039
CpG000106	-2,136648643	-0,3389382	0,158630759	0,79484462	0,252039
CpG004872	-2,129733144	-0,69387283	0,325802711	0,56573192	0,252039

CpG002008	-2,127424011	-0,41857642	0,1967527	0,73362436	0,252039
CpG000220	-2,123242213	-0,31843184	0,149974334	0,80308095	0,252039
CpG006286	-2,119317013	-0,37387167	0,176411395	0,7667719	0,252039
CpG000837	-2,114909274	-0,51630972	0,244128541	0,69476998	0,252039
CpG003782	-2,111789	-0,39287764	0,186040197	0,75103745	0,252039
CpG000427	-2,11099146	-0,36212982	0,171544902	0,77568083	0,252039
CpG000782	-2,110508113	-0,66035006	0,312886767	0,60175344	0,252039
CpG003206	-2,108607676	-0,39488674	0,187273692	0,75639586	0,252039
CpG004335	-2,106745057	-0,30525929	0,14489617	0,80898218	0,252039
CpG002377	-2,106148656	-0,52726031	0,250343348	0,68738897	0,252039
CpG010030	-2,106117256	-0,30805874	0,146268562	0,80459014	0,252039
CpG001327	-2,105498287	-0,4424024	0,210117674	0,71460672	0,252039
CpG011141	-2,104726007	-0,37853447	0,179849763	0,75529409	0,252039
CpG003313	-2,104203108	-0,41320587	0,196371665	0,73729662	0,252039
CpG009069	-2,104200165	-0,48705564	0,231468304	0,69035954	0,252039
CpG0011270	-2,098992036	-0,60849508	0,289898707	0,62469789	0,305451
CpG001795	-2,098575439	-0,37998189	0,181066586	0,77538379	0,305451
CpG001083	-2,095030855	-0,36445226	0,173960331	0,76712904	0,305451
CpG001021	-2,093442728	-0,36481426	0,17426522	0,78370624	0,305451
CpG0011323	-2,091338016	-0,73427573	0,351103327	0,53458692	0,305451
CpG000864	-2,090732543	-0,56235741	0,268976257	0,64350346	0,305451
CpG001791	-2,086454269	-0,32320078	0,154904318	0,79736933	0,305451
CpG009449	-2,084064954	-0,43722161	0,209792701	0,72108294	0,305451
CpG008875	-2,083236674	-0,30770683	0,147706131	0,80437204	0,305451
CpG002434	-2,076413041	-0,36875576	0,17759268	0,77301701	0,305451
CpG002812	-2,074058712	-0,33669227	0,162334973	0,78630344	0,305451
CpG002954	-2,071502181	-0,4198635	0,202685519	0,74639819	0,305451
CpG002136	-2,070548504	-0,48254397	0,233051275	0,72314858	0,305451
CpG000664	-2,070331253	-0,29895363	0,144398934	0,81258299	0,305451
CpG003055	-2,070143603	-0,3267021	0,157816154	0,79115311	0,305451
CpG0011253	-2,06881845	-0,56516068	0,273180415	0,66321039	0,305451
CpG008973	-2,064165602	-0,38845755	0,188191076	0,7629649	0,305451
CpG000931	-2,060001563	-0,39732577	0,192876441	0,74432561	0,305451
CpG0011282	-2,059371658	-0,65359877	0,317377762	0,57600589	0,305451
CpG002215	-2,058607829	-0,32605081	0,158384132	0,79246541	0,305451
CpG000134	-2,056734499	-0,33901946	0,164833849	0,79081795	0,305451
CpG007138	-2,054152886	-0,34955683	0,170170793	0,78535942	0,305451
CpG0011369	-2,053458874	-0,48018439	0,233841736	0,69535347	0,305451
CpG006669	-2,050484613	-0,30864898	0,150524895	0,81271244	0,305451
CpG000945	-2,047846333	-0,3997912	0,195225193	0,74606408	0,305451
CpG005741	-2,045998597	-0,40523156	0,198060529	0,7564565	0,305451
CpG011123	-2,036914354	-0,56187914	0,275848189	0,63650116	0,305451
CpG000434	-2,035951377	-0,43736918	0,214822997	0,72347154	0,305451
CpG002586	-2,029628849	-0,39321304	0,193736426	0,75631459	0,305451
CpG004642	-2,029434303	-0,33686093	0,165987601	0,79951412	0,305451
CpG000815	-2,028993473	-0,46019041	0,226807238	0,73948342	0,305451
CpG0011373	-2,028872944	-0,48086634	0,237011559	0,70080006	0,305451
CpG002702	-2,027860235	-0,42642191	0,210281708	0,7469053	0,305451
CpG001776	-2,027473867	-0,33503061	0,16524534	0,80238812	0,305451
CpG0011232	-2,026340385	-0,49583193	0,244693305	0,68090685	0,305451
CpG000268	-2,024116597	-0,39211802	0,193723041	0,75473948	0,305451
CpG003686	-2,023467471	-0,40851073	0,201886482	0,74022615	0,305451
CpG009424	-2,023109801	-0,41779652	0,206512033	0,74915298	0,305451
CpG007050	-2,019801916	-0,39954497	0,197813936	0,75815449	0,305451
CpG007658	-2,018783719	-0,58630898	0,29042684	0,62730692	0,305451
CpG005967	-2,018345978	-0,34259126	0,169738618	0,78529498	0,305451
CpG000007	-2,018014748	-0,32964753	0,163352387	0,79227387	0,305451
CpG005871	-2,015852074	-0,45271835	0,224579153	0,73014671	0,436771
CpG002470	-2,015723597	-0,37776598	0,187409616	0,77255847	0,436771
CpG008497	-2,015691246	-0,44778255	0,222148381	0,71274353	0,436771
CpG008886	-2,015244032	-0,39936927	0,198174148	0,74072239	0,436771
CpG007182	-2,014849293	-0,62419355	0,309796645	0,59882194	0,436771
CpG0011206	-2,01289077	-0,39873208	0,198089277	0,75429653	0,436771
CpG000230	-2,012809952	-0,55011594	0,273307443	0,65727471	0,436771
CpG0011230	-2,012531833	-0,40865673	0,203056032	0,73669951	0,436771
CpG001159	-2,012092008	-0,65725053	0,326650336	0,62624622	0,436771
CpG002544	-2,011496449	-0,46369787	0,230523834	0,70138514	0,436771
CpG005652	-2,011246405	-0,35361914	0,175820893	0,7820171	0,436771
CpG010205	-2,010795818	-0,43513533	0,216399561	0,74005481	0,436771
CpG0011217	-2,010566421	-0,41724354	0,20752537	0,74263631	0,436771

Anhang

CpG001802	-2,00839207	-0,43364786	0,21591793	0,72914669	0,436771
CpG007067	-2,005754492	-0,50242911	0,25049382	0,68296622	0,436771
CpG002922	-2,003642026	-0,37085023	0,185088065	0,77130846	0,436771
CpG008170	-2,002692058	-0,42683202	0,213129132	0,74141799	0,436771
CpG006679	-2,000837333	-0,38064123	0,190240969	0,7674821	0,436771
CpG001773	-1,999916524	-0,70960695	0,354818286	0,55141061	0,436771
CpG001577	-1,996516678	-0,41706432	0,208895985	0,75598248	0,436771
CpG004017	-1,995483819	-0,28628904	0,143468485	0,8183195	0,436771
CpG004383	-1,995315504	-0,28048493	0,140571717	0,82658239	0,436771
CpG001130	-1,99163188	-0,40610614	0,203906226	0,75140763	0,436771
CpG000806	-1,983172874	-0,2895293	0,14599297	0,81681017	0,436771
CpG002846	-1,981678769	-0,34842512	0,175823211	0,78138533	0,436771
CpG000263	-1,978429623	-0,50432659	0,254912573	0,68124269	0,436771
CpG009753	-1,977834804	-0,38687204	0,195603818	0,75138296	0,436771
CpG001988	-1,976856073	-0,46198818	0,233698439	0,70772563	0,436771
CpG0011182	-1,97606279	-0,59791106	0,302576956	0,61017021	0,436771
CpG004741	-1,974127546	-0,4191743	0,212333949	0,74815877	0,436771
CpG004106	-1,96961851	-0,3954959	0,200798226	0,76391357	0,436771
CpG008954	-1,969500087	-0,37825354	0,19205561	0,76830648	0,436771
CpG003597	-1,967381378	-0,32812031	0,166780226	0,79562109	0,436771
CpG002558	-1,96643382	-0,39759443	0,202190596	0,74068334	0,436771
CpG000160	-1,962643666	-0,36259027	0,184745847	0,77818148	0,436771
CpG008247	-1,961519845	-0,5215498	0,265890656	0,66555425	0,436771
CpG002551	-1,960291457	-0,38386261	0,195819152	0,76753309	0,436771
CpG002769	-1,957072952	-0,49264187	0,251723815	0,68579137	0,436771
CpG006749	-1,955191402	-0,42838958	0,219103654	0,73169387	0,436771
CpG005265	-1,954847234	-0,34044313	0,174153319	0,79068434	0,436771
CpG007074	-1,951171024	-0,25930876	0,13289904	0,83635455	0,436771
CpG000070	-1,946563063	-0,32819377	0,168601664	0,79308225	0,436771
CpG002455	-1,943592932	-0,36829158	0,189490079	0,77315572	0,436771
CpG002042	-1,942821848	-0,35897128	0,184767986	0,78886064	0,436771
CpG007681	-1,942289862	-0,5937206	0,305680737	0,69165069	0,436771
CpG010498	-1,941627283	-0,57362902	0,295437249	0,63965748	0,436771
CpG001652	-1,939675765	-0,30246979	0,155938325	0,8069932	0,436771
CpG006371	-1,937485393	-0,25525358	0,131744778	0,83736112	0,436771
CpG001809	-1,937465225	-0,34844419	0,179845392	0,78279989	0,436771
CpG007849	-1,936003657	-0,74804551	0,386386414	0,50388345	0,436771
CpG0011289	-1,934950963	-0,34621743	0,178928269	0,77902038	0,436771
CpG002596	-1,931646217	-0,36738241	0,190191352	0,7675773	0,436771
CpG001743	-1,930610087	-0,37003331	0,191666515	0,78927951	0,628594
CpG003797	-1,930376602	-0,66472767	0,344351287	0,56268484	0,628594
CpG004961	-1,925414699	-0,34120249	0,177209873	0,78500468	0,628594
CpG001199	-1,922530637	-0,28212639	0,146747407	0,81975927	0,628594
CpG004426	-1,920848165	-0,2375684	0,123678904	0,84904781	0,628594
CpG000323	-1,91868562	-0,35850197	0,186847686	0,77284621	0,628594
CpG010371	-1,91794587	-0,5201864	0,271220585	0,66810025	0,628594
CpG008106	-1,917496379	-0,29029406	0,151392233	0,82333901	0,628594
CpG002861	-1,915557605	-0,47960798	0,250375128	0,71314864	0,628594
CpG007616	-1,913424988	-0,37868687	0,197910487	0,76151001	0,628594
CpG001763	-1,912496558	-0,26293447	0,137482322	0,83420655	0,628594
CpG005709	-1,907680774	-0,27568337	0,144512319	0,82883708	0,628594
CpG010052	-1,904787632	-0,25756545	0,135220035	0,83863867	0,628594
CpG006278	-1,904680955	-0,35434848	0,186040858	0,77249897	0,628594
CpG006015	-1,902608023	-0,25561404	0,134349293	0,83882399	0,628594
CpG010400	-1,898975456	-0,35178674	0,185250807	0,7814717	0,628594
CpG007169	-1,897815672	-0,33211611	0,174999139	0,79850546	0,628594
CpG008425	-1,895076756	-0,38653109	0,203965931	0,75645558	0,628594
CpG008326	-1,893878833	-0,42903931	0,226540001	0,72400423	0,628594
CpG001154	-1,892971705	-0,2631935	0,139037207	0,83338511	0,628594
CpG005720	-1,892741309	-0,31843708	0,168241205	0,79387032	0,628594
CpG008124	-1,89272804	-0,40400127	0,213449193	0,75051564	0,628594
CpG009664	-1,892653046	-0,3471749	0,183432936	0,78148766	0,628594
CpG000754	-1,892198842	-0,32880935	0,173771035	0,78947454	0,628594
CpG010527	-1,890292376	-0,37630331	0,199071486	0,77175107	0,628594
CpG004082	-1,888804326	-0,35469262	0,187786851	0,77164185	0,628594
CpG008136	-1,887759197	-0,38121912	0,201942662	0,76973143	0,628594
CpG006905	-1,886816069	-0,41309829	0,218939353	0,74403883	0,628594
CpG000570	-1,88610194	-0,34627452	0,183592687	0,78053554	0,628594
CpG002546	-1,885681096	-0,23978872	0,127162924	0,84456315	0,628594
CpG000181	-1,884103658	-0,30350739	0,16108848	0,81032847	0,628594

CpG003791	-1,883191375	-0,36786262	0,195340009	0,78230954	0,628594
CpG002337	-1,882267884	-0,38139584	0,202625697	0,74938945	0,628594
CpG008086	-1,881491176	-0,60670409	0,322459175	0,60408468	0,628594
CpG000588	-1,880720305	-0,70603615	0,375407311	0,56205654	0,628594
CpG000364	-1,879052811	-0,28996718	0,154315609	0,81346755	0,628594
CpG007139	-1,877366294	-0,27034967	0,144004755	0,82501084	0,628594
CpG000358	-1,876578834	-0,33760107	0,17990242	0,78635567	0,628594
CpG007164	-1,876478214	-0,54585756	0,290894695	0,67327592	0,628594
CpG003050	-1,874119281	-0,35254866	0,188114315	0,77775396	0,628594
CpG000060	-1,874000005	-0,28486548	0,152009326	0,82113039	0,628594
CpG0011208	-1,872830293	-0,48545222	0,259207798	0,73220432	0,628594
CpG0011195	-1,871740774	-0,39733493	0,212280963	0,74287458	0,628594
CpG008896	-1,871248068	-0,64004876	0,34204378	0,57564392	0,628594
CpG001175	-1,868687252	-0,70637764	0,378007417	0,53850134	0,628594
CpG002884	-1,867192029	-0,3557683	0,190536533	0,76993257	0,628594
CpG007540	-1,866084571	-0,2930909	0,157061962	0,81646712	0,628594
CpG008227	-1,862011619	-0,38344822	0,205932238	0,77766681	0,628594
CpG004974	-1,862004971	-0,44742276	0,240290852	0,7500128	0,628594
CpG003815	-1,854794501	-0,63407933	0,341859613	0,62695335	0,628594
CpG004427	-1,854424875	-0,64406998	0,347315217	0,5808894	0,628594
CpG000859	-1,854148697	-0,437211	0,235801476	0,74944408	0,628594
CpG004860	-1,853832552	-0,45096654	0,243261744	0,70620218	0,628594
CpG002563	-1,851724692	-0,44179753	0,238587051	0,70745807	0,628594
CpG003377	-1,847874216	-0,41231673	0,223130301	0,75634026	0,8298
CpG0011346	-1,847094173	-0,54790595	0,296631304	0,64901505	0,8298
CpG010064	-1,844232485	-0,64026719	0,347172711	0,56277364	0,8298
CpG000356	-1,843540974	-0,54412721	0,295153302	0,63847941	0,8298
CpG000207	-1,843292596	-0,374202	0,203007382	0,78466561	0,8298
CpG009417	-1,841348422	-0,26399835	0,143372293	0,83471668	0,8298
CpG001794	-1,840498107	-0,54643129	0,296893154	0,71131005	0,8298
CpG000254	-1,839723462	-0,40904432	0,222340112	0,73704314	0,8298
CpG004239	-1,839722886	-0,23149734	0,125832725	0,85198597	0,8298
CpG001869	-1,837262156	-0,56309211	0,306484357	0,62941051	0,8298
CpG007625	-1,835792797	-0,48306051	0,263134547	0,68194442	0,8298
CpG005206	-1,83469681	-0,258882	0,141103423	0,83592661	0,8298
CpG000222	-1,832632464	-0,24595298	0,134207475	0,84143974	0,8298
CpG004960	-1,832435822	-0,30306811	0,165390843	0,8123593	0,8298
CpG000692	-1,829822145	-0,40064011	0,218950303	0,7371672	0,8298
CpG001539	-1,829512363	-0,65043339	0,355522818	0,61112877	0,8298
CpG000927	-1,828558367	-0,28170384	0,154057888	0,82079957	0,8298
CpG001749	-1,826814793	-0,36126625	0,197757458	0,77263651	0,8298
CpG007751	-1,825826583	-0,51907343	0,284295036	0,68048376	0,8298
CpG008917	-1,825554922	-0,27631857	0,15136141	0,82041936	0,8298
CpG002245	-1,823129703	-0,43748855	0,239965673	0,74709791	0,8298
CpG002581	-1,819425006	-0,50101457	0,275369731	0,68171562	0,8298
CpG001211	-1,818657123	-0,49626726	0,27287566	0,68673161	0,8298
CpG005541	-1,817644485	-0,31637641	0,174058463	0,79661906	0,8298
CpG008879	-1,814435117	-0,30183045	0,16634954	0,80923998	0,8298
CpG002993	-1,813402325	-0,40328491	0,222391307	0,75341573	0,8298
CpG002500	-1,812479687	-0,46097445	0,254333579	0,71431147	0,8298
CpG002439	-1,810321947	-0,59811057	0,330389061	0,60475005	0,8298
CpG007167	-1,810311557	-0,4168432	0,230260474	0,73435387	0,8298
CpG004202	-1,808093874	-0,26555766	0,146871612	0,83636868	0,8298
CpG005026	-1,807798325	-0,2633144	0,145654745	0,82849126	0,8298
CpG000065	-1,807427561	-0,24736178	0,136858473	0,84532368	0,8298
CpG001519	-1,804737547	-0,25850708	0,143238045	0,83649338	0,8298
CpG002219	-1,803718481	-0,31388689	0,174022107	0,81127442	0,8298
CpG007983	-1,799548417	-0,42006896	0,23343021	0,73018376	0,8298
CpG002960	-1,798071616	-0,30085453	0,167320658	0,81467313	0,8298
CpG001943	-1,795677513	-0,3038602	0,169217577	0,80165317	0,8298
CpG007967	-1,792450765	-1,08055745	0,602838011	0,32819074	0,8298
CpG000399	-1,789880325	-0,41617713	0,232516734	0,72883714	0,8298
CpG003031	-1,789370278	-0,36833426	0,205845745	0,77946696	0,8298
CpG006023	-1,788531897	-0,23085585	0,129075611	0,85170626	0,8298
CpG0011372	-1,787049236	-0,48579775	0,271843516	0,67832253	0,8298
CpG001079	-1,781333549	-0,59964721	0,33662826	0,59089116	0,8298
CpG000398	-1,781087854	-0,29135416	0,163582138	0,81471491	0,8298
CpG0011190	-1,779162694	-0,42855883	0,240876696	0,71838058	0,8298
CpG006543	-1,777287825	-0,33033124	0,185862544	0,80419345	0,8298
CpG001887	-1,774778096	-0,28827542	0,162428994	0,82188038	0,8298

Anhang

CpG003009	-1,773705384	-0,37999333	0,214237003	0,75584479	0,8298
CpG002257	-1,772506286	-0,42254211	0,238386803	0,76368858	0,8298
CpG008334	-1,770230021	-0,24815298	0,140181208	0,84229493	1,03357
CpG004939	-1,769126648	-0,64089801	0,362268024	0,6136394	1,03357
CpG002773	-1,761170033	-0,48811213	0,277152191	0,67333969	1,03357
CpG006017	-1,760477557	-0,31534377	0,179123991	0,79348015	1,03357
CpG000197	-1,759807455	-0,41718256	0,237061478	0,74064437	1,03357
CpG000376	-1,75962399	-0,23906872	0,135863525	0,84970872	1,03357
CpG008898	-1,757531576	-0,45464187	0,258682052	0,71163472	1,03357
CpG005294	-1,756029163	-0,33885238	0,192965119	0,78364824	1,03357
CpG003976	-1,754280328	-0,37930688	0,216217938	0,74964248	1,03357
CpG009094	-1,753323044	-0,29764526	0,169760649	0,81635359	1,03357
CpG006782	-1,753223565	-0,54499478	0,310852983	0,62584307	1,03357
CpG009075	-1,753037857	-0,56380278	0,321614718	0,6265672	1,03357
CpG008138	-1,752037111	-0,27074939	0,154534049	0,83053707	1,03357
CpG0011257	-1,747698022	-0,44816168	0,256429703	0,70622149	1,03357
CpG008664	-1,742971927	-0,34528224	0,198099714	0,77610126	1,03357
CpG010243	-1,742703853	-0,5696565	0,32688084	0,61193193	1,03357
CpG009845	-1,74221208	-0,29880525	0,171509114	0,8183096	1,03357
CpG010162	-1,741603364	-0,23995701	0,137779369	0,84808645	1,03357
CpG003635	-1,740812611	-0,55082126	0,316416171	0,65003177	1,03357
CpG001161	-1,733501858	-0,35075327	0,202337981	0,79323089	1,03357
CpG006044	-1,731618124	-0,34097792	0,196912883	0,79736721	1,03357
CpG0011291	-1,729945672	-0,27377542	0,158256656	0,82525235	1,03357
CpG002818	-1,727528498	-0,69947142	0,40489718	0,60757912	1,03357
CpG006696	-1,725836174	-0,45439363	0,263288973	0,69033269	1,03357
CpG000316	-1,725152828	-0,24364795	0,141232674	0,84600797	1,03357
CpG007675	-1,724482317	-0,39273338	0,22773987	0,73763756	1,03357
CpG001673	-1,723840114	-0,48654175	0,282242967	0,6782378	1,03357
CpG009943	-1,723428733	-0,48395111	0,280807148	0,66589664	1,03357
CpG008340	-1,722797789	-0,33015709	0,191640071	0,78194735	1,03357
CpG000308	-1,719937103	-0,30868804	0,179476353	0,80460318	1,03357
CpG008992	-1,719363568	-0,57847853	0,336449222	0,63083258	1,03357
CpG006041	-1,719194218	-0,30025051	0,174646069	0,80570225	1,03357
CpG007145	-1,719190825	-0,64834612	0,377122834	0,53920148	1,03357
CpG000781	-1,717670335	-0,41821475	0,243477891	0,72417329	1,03357
CpG000885	-1,717083559	-0,23894456	0,139157211	0,84617303	1,03357
CpG000468	-1,714521618	-0,30279963	0,176608815	0,81741845	1,03357
CpG000431	-1,714256041	-0,27742968	0,16183678	0,82831776	1,03357
CpG003986	-1,714115144	-0,24157607	0,140933397	0,84798021	1,03357
CpG005377	-1,712945405	-0,34195878	0,199632035	0,78486453	1,03357
CpG005846	-1,710935949	-0,22829477	0,13343268	0,85472595	1,03357
CpG006700	-1,709816359	-0,38096601	0,222811067	0,74954408	1,03357
CpG007076	-1,706511073	-0,28875469	0,169207629	0,81038197	1,03357
CpG008035	-1,705788217	-0,34559777	0,202602977	0,78903505	1,03357
CpG011107	-1,704682244	-0,79654793	0,467270623	0,42413116	1,03357
CpG004763	-1,70137978	-0,28404124	0,166947581	0,82397213	1,328769
CpG004676	-1,700753798	-0,33404798	0,196411722	0,79302112	1,328769
CpG009435	-1,69930737	-0,33676375	0,198177068	0,80305815	1,328769
CpG001323	-1,698890438	-0,36706635	0,216062405	0,76378647	1,328769
CpG010089	-1,698403679	-0,34860615	0,205255176	0,78631016	1,328769
CpG001117	-1,69697801	-0,28836108	0,16992623	0,82343461	1,328769
CpG0011314	-1,691621385	-0,32930189	0,194666424	0,78095664	1,328769
CpG011144	-1,688451155	-0,41362562	0,244973403	0,71539328	1,328769
CpG005038	-1,686598599	-0,27844864	0,16509479	0,83412339	1,328769
CpG000122	-1,685121145	-0,34092014	0,202311946	0,77003103	1,328769
CpG008907	-1,683764166	-0,26218041	0,155710885	0,83157621	1,328769
CpG000317	-1,682386541	-0,28111162	0,167090984	0,82458052	1,328769
CpG005345	-1,680890786	-0,28615095	0,170237679	0,81861123	1,328769
CpG009009	-1,678394692	-0,36084208	0,214992387	0,76825703	1,328769
CpG002736	-1,677087676	-0,32689903	0,194920659	0,79036662	1,328769
CpG010430	-1,674943128	-0,41335361	0,246786656	0,71911275	1,328769
CpG0011204	-1,674152881	-0,35677261	0,213106348	0,7649846	1,328769
CpG002718	-1,673177315	-0,36634179	0,218949774	0,7568524	1,328769
CpG000079	-1,67312231	-0,58048317	0,346946046	0,60079583	1,328769
CpG000937	-1,672790318	-0,31685897	0,18941942	0,79670395	1,328769
CpG001391	-1,672465374	-0,24137548	0,144323156	0,84710863	1,328769
CpG001898	-1,672044529	-0,51977353	0,31086106	0,6567447	1,328769
CpG008295	-1,671606745	-0,3069904	0,183649895	0,81471381	1,328769
CpG003143	-1,668894011	-0,4318956	0,258791508	0,73616113	1,328769

CpG007583	-1,668498445	-0,35562408	0,213140192	0,7744662	1,328769
CpG000425	-1,667705337	-0,33187378	0,199000249	0,80592489	1,328769
CpG0011188	-1,66755841	-0,35268719	0,211499151	0,76590165	1,328769
CpG008754	-1,666116911	-0,40443362	0,242740241	0,75572074	1,328769
CpG006942	-1,66498119	-0,24339964	0,146187622	0,84524674	1,328769
CpG004429	-1,662067209	-0,32464565	0,195326429	0,80153931	1,328769
CpG008969	-1,660011343	-0,4143702	0,249618898	0,71933998	1,328769
CpG011160	-1,659564776	-0,45742067	0,275626888	0,68493503	1,328769
CpG006973	-1,65845317	-0,26268096	0,158389134	0,83591543	1,328769
CpG000819	-1,657930366	-0,3195054	0,192713401	0,79537328	1,328769
CpG000475	-1,656334978	-0,34058194	0,205623831	0,79844158	1,328769
CpG008975	-1,655195688	-0,41580233	0,251210375	0,73629869	1,328769
CpG001955	-1,65429253	-0,24945055	0,150789868	0,83894623	1,328769
CpG001905	-1,653444005	-0,26352657	0,159380401	0,829559	1,328769
CpG007556	-1,651499111	-0,33783682	0,204563729	0,7827295	1,328769
CpG0011348	-1,651190864	-0,43245228	0,261903265	0,70427335	1,328769
CpG008593	-1,650114983	-0,23693294	0,143585716	0,84526922	1,328769
CpG004819	-1,64975659	-0,57692843	0,349705185	0,60996285	1,328769
CpG007920	-1,647976475	-0,48773232	0,295958304	0,66943158	1,328769
CpG001698	-1,646560849	-0,35143222	0,213434094	0,78889068	1,328769
CpG008646	-1,645705834	-0,24069735	0,146257819	0,85010404	1,328769
CpG003398	-1,645558481	-0,37437849	0,22750847	0,75151111	1,328769
CpG005961	-1,642858032	-0,24708795	0,150401277	0,850092	1,328769
CpG000374	-1,641192645	-0,31981589	0,194867976	0,78951918	1,328769
CpG003245	-1,639936389	-0,48823604	0,297716447	0,66996488	1,328769
CpG002404	-1,639430043	-0,48685347	0,296965079	0,70758522	1,328769
CpG0011351	-1,637223099	-0,37495695	0,22902007	0,78551901	1,328769
CpG004777	-1,635119815	-0,32668359	0,199791834	0,79807031	1,328769
CpG000224	-1,633420508	-0,26882934	0,164580609	0,82212043	1,328769
CpG007735	-1,632411892	-0,34967681	0,214208686	0,78266275	1,328769
CpG011145	-1,632406408	-0,39103295	0,239543872	0,76850483	1,328769
CpG007640	-1,631261539	-0,4822207	0,295612131	0,68546942	1,328769
CpG0011333	-1,627086842	-0,38213551	0,234858706	0,74125918	1,328769
CpG000235	-1,626380604	-0,24000959	0,147572831	0,84844184	1,328769
CpG008874	-1,625925693	-0,31654704	0,194687274	0,79011305	1,328769
CpG009765	-1,625650984	-0,30906109	0,190115277	0,80072876	1,328769
CpG001125	-1,625120708	-0,29939559	0,184229756	0,80576987	1,328769
CpG002928	-1,624803971	-0,47541205	0,292596557	0,70938147	1,328769
CpG009921	-1,623711231	-0,29953039	0,184472698	0,81335199	1,328769
CpG007236	-1,622473214	-0,30997143	0,191048719	0,81167553	1,328769
CpG001574	-1,622098164	-0,51947056	0,320246066	0,68919988	1,328769
CpG005864	-1,620384433	-0,34030807	0,210016869	0,77189926	1,328769
CpG003006	-1,619574527	-0,50571675	0,312252841	0,65408775	1,328769
CpG001358	-1,619534294	-0,33062865	0,204150448	0,78634321	1,328769
CpG008273	-1,618168154	-0,24868871	0,153685333	0,84872575	1,68294
CpG004743	-1,616511212	-0,22840874	0,141297341	0,85108064	1,68294
CpG000517	-1,616191992	-0,28782901	0,178090851	0,82448877	1,68294
CpG007809	-1,616000847	-0,3089914	0,19120745	0,80389625	1,68294
CpG008033	-1,615694147	-0,25645254	0,158725917	0,83043819	1,68294
CpG005451	-1,614210586	-0,24428902	0,151336524	0,83913029	1,68294
CpG000609	-1,613007333	-0,32977912	0,204449859	0,80129932	1,68294
CpG001276	-1,611644398	-0,23417164	0,14529982	0,84879129	1,68294
CpG010160	-1,611292575	-0,52183001	0,323858012	0,62469716	1,68294
CpG005119	-1,607487006	-0,32860665	0,204422587	0,78102194	1,68294
CpG001840	-1,606858914	-0,29558431	0,183951625	0,82058225	1,68294
CpG007606	-1,605997303	-0,26473207	0,164839671	0,82949683	1,68294
CpG001242	-1,605735755	-0,26588917	0,165587126	0,8319735	1,68294
CpG000522	-1,602700019	-0,23518806	0,146744905	0,84667208	1,68294
CpG003311	-1,602455041	-0,30710795	0,191648405	0,81546074	1,68294
CpG004822	-1,602177636	-0,31819276	0,198600176	0,80030838	1,68294
CpG010075	-1,60192561	-0,26355755	0,164525459	0,82980588	1,68294
CpG005031	-1,601212567	-0,26243055	0,163894884	0,831252	1,68294
CpG009099	-1,600906688	-0,2794532	0,174559333	0,81544004	1,68294
CpG010334	-1,597514357	-0,40092719	0,25096938	0,72832608	1,68294
CpG0011225	-1,595841932	-0,47726149	0,299065639	0,66909473	1,68294
CpG000740	-1,590747434	-0,27547575	0,17317378	0,81488486	1,68294
CpG010459	-1,590328471	-0,31946887	0,200882317	0,80679985	1,68294
CpG001531	-1,589588585	-0,23785969	0,149636009	0,84837124	1,68294
CpG0011241	-1,589551596	-0,40774247	0,256514147	0,71663647	1,68294
CpG000653	-1,587213381	-0,22095661	0,139210397	0,85629763	1,68294

Anhang

CpG000075	-1,586925098	-0,27573996	0,173757386	0,81629544	1,68294
CpG010555	-1,58645116	-0,54064664	0,340789969	0,65557528	1,68294
CpG003133	-1,586411817	-0,34984079	0,220523312	0,77133199	1,68294
CpG000026	-1,58510995	-0,28994701	0,182919181	0,81976909	1,68294
CpG010208	-1,585027055	-0,54912898	0,3464477	0,63365767	1,68294
CpG004540	-1,584483368	-0,32813825	0,207094793	0,79071889	1,68294
CpG000913	-1,584136887	-0,4569848	0,288475573	0,71556663	1,68294
CpG000751	-1,583814129	-0,24516792	0,154795892	0,8472095	1,68294
CpG004645	-1,583485089	-0,26137414	0,165062585	0,83354888	1,68294
CpG006675	-1,582280637	-0,26695328	0,168714244	0,82876823	1,68294
CpG001259	-1,582018247	-0,35839092	0,226540318	0,76577681	1,68294
CpG005259	-1,581643042	-0,32948316	0,208317016	0,77744766	1,68294
CpG008525	-1,580717977	-0,35546331	0,224874592	0,77439651	1,68294
CpG006054	-1,576951822	-0,25554886	0,16205242	0,83028686	1,68294
CpG011108	-1,576786336	-0,40691217	0,258064239	0,73739546	1,68294
CpG0011227	-1,575097391	-0,34693159	0,220260408	0,76175728	1,68294
CpG001860	-1,574071118	-0,58940919	0,374448895	0,60124597	1,68294
CpG004183	-1,573294886	-0,28771663	0,18287521	0,82619403	1,68294
CpG003666	-1,571384563	-0,28489855	0,181304152	0,81662306	1,68294
CpG009063	-1,569795235	-0,33336748	0,212363669	0,80209678	1,68294
CpG0011321	-1,568694562	-0,43593107	0,27789417	0,6980297	1,68294
CpG007334	-1,567193945	-0,34106541	0,217628078	0,77015711	1,68294
CpG004861	-1,5670582	-0,35519083	0,226660902	0,78504042	1,68294
CpG001417	-1,564425149	-0,29565437	0,188985945	0,80643095	1,68294
CpG007426	-1,563751672	-0,21794383	0,139372407	0,86052411	1,68294
CpG001728	-1,561712626	-0,37867788	0,242476029	0,75522009	1,68294
CpG000699	-1,561644413	-0,23925543	0,153207368	0,84273667	1,68294
CpG000451	-1,560731927	-0,38434978	0,246262522	0,77214809	1,68294
CpG007554	-1,559119165	-0,38014329	0,243819266	0,7490526	1,68294
CpG004163	-1,558129469	-0,24973802	0,160280658	0,84968375	1,68294
CpG004677	-1,555676617	-0,3118568	0,200463769	0,80068272	1,68294
CpG003281	-1,555461979	-0,39682727	0,255118593	0,75993369	1,68294
CpG006298	-1,555309906	-0,24405325	0,156916156	0,84102303	1,68294
CpG008345	-1,554262423	-0,24885824	0,160113398	0,84305156	1,68294
CpG009329	-1,551358795	-0,30559413	0,196984819	0,7974027	1,68294
CpG000672	-1,549026251	-0,3070986	0,198252675	0,80122032	1,68294
CpG004778	-1,548071129	-0,30087102	0,194352192	0,82347038	1,68294
CpG000083	-1,54539195	-0,26992875	0,174666854	0,82837432	1,68294
CpG005219	-1,541969195	-0,36635509	0,237589109	0,75987819	1,68294
CpG005837	-1,541745942	-0,2323371	0,150697395	0,85709259	1,68294
CpG004444	-1,541094383	-0,35517952	0,230472269	0,7604881	1,68294
CpG003678	-1,540736512	-0,32452089	0,210627118	0,82329971	1,68294
CpG003207	-1,540336726	-0,29935364	0,194342986	0,80548019	1,68294
CpG010342	-1,53983744	-0,38424196	0,249534108	0,71759987	1,68294
CpG0011367	-1,539480664	-0,36322761	0,235941653	0,75216686	1,68294
CpG005785	-1,537907264	-0,28326213	0,18418674	0,80754766	1,68294
CpG004862	-1,537591842	-0,24961385	0,162340776	0,84542001	1,68294
CpG007613	-1,534919085	-0,28438116	0,185274364	0,82287322	2,120059
CpG001138	-1,53237844	-0,22744464	0,148425894	0,85519773	2,120059
CpG002631	-1,532196752	-0,36118335	0,235729094	0,76266502	2,120059
CpG009587	-1,53195493	-0,4273749	0,278973547	0,7364036	2,120059
CpG001456	-1,53168335	-0,44827023	0,292665079	0,75322552	2,120059
CpG008853	-1,531461879	-0,31262664	0,20413609	0,79629344	2,120059
CpG000923	-1,530453502	-0,29043144	0,189768223	0,81699808	2,120059
CpG005550	-1,529216544	-0,27744155	0,18142725	0,8229894	2,120059
CpG001115	-1,528236241	-0,22857922	0,149570608	0,85091135	2,120059
CpG009027	-1,52716688	-0,26218518	0,171680764	0,82751654	2,120059
CpG003455	-1,526806358	-0,44047031	0,288491272	0,69230071	2,120059
CpG000631	-1,525869997	-0,29833763	0,19551969	0,81768958	2,120059
CpG011167	-1,525399318	-0,24889249	0,163165464	0,83868045	2,120059
CpG010119	-1,523241248	-0,27261165	0,178968141	0,81960335	2,120059
CpG004439	-1,522833158	-0,29374997	0,192897013	0,80097912	2,120059
CpG008477	-1,522739259	-0,283916	0,18645083	0,81810986	2,120059
CpG011143	-1,522691698	-0,32141338	0,211082373	0,78854491	2,120059
CpG010115	-1,521463099	-0,27986576	0,183945153	0,82702083	2,120059
CpG008331	-1,520504132	-0,36072902	0,237243036	0,75750829	2,120059
CpG001106	-1,520492223	-0,41310756	0,271693307	0,704157	2,120059
CpG002359	-1,515969831	-0,37234937	0,245617927	0,74981536	2,120059
CpG000669	-1,5158534	-0,35074275	0,231383027	0,78384212	2,120059
CpG001376	-1,515733364	-0,42437054	0,279977037	0,704991	2,120059

CpG000556	-1,512368235	-0,37610559	0,248686517	0,79181747	2,120059
CpG004731	-1,511682911	-0,17941639	0,118686527	0,8822247	2,120059
CpG004365	-1,511491756	-0,33665645	0,222731251	0,76672614	2,120059
CpG004722	-1,51143257	-0,49007395	0,324244664	0,70897877	2,120059
CpG000114	-1,509178799	-0,23387954	0,154971395	0,85205817	2,120059
CpG000637	-1,508980205	-0,3177201	0,210552861	0,79216507	2,120059
CpG003889	-1,508248842	-0,4276756	0,283557717	0,7189049	2,120059
CpG007377	-1,507872549	-0,39444739	0,261591993	0,73528213	2,120059
CpG002451	-1,50716727	-0,36329746	0,241046545	0,75309036	2,120059
CpG000018	-1,504825477	-0,22008138	0,146250434	0,85992704	2,120059
CpG003814	-1,504643816	-0,5479548	0,36417576	0,65742662	2,120059
CpG005083	-1,502296065	-0,28544028	0,190002679	0,81289877	2,120059
CpG003221	-1,500318089	-0,52764342	0,351687701	0,64505421	2,120059
CpG0011186	-1,499964907	-0,58612169	0,390756932	0,57390455	2,120059
CpG000094	-1,497556016	-0,36728937	0,245259189	0,73942892	2,120059

8.1.3 Vergleich Methylierungsanalyse: CLL vs. Kontrolle

8.1.3.1 In CLL-Patienten hypermethylierte CpG-Islands

Gene ID	Score(d)	Numerator(r)	Denominator(s+s0)	Fold Change	q-value(%)
CpG002172	4,618143716	1,198490732	0,259517851	2,15279379	0
CpG001366	3,852064945	0,788150272	0,204604617	1,71965346	0
CpG008228	3,642500366	0,677041843	0,185872828	1,57807495	0
CpG001270	3,62091172	1,11216699	0,307151092	2,06392246	0
CpG001783	3,388377903	0,750835153	0,221591326	1,69972287	0
CpG001282	3,353962313	0,773163565	0,230522437	1,70597377	0
CpG002163	3,350460548	0,621971353	0,185637569	1,52047716	0
CpG002942	3,350115634	0,668096143	0,199424801	1,57285483	0
CpG010483	3,229252763	0,612427964	0,189650055	1,53857611	0
CpG008369	3,152856362	0,596571784	0,18921629	1,52628883	0
CpG001591	3,134193429	0,53362348	0,17025863	1,42658571	0
CpG006853	3,132112288	0,488029597	0,155814847	1,40281008	0
CpG005801	3,127961296	0,621819093	0,19879373	1,58000425	0
CpG006144	3,102272305	0,598248794	0,192842128	1,51592388	0
CpG009291	3,093808259	0,842198839	0,272220761	1,68258424	0
CpG001687	3,086366881	0,57817233	0,187331044	1,47437965	0
CpG004318	3,040430862	0,650019071	0,213791762	1,56661072	0
CpG011156	2,998813014	0,70524525	0,2351748	1,68850608	0
CpG007546	2,971882842	0,860955036	0,289700194	1,65715375	0
CpG011139	2,95576664	0,656438161	0,222087276	1,57808862	0
CpG005310	2,917733349	0,463418378	0,158828214	1,38637025	0
CpG002856	2,915810822	0,484527019	0,16617231	1,40403156	0
CpG004035	2,914352316	0,490405922	0,168272696	1,41657348	0
CpG003135	2,911177627	0,55588906	0,190949894	1,4462134	0
CpG004648	2,907522214	0,572268144	0,196823309	1,47651464	0
CpG001017	2,897509557	0,465401513	0,160621218	1,3683525	0
CpG005644	2,806564733	0,529523493	0,18867318	1,43782193	0
CpG002159	2,781457427	0,548151877	0,197073617	1,45144833	0
CpG008301	2,767387927	0,531561107	0,192080446	1,4203554	0
CpG008469	2,767076714	0,614948699	0,222237676	1,53282922	0
CpG002115	2,763644886	0,922015656	0,333623057	2,1481645	0
CpG005530	2,75128262	0,398155009	0,144716143	1,3223704	0
CpG002268	2,75045235	0,784439885	0,285203954	1,60040717	0
CpG005042	2,73891784	0,451532195	0,164857882	1,37055695	0
CpG004029	2,723806919	0,638347904	0,23435872	1,5367481	0
CpG007381	2,722041358	0,555210785	0,203968534	1,43446327	0
CpG006447	2,697406246	0,86019825	0,318898294	1,69475127	0
CpG002229	2,694561517	0,532514153	0,197625532	1,42674273	0
CpG008083	2,69428037	0,580563462	0,215479973	1,45631813	0
CpG001078	2,680423872	1,016927923	0,379390713	1,73046712	0
CpG005033	2,664478161	0,378237881	0,141955707	1,31148427	0
CpG001958	2,660782657	0,904003819	0,339751094	1,82029264	0
CpG009230	2,645632907	0,621493614	0,234913019	1,53632309	0
CpG004032	2,64401603	0,558753127	0,211327435	1,52976319	0
CpG002247	2,635673207	0,607106323	0,230342032	1,47929679	0
CpG000408	2,62484251	0,56826455	0,216494722	1,43947982	0,330289
CpG003387	2,618576534	0,696296885	0,265906639	1,52384575	0,330289
CpG001622	2,616484727	0,419021053	0,160146569	1,33465996	0,330289

CpG007677	2,608225202	0,44842363	0,17192673	1,35986347	0,330289
CpG008837	2,581000888	0,59277411	0,229668309	1,47077271	0,330289
CpG008565	2,525832931	0,435604546	0,172459762	1,36269799	0,513783
CpG001669	2,524033055	0,467062484	0,185046104	1,3561337	0,513783
CpG010463	2,507068366	0,515999676	0,205817952	1,39973016	0,513783
CpG003490	2,504787316	0,509412672	0,203375619	1,41837283	0,513783
CpG002482	2,488864306	0,468016143	0,188044058	1,35730599	0,513783
CpG000716	2,485023557	0,574441928	0,231161562	1,42365315	0,513783
CpG005312	2,477733881	0,371087452	0,149768889	1,30093451	0,513783
CpG002198	2,469051459	0,593529702	0,240387741	1,52682133	0,513783
CpG001506	2,462288984	0,511145677	0,207589637	1,40096038	0,513783
CpG000105	2,450493774	0,40853044	0,166713519	1,32461961	0,513783
CpG001225	2,448189417	0,330786937	0,135114928	1,25384341	0,513783
CpG003394	2,446099812	0,371522649	0,151883683	1,29159937	0,513783
CpG001730	2,420248385	0,598935171	0,247468473	1,48162377	0,513783
CpG009375	2,4186771	0,438241843	0,181190719	1,33251989	0,513783
CpG010269	2,416422852	0,411471158	0,170281107	1,32992032	0,513783
CpG000866	2,405746922	0,54469974	0,22641606	1,44785143	0,970376
CpG003526	2,403720622	0,544058328	0,226340084	1,41700656	0,970376
CpG002146	2,400428488	0,501455584	0,20890253	1,38765883	0,970376
CpG006503	2,39005488	0,340856611	0,142614554	1,26372428	0,970376
CpG007653	2,383890616	0,533336606	0,223725284	1,3951058	0,970376
CpG000755	2,348177995	0,670404416	0,285499829	1,45512874	1,170554
CpG002503	2,335930439	0,494138248	0,211538083	1,41976637	1,170554
CpG002754	2,330552023	0,354101941	0,151939084	1,2676123	1,170554
CpG004542	2,328176065	0,452802578	0,194488117	1,36286715	1,170554
CpG005273	2,324451246	0,783683276	0,337147651	1,56156328	1,170554
CpG001425	2,316886503	0,447044875	0,192950701	1,333311	1,481242
CpG002050	2,309017298	0,542898234	0,235120904	1,40477567	1,481242
CpG004903	2,299683017	0,430746867	0,187307061	1,34605374	1,481242
CpG001353	2,297811694	0,405918233	0,176654264	1,30772596	1,481242
CpG010003	2,266877957	0,532426413	0,234872112	1,41016032	1,991194
CpG001274	2,262749308	0,519295466	0,229497569	1,37559342	1,991194
CpG004320	2,255241624	0,468010522	0,207521233	1,38813396	1,991194
CpG003883	2,246740221	0,419629532	0,186772608	1,3259133	1,991194
CpG005041	2,241140439	0,408797905	0,182406197	1,31610246	1,991194
CpG000491	2,228302871	0,315690074	0,141672875	1,24296883	1,991194
CpG004094	2,216979854	0,490850129	0,221404867	1,36776574	1,991194
CpG004606	2,216841751	0,451341719	0,203596724	1,37237836	1,991194
CpG001442	2,21490448	0,475236934	0,214563173	1,35695903	1,991194
CpG000493	2,213043119	0,346566451	0,156601762	1,26763214	1,991194
CpG001158	2,205491897	0,347924773	0,157753821	1,25703809	1,991194
CpG009394	2,203989848	0,473800139	0,21497383	1,34559502	1,991194
CpG009888	2,203430497	0,39933066	0,181231339	1,31379278	1,991194
CpG001837	2,201559575	0,621779971	0,282427048	1,471622	1,991194
CpG005072	2,198559951	0,378349207	0,172089556	1,30798181	1,991194
CpG001051	2,193477843	0,366962583	0,167297146	1,29131864	2,374877
CpG009696	2,1899399	0,502839312	0,229613293	1,35785163	2,374877
CpG009130	2,18223681	0,495225114	0,226934635	1,3959775	2,374877
CpG001105	2,172459123	0,455362926	0,209607132	1,35139785	2,374877
CpG001003	2,170347652	0,314725382	0,145011506	1,23722382	2,374877
CpG009762	2,169685157	0,470770982	0,216976634	1,35824442	2,374877
CpG000774	2,15952835	0,313317783	0,14508621	1,249617	2,374877
CpG003259	2,159209978	0,45734603	0,211811744	1,33584012	2,374877
CpG005003	2,155067105	0,385532375	0,178895764	1,29998347	2,374877
CpG000361	2,152515746	0,557380306	0,25894366	1,39048306	2,374877

8.1.3.2 In CLL-Patienten hypomethylierte CpG-Islands

Gene ID	Score(d)	Numerator(r)	Denominator(s+s0)	Fold Change	q-value(%)
CpG002277	-4,410903625	-1,501335067	0,340369048	0,36978398	0
CpG005723	-4,174317523	-0,76207335	0,182562382	0,582293	0
CpG001976	-4,064599915	-0,834112634	0,205213958	0,5489121	0
CpG002186	-3,934230189	-1,045672397	0,265788311	0,451877	0
CpG000596	-3,805003331	-0,742443416	0,195122935	0,60581782	0
CpG005587	-3,715491008	-0,841742005	0,226549332	0,54161435	0
CpG004229	-3,68192885	-0,858892343	0,23327239	0,53831222	0
CpG005203	-3,55625055	-0,64431386	0,181177859	0,63845436	0

CpG005176	-3,542502528	-0,731308208	0,206438302	0,59334755	0
CpG004815	-3,380608618	-0,574727314	0,170007055	0,67292542	0
CpG006321	-3,354639868	-0,804683052	0,239871666	0,55788414	0
CpG009574	-3,332468987	-1,029727893	0,308998492	0,45869867	0
CpG001386	-3,258795547	-1,076724153	0,330405556	0,42031508	0
CpG000684	-3,185557867	-0,618590129	0,194185808	0,64724403	0
CpG009414	-3,1673414	-0,752364547	0,237538191	0,57751676	0
CpG000568	-3,110477745	-0,521459459	0,167646099	0,69738399	0
CpG009654	-3,06690466	-0,546474533	0,178184389	0,67872069	0
CpG004379	-3,064641427	-0,676974024	0,220898281	0,61333178	0
CpG001218	-3,054812425	-0,636982018	0,208517555	0,61951127	0
CpG0011238	-3,044611758	-0,637615231	0,20942415	0,62366866	0
CpG006882	-2,999732291	-0,879175899	0,293084787	0,55900278	0
CpG009144	-2,98848918	-0,629715439	0,210713642	0,6587864	0
CpG004785	-2,988366293	-0,969001837	0,324258053	0,47461918	0
CpG0011205	-2,957980231	-0,460807685	0,155784572	0,7228013	0
CpG002873	-2,952140793	-0,509308207	0,172521652	0,69771984	0
CpG006991	-2,930125233	-0,410214095	0,139998827	0,75088933	0
CpG009415	-2,924628031	-0,663816392	0,226974639	0,62063548	0
CpG009760	-2,913427925	-0,37411298	0,128409897	0,77121528	0
CpG009088	-2,898887536	-0,967378944	0,333706959	0,46028151	0
CpG005255	-2,879673391	-0,519810888	0,180510363	0,6859306	0
CpG001245	-2,856487871	-0,417906589	0,146300845	0,74712566	0
CpG006463	-2,846402778	-0,577987605	0,203058966	0,64947046	0
CpG001144	-2,839337867	-0,374185545	0,131786199	0,76788707	0
CpG000811	-2,836822311	-0,575125439	0,202735799	0,65184662	0
CpG004445	-2,835720483	-0,47505502	0,167525334	0,71060511	0
CpG002378	-2,795679076	-0,680012203	0,243236861	0,59520385	0
CpG000576	-2,791892763	-0,627451654	0,2247406	0,66318149	0
CpG004349	-2,773623642	-0,495173341	0,178529392	0,69871641	0
CpG010528	-2,772537555	-0,496282145	0,178999251	0,69570467	0
CpG007887	-2,76174536	-0,400592853	0,145050611	0,7603894	0
CpG009882	-2,761141247	-0,635051307	0,229995951	0,63489339	0
CpG002405	-2,760244857	-0,60406576	0,218844991	0,64045813	0
CpG010517	-2,751547584	-0,788071117	0,286410136	0,52635927	0
CpG011104	-2,747094229	-0,539390619	0,196349515	0,6784175	0
CpG003742	-2,735410729	-0,797746026	0,291636652	0,54653039	0
CpG004825	-2,720165168	-0,505512542	0,185838914	0,7032195	0
CpG0011300	-2,713986766	-0,458621587	0,168984459	0,71424322	0
CpG000116	-2,688956688	-0,51062944	0,189898722	0,71421243	0
CpG004752	-2,680342103	-0,607432572	0,226625016	0,64810133	0
CpG0011187	-2,661701151	-0,554437177	0,208301814	0,65848109	0
CpG007405	-2,649283358	-0,700030401	0,264233873	0,57837746	0
CpG0011207	-2,631046401	-0,650863211	0,247378081	0,60391701	0
CpG006873	-2,620326785	-0,490674056	0,187256818	0,71304324	0
CpG008202	-2,612110942	-0,352990901	0,135136259	0,78330396	0
CpG000238	-2,605066767	-0,59713349	0,229220033	0,64542805	0
CpG006458	-2,601815929	-0,529138792	0,203372877	0,67816337	0
CpG005423	-2,601592679	-0,51735425	0,198860588	0,68971745	0
CpG007514	-2,598200838	-0,359303468	0,138289336	0,77673858	0
CpG003814	-2,57507222	-0,814946438	0,316475177	0,55368211	0
CpG002377	-2,574655431	-0,543155753	0,210962503	0,684224	0
CpG001325	-2,571362367	-0,801003575	0,311509411	0,53438879	0
CpG003695	-2,568309295	-0,376522208	0,14660314	0,76570322	0
CpG000544	-2,548551565	-0,332975719	0,130652926	0,79238953	0
CpG008371	-2,533791455	-0,534414679	0,210915021	0,66757191	0
CpG006019	-2,528508635	-0,754668123	0,298463732	0,57869688	0
CpG003340	-2,522596225	-0,349254955	0,138450598	0,78017352	0
CpG001859	-2,50761713	-0,388713529	0,15501311	0,76742561	0,415442
CpG007953	-2,503146551	-0,833497169	0,332979772	0,50787514	0,415442
CpG009889	-2,501137449	-0,413649183	0,165384427	0,74995245	0,415442
CpG000612	-2,496768919	-0,390382676	0,156355149	0,76094505	0,415442
CpG004017	-2,496525946	-0,322818157	0,12930695	0,79721239	0,415442
CpG009529	-2,494158594	-0,648597975	0,260046806	0,60899663	0,415442
CpG0011233	-2,491793903	-0,571060623	0,229176507	0,64564926	0,415442
CpG007736	-2,491422101	-0,35979979	0,144415428	0,77832462	0,415442
CpG0011304	-2,488814112	-0,532906919	0,21412082	0,68251961	0,415442
CpG0011317	-2,484510959	-0,522581205	0,210335641	0,67706803	0,415442
CpG0011320	-2,481357623	-0,457240375	0,184270244	0,7171782	0,415442
CpG000475	-2,478074487	-0,474692754	0,191557097	0,72070528	0,415442

Anhang

CpG009891	-2,466245718	-1,086636295	0,440603419	0,3775742	0,415442
CpG001667	-2,453004585	-0,431247956	0,175803975	0,73112877	0,415442
CpG001290	-2,452714568	-0,890884618	0,363223927	0,46227004	0,415442
CpG000425	-2,452190172	-0,429365635	0,175094754	0,74905192	0,415442
CpG006057	-2,451303875	-0,686618587	0,280103415	0,58112815	0,415442
CpG002613	-2,445648191	-0,461225339	0,188590223	0,73764721	0,415442
CpG006175	-2,443573003	-0,415012862	0,169838536	0,74782825	0,415442
CpG004384	-2,436478738	-0,947311878	0,388803671	0,42107287	0,415442
CpG004192	-2,432815604	-1,025278767	0,421437106	0,38787849	0,415442
CpG005967	-2,432149326	-0,380904148	0,156612155	0,76262726	0,415442
CpG010550	-2,428533751	-0,501346773	0,206440109	0,6883449	0,415442
CpG004121	-2,426223568	-0,592626595	0,244258857	0,64440067	0,415442
CpG003899	-2,424414819	-0,719483717	0,29676593	0,58998353	0,415442
CpG011117	-2,418959422	-0,618890664	0,255849957	0,63890465	0,415442
CpG001756	-2,411162283	-0,414776888	0,17202363	0,75043582	0,415442
CpG0011210	-2,402139808	-0,579855572	0,241391267	0,6357154	0,415442
CpG007583	-2,399962948	-0,423225435	0,176346654	0,74372441	0,415442
CpG000046	-2,398117709	-0,470038966	0,196003292	0,72004021	0,415442
CpG002535	-2,397041166	-0,685857676	0,286126782	0,59235874	0,415442
CpG009204	-2,39473846	-0,506696061	0,211587223	0,69633762	0,415442
CpG001945	-2,390138086	-0,413425211	0,172971266	0,73991718	0,415442
CpG002731	-2,38675792	-0,425674652	0,178348482	0,7478815	0,415442
CpG0011240	-2,38661526	-0,585552796	0,245348635	0,66211117	0,415442
CpG009795	-2,377484154	-1,067532304	0,449017632	0,37982794	0,415442
CpG009835	-2,374245776	-0,913287675	0,384664336	0,4274287	0,415442
CpG001457	-2,374164088	-0,526758345	0,221871078	0,68418692	0,415442
CpG003436	-2,364772808	-0,37208683	0,157345699	0,76936297	0,415442
CpG004106	-2,361610067	-0,384147299	0,162663305	0,77173111	0,415442
CpG000640	-2,348241676	-0,460995959	0,196315381	0,74500054	0,415442
CpG008400	-2,34820136	-0,436856365	0,186038716	0,7365887	0,415442
CpG003234	-2,34795241	-0,445731998	0,1898386	0,73110359	0,415442
CpG004741	-2,343838431	-0,40631606	0,173354978	0,75776122	0,415442
CpG0011306	-2,340904929	-0,571627598	0,244190864	0,6433684	0,415442
CpG000570	-2,325273315	-0,383038543	0,164728396	0,76062247	0,415442
CpG001212	-2,314940358	-0,88478044	0,382204422	0,45125323	0,415442
CpG001775	-2,314076341	-0,531107572	0,22951169	0,67284635	0,415442
CpG004335	-2,313981156	-0,331305043	0,143175342	0,79080005	0,415442
CpG000017	-2,311024143	-0,310323095	0,134279469	0,80555597	0,415442
CpG011147	-2,302289232	-0,445175281	0,193362013	0,71862003	0,600865
CpG003429	-2,301828123	-0,485865203	0,211077968	0,6960461	0,600865
CpG000864	-2,295730916	-0,581169112	0,253152104	0,63204221	0,600865
CpG001482	-2,294956463	-0,49414288	0,215316887	0,68565231	0,600865
CpG001903	-2,286412829	-0,734693427	0,321330172	0,5432857	0,600865
CpG001255	-2,286387404	-0,490616444	0,214581502	0,69172052	0,600865
CpG0011291	-2,280907867	-0,320539018	0,140531331	0,79844212	0,600865
CpG0011330	-2,273887218	-0,540174394	0,237555491	0,65320191	0,600865
CpG0011222	-2,270705182	-0,46602632	0,205234182	0,71628567	0,600865
CpG001533	-2,267889839	-0,407891501	0,179855077	0,74663651	0,600865
CpG000071	-2,265169263	-0,567967512	0,250739546	0,66652608	0,600865
CpG001763	-2,263408701	-0,327519444	0,144701858	0,79219594	0,600865
CpG0011250	-2,258733258	-0,516304893	0,228581614	0,68987922	0,600865
CpG002558	-2,25841721	-0,39028198	0,17281217	0,74960807	0,600865
CpG003133	-2,257839485	-0,422867439	0,18728853	0,73762463	0,600865
CpG005187	-2,250957836	-0,621388966	0,276055356	0,62237802	0,600865
CpG002827	-2,249551588	-0,350447494	0,155785489	0,78651959	0,600865
CpG002887	-2,241561337	-0,39534909	0,176372194	0,75880554	0,600865
CpG000081	-2,240517744	-0,533113049	0,2379419	0,67280977	0,600865
CpG006668	-2,239767199	-0,611500708	0,273019762	0,61328161	0,600865
CpG006011	-2,239615559	-0,449578328	0,200739062	0,71683001	0,600865
CpG009944	-2,236877983	-0,354964019	0,158687251	0,77285289	0,600865
CpG001943	-2,227350368	-0,32568883	0,146222541	0,79165231	0,600865
CpG002414	-2,213990175	-0,387711694	0,175118977	0,76080885	0,600865
CpG004153	-2,211700559	-0,905035298	0,409203359	0,43545333	0,600865
CpG005709	-2,209936459	-0,283517885	0,128292324	0,82297303	0,600865
CpG008334	-2,208664985	-0,266287723	0,120565013	0,83148622	0,600865
CpG002922	-2,201576802	-0,360978167	0,163963468	0,77563759	0,600865
CpG003243	-2,199957698	-0,390320294	0,177421727	0,74642967	0,600865
CpG001791	-2,192202433	-0,301768136	0,137655233	0,80891457	0,600865
CpG001728	-2,191928345	-0,462618885	0,211055661	0,71320927	0,600865
CpG003292	-2,183121921	-0,465728909	0,213331608	0,70889231	0,600865

CpG000358	-2,18147318	-0,354509371	0,162509158	0,77624423	0,600865
CpG003032	-2,170956793	-0,313342691	0,144333914	0,80299335	0,600865
CpG005258	-2,170691033	-0,460463191	0,212127467	0,70042311	0,600865
CpG005253	-2,167693361	-0,357041757	0,164710454	0,77357862	0,600865
CpG000323	-2,16706155	-0,338244929	0,156084597	0,78688493	0,600865
CpG002581	-2,164624244	-0,474914395	0,219398076	0,70156594	0,600865
CpG000399	-2,158802812	-0,391684367	0,181435917	0,75261196	0,600865
CpG002596	-2,156006662	-0,358307471	0,166190336	0,77350705	0,600865
CpG0011231	-2,155867351	-0,584003085	0,270890083	0,61361204	0,600865
CpG000094	-2,153835846	-0,461922227	0,214464917	0,70144011	0,600865
CpG008444	-2,153597857	-0,411755435	0,191194207	0,74602333	0,600865
CpG002749	-2,152958593	-0,414497785	0,192524736	0,74075069	0,600865
CpG004399	-2,149925623	-0,653823428	0,30411444	0,59815403	0,600865
CpG006286	-2,146201699	-0,356031435	0,165889085	0,773675	0,600865
CpG001433	-2,145373749	-0,9648474	0,449733945	0,40040024	0,600865
CpG009843	-2,140571361	-0,288260042	0,134665	0,81789427	0,600865
CpG002149	-2,137954068	-0,414601419	0,193924381	0,75273079	0,600865
CpG0011346	-2,133601693	-0,51061904	0,23932257	0,68191322	0,600865
CpG006483	-2,132954671	-0,304189509	0,142614146	0,80368065	0,600865
CpG002236	-2,129226911	-0,472593617	0,221955497	0,70981748	0,970376
CpG006379	-2,128701941	-0,361415778	0,169782237	0,77788179	0,970376
CpG000376	-2,128012345	-0,259887507	0,12212688	0,83609029	0,970376
CpG004091	-2,126844496	-0,54251357	0,255079095	0,65135214	0,970376
CpG000542	-2,122518001	-0,338216641	0,159346889	0,78319559	0,970376
CpG001598	-2,120346518	-0,414322853	0,195403369	0,74499816	0,970376
CpG009424	-2,115345881	-0,421088191	0,199063517	0,73889349	0,970376
CpG004096	-2,112494511	-0,996089254	0,471522766	0,37312764	0,970376
CpG000230	-2,111457022	-0,500962695	0,237259243	0,68396065	0,970376
CpG006041	-2,108088546	-0,328860486	0,155999371	0,78976756	0,970376
CpG003424	-2,107524341	-0,370247313	0,175678784	0,76560801	0,970376
CpG007032	-2,107221632	-0,783774688	0,371946964	0,55432728	0,970376
CpG000931	-2,10210662	-0,387059721	0,184129443	0,7461778	0,970376
CpG003782	-2,099577134	-0,341561635	0,162681156	0,7799036	0,970376
CpG003690	-2,099526941	-0,611143912	0,291086482	0,59508212	0,970376
CpG008815	-2,087545151	-0,493219706	0,236267803	0,68202973	0,970376
CpG005982	-2,086362445	-0,29713843	0,142419372	0,81695498	0,970376
CpG004743	-2,084973207	-0,262301803	0,125805839	0,83016664	0,970376
CpG010126	-2,08225063	-0,346262514	0,166292428	0,79740674	0,970376
CpG001870	-2,081959189	-0,663920721	0,318892284	0,58010031	0,970376
CpG006067	-2,081193603	-0,268463539	0,128994986	0,82806586	0,970376
CpG005636	-2,08009196	-0,377102129	0,181291085	0,76519298	0,970376
CpG002692	-2,078173695	-0,442527345	0,212940499	0,70936349	0,970376
CpG009638	-2,076539596	-0,348652063	0,167900513	0,77551958	0,970376
CpG006438	-2,076252475	-0,505383658	0,243411465	0,6726816	0,970376
CpG008347	-2,074774704	-0,793237839	0,382324807	0,4916906	0,970376
CpG002954	-2,073678666	-0,354763903	0,171079497	0,78198849	0,970376
CpG009430	-2,073193072	-0,343276552	0,16557867	0,77913622	0,970376
CpG003608	-2,070235049	-0,555725614	0,268435999	0,65803706	0,970376
CpG000113	-2,069926961	-0,364285002	0,175989302	0,76552695	0,970376
CpG002136	-2,068761215	-0,479491815	0,231777264	0,71046079	0,970376
CpG000734	-2,065476646	-0,35682437	0,172756429	0,77493189	0,970376
CpG006044	-2,065186463	-0,403929063	0,195589633	0,75243376	0,970376
CpG000672	-2,064999727	-0,351803876	0,170365096	0,77847426	0,970376
CpG000278	-2,062552127	-0,449740164	0,218050326	0,73222835	0,970376
CpG006679	-2,062291805	-0,339508258	0,164626682	0,78960838	0,970376
CpG001776	-2,060383015	-0,310821957	0,150856396	0,81098685	0,970376
CpG006808	-2,053491448	-0,417924248	0,203518865	0,73366808	0,970376
CpG004749	-2,051322459	-0,356960316	0,174014726	0,75052231	0,970376
CpG003244	-2,050390319	-0,415450322	0,202620115	0,73404208	0,970376
CpG003345	-2,0486	-0,636294731	0,31059979	0,62149075	0,970376
CpG002840	-2,048340971	-0,302749856	0,14780247	0,81011842	0,970376
CpG009998	-2,047460529	-0,359103327	0,175389622	0,77210371	0,970376
CpG009642	-2,042724913	-0,654173917	0,320245723	0,57796683	0,970376
CpG010030	-2,038839138	-0,301724828	0,14798854	0,8036587	0,970376
CpG003455	-2,035973965	-0,449709154	0,220881584	0,71065298	0,970376
CpG009069	-2,03466207	-0,403969848	0,198543952	0,73615033	0,970376
CpG000837	-2,0310337	-0,510317905	0,251260186	0,68548682	0,970376
CpG005206	-2,030009997	-0,256337569	0,126274043	0,83650396	0,970376
CpG002884	-2,028538674	-0,327898395	0,161642664	0,7883357	0,970376
CpG011105	-2,028113031	-0,535038872	0,26381117	0,64194251	0,970376

Anhang

CpG011119	-2,026851865	-0,733988229	0,362132153	0,54081683	0,970376
CpG001755	-2,025392466	-0,339126398	0,167437375	0,78141319	0,970376
CpG010531	-2,02104674	-0,441509343	0,21845578	0,70593515	0,970376
CpG004579	-2,020897249	-0,351957787	0,17415917	0,77504163	0,970376
CpG007649	-2,015377357	-0,465154031	0,23080245	0,73007905	0,970376
CpG001423	-2,014932622	-0,327568399	0,162570398	0,79450114	0,970376
CpG010125	-2,012020298	-0,336275177	0,167133094	0,78168175	1,170554
CpG009914	-2,009324605	-0,47462051	0,236208977	0,68621795	1,170554
CpG001014	-2,00413467	-0,314982332	0,157166251	0,80733721	1,170554
CpG0011275	-2,002601014	-0,344284553	0,171918695	0,7747588	1,170554
CpG008170	-2,001504063	-0,365350517	0,182537984	0,77393817	1,170554
CpG008345	-1,999512512	-0,263121961	0,131593055	0,83580883	1,170554
CpG000359	-1,99879226	-0,485579367	0,242936386	0,69625522	1,170554
CpG004523	-1,997811602	-0,656305549	0,328512232	0,56933924	1,170554
CpG011141	-1,996375068	-0,32354324	0,162065358	0,78578817	1,170554
CpG006749	-1,994588196	-0,388099991	0,1945765	0,75247748	1,170554
CpG008497	-1,993979062	-0,40839177	0,204812466	0,73140381	1,170554
CpG001376	-1,992208685	-0,469975119	0,235906571	0,69386889	1,170554
CpG005314	-1,992000188	-0,432702658	0,217220189	0,71875153	1,170554
CpG002517	-1,991758857	-0,401742628	0,201702443	0,76631742	1,170554
CpG011106	-1,991346818	-0,781512703	0,392454341	0,52197171	1,170554
CpG000131	-1,98995988	-0,322067205	0,161846079	0,7949387	1,170554
CpG0011323	-1,989550193	-0,567665502	0,285323539	0,62065711	1,170554
CpG0011351	-1,989346665	-0,353566227	0,177729821	0,80041007	1,170554
CpG003441	-1,98573595	-0,569614119	0,286852901	0,64678652	1,170554
CpG001093	-1,9824086	-0,341478642	0,172254419	0,78116135	1,170554
CpG000909	-1,973596101	-0,354518163	0,179630555	0,78154878	1,170554
CpG006278	-1,970504014	-0,327991383	0,166450502	0,78695413	1,170554
CpG006377	-1,968713781	-0,255431522	0,129745382	0,83367725	1,170554
CpG000631	-1,966548536	-0,330808927	0,168218033	0,79837662	1,170554
CpG005652	-1,960307443	-0,300684964	0,153386636	0,81070629	1,170554
CpG006094	-1,958839932	-0,2572423	0,131323798	0,83428713	1,170554
CpG003249	-1,956743373	-0,302810599	0,154752332	0,80336476	1,170554
CpG000328	-1,952151248	-0,287395476	0,147219882	0,8184979	1,170554
CpG000338	-1,949592997	-0,335615558	0,172146473	0,78243079	1,170554
CpG000073	-1,947930418	-0,340317179	0,174707051	0,77756721	1,170554
CpG007067	-1,947508208	-0,405078664	0,207998437	0,73831512	1,170554
CpG003009	-1,945068731	-0,359708892	0,184933769	0,76969742	1,170554
CpG009439	-1,943577381	-0,460857893	0,237118366	0,72653284	1,170554
CpG002341	-1,941335412	-0,408846784	0,210600796	0,74579758	1,170554
CpG007554	-1,940070824	-0,375851631	0,193730882	0,76080502	1,170554
CpG0011253	-1,938718311	-0,424500339	0,218959266	0,73814387	1,170554
CpG004429	-1,937787188	-0,321077336	0,165692775	0,80451257	1,170554
CpG008033	-1,936589446	-0,283656523	0,146472203	0,81407572	1,170554
CpG007076	-1,930636032	-0,305471016	0,158222995	0,79925254	1,481242
CpG010336	-1,923455443	-0,731076685	0,380085064	0,56490944	1,481242
CpG003537	-1,921154721	-0,57378628	0,298667397	0,62140365	1,481242
CpG002718	-1,916317544	-0,353481336	0,184458644	0,77006401	1,481242
CpG003207	-1,915392633	-0,342717064	0,178927839	0,77863994	1,481242
CpG001919	-1,913962772	-0,38819077	0,202820439	0,75158549	1,481242
CpG000070	-1,912748141	-0,367324918	0,1920404	0,756696	1,481242
CpG003388	-1,91249523	-0,506975032	0,265085645	0,6683835	1,481242
CpG004731	-1,912483448	-0,213685941	0,111732178	0,8605014	1,481242
CpG002265	-1,912346974	-0,913145177	0,477499737	0,6360704	1,481242
CpG001905	-1,911298891	-0,265709247	0,139020249	0,82873438	1,481242
CpG008756	-1,910448684	-0,624365631	0,326816227	0,58314266	1,481242
CpG003590	-1,909886864	-0,433971464	0,22722365	0,71162922	1,481242
CpG007777	-1,906191654	-0,512333465	0,268773323	0,6612845	1,481242
CpG010175	-1,905988546	-0,448321042	0,23521707	0,69720751	1,481242
CpG005497	-1,905242205	-0,287388058	0,150840695	0,81690774	1,481242
CpG004311	-1,902949846	-0,282662356	0,148539047	0,81682301	1,481242
CpG003313	-1,900825459	-0,382417184	0,201184797	0,745698	1,481242
CpG002501	-1,891175111	-0,332088257	0,175598893	0,78873339	1,481242
CpG001539	-1,889811661	-0,520192217	0,275261407	0,68708975	1,481242
CpG011108	-1,885587532	-0,389787077	0,206719163	0,75517962	1,481242
CpG006821	-1,885208283	-0,866345821	0,459549127	0,41673102	1,481242
CpG010302	-1,882282404	-0,351750995	0,186874719	0,76406304	1,481242
CpG007139	-1,88190301	-0,239454838	0,127240796	0,8433039	1,481242
CpG0011356	-1,8789094	-0,428760105	0,228196264	0,71669023	1,481242
CpG002113	-1,876971522	-0,735901447	0,39206852	0,58891649	1,481242

CpG0011209	-1,875138124	-0,342390083	0,182594593	0,7849137	1,481242
CpG000369	-1,871070755	-0,4243543	0,22679757	0,71946583	1,481242
CpG004268	-1,868401153	-0,421214584	0,225441193	0,70890485	1,481242
CpG0011218	-1,866062143	-0,352716509	0,189016486	0,76488066	1,481242
CpG005420	-1,865177398	-0,306237205	0,164186637	0,79901142	1,481242
CpG004603	-1,864298992	-0,273717903	0,146820818	0,82056082	1,481242
CpG006675	-1,863976554	-0,280622091	0,150550226	0,82002703	1,481242
CpG005717	-1,86335391	-0,315288696	0,169204945	0,79847905	1,481242
CpG001802	-1,860514123	-0,36625298	0,196855791	0,76358846	1,481242
CpG001372	-1,860066651	-0,312453876	0,167979936	0,80094802	1,481242
CpG006222	-1,858180508	-0,582195535	0,313314843	0,62941964	1,481242
CpG000847	-1,856917171	-0,446238347	0,24031139	0,72275239	1,481242
CpG003213	-1,856506714	-0,481996228	0,259625362	0,72068617	1,481242
CpG000707	-1,854799199	-0,32403944	0,174703245	0,78792644	1,481242
CpG003206	-1,854731342	-0,314030283	0,169313084	0,79835596	1,481242
CpG007182	-1,853914193	-0,446587103	0,240888766	0,69765403	1,481242
CpG005923	-1,850887588	-0,677885409	0,366248828	0,60272793	1,481242
CpG009972	-1,849845989	-0,341240258	0,18446955	0,79355739	1,481242
CpG004794	-1,849381782	-0,324355356	0,175385828	0,78744972	1,481242
CpG011120	-1,847445807	-0,525310407	0,28434415	0,63441808	1,481242
CpG005034	-1,845409274	-0,293402918	0,158990703	0,81066505	1,481242
CpG002241	-1,845248453	-0,310858719	0,168464425	0,81062278	1,481242
CpG005383	-1,844152225	-0,394600279	0,21397381	0,76701792	1,481242
CpG008251	-1,844025798	-0,731396871	0,396630498	0,50542152	1,481242
CpG006371	-1,839469477	-0,23542829	0,12798706	0,84651435	1,481242
CpG005119	-1,837947253	-0,318889412	0,173503027	0,79046054	1,481242
CpG003599	-1,836195196	-0,366896044	0,199813203	0,75595928	1,481242
CpG004426	-1,835523027	-0,21715823	0,118308638	0,85923428	1,481242
CpG009348	-1,83408964	-0,300041937	0,163591752	0,80849228	1,991194
CpG001529	-1,833150155	-0,760731095	0,414985697	0,50210244	1,991194
CpG000270	-1,832361454	-0,532307924	0,290503778	0,71751303	1,991194
CpG001468	-1,829636421	-0,354859416	0,193950783	0,77281599	1,991194
CpG005038	-1,827483886	-0,289055661	0,158171387	0,82107583	1,991194
CpG003045	-1,826861505	-0,499002264	0,273147287	0,66405224	1,991194
CpG001456	-1,82654109	-0,468749058	0,256632091	0,7321961	1,991194
CpG009449	-1,825576301	-0,35847987	0,196365318	0,7596056	1,991194
CpG001570	-1,824495489	-0,597340553	0,3274004	0,65410288	1,991194
CpG002209	-1,824098086	-0,29394633	0,161146121	0,81433545	1,991194
CpG007050	-1,822747708	-0,313340282	0,171905459	0,80399909	1,991194
CpG000334	-1,822652232	-0,542828512	0,297823415	0,67715497	1,991194
CpG000034	-1,821587036	-0,298699217	0,163977461	0,80801169	1,991194
CpG000028	-1,820116167	-0,247876606	0,136187245	0,83876634	1,991194
CpG001020	-1,818810143	-0,577254306	0,317380188	0,60100312	1,991194
CpG0011206	-1,817962638	-0,349311788	0,192144646	0,77464154	1,991194
CpG003224	-1,816946252	-0,345458507	0,190131385	0,77031825	1,991194
CpG000427	-1,816487359	-0,282208768	0,15535961	0,81847065	1,991194
CpG000431	-1,815084582	-0,266533151	0,146843378	0,83190603	1,991194
CpG0011289	-1,815081126	-0,272890326	0,150346077	0,82236318	1,991194
CpG000007	-1,812670633	-0,270388074	0,149165584	0,82447281	1,991194
CpG002439	-1,810972904	-0,501258812	0,276789791	0,66234381	1,991194
CpG0011184	-1,809458714	-0,467723446	0,258488045	0,68405209	1,991194
CpG0011309	-1,808764017	-0,362417024	0,200367224	0,76208988	1,991194
CpG000692	-1,808346495	-0,331100886	0,183095932	0,78058444	1,991194
CpG002008	-1,806884694	-0,31121848	0,172240365	0,79235292	1,991194
CpG005026	-1,805067754	-0,241041891	0,133536201	0,84095607	1,991194
CpG000434	-1,805032138	-0,321739809	0,178246028	0,78962755	1,991194
CpG008886	-1,804369411	-0,310059955	0,171838402	0,79161059	1,991194
CpG000492	-1,803704864	-0,565144421	0,313324221	0,63540797	1,991194
CpG001130	-1,800469959	-0,339733664	0,188691659	0,78266135	1,991194
CpG010432	-1,797168193	-0,618845986	0,344345058	0,60830872	1,991194
CpG007945	-1,79560412	-0,401680178	0,22370197	0,7279311	1,991194
CpG004427	-1,795531258	-0,51587764	0,28731198	0,65308604	1,991194
CpG002434	-1,794770081	-0,276456394	0,154034434	0,82392847	1,991194
CpG001878	-1,793855348	-0,393780325	0,219516209	0,73296289	1,991194
CpG0011208	-1,791250927	-0,383542569	0,214119955	0,78430171	1,991194
CpG0011229	-1,786697699	-0,384093942	0,214974219	0,74287572	1,991194
CpG007208	-1,785446326	-0,505386633	0,28305899	0,65590086	1,991194
CpG0011247	-1,784879811	-0,332127445	0,186078325	0,78582978	1,991194
CpG007540	-1,784239722	-0,243843976	0,136665479	0,84459333	1,991194
CpG000945	-1,783928223	-0,294231982	0,164934877	0,80624335	1,991194

CpG000588	-1,782503977	-0,540821566	0,303405531	0,64875686	1,991194
CpG009753	-1,781491067	-0,333254193	0,187064756	0,7765271	1,991194
CpG002989	-1,781165178	-0,43109038	0,242027177	0,73704384	1,991194
CpG010400	-1,780488516	-0,317017017	0,178050582	0,79497836	1,991194
CpG004796	-1,779921012	-0,281682217	0,158255459	0,81846034	1,991194
CpG0011319	-1,774608762	-0,51414703	0,289724158	0,64690588	1,991194
CpG002640	-1,774013234	-0,39720779	0,22390351	0,73333696	1,991194
CpG011118	-1,774012511	-0,531508926	0,29960833	0,63633552	1,991194
CpG001957	-1,772680095	-0,364464241	0,205600685	0,767037	1,991194
CpG004202	-1,769708144	-0,22878448	0,129278085	0,85619783	1,991194
CpG008340	-1,769360325	-0,314444947	0,177716739	0,78883973	1,991194
CpG007679	-1,769089998	-0,47403665	0,267955079	0,71675093	1,991194
CpG001400	-1,765755349	-0,365034551	0,20672997	0,75559732	1,991194
CpG011123	-1,763334441	-0,417059646	0,236517609	0,71271244	1,991194
CpG004371	-1,762640956	-0,421276359	0,239002933	0,72748077	1,991194
CpG000197	-1,761951226	-0,417275632	0,23682587	0,72602828	1,991194
CpG002470	-1,761595775	-0,295695741	0,16785675	0,81498633	1,991194
CpG007608	-1,7605958	-0,568675145	0,323001535	0,59596246	1,991194
CpG000026	-1,758800544	-0,263167415	0,149628914	0,83675127	1,991194
CpG001054	-1,753745017	-0,616184433	0,35135349	0,67448595	1,991194
CpG006737	-1,751215898	-0,966655025	0,551990778	0,32709141	1,991194
CpG002219	-1,749914744	-0,353624797	0,202081158	0,77050033	1,991194
CpG000346	-1,748649002	-0,267683196	0,153080004	0,82831335	1,991194
CpG001277	-1,745530576	-0,430464872	0,246609757	0,74640001	1,991194
CpG000160	-1,745063178	-0,282693206	0,161995972	0,82134601	1,991194
CpG007556	-1,744160775	-0,316175981	0,181276855	0,79527017	1,991194
CpG004291	-1,741654416	-0,660497049	0,379235423	0,56283049	1,991194
CpG000560	-1,737990639	-0,314744666	0,181096871	0,79805147	1,991194
CpG007262	-1,737350907	-0,26266825	0,151188944	0,82995849	1,991194
CpG000398	-1,735215671	-0,237515291	0,136879407	0,84723465	2,374877
CpG000489	-1,734400617	-0,322757204	0,186091495	0,78446438	2,374877
CpG002100	-1,732276705	-0,275559683	0,15907371	0,82525119	2,374877
CpG000682	-1,727950585	-0,401680537	0,232460662	0,75187031	2,374877
CpG0011213	-1,726628207	-0,383431643	0,222069605	0,73604425	2,374877
CpG001795	-1,726557611	-0,274228212	0,15882946	0,83168841	2,374877
CpG004239	-1,724421733	-0,192174649	0,111442952	0,87472566	2,374877
CpG001941	-1,723008271	-0,357497837	0,20748469	0,75675292	2,374877
CpG004851	-1,722722201	-0,271751165	0,157745204	0,82198038	2,374877
CpG001935	-1,722316176	-0,290317936	0,168562509	0,81330073	2,374877
CpG008486	-1,721950919	-0,267035195	0,155077123	0,82209165	2,374877
CpG000781	-1,721132817	-0,361636782	0,210115558	0,75828922	2,374877
CpG002791	-1,717847163	-0,390446526	0,227288279	0,74423293	2,374877
CpG002709	-1,716300419	-0,366237292	0,213387638	0,76185835	2,374877
CpG009328	-1,71602132	-0,285089608	0,166134071	0,81324139	2,374877
CpG010527	-1,714717239	-0,320492172	0,186906718	0,79548936	2,374877
CpG000760	-1,710870993	-0,22340805	0,13058147	0,85928991	2,374877
CpG010089	-1,708807158	-0,283451458	0,165876797	0,82527185	2,374877
CpG003268	-1,70875463	-0,284414416	0,16644544	0,82104018	2,374877
CpG009807	-1,707738837	-0,430186267	0,251904014	0,69882755	2,374877
CpG009553	-1,706859651	-0,425723548	0,249419188	0,71949077	2,374877
CpG005658	-1,705921353	-0,341664866	0,200281722	0,77068545	2,374877
CpG004393	-1,704055421	-0,288183579	0,169116318	0,81858752	2,374877
CpG002846	-1,702211023	-0,279080384	0,163951696	0,81727519	2,374877

8.1.4 Vergleich Methylierungsanalyse: 13q vs. 17p

8.1.4.1 In Patienten mit 13q-Deletion im Vergleich zu Patienten mit 17p-Deletion hypermethylierte CpG-Islands

Gene ID	Score(d)	Numerator(r)	Denominator(s+s0)	Fold Change	q-value(%)
CpG006222	3,969191406	1,04271739	0,262702722	2,07421566	0
CpG011119	3,888796023	1,24023217	0,318924459	2,41666306	0
CpG001545	3,769445207	1,03555667	0,274723894	2,08702763	0
CpG000819	3,766877392	0,75696419	0,200952703	1,69598199	0
CpG000606	3,448206313	1,14708105	0,332660214	2,10670149	0
CpG004722	3,284897795	0,92039157	0,2801888	1,97714758	0

CpG007361	3,281494074	0,66914199	0,203913819	1,56674937	0
CpG011118	3,227149894	0,94302722	0,292216739	1,98475722	0
CpG006737	3,193734411	1,80483535	0,565117545	4,56688993	0
CpG006972	3,06402953	0,81697852	0,266635327	1,8083824	0
CpG000194	2,939375452	0,76861945	0,261490737	1,71278335	0
CpG008878	2,921035235	0,54683039	0,187204312	1,47036925	0
CpG002341	2,918728703	0,5622673	0,192641165	1,48462339	0
CpG0011198	2,905610926	1,2004465	0,413147708	2,3846166	0
CpG0011184	2,866790813	0,75089971	0,261930416	1,71061653	0
CpG007154	2,860694688	0,45997781	0,160792348	1,36292861	0
CpG007164	2,849718503	0,78009116	0,273743235	1,76726678	0
CpG007649	2,826235163	0,55581011	0,196660956	1,47316614	0
CpG000746	2,810713548	0,61250013	0,217916241	1,49664465	0
CpG0011202	2,796677264	0,48288052	0,172662227	1,40477336	0
CpG004961	2,775498241	0,47971165	0,172838031	1,40380347	0
CpG004096	2,762518486	1,41200053	0,511127991	3,05699095	0
CpG001869	2,744593846	0,84177475	0,30670285	1,92382093	0
CpG004384	2,72006545	1,13186289	0,416116049	2,61824825	0
CpG006669	2,708302527	0,37755945	0,139408152	1,29404171	0
CpG008347	2,679810611	1,11189903	0,414917018	2,09351707	0
CpG003377	2,67308336	0,53024555	0,198364765	1,46236279	0
CpG000200	2,673053733	0,5132302	0,192001454	1,44546009	0
CpG0011231	2,669046238	0,77755098	0,291321661	1,82448095	0
CpG001985	2,622243681	0,56541463	0,215622461	1,4459942	0
CpG003047	2,60711781	1,06245831	0,407522172	2,24157593	0
CpG000913	2,603318013	0,66959591	0,25720865	1,65656353	0
CpG003603	2,591755097	1,09663597	0,423124843	2,64004286	0
CpG001033	2,562829966	0,44230149	0,172583236	1,36765192	0,842397
CpG002257	2,55657504	0,65745458	0,257162245	1,52055888	0,842397
CpG002103	2,549552153	0,82443175	0,32336336	1,7453623	0,842397
CpG002702	2,548806837	0,68978759	0,270631567	1,56060314	0,842397
CpG0011247	2,54156263	0,45114833	0,177508249	1,36745662	0,842397
CpG001290	2,532776553	1,02579342	0,405007469	2,16850035	0,842397
CpG0011234	2,532627718	0,53329714	0,210570679	1,45003301	0,842397
CpG006821	2,52125853	1,28372714	0,509161248	2,85133938	0,842397
CpG001433	2,521002726	1,29711059	0,514521693	2,61624048	0,842397
CpG001174	2,520758345	0,67278442	0,266897626	1,55773192	0,842397
CpG007608	2,515556677	0,90232403	0,358697555	2,07175752	0,842397
CpG002586	2,512803515	0,46027013	0,183169964	1,39041894	0,842397
CpG0011213	2,503692556	0,58810516	0,234895119	1,54537291	0,842397
CpG000914	2,501034413	0,56877089	0,227414261	1,49600563	0,842397
CpG000181	2,499268926	0,47908876	0,191691561	1,37762027	0,842397
CpG000383	2,499008772	0,56392177	0,225658179	1,49378788	0,842397
CpG001974	2,494231879	0,95505403	0,382905069	2,10690357	0,842397
CpG001010	2,476601007	0,44424404	0,179376508	1,36128202	0,842397
CpG005370	2,475404066	0,93273569	0,376801389	1,93084295	0,842397
CpG001673	2,43712712	0,73545561	0,301771542	1,72875002	0,842397
CpG0011218	2,433067365	0,47500193	0,19522761	1,39941899	0,842397
CpG000260	2,426502871	0,69533441	0,286558248	1,5975377	0,842397
CpG005741	2,424575864	0,49454972	0,203973703	1,40183808	0,842397
CpG003690	2,392562742	0,75991624	0,317616012	1,79106453	0,842397
CpG002414	2,38884013	0,39482692	0,16527976	1,31216978	0,842397
CpG001021	2,377505063	0,37341426	0,157061396	1,2907732	0,842397
CpG0011223	2,373964248	0,81317287	0,342537961	1,9023005	0,842397
CpG0011368	2,359703863	0,59038173	0,250193146	1,57024152	0,842397
CpG006422	2,35287304	0,99177047	0,421514654	2,27511822	1,734766
CpG004348	2,350316451	0,7939436	0,337802852	1,66379551	1,734766
CpG007533	2,346131901	0,79131522	0,337285053	1,81468472	1,734766
CpG001361	2,344478326	0,82883595	0,353526811	1,86285526	1,734766
CpG002732	2,344368657	0,36650939	0,156336072	1,28825844	1,734766
CpG000627	2,343055746	0,4629312	0,197575836	1,37691132	1,734766
CpG005031	2,339138249	0,35803746	0,153063832	1,28942435	1,734766
CpG004192	2,33866324	1,12875013	0,48264757	2,60936238	1,734766
CpG004409	2,337545889	0,50310566	0,215228141	1,42021581	1,734766
CpG009795	2,329833034	1,1767607	0,505083703	2,59976202	1,734766
CpG000382	2,325057869	0,62459906	0,268638072	1,60157064	1,734766
CpG007445	2,317981725	0,43838443	0,189123333	1,35781901	1,734766
CpG006035	2,317393026	0,63914955	0,275805417	1,59298524	1,734766
CpG002186	2,315368006	0,66769972	0,288377365	1,60996251	1,734766
CpG011167	2,293176077	0,38694692	0,168738425	1,30899131	1,734766

Anhang

CpG009075	2,290833812	0,85568184	0,373524189	1,85157106	1,734766
CpG001660	2,284747727	0,38970831	0,170569516	1,31946963	1,734766
CpG000034	2,276371396	0,36187258	0,158969041	1,279861	1,734766
CpG010243	2,274108158	0,76959107	0,338414454	1,87409844	1,734766
CpG001778	2,260254873	0,59747384	0,264339144	1,49116557	1,734766
CpG000693	2,259100897	0,55038914	0,243631943	1,44024155	1,734766
CpG001688	2,248742475	0,58457727	0,259957411	1,50784597	1,819576
CpG001393	2,241926261	0,63852148	0,284809312	1,5865136	1,819576
CpG009020	2,234153609	0,35254295	0,157797093	1,28297734	1,819576
CpG009894	2,233006571	0,54561848	0,244342533	1,43008995	1,819576
CpG008756	2,231064265	0,8153748	0,365464505	1,90989714	1,819576
CpG001755	2,209885323	0,37818649	0,171133989	1,28790846	1,819576
CpG002157	2,206792527	0,8584548	0,389005668	1,6724754	2,274471
CpG009415	2,196438349	0,51764452	0,235674505	1,44243206	2,274471
CpG000818	2,196045731	0,47459425	0,216113099	1,42049435	2,274471
CpG000226	2,190899261	0,46877972	0,213966809	1,35865624	2,274471
CpG002682	2,188715367	0,46880527	0,214191977	1,38357821	2,274471
CpG000025	2,185338203	0,34187887	0,156442086	1,26094958	2,274471
CpG009027	2,167280794	0,37128057	0,171311706	1,30286021	2,274471
CpG0011349	2,161146477	0,45262924	0,20943941	1,38621838	2,274471
CpG000131	2,160932416	0,34382952	0,15911165	1,27629357	2,274471
CpG008086	2,159281344	0,81960729	0,379574106	1,84461175	2,274471
CpG000640	2,156544165	0,34906934	0,16186515	1,26690099	2,274471
CpG009835	2,156483504	0,98882034	0,458533692	2,43049457	2,274471
CpG004948	2,155527831	0,35433586	0,164384732	1,27421891	2,274471
CpG003894	2,155115016	0,46534082	0,215923891	1,38320198	2,274471
CpG001957	2,147466521	0,45826102	0,213396118	1,34384243	2,785066
CpG003281	2,145425637	0,50264627	0,234287434	1,43129641	2,785066
CpG000748	2,140268625	0,27150098	0,126853694	1,20719518	2,785066
CpG004507	2,138151329	0,35597994	0,166489592	1,27808326	2,785066
CpG001400	2,127075331	0,47744822	0,224462298	1,40409672	2,785066
CpG000479	2,120334934	0,33719542	0,159029319	1,25996237	2,785066
CpG008251	2,112500594	0,97069097	0,459498556	2,05075182	2,785066
CpG009529	2,105152904	0,61194145	0,290687412	1,51932136	2,785066
CpG000734	2,102930949	0,3664833	0,174272627	1,29032414	2,785066
CpG000609	2,101228088	0,3728522	0,177444895	1,30267932	2,785066
CpG000461	2,098802776	0,54158505	0,258044755	1,43430313	2,785066
CpG002989	2,094890113	0,51550832	0,246078931	1,42570752	2,785066
CpG004121	2,094858559	0,54999225	0,262543861	1,4550582	2,785066
CpG002060	2,091991377	0,67886696	0,324507533	1,65991702	2,785066
CpG002037	2,091776129	0,52777145	0,252307808	1,45526371	2,785066
CpG001577	2,083197175	0,39817145	0,191134786	1,31735304	2,785066
CpG0011300	2,081844075	0,3805735	0,182805959	1,31578714	2,785066
CpG008400	2,075972405	0,39174192	0,188702856	1,30918535	2,979656
CpG005377	2,069954414	0,63864538	0,308531134	1,45444138	2,979656
CpG009183	2,061314123	0,6510208	0,315828042	1,49360121	2,979656
CpG001386	2,05144799	0,80093125	0,3904224	1,7801422	2,979656
CpG004302	2,051300499	0,61415903	0,299399834	1,69352065	2,979656
CpG005219	2,050652289	0,46197561	0,225282275	1,41577202	2,979656
CpG006365	2,050285918	0,43508632	0,212207632	1,32433442	2,979656
CpG000847	2,049522361	0,51498733	0,251271876	1,43112967	2,979656
CpG003388	2,045882379	0,60468871	0,295563771	1,61473691	2,979656
CpG001860	2,045728263	0,80902872	0,39547223	1,90229188	2,979656
CpG001496	2,039671774	0,25279899	0,123941015	1,19054735	2,979656
CpG000294	2,037253348	0,3975248	0,195127817	1,29635817	2,979656
CpG000151	2,03591266	0,4688226	0,23027638	1,38241237	2,979656
CpG001177	2,029211092	1,07920939	0,531836926	2,15018251	2,979656
CpG003678	2,027875945	0,38306582	0,188900025	1,27851343	2,979656
CpG001325	2,015840191	0,71674694	0,35555742	1,68599185	2,979656
CpG003473	2,015283478	0,32020615	0,158888886	1,24875062	2,979656
CpG010531	2,01497056	0,50219001	0,249229452	1,45615442	2,979656
CpG004665	1,999697826	0,37713197	0,188594481	1,28867646	3,384629
CpG004648	1,994572387	0,40192975	0,201511739	1,33340212	3,384629
CpG000802	1,993703398	0,70100596	0,351609953	1,75595765	3,384629
CpG006438	1,99189251	0,5522029	0,277225248	1,49501539	3,384629
CpG001705	1,99018504	1,03707955	0,521097046	2,45391484	3,384629
CpG005723	1,9896085	0,37946929	0,190725605	1,31236882	3,384629
CpG010371	1,987389658	0,52434863	0,263837855	1,49845009	3,384629
CpG004787	1,98687719	0,75102607	0,377993201	1,78342137	3,384629
CpG003797	1,986251889	0,65965098	0,332108421	1,79618354	3,384629

CpG003899	1,984095263	0,63409352	0,319588245	1,44031969	3,384629
CpG000633	1,97679973	0,47823234	0,241922501	1,35516503	3,384629
CpG000652	1,969714491	0,30326051	0,15396166	1,23835569	3,384629
CpG001970	1,965708656	0,58319067	0,296682151	1,53756921	3,384629
CpG002215	1,960145513	0,38028592	0,194009024	1,29289858	3,384629
CpG000083	1,95620555	0,35745603	0,182729277	1,27780781	3,384629
CpG009417	1,954360248	0,29817537	0,152569295	1,22534635	3,384629
CpG001671	1,953730051	0,4233075	0,216666319	1,35218676	3,384629
CpG011117	1,953270306	0,53125369	0,271981653	1,44591611	3,384629
CpG007162	1,947863574	0,38947854	0,199951654	1,32087755	3,776796
CpG008835	1,942270509	0,2933267	0,151022576	1,21900457	3,776796
CpG003055	1,940904427	0,32043498	0,165095701	1,25513628	3,776796
CpG000459	1,933325721	0,39872586	0,206238324	1,29368523	3,776796
CpG009891	1,932592803	0,99698485	0,515879419	2,30175063	3,776796
CpG008923	1,927585533	1,38179306	0,716851749	5,35998047	3,776796
CpG002744	1,926535904	0,38132015	0,197930469	1,30156592	3,776796
CpG007777	1,921584576	0,59547369	0,309886796	1,54206364	3,776796
CpG0011183	1,917802638	0,50705959	0,264396125	1,41552946	3,776796
CpG009553	1,910175504	0,52910085	0,276990701	1,4330321	4,142786
CpG0011245	1,907214586	0,56284555	0,295113906	1,54730709	4,142786
CpG004153	1,896216511	0,91740522	0,483808262	2,09314218	4,142786
CpG002042	1,895747047	0,30162145	0,159104268	1,2304244	4,142786

8.1.4.2 In Patienten mit 13q-Deletion im Vergleich zu Patienten mit 17p-Deletion hypomethylierte CpG-Islands

Gene ID	Score(d)	Numerator(r)	Denominator(s+s0)	Fold Change	q-value(%)
CpG004232	-3,809655242	-0,8352722	0,219251388	0,5495914	0
CpG010271	-3,768060694	-0,78007701	0,207023473	0,57448628	0
CpG002279	-3,593505474	-0,87907871	0,244629851	0,521309	0
CpG001357	-3,528339937	-1,06472348	0,301763294	0,46616082	0
CpG001170	-3,470277152	-1,21085155	0,348920705	0,41187778	0
CpG001096	-3,420456912	-0,91321742	0,266986969	0,54903003	0
CpG005890	-3,34158143	-1,06148821	0,317660435	0,49226471	0
CpG009540	-3,335091182	-0,82379119	0,247007098	0,56487992	0
CpG001453	-3,286219413	-1,09295503	0,332587358	0,46518415	0
CpG002056	-3,26586362	-1,2893368	0,394791992	0,3990926	0
CpG002216	-3,162271954	-1,00793182	0,318736603	0,47819973	0
CpG006724	-3,114881192	-0,66158109	0,212393682	0,62975302	0
CpG002315	-3,048116859	-0,59321072	0,194615478	0,66058275	0
CpG0011360	-2,838982242	-0,72170298	0,254211868	0,61270637	0
CpG002120	-2,768607607	-0,49827791	0,179974191	0,71196512	0
CpG002911	-2,744635395	-0,54745845	0,199464909	0,67247675	0,897817
CpG003007	-2,739022179	-0,63589549	0,232161498	0,62741706	0,897817
CpG001730	-2,719833508	-0,63972651	0,235207966	0,63909376	0,897817
CpG001149	-2,707816664	-0,4084065	0,150825021	0,75542381	0,897817
CpG004694	-2,706047553	-0,53673024	0,198344717	0,68229478	0,897817
CpG004443	-2,701759853	-0,46937043	0,173727664	0,7225328	0,897817
CpG008819	-2,684016972	-0,54875558	0,204453098	0,68791453	0,897817
CpG004136	-2,682689946	-0,76659395	0,285755704	0,56680873	0,897817
CpG007099	-2,68177014	-0,83292284	0,310586964	0,53458294	0,897817
CpG009176	-2,641708117	-0,34657086	0,131191957	0,78399936	0,897817
CpG006615	-2,604061415	-1,00851181	0,387284187	0,48210968	0,897817
CpG002129	-2,588550527	-0,51367449	0,198440974	0,69518468	1,58684
CpG003441	-2,586846703	-0,75927401	0,293513339	0,57963172	1,58684
CpG001150	-2,580635289	-0,94118039	0,364708797	0,49363348	1,58684
CpG004029	-2,555124809	-0,5746384	0,22489641	0,66985073	1,58684
CpG002222	-2,543028957	-0,52555417	0,206664644	0,68530922	1,58684
CpG009713	-2,497032875	-0,58447306	0,234067026	0,68011144	1,734766
CpG003537	-2,494289172	-0,80412721	0,322387323	0,55623109	1,734766
CpG001841	-2,493757902	-0,67388622	0,270229206	0,63639672	1,734766
CpG004555	-2,48201401	-0,58895533	0,237289286	0,66416145	1,734766
CpG001538	-2,481924892	-0,74028987	0,298272471	0,62988543	1,734766
CpG007433	-2,46799885	-0,35387613	0,143385855	0,78034982	1,734766
CpG010463	-2,457179089	-0,51353621	0,208994214	0,70532556	1,734766
CpG005217	-2,455911769	-0,53077302	0,216120558	0,67428088	1,734766
CpG003704	-2,452580309	-0,79483463	0,324080979	0,54661504	1,734766
CpG002481	-2,439642348	-0,43761518	0,179376777	0,74400462	1,734766
CpG003979	-2,435176608	-0,48714574	0,200045345	0,72619807	1,734766

Anhang

CpG008781	-2,414832946	-0,50217938	0,207956158	0,70402104	1,734766
CpG002168	-2,412898357	-0,56250509	0,233124238	0,67030147	1,734766
CpG001441	-2,405888335	-0,6715699	0,279135941	0,63535255	1,734766
CpG004304	-2,405533106	-0,54526976	0,226673149	0,67644586	1,734766
CpG006756	-2,401599997	-0,49402574	0,20570692	0,71282696	1,734766
CpG002503	-2,39092509	-0,45349601	0,189673866	0,72893641	1,734766
CpG001384	-2,38805319	-0,51037958	0,213722034	0,71554004	1,734766
CpG002224	-2,381918947	-0,65002361	0,272899129	0,60711684	1,734766
CpG004023	-2,365374504	-0,96855808	0,409473461	0,4953937	1,819576
CpG009186	-2,363687856	-0,41428316	0,175269824	0,75431703	1,819576
CpG000404	-2,358858112	-0,76210274	0,323081211	0,59206381	1,819576
CpG001318	-2,357471878	-0,6660964	0,282546911	0,61265709	1,819576
CpG001054	-2,355349131	-0,79910744	0,339273455	0,57532514	1,819576
CpG004837	-2,350762122	-0,50143317	0,213306641	0,70435059	1,819576
CpG004903	-2,346663448	-0,41132969	0,175282777	0,75817808	1,819576
CpG004208	-2,344862512	-0,50623239	0,215890011	0,69140611	1,819576
CpG009735	-2,336667025	-0,44640798	0,191044756	0,74842798	1,819576
CpG004267	-2,332346673	-0,7269088	0,31166413	0,58213801	1,819576
CpG003873	-2,329178397	-1,19036249	0,5110654	0,39682571	1,819576
CpG003345	-2,313459342	-0,74826965	0,323441884	0,59888586	1,819576
CpG001349	-2,310295232	-0,55581133	0,240580217	0,68329115	1,819576
CpG001165	-2,277923741	-0,60098656	0,263830851	0,64674901	2,274471
CpG009617	-2,276466923	-0,65241635	0,286591623	0,66067615	2,274471
CpG000877	-2,27588617	-0,46523555	0,204419515	0,71465916	2,274471
CpG008777	-2,272998266	-0,69005378	0,303587464	0,63826265	2,274471
CpG000605	-2,257898401	-0,44645537	0,197730495	0,72927985	2,274471
CpG003059	-2,254052471	-0,40668513	0,180423985	0,747736	2,274471
CpG001937	-2,253919155	-0,63569207	0,28203854	0,59476944	2,274471
CpG001062	-2,250684809	-0,61788964	0,274534063	0,62621726	2,274471
CpG007817	-2,241867017	-0,54905375	0,24490915	0,65152463	2,274471
CpG002024	-2,229806121	-0,37599521	0,168622376	0,76536808	2,274471
CpG004318	-2,223590301	-0,45631632	0,205216005	0,72336762	2,274471
CpG005641	-2,222891475	-0,74029091	0,333030613	0,56926303	2,274471
CpG001506	-2,219692813	-0,4769478	0,214871085	0,72356856	2,274471
CpG007053	-2,219130272	-0,49180541	0,221620793	0,70739981	2,274471
CpG002242	-2,218794079	-0,46874277	0,211260152	0,72008361	2,274471
CpG001600	-2,214416898	-0,48746442	0,22013218	0,69764103	2,274471
CpG004715	-2,211346201	-0,5856986	0,264860654	0,65576761	2,274471
CpG008680	-2,210821045	-0,6625576	0,299688482	0,67510765	2,274471
CpG004459	-2,190678325	-0,48672505	0,222180064	0,72977075	2,785066
CpG010354	-2,188167569	-0,40884946	0,18684559	0,74902655	2,785066
CpG001446	-2,177414232	-0,68011848	0,312351444	0,56876503	2,785066
CpG006142	-2,175563672	-0,41702166	0,19168442	0,73711142	2,785066
CpG007194	-2,171324119	-0,74508845	0,343149347	0,62824459	2,785066
CpG007633	-2,167291122	-0,31929536	0,147324627	0,80504286	2,785066
CpG005534	-2,165412841	-0,58515341	0,27022718	0,66910552	2,785066
CpG000785	-2,155171528	-0,66935917	0,310582781	0,65997753	2,785066
CpG010003	-2,153496609	-0,5307293	0,24645003	0,68962526	2,785066
CpG002785	-2,152147007	-0,48030315	0,223173951	0,697831	2,785066
CpG002559	-2,150115745	-0,81859378	0,380720799	0,63092561	2,785066
CpG001530	-2,141960017	-0,53576069	0,250126374	0,71492859	2,785066
CpG005218	-2,141901509	-0,37186142	0,173612756	0,76091003	2,785066
CpG005793	-2,136360848	-0,31264667	0,146345439	0,8033168	2,979656
CpG000397	-2,13195843	-0,69628471	0,326593942	0,60501934	2,979656
CpG001619	-2,113915143	-0,43912165	0,207729079	0,73220357	2,979656
CpG006553	-2,097768739	-0,37138367	0,177037471	0,77793005	2,979656
CpG004119	-2,094361495	-0,74446175	0,355460005	0,63165506	2,979656
CpG002172	-2,091708819	-0,63333833	0,302785133	0,65305164	3,384629
CpG003883	-2,089181755	-0,39498718	0,1890631	0,75116726	3,384629
CpG009084	-2,083724904	-0,54543179	0,261758059	0,67233624	3,384629
CpG007636	-2,074996072	-0,83675426	0,403255827	0,56595127	3,384629
CpG001314	-2,073842987	-0,41153127	0,198438974	0,75721575	3,384629
CpG003489	-2,064247387	-0,72979385	0,353539917	0,59158943	3,384629
CpG007986	-2,063671768	-0,28997105	0,140512194	0,81644818	3,384629
CpG009858	-2,048257261	-0,55416342	0,270553623	0,72303058	3,776796
CpG001335	-2,042511861	-0,41947787	0,205373527	0,74524349	3,776796
CpG001793	-2,041566109	-0,42282615	0,207108722	0,75078741	3,776796
CpG006019	-2,029155143	-0,64842769	0,319555502	0,63757899	3,776796
CpG003585	-2,02417342	-0,74066342	0,365909071	0,57474057	4,142786
CpG004857	-2,016011192	-0,52752841	0,261669384	0,67825204	4,142786

8.1.5 Vergleich Expressionsanalyse: 13q vs. 17p

8.1.5.1 Gene, die eine geringere Expression in Patienten mit 13q-Deletion im Vergleich zu Patienten mit 17p-Deletion aufweisen

Gene ID	Gene Name	Score(d)	Numerator (r)	Denominator (s+s0)	Fold Change	q-value (%)
lhXvfhLCsTDeX01fy0	NA	6,521775007	0,87662015	0,134414351	1,83121804	0
x_urSVTc3RwiO71QyA	NA	6,454413512	1,32456965	0,205219211	2,5376872	0
uk5HFOVJ.dFU3knPE	BRF1;KIAA1217;SRFBP1	5,659137766	0,91970241	0,162516349	1,86743975	0
fj_LsqLuokl_kjqkVs	OTUD5	5,59221526	0,94426033	0,168852643	1,93347116	0
fXj2hBTiqy65yogpBc	TGDS	5,181976623	0,86395109	0,166722305	1,82210938	0
KuoAcwHd_8SVZRV_e4	CSNK2A1P	5,027926589	1,36901484	0,272282186	2,48529984	0
03tcIuierhIkrkJaX8	NA	4,896769003	0,8177518	0,16699824	1,76668572	0
ltV.93dKkVSVRHR OXg	TIMM17B	4,845994972	0,86044483	0,177557928	1,78718361	0
xBfPXR1NSXfhrCRZ3s4	ZNF17	4,819597576	1,17988871	0,244810629	2,27406531	0
B6KuVCmKWuKVJ3EDAs	ARRDC1;C9orf37	4,758848855	0,89174949	0,187387648	1,87296738	0
ZrKqxyoze6Tjzk9bI	GPM6A	4,689785801	0,99856677	0,212923748	2,02936032	0
KyqQynMZxJcruyyIEU	NA	4,689243871	1,40284952	0,299163268	2,74303622	0
c0hT._avdUSReBUkEk	CCNB1IP1	4,647851385	0,89364475	0,192270509	1,81683275	0
Q6rKuoCKJK3or_6BUs	DNAJC5	4,633406195	0,55533859	0,119855364	1,47869652	0
ftON52g115wIKd6m4k	NMB	4,622142973	1,2582129	0,272214189	2,46090217	0
WiJV9C7jXjnIIPujk	PPA1;NA;NA	4,594508522	0,99086791	0,215663526	1,92233327	0
6l3uyusqli0CRwyFKQ	ZBTB26	4,562966077	0,72881252	0,159723415	1,66793728	0
IE6UuXvVR1fUAo3oE	RDBP;NELFE_HUMAN;RDBP	4,541803746	0,83139171	0,183053201	1,77177038	0
KeVIqAlKAj6gurrSiI	ZC3H10	4,481002889	1,12161023	0,250303393	2,21186813	0
fr6Tv.VV_SzLrI_ijc	FUBP1	4,460542643	0,76762152	0,172091509	1,72317274	0
ukeCh_nro6pH6c549k	NP_001010878.1	4,457596611	1,06582798	0,239103731	2,07329422	0
Z590t9JSKip7z9SK5k	DAP	4,445678911	0,99871405	0,224648265	2,01142068	0
u_aF6aI5m9n2PspT18	NA	4,424994673	0,99167804	0,224108301	1,96395419	0
HKp.7P15d5VFVA XXsw	NA	4,374146503	1,10919234	0,253579148	2,18881927	0
uqR7Qfq.CEooT5C9EU	MRPL50	4,354345348	1,05444617	0,242159519	2,04630346	0
NKHfqp0u4iUq8XHeUI	BET1L;Q9H4N3_HUMAN	4,350486008	1,33012299	0,30574124	2,40729555	0
3q3wVOvdJ6rhHnXcgk	ELAC1	4,325535961	0,42729627	0,098784583	1,34456906	0
9X0qSCEed.sFSUUUAI	ZNF434;STXBP5L;Q8NFX8_HUMAN	4,305495325	1,01887773	0,236645881	1,99767285	0
KhevXroV4oQLuM AXek	KIAA0409	4,256757031	1,05313117	0,247402227	2,11176987	0,767386
rSzqnylOdLnqhKL.IQ	MRPS18A;C6orf206	4,254534324	1,2545861	0,29488212	2,28014456	0,767386
I4uel12VJIN9XVL	GNL1;GNL1_H	4,21298279	0,712459	0,169110352	1,64025554	0,767386

Anhang

N.k	UMAN;GNL1					6
iqJ4_ySXby7RVdd Xjc	CD79A	4,204529053	1,36491484	0,324629661	2,66275967	0,76738 6
6bol0uVv6Xnndnh DAg	MRPL37	4,18864451	0,91669812	0,218853167	1,87521629	0,76738 6
xW490q57juKsq ok.s	PES1	4,181431506	0,77536956	0,185431607	1,73440998	0,76738 6
TIEVMDX7u8H3J5 eqek	HCRTR1;PEF1	4,165595201	0,89177186	0,214080297	1,86858804	0,76738 6
0oPrr.3gu6qAq6.f no	UPRT	4,159618303	0,6066399	0,14584028	1,52100595	0,76738 6
BkSXZEBRPI66pU ux4A	ACTR1A	4,141685512	1,10076773	0,265777718	2,14041626	0,76738 6
ThXoftPP7eqpHq4 J4I	AMIGO3;GMPP B	4,12770691	0,77543723	0,187861504	1,76569539	0,76738 6
KDiAaSZYsIaaSOC a8w	NM_014187.2	4,084415894	1,08478993	0,265592427	2,12571818	0,76738 6
H3iJX1Xu15RTurS Ox0	NHP2L1	4,083404758	1,54347816	0,377988041	2,8879568	0,76738 6
ipXV5HVd_ebvj_ik eQ	ATP6V0B	4,053038429	0,72613897	0,179159162	1,63805253	0,76738 6
uKl6ijKnDVCrI58pz s	PRSS16	4,043483198	1,49060736	0,36864438	2,64409402	0,76738 6
NOXqfREIFF3VkvV Ch8	SF3B2	4,035325261	0,70029484	0,173541113	1,66426818	0,76738 6
9FV11UgR0ioa0E0 iRM	SPATA2L	4,027719061	0,89895412	0,223191862	1,879713	0,76738 6
3pepuuigquegQw Gkc0	ZNF787	4,005798473	1,22051103	0,304686079	2,20913509	0,76738 6
IUMI16RSUhdFfhQ Xdo	FBXW4	4,003746222	0,66918185	0,167138927	1,59420644	0,76738 6
i3j0YeX3eE1UX13 uVU	MTMR2	4,002588388	0,82062946	0,205024694	1,75333771	0,76738 6
K0dTUXaIUUV1VJS MaDA	MOBK2A	4,001899978	1,46772132	0,366756122	3,009134	0,76738 6
Ect1OICR0KPjoRR EUk	ZNF35	3,989885619	1,17565195	0,294658058	2,30053605	0,76738 6
BkFP31fRfXffEVS i0	MED4	3,966132333	1,29190274	0,325733643	2,32011148	0,76738 6
Z2vQnW6IEeee5Q grsQ	SLC41A3;OR7 E85P	3,957651287	1,0496594	0,26522281	2,12389108	0,76738 6
BIqCkquhZTiTgCF YJA	UBAC2	3,954374235	1,01141216	0,255770471	1,98804276	0,76738 6
uHwCPRwJJJEyR6g d6dY	LPL	3,933083085	0,76991686	0,195754029	1,70354067	0,76738 6
IUrIdQfJXgP545UQ Tk	RAB33A	3,931669621	0,4632034	0,11781341	1,38801079	0,76738 6
9nqi7tXi07qeDXh. R0	CRADD	3,92895992	0,81126442	0,206483252	1,77392762	0,76738 6
QN4TRVJIP7AiQf1 JLE	SAR1B	3,9172697	1,17428411	0,299771065	2,14439929	0,76738 6
KRrAInip3fSokIT8r c	TMEM127	3,905060378	1,25420751	0,321174935	2,45283925	0,76738 6
WeleKA6tKL7PpCK iq4	PRR3;PRR3_H UMAN;PRR3_H UMAN	3,882692524	0,7673443	0,197632003	1,70329838	0,76738 6
xFSIAFO6uRAIKR5 Qug	ZNF672	3,878531671	1,24081997	0,31992003	2,45328947	0,76738 6
iFq5SHgefXf19Jze 6o	GPC6	3,869799192	0,28302874	0,073137836	1,21660329	0,76738 6
iSOGEH1_5Uya6ie X6Q	LAMP2	3,867465574	0,8102407	0,209501724	1,77247561	0,76738 6
xpSa5fxoeNu65j8 qPc	ZNF200	3,860780333	1,12102044	0,290361103	2,34475429	0,76738 6
xrnReqXU1SCZKn z.3g	OR7E85P;O6P JP7_HUMAN	3,859553265	1,26678792	0,328221385	2,5659828	0,76738 6
IF4JSEqSKbWeED R1Tg	CENTG3;TME M140	3,850388996	2,04068369	0,529994162	3,57394451	0,76738 6
BaSu9OoLK6NLgp MOp4	NP_689653.3	3,845685093	0,63154093	0,164220656	1,58555518	0,76738 6
r6FMqjf6Cnuq353 18k	METTL1	3,845071205	1,09998672	0,286077074	2,33970728	0,76738 6

ZKikkh0pXU613_0.74	EMD	3,8354029	1,09062855	0,284358274	2,29354896	0,767386
rOezhdXiRW4eVTn9V8	RANGAP1	3,832206175	1,5543187	0,405593704	3,47279505	0,767386
uXq0nXSBQVuk3cCQCU	NP_203751.2	3,821270046	1,39894501	0,366094254	2,77515239	0,767386
0DVSkp.ovv1OuOqUjs	C6orf1	3,814019366	0,7815337	0,204910784	1,74990516	0,767386
cHaKeIrkKOX4n4ivgk	GFRA1;RDX;MED29	3,790787151	1,02529399	0,270469944	1,97870526	1,151078
WnreoAXlc0OLO_W68U	SHC4;EID1	3,788922381	0,45638032	0,12045122	1,38557671	1,151078
c5KhFJJcXFFUnt74iQ	NSMCE2	3,782220629	0,86335952	0,228267889	1,87689321	1,151078
N_vOIY3Z6hZV5W6AIE	CHMP6	3,773424163	1,22374023	0,324304976	2,31738211	1,151078
fkVLCF7KIEoJe6KHv0	Q96IP2_HUMAN	3,769398155	2,1034319	0,558028579	5,45475635	1,151078
3Xoi1vi9oBRUnCQA3o	MRPS17	3,726330553	1,07801298	0,289296124	2,04412364	1,151078
QfQKRJKSDipRKSid67o	C11orf79	3,719716954	1,22686255	0,329826856	2,38764243	1,151078
T4IJe91qXg7eq5_5f8	C9orf23	3,718164332	1,49917474	0,403202926	2,51618707	1,151078
TEqixUslIdIq5FtZcoQ	TRIOBP	3,704102848	0,58560244	0,158095621	1,51425257	1,151078
fIuKr6qNpL6iqZ3iPA	AKT1S1	3,70015788	0,5079029	0,137265198	1,44071868	1,151078
0J6bK6S_peuKvKH0gE	B4GALT7	3,696898959	0,6242266	0,168851409	1,55364289	1,151078
9up90pKKE36S56fpTw	SIL1	3,676785374	1,27081313	0,345631578	2,52900561	1,151078
NUXpIA3H3EvqnhIXVo	PEX16	3,674491807	0,87005605	0,236782689	1,77473663	1,151078
Q_ivuDS5e0lZ14l6X8	FAM96B	3,671199641	0,8525047	0,232214203	1,75414846	1,151078
QrtTSwcvX955XR e5AE	EMG1	3,668907887	0,98573442	0,268672435	1,89255483	1,151078
i9U79czl1XM_ikMHZs	PRKG1;CSTF2I	3,655865388	0,59204216	0,161943096	1,53301797	1,151078
Wh6SopGSse4A19X_V0	CENTG3;MEPCE	3,654337237	1,29328113	0,353903059	2,47459661	1,151078
WXn8jR2rVRfktVl8g	LRRC8A	3,652258015	0,6598839	0,180678336	1,61150132	1,151078
c3giKUEI9V5fo94LvU	NUDT3	3,645240347	0,77032998	0,211324881	1,68645749	1,151078
rV15X_63ys65zK_Tm0	MFAP3	3,638619731	0,63609453	0,174817534	1,58450823	1,151078
QSR_4KPg5K9Sui oIbo	ABCG1	3,634029439	1,43389749	0,394575088	2,86176056	1,151078
rZ1e6.uVHnQxJdY10c	AP3S2	3,629879792	0,79978086	0,220332602	1,74443026	1,151078
3Xq7ouAi0e66qYiih8	ZNF784	3,616513392	0,68712394	0,189996239	1,66868597	1,401313
f3ilRECEhFVKdx1NU8	SLC20A2	3,599592053	0,62682547	0,17413792	1,57318178	1,401313
fXl3eKMCQ9P91RXaV0	KHSRP	3,590355422	0,59775059	0,166487859	1,49215439	1,401313
xJKRUp.Igsyqn31eeo	LRRC41;C1orf190	3,583308007	1,16097571	0,323995511	2,24305945	1,401313
xh7XpNgd1d7uw_iiFE	NUP37	3,567325574	0,8900932	0,249512747	1,86836192	1,401313
H3iFCp_fheOP9FSd3g	KIAA1826	3,538154347	1,28413952	0,362940504	2,44229926	1,401313
x74pTaEiHolSuEojrg	MRPL27	3,536284849	1,41996441	0,401541298	2,76999023	1,401313
3LV5rVIyXg15Wi6CeA	SYN1;TIMP1	3,534016002	1,78344366	0,504650704	3,00213893	1,401313
3tSrwDaXuq7riCkr7k	TPD52L2	3,523520354	0,96537974	0,273981598	1,9854175	1,401313
WbrbqLsSIFVQrggeC8	FBL	3,522353452	0,95595189	0,271395788	2,02641828	1,401313

Anhang

B5DGouFSceBSUY EIZQ	CBFA2T3	3,520829278	1,3206791	0,375104554	2,50956987	1,401313
3IAV0uJ9fQvRLiJQLU	ZNF486;ZNF738;ZNF626;O75373_HUMAN;ZNF253	3,520510537	0,8998936	0,255614516	1,8941675	1,401313
KFtIfWqT0rqnrr_E4	TPCN2	3,51763918	0,81612914	0,232010477	1,82752941	1,401313
0SXouANerHh.iKLi7k	OBFC2A	3,502869521	1,00301017	0,286339575	1,91176775	1,401313
ZQjggXbuhSazdXo64	EIF3EIP	3,500585775	0,51096079	0,145964368	1,4444136	1,401313
NpZXkX0mj_qPKd.ySE	HAGH	3,4967085	1,40963894	0,4031331	2,79812219	1,401313
Z5IJBLaqEqKgd_EeJQ	SNN	3,494007288	1,04816704	0,29998994	2,12575615	1,401313
inepeOoSqyKgriTJE8	FADS3	3,491092743	1,26910525	0,36352665	2,37662216	1,401313
9Rqu0oqIhJerOpCA4c	MADD	3,489371139	0,87270775	0,250104592	1,93752894	1,401313
N6F6tMp4F7zoVUD3iI	TRAPPC4	3,489001615	1,10327881	0,316216193	2,04912569	1,401313
9pdF4I04AMa6o1EgV0	MRPL30	3,488068042	0,54481816	0,15619482	1,45219462	1,401313
019EaQ7_qAcJUnt7uk	CCDC71;CCDC36	3,47807782	1,8867019	0,542455343	2,63506936	1,401313
idUjC_tdXeX9d0JVQI	G6PC3	3,470538485	1,23482027	0,355800772	2,44019111	1,401313
EkruqvCR8.iuqu9F3c	CREBL1;CREBL1	3,45383032	0,32819646	0,095023908	1,25172578	1,401313
cXp3tFIOQdTlz8egF4	COX4I1	3,446704896	0,61455692	0,178302737	1,54196021	1,401313
3gUbaqQe.Sq.3fIq1UU	UBAP2	3,446327681	0,59367306	0,172262511	1,53147771	1,401313
f7F_v3dSd51RP9Exck	TUBA8;E2F6	3,439031725	0,65167818	0,189494668	1,60060728	1,401313
rR66jP_o7QquikiRC0	MIF4GD	3,435970174	0,90923801	0,26462337	1,85246057	1,401313
ihSoSuyIwoekFI0k0	MRPL35	3,430699565	1,10540561	0,322209973	2,14833941	1,761213
xv3nner1JdSq4D7nh0	IGKV6-21	3,425506401	0,21906211	0,063950284	1,16403348	1,761213
HS7hLIJQ7kiujit_4A	MCA2_HUMAN	3,425277422	0,97557044	0,284815015	1,97235654	1,761213
EnaHWrdXKM5VLJP57s	KLC1	3,424392789	0,84728125	0,247425251	1,91778212	1,761213
NdK3qgt7npN10_5fTQ	ORAOV1	3,420773053	0,68963666	0,201602575	1,6432378	1,761213
f6UiKghEjjgnolKnl0	FXYS5	3,418963894	0,91319084	0,267095784	1,95316179	1,761213
x6q7AI0SsVQosjKs	MAGEH1	3,41675751	0,71035777	0,207904063	1,69042971	1,761213
NE.53uBzVeZ.gblJU	CENTG3;ORCSL	3,407766825	0,82634877	0,242489822	1,72883501	1,761213
cWpW6V5mie7UMC9_js	ATP6V0C;SLC2A1	3,40503663	0,93890795	0,275740926	2,03379549	1,761213
Tr0pbK9dCg3fC.5UCE	GPR137B	3,403817248	0,61902606	0,181862309	1,52234689	1,761213
Q35dRFdd1KFejg1ve4	ZG14_HUMAN;O9NSQO_HUMAN	3,389450077	1,18537861	0,34972594	2,36208967	1,761213
3eV9Uj3sL7V0Hsfog	CENTG3;AGK	3,382937676	0,71784115	0,212194613	1,66676381	1,761213
BI1eXXLIJV0R9NeAQ	CENTG3	3,375327221	0,82270784	0,243741655	1,80156658	1,761213
iSPq6y6ivuTopS4CeE	RPN1;OR7E85P	3,371597976	1,16245078	0,3447774	2,19135814	1,761213
QckkeqEoOhrV_KK24Q	C14orf80	3,369754323	0,73418832	0,217875918	1,72882735	1,761213
0sz7qvrV90YFShe5_o	NA	3,365668939	0,73325084	0,217861843	1,64532634	1,761213
BMozoiXp9OIECK	NA	3,363566455	0,91563725	0,272222139	1,77466307	1,761213

pUo						3
WgoqUI6ASiHS4o p97o	TRMT12	3,363345091	0,96514492	0,286959824	1,87659993	1,76121 3
cj.7T06tdXqXhBqL ro	RNF121	3,361312149	0,51245017	0,152455393	1,40691003	1,76121 3
3tRAI93VNfi71.sfU o	LIG3	3,357239616	0,64392191	0,191800998	1,58612364	1,76121 3
uKB99OtOfSci7oJ Sk	NA	3,351019619	0,33292422	0,099350124	1,26563016	1,76121 3
E67v26gQepeo6p 9Hns	RPL13	3,34363175	0,75674504	0,226324277	1,65378191	1,76121 3
3IKISutNItFDIDJJe Q	Q0P6F1_HUM AN;RPS29	3,341534825	0,99494912	0,297752131	1,95337778	1,76121 3
66sTpWS6f_VSAq gKBE	EEF2	3,340520591	0,53096466	0,158946682	1,45062568	1,76121 3
KlaUC3KSCXXMEC rruk	TMED1	3,340311788	0,91241146	0,273151586	1,86550368	1,76121 3
Hlf.X3C07eeXuJeo KI	BNIPL	3,339066693	1,29431264	0,387627071	2,72189583	1,76121 3
BAZH7.TkomqQsK _JeE	RFC5	3,334815824	0,91796713	0,275267715	1,89593521	1,76121 3
rUroYBTfXnot8T4 uRQ	POLR3C	3,320546061	0,74897393	0,225557457	1,64450231	1,79889 5
Eo_Anl1i6_qOv94 Vxo	AP1B1	3,319551795	0,67945768	0,204683559	1,59080029	1,79889 5
KTp3hwXknVElpPz V5I	MBNL3	3,31849085	0,42331957	0,127563881	1,35080847	1,79889 5
Q1QkESFHVfIXVU ioc	ZNF289	3,313561702	0,74407659	0,224554921	1,74613268	1,79889 5
BXin15_IF5VejfoR 8Q	TBC1D13	3,305397829	0,85254979	0,25792653	1,86327526	1,79889 5
HRHnqE6SofRLqr. yek	PARD6A	3,299804446	1,07571016	0,325992093	2,21466009	1,79889 5
f5O7leJbjjXVNbvU JE	HPCAL1	3,296102984	1,72851443	0,524411536	3,16613009	1,79889 5
uWodEa5.ogivvRB KzU	MRPS18C	3,285229725	1,42001969	0,432243652	2,23639622	1,79889 5
r_Akv_wKkKK6qW Sr6o	NA	3,279287806	0,34146412	0,104127523	1,26729052	1,79889 5
oCte.6qDqkCq6m P3.s	TUBA8;HIRA	3,278184592	0,45225249	0,137958213	1,38568191	1,79889 5
3iZfxfyOLn_lXe4M kY	FBXO34	3,277716753	1,36189185	0,415500164	2,52181298	1,79889 5
okofzqkCX00nd1C pHo	ZBTB3	3,277677301	1,40333788	0,428150106	2,60110983	1,79889 5
6JRerWovqhJIGH 4RO8	C19orf52	3,274671094	1,05600644	0,322477101	2,05126811	1,79889 5
TQRTCX0SGUisVZ FFdg	R3HCC1	3,271845335	0,86698488	0,264983455	1,82652984	1,79889 5
TZmlXz2dYQjgIBD TgU	BTF3	3,266203098	0,79624973	0,243784514	1,70913266	1,79889 5
HXyt34Sg3ldISUof q0	SRGN	3,264587308	1,13317708	0,347111894	2,18556528	1,79889 5
3Ckj.f6351KOrrgz pY	MRPL15	3,25797715	1,26394691	0,387954505	2,26911151	1,79889 5
xtPfn5H1XPhE4Ce 764	HIP2	3,254008107	0,85477894	0,262684946	1,73644304	1,79889 5
r1UdwkeXVcdVk3 _qDY	LYPD3	3,253804223	0,55142795	0,169471766	1,47217722	1,79889 5
lobHSPKUp3QHtcq PgU	PTRH2;Q96ME 4 HUMAN	3,252711254	1,13720758	0,349618361	2,07441805	1,79889 5
K36giTqEqEkkIoeK Ug	GPR35	3,252523292	0,26153781	0,080410741	1,20262652	1,79889 5
QcjqinHC4MoNFG ep78	C11orf71	3,249879363	0,61539675	0,189359874	1,57363119	1,79889 5
c38h1I1cVdJBydV 7aU	ZNF668;TAOK 2	3,247039121	0,92470131	0,284782929	2,01433314	1,79889 5
T6q6ICqC61IBAC VT6k	CHST2	3,242648833	0,55586481	0,171423067	1,46401945	1,79889 5
feo5VXqC98zuQQI kh4	LAMP2	3,238028481	0,65009725	0,200769468	1,56069869	1,79889 5
EVJetUzTLgOuXsC	IL12RB1	3,236513538	0,71629738	0,22131759	1,70460479	1,79889

Anhang

d0k						5
3hZb3QoasCrdeIA PVQ	C8orf41	3,234968221	0,77433017	0,239362528	1,72173294	1,91196 1
oJX0nl5EFXhPp56 4dA	STX5	3,216817241	0,97096993	0,301841808	2,12505397	1,91196 1
3ITTniokj31QpJ9J yg	C1orf163	3,216012198	0,58910781	0,183179594	1,50015088	1,91196 1
x5MBSgOh3R6Ech eUEU	ZNF649	3,209770996	0,5140287	0,160144977	1,45808361	1,91196 1
ZhAGpmOOV6f0q 60geg	TICAM1	3,209582787	1,01654039	0,316720413	2,20217194	1,91196 1
ip6_S75INiCKU_J Gq4	PSTK	3,207530517	0,36479569	0,113731012	1,2980446	1,91196 1
cU5QypeO3XyAF2 SSAU	SPATA5L1	3,207351202	0,80735451	0,251720019	1,78351176	1,91196 1
BegrJL53veiroiIRS 4	NA	3,198130524	0,41296452	0,129126848	1,34590162	1,91196 1
fa6RI64H79K7IR qXo	WDR4	3,184221955	0,77337838	0,24287829	1,78080522	1,91196 1
f3hJdCgokuXuoIO qV8	C14orf172	3,183594428	0,70101381	0,220195703	1,64667052	1,91196 1
N6dcdStVZqtUkkP acc	C7orf11	3,182483916	1,14560574	0,3599722	2,12510617	1,91196 1
iqSAkK_1K_x6Efd 1UU	FAM76A	3,176812425	0,71955411	0,226501918	1,6676119	1,91196 1
fSvd01eiR3lnQiev 7w	DGUOK	3,174370616	0,78674226	0,247841967	1,73186101	1,91196 1
unqNCjKi_wSJLIik 6k	TUBA8;ADORA 2A	3,173906012	1,69736368	0,534787002	4,30500503	1,91196 1
6vkCuir.Id059K57 ao	FBXO42	3,172643717	0,42053398	0,132550017	1,33652093	1,91196 1
lOp26pqOoSpGp3 SAMA	TELO2;IFT140	3,171780376	0,57479654	0,18122205	1,51533757	1,91196 1
xOU35RQLpVeCV KSTvQ	ASMTL	3,169279113	0,84448075	0,266458307	1,74687816	1,91196 1
fo3_33p6K5.6K_rn qQ	SLC2A8	3,16588757	0,68718156	0,217058107	1,63847062	1,91196 1
ooffhV5XSYs6TQ7 ggIk	TAF10	3,163778788	0,3924359	0,124040245	1,31719065	1,91196 1
u0IhHVV1PVFXTF xFQo	NA	3,158960126	0,44620651	0,141251073	1,36974415	1,91196 1
OnU0rkj_ngpuTP 16k	MANBAL	3,158165601	1,02905121	0,325838268	2,12764567	1,91196 1
Qk1Knuqt6KKoTiu IrM	RBM38;NA	3,157720073	1,08859966	0,344742295	2,39765957	1,91196 1
idWArcIIIEIIioioOI	PRPF38A;NA	3,153731358	0,51572131	0,163527344	1,46937877	1,91196 1
0oFckA4Pp9yq3g Xx5U	KLHL9	3,152588058	1,07200705	0,340040318	1,89420981	1,91196 1
0uugiqOKgIDqqXq Oj8	CLIC1;CLIC1 HUMAN;CLIC1	3,151852346	0,62773149	0,19916272	1,56781027	1,91196 1
HuX4KkkpULnneH gB4s	PANX1	3,147214057	0,4705567	0,149515313	1,38976297	1,91196 1
9XeWol17vueOP7 IKMQ	ATE1	3,144656523	0,39954082	0,127053882	1,32177934	1,91196 1
KcltdRUsU7XJe3k. vI	STAG1;DNAJC 8;NA	3,139528054	0,64863528	0,206602799	1,56826101	1,91196 1
lEdet6Oqeefi5Iqea w	SLC25A19	3,138599168	1,25535764	0,399973866	2,50662149	1,91196 1
u33u1cKXrEuUJEx _s0	ERO1L	3,138588272	0,79160919	0,252218234	1,7569761	1,91196 1
iykwoB2.kp3e1Kn n14	FAM44B	3,136028008	0,81972097	0,261388282	1,8006046	1,91196 1
T1aLrJnt164KLP7 RHo	TIMM10	3,13229187	1,30799988	0,417585567	2,31608026	2,27775 2
uGHuuqW2t73r5d 9eDo	TRAPPC2L	3,130702823	0,63013916	0,201277219	1,52182146	2,27775 2
6lOLqRVUJEJC0J3 UII	MYST1;TAOK2	3,121831479	0,8023663	0,257017814	1,76818024	2,27775 2
oiS4TT5f0dSo66B 30E	PHOSPHO2;KL HL23	3,118954582	0,72654598	0,232945356	1,71209632	2,27775 2
HqCik6SGdF_4e4X	PNMA5	3,118467586	1,20559897	0,386599808	2,29103005	2,27775

YeQ						2
ip0d0fgiqN_u_yx_h4	GRPEL2	3,115141968	0,63138861	0,202683737	1,55780622	2,277752
KUV1F12tJVJK_MDc8	ERGC3	3,114842197	0,45672577	0,146628863	1,38300922	2,277752
ZTw9M_VZly1T.R9f4Y	HNRPC_HUMAN	3,102961067	0,84180969	0,271292379	1,69391794	2,277752
rX31EbIYN57hejt_I	PCCB	3,101148315	0,79287145	0,255670278	1,7317622	2,277752
W36eilK6EF7TR4feAI	FBXO22	3,099435428	0,47695791	0,153885415	1,37974663	2,277752
rKyaVSVSIuquLe7_qI	Q6P168_HUMAN;Q96I56_HUMAN;Q9BXM8_HUMAN;Q6P168_HUMAN;Q6P168_HUMAN;Q96I56_HUMAN	3,097643546	0,2658326	0,085817686	1,20232089	2,277752
9eHSUp1eB..X7VNeq0	ZSWIM1	3,085393829	1,09732439	0,355651321	2,00147691	2,277752
BW..XyUhV74yFIx_Kk	NKIRAS1	3,084285754	0,40870423	0,132511791	1,34062911	2,277752
EoqZoXqgV.anvD9fhA	CENTG3;ZNF777	3,08352043	0,55297247	0,179331542	1,45629312	2,277752
In6ihOIhV9LP8UsXok	DCUN1D5	3,079856344	0,63097757	0,204872404	1,54288651	2,277752
NuKn3U4RTL3IQx5P6g	NP_060164.3	3,078373092	0,86714552	0,281689546	1,75581975	2,277752
i6RUSQkvl8UuACuR4o	ENOPH1	3,075179575	0,49105085	0,159682007	1,4131994	2,277752
3XhS6X_3uvXpCun_S0	THOC5	3,074600834	0,6489421	0,211065479	1,56910867	2,277752
0dUy91Zt6_IW7vX.XM	ATP5G2	3,073697009	0,92842724	0,302055551	1,98587901	2,277752
38nxvNxSJFup7x_X4s	AMY2A;AMYS_HUMAN;AMY1C;AMY1B	3,071042194	0,60300489	0,196351873	1,56999612	2,277752
ueUo6HZ50_SIIwEfhk	EIF3H	3,07031479	0,62462376	0,203439649	1,59118451	2,277752
ronR3qXF6.S8irXXvM	EXOD1;DCUN1D3	3,066279087	0,76729376	0,250236113	1,81270523	2,277752
Wvnn08vrqIKhE1Hfoo	RAB9A	3,061533397	0,99825191	0,326062721	1,83518811	2,277752
6pblaASlunIgiYjTfw	ZNHIT2	3,061330447	0,69969673	0,228559686	1,64850507	2,277752
le66OSg0cUJ94WHeH4	MPP6	3,060664828	0,58437322	0,190930158	1,52111243	2,277752
xXvUrDuO8xOMr9Pyro	NA	3,059436116	0,29107231	0,095139202	1,22337992	2,277752
KFeDIVFvCJESq8Ce4	PDK2	3,052805473	0,53277094	0,17451847	1,490844	2,277752
QuR4kOirriolOeeD3o	TGIF2	3,050949149	0,92558976	0,303377642	1,94870962	2,277752
rJ6.cvrzcvFDnkteS0	VDAC2;NA	3,044597731	0,45011098	0,147839228	1,34479104	2,643486
69ya3l16xd_qo2kBKc	SLC43A1	3,039504011	0,44730747	0,147164626	1,38154143	2,643486
0iAjq_cijrIHoJCKnE	C17orf32	3,039301582	0,54072544	0,177911086	1,44499476	2,643486
oB.usjxziFJJd51SUK	CCL4L2;NP_996890.1;NP_996890.1	3,037142768	2,10981394	0,694670648	4,8804382	2,643486
I5KqFcaSJQLXtwk0gQ	NP_001017921.1	3,024243722	0,28152688	0,093090011	1,21522103	2,643486
rSVF0c656siqMXq9wU	ZDHHC5	3,02270641	0,57407152	0,189919707	1,47936758	2,643486
iUSa3p76gjpSg6HTFM	LARS2	3,021702948	0,77595191	0,256792915	1,7740552	2,643486
WYO_leXI77gl1SDkyI	UBE2F	3,020995387	0,65918012	0,218199643	1,5592988	2,643486
rXqX_eExSVSHHW	NA	3,005755555	1,41051432	0,469271136	2,28175023	2,643486

Anhang

PSf8						6
xskI7R1Ie11FUh9ZAc	NA	3,002622667	0,67129596	0,223569872	1,65343768	2,643486
rJd5BC0rrrTv1fvc_k	MED20	2,980051165	1,11327935	0,373577262	2,15514482	2,643486
IV3AVTwoeioiQIoiU	SEPHS2;TAOK2;ZNF688	2,979743797	0,98581308	0,330838203	1,93264882	2,643486
H9F5JQaXoNkCIRR3qQ	RCC1	2,97947873	1,10143747	0,369674555	2,0105689	2,643486
cgpJMPb7OKZegg_fYQ	SKIV2L2	2,979150457	0,67962691	0,228127755	1,6096979	2,643486
B3S6dSpdXSK1UCOhEQ	TMC8	2,976923537	0,62856672	0,21114641	1,5966116	2,643486
TQu9ISUTiqEuScSjOU	DPH2	2,97431212	0,7949272	0,267264218	1,76492595	2,643486
ldd_mShIWgVAUE.Unc	LRRC56	2,969527063	0,89294069	0,300701314	1,85387348	2,976403
0kIqEolSCIR4oQiNEU	CENTG3;C7orf49	2,969421364	0,78076718	0,262935798	1,79628775	2,976403
Wo2JRYXjfoUTW4mCUo	TTC16;C9orf17;PTRH1	2,96815409	0,96717579	0,325850938	2,01539704	2,976403
II5I.66qiuuqiMNHOU	WAPAL	2,966123825	0,31554035	0,106381383	1,24597356	2,976403
ZUCXcuxFXfHTU1S0E	HCP5	2,964011869	1,71113263	0,577302893	2,67683469	2,976403
HXJ1__uJ9_5fDXuFSU	APEX2	2,958959256	0,98258671	0,332071726	1,9821868	2,976403
3q5fX60UKS5uRvKv18	NA	2,952204201	0,57066431	0,193301096	1,51321664	2,976403
NeCFSNkkuEjRKhN7p0	BYSL	2,951219519	0,74136808	0,251207366	1,75568224	2,976403
9qdNEKEfUn7khFFeU8	TMEM177	2,951169853	1,02822477	0,348412602	2,27805282	2,976403
feqIx_OmYO1v93V9UU	URM1	2,951162899	0,70672278	0,239472644	1,57120554	2,976403
ISXoam6verSff8XQ.4	DTX2	2,94902017	0,9810368	0,332665341	2,12232569	2,976403
6eoXo_rSOXtfoqhCvg	NAT14	2,947412163	0,82574851	0,280160515	1,93194435	2,976403
Wqp9IooIrrr9IqIoTw	NOLA1	2,946174468	0,60617751	0,205750719	1,5673075	2,976403
Wqe0gjFK1E11ToEjgM	PHF6	2,944777805	0,27487748	0,093344047	1,21349509	2,976403
E6TRKkiWoJjg.oh3uo	TNFRSF1B	2,943182325	1,99626266	0,678266731	3,45788816	2,976403
0BQoKpTnquedJ7xApI	TUBA8;HTF9C_HUMAN	2,939875847	0,36463454	0,124030592	1,29651822	2,976403
iuuUy.tNXq3KAy0MBI	C1orf19	2,93891096	0,61786794	0,210237041	1,55367584	2,976403
9oNSuxelXyj6CnPiKE	NA	2,938877396	0,52222816	0,177696476	1,46930472	2,976403
Worur11BEP595W_314	GRWD1	2,9325762	1,14883933	0,391750889	2,23966198	2,976403
HWKRCISISoyFf1dSLRK	MRPL36	2,930583021	0,9066554	0,309377142	1,9683146	2,976403
31ekFSRaoJbSee4QwA	PIGQ	2,930187969	0,69576931	0,237448695	1,68640217	2,976403
xJ6CCltTtX36mhLsf0	C5orf15	2,927627753	0,90367763	0,308672312	1,96365457	2,976403
EWVW0UnOT0db9S4kjs	PACSIN2	2,927560111	1,08221101	0,369663122	2,23002421	2,976403
E0iLn2I6SO96cRK BXo	SLC25A30	2,9206497	0,40157956	0,137496654	1,33675404	2,976403
lNm_u3iKi_ij6_u6Kg	ZNF696	2,917988531	0,9652349	0,330787764	2,14051535	2,976403
BiCTldXtT_3zBOFSVw	CD200	2,916724637	1,02121836	0,35012505	2,12323493	2,976403
rkknUtdEUIcEpCJCA	KRTCAP2;NA	2,914446182	1,07051902	0,367314734	2,35491189	2,976403
BLR15Vd1eH650TKXRw	LRRC51;C11orf59	2,912885334	0,96316433	0,330656453	1,97566703	2,976403
QWFV71YH94UIq4	PELO;ITGA1	2,910966478	0,80230662	0,275615205	1,77927574	2,976403

9S94						3
iSO4JeiF14456VxL FU	ARMET	2,909525074	0,89374442	0,307178801	1,97659082	2,97640 3
onOCeoe5eIKA33I Duo	SETDB2	2,909103952	0,98688042	0,339238622	1,92690001	2,97640 3
WKT.IXRVDvURTY QUKo	PRAF2	2,907542396	0,34320345	0,118039019	1,27468106	2,97640 3
H5OvxXeLzv33LIT 54	NA	2,906499904	0,53566632	0,184299446	1,46221281	2,97640 3
QnXJTIn1.UgV9R5 UO4	PIK3IP1	2,904006604	1,08122228	0,372320877	2,23627446	2,97640 3
u3QvIU0I6Kgqeol OBM	CENTG3;C7orf 55	2,903458447	1,28276376	0,441805449	2,45693002	2,97640 3
0KUI5Si4ICf6kD0t eU	POLA1;MYO5A ;EEF1B2;NA;N A;NA	2,902650694	0,38262616	0,131819569	1,30300486	2,97640 3
3YeKRuijipFSve9E HQ	NA	2,901225715	0,5672196	0,195510332	1,46767767	2,97640 3
fiH3cV_WzckJ4rD EjU	GTF2F2	2,899232116	1,12499776	0,388033009	1,93980631	2,97640 3
N4Xld1KqheR.eUU CKM	GTF3C5	2,897743395	0,30836573	0,106415815	1,24434446	2,97640 3
ceF_X1KXFDJIND U3tU	KIAA0391	2,892825683	1,11935777	0,386942697	2,28870161	2,97640 3
IJSI6qSXdVdVuU AN8	LMNA	2,892518358	1,08849914	0,376315377	2,02473835	2,97640 3
Qe4Ue1u_X34Em PVVBU	STX1A	2,890280438	0,43080423	0,149052743	1,37576887	2,97640 3
KXTh.IKqCqiAPOO FIc	CPM	2,890229237	0,25631777	0,088684236	1,19689505	2,97640 3
HZVSXnhVsf3EhFI .uA	ALKBH7	2,888971498	0,9389477	0,325011063	2,08442068	2,97640 3
NotSc_ee_tU8JBx SP8	PMPCB	2,885843444	1,06056379	0,367505657	1,90915399	2,97640 3
QjuMi7uqd7tfV6ie k8	TEF	2,884090275	0,74111028	0,256965006	1,73068321	2,97640 3
9iFKOnI5SKK4Snk AS8	ACBD6	2,882754308	0,42744355	0,148276096	1,33741719	2,97640 3
0hWiyqp2oU4o4U kA9A	RNF126	2,881697993	0,60069191	0,208450683	1,51380008	2,97640 3
9g6u0_hkOt5.8C4 d6k	SHB;EXOSC3; C21orf63;NA	2,881560386	0,67108465	0,232889325	1,55436102	2,97640 3
xrR2o3u9g11UVf3 _6I	DOLPP1	2,88055567	0,4764617	0,165406177	1,40792526	2,97640 3
crnCV3dRDICGfEI xE	SLA2	2,87682333	1,21573282	0,422595579	2,55346723	2,97640 3
3X6IodK.qEkQng p6I	SYNGAP1;ZBT B9	2,87499646	1,22735765	0,426907536	2,26614826	2,97640 3
WebhLrV3VaH5H7 1_U	PUF60	2,874879914	0,79033694	0,274911287	1,83345197	2,97640 3
0ImiszqEr500HVbc LU	C12orf45	2,874099572	0,63517075	0,220998171	1,61341395	2,97640 3
TWFUUJCIhfiLTjor Ug	MED7	2,873304624	0,77936967	0,271245054	1,6542304	2,97640 3
uUi6XlzRBRNX1VR CkM	2DMA HUMAN ;HLA- DMA;HLA-DMA	2,870944699	0,70265338	0,244746399	1,56209547	2,97640 3
0Tvnqfodd6OFbv QL4Q	FBLN2	2,86979855	0,18629336	0,064915134	1,13923595	2,97640 3
6dd55KnVUVURpd wI78	TMEM180	2,868256646	0,27130212	0,094587812	1,21145044	2,97640 3
fhSiiVejfNKdJcjiYM	LSM3;INPP4B	2,867729474	0,73848478	0,257515497	1,67250991	2,97640 3
Nkk5EX500UiD0T 6otE	ZNF570	2,866827123	0,48877858	0,170494613	1,41396203	2,97640 3
ZSJVJV07flfXU7v7 A	SBK1	2,866661561	1,02364406	0,357085772	2,17105088	2,97640 3
xSURAAQJUtTFRf WiIQ	NP_00109194 8.1;HLA- F;NP_0010919 48.1;Q69YQ6 HUMAN;Q69Y	2,858882913	0,64958811	0,22721746	1,57798569	2,97640 3

Anhang

	Q6_HUMAN:N A					
c6iPi.2oLJo6hrqJO o	RASIP1	2,858320089	0,27581167	0,096494325	1,210185	2,97640 3
6JQqB7gqjqSip_5 Kv8	PRPF19	2,856586343	0,82404543	0,288472088	1,77959996	2,97640 3
u4hp5oR6dfUbdF KSEs	NP_116019.1	2,85081112	0,5646323	0,198060229	1,51574269	3,48612 3
udRjF26Vsd_7d0J wB4	DNAJC4	2,850146743	0,59658978	0,20931897	1,57115125	3,48612 3
xjEthB9N7VbIX1St eU	C19orf53	2,848156332	0,64843375	0,227667892	1,57012051	3,48612 3
QkaChZgZfVlS9VL 3pI	CSTF3	2,847595524	0,95840187	0,336565311	1,9780101	3,48612 3
E5JUac65fXh3S2X YWM	PSMB2	2,846568409	1,03504054	0,363609931	1,89071513	3,48612 3
91NNWxe.EtJuhT apH4	SSR4	2,84609222	1,16595385	0,40966833	2,81599996	3,48612 3
9fejQDXoIFH5XOtk Oo	NA	2,845565094	0,43985833	0,154576793	1,38183336	3,48612 3
rn8b5dO4ufTJKu4 Z6U	NA	2,841683211	1,02695177	0,361388548	2,2251707	3,48612 3
QV0DMHXVEFFcO 5dLeo	NA	2,840558224	0,95320039	0,335567981	1,79586329	3,48612 3
o5EKyC8uFeIU3xR XoU	SENPI	2,838477926	0,20669784	0,072819956	1,15467813	3,48612 3
xo8T9fdzq1DRHH 695I	CSTF3	2,837822594	0,49199143	0,173369341	1,42817317	3,48612 3
uI16f1KupCpCiSn 6JQ	GPR172A	2,837370795	1,14624189	0,403980296	2,14590222	3,48612 3
6oB8uoiwSDI6I4d 4k	BET1	2,837065614	0,67204182	0,236879194	1,63278505	3,48612 3
uRT.npF.eCy77Vr NJc	WDR33	2,836936408	1,48781311	0,524443587	2,73218221	3,48612 3
TIP3vsv6pLkqhe7q u4	VCP	2,833736662	0,73038555	0,257746446	1,60408701	3,48612 3
ZN6rJtT5e9dObmJ bo4	SIVA1	2,833339265	0,96806695	0,341669975	1,77937959	3,48612 3
3tP.i61CXnv_BUS S6I	NA	2,832796389	0,83348732	0,294227755	1,79987734	3,48612 3
3l8p9jr31BVfDOny ro	C11orf57	2,831806063	0,5218445	0,184279745	1,42333945	3,48612 3
661JV0Zdd0tx0Pu HtU	CLTB	2,831654034	0,39822427	0,140633096	1,31525738	3,48612 3
c.X.ui5dNEoa4d6q Uk	TUBA8;GNB1L	2,831458363	0,81510853	0,287875865	1,784361	3,48612 3
ZiVyWIBeel3l7.T9 Uc	RPA2	2,830069308	1,07887548	0,381218749	1,89964354	3,48612 3
od1UtXAK77i63RJ Uco	ZNF671	2,823632656	0,57692727	0,204320937	1,46025815	3,48612 3
Tld5ZCAS7iceUZ4 AcU	MRPS7	2,822407374	0,54324374	0,192475311	1,45982815	3,48612 3
EnAp0uoBAoJH6n ueqk	NA	2,822127859	0,36931563	0,130864243	1,29610467	3,48612 3
cleeoH3j_J31AFK Ojk	NSUN4	2,821687178	0,65210017	0,231102929	1,58766499	3,48612 3
9pfxaT47p079KSH 6rU	ZNHIT3	2,821466478	0,5744108	0,203585904	1,48054395	3,48612 3
6dIvrulxenMTfTV1 UU	C20orf116	2,819012013	0,74933814	0,265815873	1,63942918	3,48612 3
i0tCqdR4fXKV7D8 FLc	TSPAN31	2,816993259	1,23379252	0,437982064	2,15152768	3,48612 3
BJ5lJ4gpjp4KFKJ4l c	NDUFB6	2,80854923	1,13018605	0,402409201	2,14666563	3,48612 3
QpV0l_RVJHiCcT9 fXs	DEGS2	2,80771473	1,47944907	0,526922859	4,20482484	3,48612 3
T3QacRV9GQikpN otSQ	UCK2	2,807643071	0,8446618	0,300843725	1,87297084	3,48612 3
cwlXToW1wOUKH oNWjU	HYLS1;PUS3	2,804677108	0,88273305	0,314736068	1,90533809	3,48612 3
EfUIXTTMenh.UXr WuE	YIF1A	2,803775094	0,9840358	0,350968166	2,18808504	3,48612 3

fUeIrhK9Ir7_1G.kSY	NA	2,803727632	0,78560977	0,280201885	1,77232829	3,486123
6e5f00T1yVHdNP Hkgo	C1orf181	2,802700246	0,53724226	0,191687376	1,44787419	3,486123
0exLTuUbBJt6tLh oR8	LRRC47	2,802595321	0,54007446	0,192705118	1,42248335	3,486123
3Kzqs7k7opSrCuD qik	SMARCD2	2,801560325	0,93535714	0,333870071	1,75320243	3,486123
r5IW1TIZ34s31UV zwM	ZNHIT4	2,799336102	0,6564294	0,234494671	1,61824436	3,486123
QEZVcR5WUU.5E eXvRM	EVI5L	2,797067477	0,65929652	0,235709907	1,63386031	3,486123
Qo99m_v_Wb3ex 3qbns	C5orf39	2,797036247	0,94289969	0,33710671	2,02543551	3,486123
cp.Ogfsv4EKS6Q1l V0	SYNGR2	2,796228304	0,40670276	0,145446907	1,35327726	3,486123
QJ9JXkT_By0d1S H5uo	SDF2	2,785582815	1,05988167	0,380488301	2,21423974	3,486123
ltLUV5Vtr.VN12s wNM	TOMM40;C2orf27	2,78312014	0,76237474	0,273928075	1,65506948	3,486123
WVP6Xo8MVdghCi h_pQ	PRDX4	2,781872086	1,11252746	0,399920424	2,06010379	3,486123
x7h7ep7qTeFN1Lt Vt8	C1orf69	2,781718023	0,73639112	0,264725292	1,72437618	3,486123
WukXoPx7PT7ake 1Huk	TSPAN13	2,778288858	1,56375514	0,562848291	2,55026488	3,486123
iv7oPQVQfbpmzjF wLo	PRDX5;TR112_HUMAN	2,773774612	1,18952568	0,428847274	2,28600049	3,486123
TSR.KJUK6MjR_K 04v4	ZNF701	2,772474802	0,44086871	0,159016309	1,3741709	3,486123
EpPscMWOe4JSu6 6zuU	PGPEP1;SEMA3A;CENTG3;BI RC3;MKLN1;A TP1A3;CCDC5; OPA3;NUP155; FMNL2;GRAM DIC	2,771980616	1,43828975	0,518867174	2,57620044	3,486123
QgmuoDo2KSq2X_4Ugs	PPAN-P2RY11	2,770745343	0,86646829	0,312720293	1,92643578	3,486123
Q5X2lEp0GoTkEw A6go	XYLT1	2,770412832	0,37184385	0,134219652	1,31482084	3,486123
BoU0oeeWVd6iISf .P4	MRTO4	2,769141452	0,89277331	0,32240076	1,83491355	3,486123
H5lhjISDUgf7c0d1 UE	IFI6	2,766453809	1,07257945	0,387709147	2,01531462	3,486123
ZQnpTqrVAS09Sn yOOE	Q8WU25_HUMAN	2,763796092	0,72102242	0,260881193	1,65978668	3,486123
Tq4Kus36S_CeqQ gd6k	CTSF	2,759310452	0,83500184	0,302612501	1,7637764	3,486123
6pS72m_dqPQjFF L0ic	ATG7	2,759055468	0,83262147	0,301777721	1,92310186	3,486123
6KiGdQod3u6eq1 4cyE	SLC30A6;GEMIN6	2,758634201	1,06698817	0,386781319	2,1195094	3,486123
HXrUVKPLhSv9KA o.n0	NR3C1	2,758537897	0,5513293	0,199862871	1,51957532	3,486123
rJ4oJcid0gktf4nrs o	RPL34	2,758339614	0,82602142	0,299463277	1,80556461	3,486123
ZIEQIXHj96v3lGI Eo	ATLA3_HUMAN	2,75424046	0,61542276	0,223445544	1,5092078	3,486123
3rqkEuk0rmqXSo DE38	TTC7A	2,753708537	0,37135418	0,134856021	1,30867432	3,486123
HdTHqup6KKUSlJz 7AI	SGSH	2,752220965	0,48551534	0,176408562	1,39641317	3,486123
rrpL7eNRCpCN94s d6o	INSIG2	2,751534118	1,12596289	0,409212766	2,57120308	3,486123
HXeXV.lSl.dIez1N eo	SPRYD4	2,74578244	0,55252594	0,201227137	1,51473116	3,486123
riHTFT_iUIUfnl8Sp 4	IPO4	2,744171366	0,83574101	0,304551319	2,00365426	3,486123
i7o1RUDUHTXr_e Rhr0	HIST1H2AC;HIST1H2BD;H4_HUMAN	2,742492192	2,01846255	0,735995732	5,39166288	3,486123

Anhang

f6AClxRu_S69eGe eVk	ITGAX;TAOK2; NA	2,739624049	0,44255262	0,161537719	1,3843922	3,48612 3
cvb9NKd710Ol.5x uXU	01.09.2009	2,739104746	0,50725872	0,185191427	1,46298593	3,48612 3
QIF3hK7I5VTd94_ e8E	C5orf32	2,737553837	1,23372992	0,450668732	2,60097932	3,48612 3
xcl.lI.6ogHglu._lVY o	ACVR1B	2,729409366	0,68216566	0,249931604	1,66241918	3,91686 4
3QVFXUxeitUUpz wKoM	UBE2M	2,729250664	0,60370727	0,221198908	1,53427878	3,91686 4
KqSQle.yocTCOKo jCo	C12orf32	2,729158288	0,2590859	0,09493253	1,20105324	3,91686 4
QaabrSXTVXTXIfD gIM	C9orf9	2,727353416	0,2922702	0,10716257	1,23481669	3,91686 4
WiCyjKusW7qd8V .O4	C2orf29	2,72507555	0,48503163	0,177988324	1,41642157	3,91686 4
EFVdtILE4qmSI4k RJ8	SH3GL1	2,724727172	0,5914881	0,217081586	1,59122568	3,91686 4
6Wpq1EvFJGe3SA GAGg	BRI3BP	2,721169078	0,41544553	0,152671707	1,35882579	3,91686 4
HtXEooEul_ffIa30 e4	TUBA8;CRKL	2,720882397	0,84450728	0,310379928	1,76091101	3,91686 4
E7Kr3rjrrF3zxfOw BE	RWDD4A	2,720538885	0,61905245	0,227547729	1,50927418	3,91686 4
cNN7k4aoq6BK1a KLbg	PSMG3	2,720326368	0,5462796	0,200813994	1,51144881	3,91686 4
u3qZDHdaVgkKob _Yoo	NA	2,719477439	0,29464278	0,108345365	1,22825111	3,91686 4
cvYiWLe6kd3I9OR e18	CD81	2,717928197	0,8429822	0,31015617	1,78944835	3,91686 4
9kpQkqQVRFFhMA k34I	C19orf48	2,716122322	1,09249271	0,402225149	1,98845189	3,91686 4
iqj963.81DkZ61W Wec	NA	2,713233776	0,28562836	0,105272299	1,22101607	3,91686 4
oJfvfK.oEt63Xu.Tv 0	NUP62CL	2,712460905	0,50428261	0,18591332	1,44706311	3,91686 4
9_KEGoFe6oRg8I RU1U	MRPL14	2,7055689	0,87484708	0,323350509	1,96991056	3,91686 4
6.U5SL_7qamTuR RIuQ	SEC11A;Q59F M3 HUMAN	2,704871079	0,85062166	0,314477709	1,76872687	3,91686 4
BPSA_tQw5G5.ler EII	C7orf42	2,702762321	0,47156524	0,174475292	1,36368629	3,91686 4
uqefdeSfoX_H3hX dNc	HCST	2,702723252	1,15614762	0,427771368	2,11061097	3,91686 4
izF53O6ueTnKAsq eqk	C1orf74	2,701672427	0,61738753	0,228520499	1,62729588	3,91686 4
ivqukS6VAiSfSIw9 fo	STX12	2,700491488	0,68788526	0,254725952	1,68586582	3,91686 4
3t16eBIuUy3uFezj XI	CENTG3;TTC2 6	2,700462898	0,44710453	0,165565884	1,39851672	3,91686 4
ung57oWo5LtkTq LT7U	PSMB3	2,700300916	0,84940264	0,314558512	1,80440388	3,91686 4
0HXgZUle1XFVLA NA7k	KLK1	2,699360275	0,73665179	0,272898657	1,70463903	3,91686 4
xVkl.VQiRUESQgJ UeA	ALG3	2,698471799	0,84439339	0,312915404	1,86828913	3,91686 4
B0XigIp1JOq6tIjuf k	CENTG3;NRF1	2,698223246	0,33604511	0,124543108	1,27279877	3,91686 4
iuqHSp6FhtcuheO 4D0	RAB35	2,698012622	0,88026999	0,326266076	1,78729959	3,91686 4
rgU1XkiTUqk.dIU MI0	GPHN	2,697817236	0,56787735	0,210495116	1,50699696	3,91686 4
K7JXJVeV0PsC4kF PnI	VKORC1L1	2,6914042	0,76903343	0,285736878	1,78198409	3,91686 4
Nt9PX86l_enqn8E gdo	TMEM60	2,685909075	1,24184388	0,462355145	2,09699642	3,91686 4
xTpVKyqh73JSe6E TKA	PSMD8	2,68282084	0,59256845	0,220875146	1,47761601	3,91686 4
6LvpAYh.delXI56I Ok	BLCAP	2,681818611	1,29972963	0,484644867	2,57786897	3,91686 4
ofX9ESFFWihG6O Oq0g	PTDSS2	2,681346363	0,61112847	0,227918509	1,60221925	3,91686 4

E2r15nhF63uRe75 0S8	K1542_HUMA N	2,681025981	0,95059768	0,35456489	1,99025797	3,91686 4
BpV3ucXUKDS0Xe 954s	MYOHD1	2,679423025	0,68658533	0,256243724	1,7108087	3,91686 4
0qj69SFVwkcDU SOe4	ZNF442	2,678051069	0,56029059	0,209215799	1,46578851	3,91686 4
ZJ6t0KKsukjgBRb QRU	HEXIM2	2,677354346	0,50327322	0,18797408	1,46966871	3,91686 4
xYlxeFCxCNf1C0IS io	NA	2,677282468	0,2426098	0,090617932	1,18173343	3,91686 4
xqkk_Oh.Wr4Vnvq LX8	NA	2,677174631	0,91815444	0,342956501	1,85254941	3,91686 4
oeWU9eSTRTCS5 Ku3U0	AP3M2	2,675331225	0,62976032	0,235395273	1,53113851	3,91686 4
Kbzrp9J9HKDqESr eqk	DOHH	2,675213397	0,64254007	0,240182736	1,62467298	3,91686 4
N8ETRXVDe9L3Uu 0CmE	SPATA7	2,673734027	0,59045002	0,220833492	1,54890808	3,91686 4
EdGEIS4qU4brRM OE7o	WDR33	2,673268436	0,89610604	0,335209897	1,89063777	3,91686 4
3YeUqXyHUTtT.70 rMk	RNF34	2,672525133	0,67073775	0,250975283	1,6051702	3,91686 4
E3a0ux5XXVF7d4 UE_s	PALB2	2,671592666	0,65902712	0,246679492	1,61997712	3,91686 4
6S766WSjuCutIgf io	NA	2,670740009	0,26204913	0,098118547	1,19847648	3,91686 4
uCXirqqI407udqvp 6A	GANAB	2,669851365	0,98461799	0,368791313	1,79823598	3,91686 4
ERI.c5F.Hf10Fft3N 4	LACTB2	2,669703073	0,86904413	0,325520894	1,86931288	3,91686 4
ck_eV6pe09_n10i TsE	ZMAT2	2,668556438	0,67117519	0,25151246	1,52118771	3,91686 4
3qL.LbKXzjDxVmu u7I	MED28	2,668017349	0,84908638	0,318246199	1,67588977	3,91686 4
36FHzuY1uhR_bm N7aU	WDR4	2,665719088	1,0039655	0,376620893	1,91990279	3,91686 4
xpnTdFnegOdFI9I 1RM	MRPL53	2,660403742	0,92915388	0,349252958	1,95263942	3,91686 4
0eeaiheBCCSFsch i4	TAOK2	2,65859304	0,42817335	0,16105261	1,35176599	3,91686 4
fA35dKH55SqBkh 0ibU	STK32C	2,655349315	0,8690552	0,327284698	1,94537348	3,91686 4
Toil10R61aXR3.V4 V0	STAG3;CENTG 3;NP_849153. 3;PVRIG	2,653232434	1,28930275	0,485936602	2,35590634	3,91686 4
NVyJCU4IUiSySiH4 gs	NFX1	2,653170526	0,62497957	0,235559517	1,62607899	3,91686 4
9hUoCu4noJHgXF 0114	QARS;CCDC36	2,6517844	0,73589988	0,277511202	1,7540837	3,91686 4
iRwF4H.Qdb666ik mpI	EI24	2,651120201	0,5095231	0,192191627	1,43744829	3,91686 4
T6PUVeX1yuF_hA 92BU	FAM119B	2,649706539	0,54940112	0,207344138	1,4649653	3,91686 4
TF1RNdZl9tB3SN QqRA	SNX8	2,648297641	1,30147705	0,491439114	2,95442578	3,91686 4
TEIVEITeXfRdXg1u 1M	NA	2,64664758	0,72703659	0,274700944	1,67968745	3,91686 4
chHxujpLOK_1IHg Wro	RERG	2,646510384	0,26003168	0,098254549	1,19793198	3,91686 4
K3iR8WpuFv3yu4i qe4	UBN1	2,645613251	0,56458843	0,213405504	1,49752843	3,91686 4
N05FoR4pqCbIV QI1c	CENTG3;C7orf 47	2,644645819	0,67352073	0,254673321	1,58160959	3,91686 4
EHGUK_J69dUVee I1cg	CYB5R3;ATP5L ;NA;NA	2,643991026	0,56842911	0,214989047	1,49802186	3,91686 4
rJQp6Hq_nku678u jFE	TNFRSF14	2,643862468	0,64146851	0,242625523	1,63772296	3,91686 4
uF5dzVIeV21Sd3t Qe8	SND1;CENTG3	2,64364122	1,10363215	0,417466692	2,38426653	3,91686 4
9g8cQB1TZtuiu.ul U	GATCL_HUMA N	2,642755777	0,42141519	0,159460514	1,33810986	3,91686 4
0jhCrSdKo7qoqa.z	CSDE1	2,642459502	0,33802482	0,127920528	1,26304698	3,91686

Anhang

fU						4
TXiwenn0o0n5It_f8o	ANKRD46	2,641735843	0,79423058	0,300647236	1,74568452	3,916864
EdV_eEEe7E_FH1xTE	SLC7A1	2,640966652	1,12908658	0,42752777	2,40670536	3,916864
cIpwqi6s4gPKIS2I VI	RTP4	2,635512346	0,53952205	0,204712395	1,49123805	4,356698
T4kaIl0766v1IuO4CU	NP_057583.2	2,631739363	1,36471473	0,518559986	2,59316703	4,356698
EJRH6KAvkrq_pKiSk4	RAB11FIP5	2,63078276	0,5401558	0,205321324	1,49217116	4,356698
ikegpAGiW181z8O72k	TCEAL1	2,628620953	0,53784766	0,204612102	1,48307275	4,356698
Wea2pon3v3VJQ07h0I	ST3GAL2	2,626466885	0,77553654	0,295277485	1,88542198	4,356698
3Xm0SoJBcSIJJ1UIg	NA	2,621406328	0,54155292	0,2065887	1,51469399	4,356698
cRXyV9IwlyUsTP0kSk	FCRLB	2,620341275	1,468797	0,560536529	3,56603941	4,356698
WkhB0qIB0ouSxSoRdI	MTP18_HUMAN	2,620293892	1,04767046	0,39982937	2,10810219	4,356698
TctET1UxT9u89E9VsU	DIMIT1L	2,619313496	0,86135322	0,328846936	1,7351592	4,356698
KfXnl11OVCgRU65LXQ	MOB2_HUMAN	2,618950432	0,62238471	0,237646615	1,61887701	4,356698
iHr_6hKpJ_dKIqDBko	SYT11	2,618820093	1,2420092	0,474262896	2,35363213	4,356698
xR_LqSUJUp2SzQwJLO	TMEM115	2,618801902	1,00750362	0,384719294	2,10704905	4,356698
K6Et_Oq_IF96olI4V0	MRPL17	2,618232134	0,77274583	0,295140306	1,65382099	4,356698
0qqATDhKV1F315J78	NP_955369.1	2,616574383	1,24294003	0,47502568	2,20887991	4,356698
oJQOvwfeXugeqPq6ko	BLMH	2,614581536	0,92744009	0,354718366	1,94194762	4,356698
Zli6yAdd.ftLXSn_vE	LMBR1	2,611643471	0,7799661	0,298649532	1,62383276	4,356698
64yISCV08vKoKiSgio	RPP14	2,611296534	0,29043485	0,11122247	1,22854304	4,356698
lV0v1UeoT7ueQJT6_o	TBC1D2	2,610945906	0,41661116	0,159563306	1,36165787	4,356698
fXKXTDPCh19LqX0H3o	TIGD7	2,610458122	0,68086788	0,26082314	1,63675714	4,356698
il3o6P66XhOMV5Se4o	PAK1	2,609186897	1,2574925	0,481948037	2,49403874	4,356698
WvsFXp6izyiOosiPR8	MTFR1	2,60717236	0,49535167	0,189995752	1,46374861	4,356698
6S13FNeR7iSRzF7m_0	CENTG3;WASL	2,605868486	0,50725931	0,194660364	1,42085478	4,356698
l8AV9V7UNR2WVUX4Mk	ZBTB39	2,60516619	0,39875953	0,153064909	1,32075817	4,356698
QSruB.dU6.Ld4ZpHqU	KLHDC4	2,601282829	0,54510655	0,209552971	1,44675692	4,356698
Tv166Elqw5.yedk5_0	RGL1	2,599216807	0,26973635	0,10377601	1,21502257	4,356698
NDoL0KLiYXp3Z6KpM	ANAPC11	2,599084498	0,93473864	0,359641496	1,97131062	4,356698
uFCIATjDgnnoJXRQkc	NA	2,598663449	0,34767649	0,133790504	1,29391959	4,356698
HU3uvomXf6jOfQrfuU	SYS1	2,593626972	0,67323609	0,259573216	1,60519651	4,356698
rSJR3H6XheStX5VlJQ	TUBA8	2,59195775	1,16389344	0,449040281	2,86058066	4,356698
9cOh3Hr_Ln3iejhYWU	VPS37C	2,589298582	0,7345832	0,283699688	1,73607853	4,356698

8.1.5.2 Gene, die eine höhere Expression in Patienten mit 13q-Deletion im Vergleich zu Patienten mit 17p-Deletion aufweisen

Gene ID	Gene Name	Score(d)	Numerator (r)	Denominator(s+s0)	Fold Change	q-value(
---------	-----------	----------	---------------	-------------------	-------------	----------

						%)
ll665XtfkAkjoE5wUk	GPS2	-6,943464996	-1,3631276	0,196318063	0,39824643	0
3E_dFxlhtupmjuehis	TBCD	-6,393446462	-1,49826676	0,234344147	0,35309534	0
xO1_IgFcZ_JUnl6OX0	Q6ZW14_HUMAN;GSTM2:NA	-6,221316528	-1,84397023	0,296395501	0,26960861	0
W4IPVNT6IX3BVI04XU	DVL2	-5,944204835	-1,0647946	0,179131546	0,48942208	0
HmJX6jlt45XtQ7ih5c	DULLARD;GRAMD1C;FCHO2	-5,848698377	-1,72933197	0,295678092	0,3332065	0
cszNSROa1CgTiaWZac	FLII	-5,831837235	-1,41340531	0,242360213	0,3760343	0
xMzvqBODn3Vu7ZzBm0	RAI1	-4,658347182	-1,07204063	0,23013326	0,47078215	0
u9V81Uee6K.exdn6OU	DUSP22	-4,656796132	-2,21695297	0,47606829	0,17745895	0
3euOe.dvLpLLl1t1y4	ITPR1	-4,625235982	-1,72183853	0,372270417	0,2933445	0
xeB5EC4qgSrkoio3cs	NCOR1;TTC19	-4,605631661	-1,13922558	0,247354906	0,4616803	0
TIGX_MSntT5Sgin7ls	NA	-4,5957197	-0,54664843	0,118947295	0,68049021	0
EnuLt3KuMbg4gK161k	RPL38	-4,578067712	-0,29634092	0,064730567	0,81373368	0
E7rr9f_3X88TqHeE7k	GUSL4_HUMAN;WDR70;GUSL1_HUMAN;NA;GUSBL1;GUSBL1;NA;NA;NA	-4,556085853	-2,18496112	0,479569787	0,22997238	0
xep3rd9XpShF3Xxj0	MYO1C	-4,49475498	-1,15420246	0,256788737	0,42549418	0
9cqTXMTXFEGpQqEiRQ	NA	-4,286332726	-0,97692329	0,22791588	0,48647808	1,32908
QFLekopLaiuCTPI6ek	SNTB2	-4,282644107	-0,67173031	0,156849434	0,62408546	1,32908
WoS7f_FBRsn4KcQiGI	KIAA1641	-4,20418416	-2,05576531	0,488980795	0,22722421	1,32908
oEu0XR0IHV3RSEXf10	NP_443196.1	-4,18476351	-1,65539478	0,395576662	0,36781201	1,32908
QEKvDrJSV50hXQ4Rno	ANKRD17	-4,178703368	-0,61345481	0,146805062	0,64929536	1,32908
35km04EC01I61WL2eU	NP_00107399.2	-4,170397512	-1,13595692	0,272385765	0,42923692	1,32908
NHnpJp.ez3IEUqkv4	USP32	-4,166284946	-1,03579341	0,248613194	0,4609076	1,32908
0UnvgKOd3nbl0Bn6Pc	ASB3	-4,144705712	-0,9433743	0,227609477	0,51127387	1,32908
E_AXjdX20E9VDFAelY	NA	-4,106954772	-1,41608099	0,344800728	0,34744807	1,32908
cwXl7tTpgV3E1wXlpg	SMARCC2	-4,086023023	-2,01768366	0,493801343	0,30086464	1,32908
QFRTz3S5cUmAuT0tTU	NUP88	-3,928497306	-1,2673563	0,322605873	0,41287987	1,32908
QYiV5f0vIAJ5NKOaQ	SH3GLB2	-3,924651356	-1,24094085	0,316191361	0,4622627	1,32908
QgfoiTSgpUngNIg3nY	ITGAE	-3,879028668	-1,13904892	0,293642821	0,4530561	1,32908
QdEISOA5ehSS7ifaUQ	Q5TFB2_HUMAN	-3,861983219	-0,94776997	0,245410173	0,51362963	1,761213
0IKXO_iovAxe5NUkmg	DUSP22	-3,851348339	-2,49074702	0,646720785	0,16004269	1,761213
02tiuhr_lsCu6c8E64	PCDH11Y;SNO RA67;NA;NA;NA;NA	-3,839946457	-1,12388219	0,292681734	0,48629802	1,761213
uuypLn1_keqM.T4kAc	ANAPC1	-3,828010188	-1,53802459	0,401781739	0,30722909	1,761213
o1dlBpYn7j3ifkOWUI	CRTC1	-3,823727744	-0,66408598	0,173675017	0,64483234	1,761213
EI4rhISpK6wQBb4F1Q	SFRS15	-3,819563211	-0,99738047	0,261124222	0,48360746	1,761213
ZpNF4M3xdV0Ivd	BMP2K	-3,818334236	-1,60342034	0,419926659	0,31445366	1,76121

Anhang

FJFI						3
6TdHCrwKbkFVR6e7Vc	AKAP13	-3,809904543	-1,28286807	0,336719215	0,41491922	1,761213
Q154I9Rd4XdHvTIoXs	C17orf49	-3,801240346	-1,12107305	0,294922958	0,46226292	1,761213
upe1S87I9XQIAIglX8	ACADVL	-3,797375523	-1,69430907	0,446178963	0,28780357	1,761213
fclute5LQndJy78qe0	DHX33	-3,795427283	-0,78086911	0,205739448	0,57666255	1,761213
Wd0qiIHX_Um6P3QtqE	ALKBH5	-3,782139643	-0,86421234	0,228498263	0,5501345	1,761213
HDGQnv3CmeUeqKunvk	MYBBP1A	-3,76487985	-0,5096992	0,135382594	0,70247828	1,761213
Z13BSBSFXJdsiFAPZU	SORBS3	-3,743711292	-0,97000756	0,259103196	0,50002164	1,761213
97viJ90hzUX_rZ.nvY	EEF1A1;NA;NA;NA	-3,742118856	-0,33319411	0,08903889	0,79425676	1,761213
xfn0viFvx_ILVJKCM0	NFATC3	-3,739377613	-0,88519342	0,236722127	0,53341456	1,761213
TN6X5VSSxLX1wwao50	PRKY	-3,734362036	-1,24805916	0,334209472	0,3897401	1,761213
c57HuJV10d3FBXAV4o	MLL	-3,729585251	-1,47699323	0,396020771	0,40268095	1,761213
i.wATazaiea6daWvtc	06_Mrz	-3,72903101	-1,34695376	0,361207443	0,38888923	1,761213
3mr.p_7kqHeuggKuEk	ARF1	-3,719221577	-1,52454082	0,409908577	0,33976315	1,761213
64mE1ueNEMe15SppQg	BMP2K;PAQR3;BMP2KL	-3,712370863	-1,04000051	0,280144562	0,45967349	1,761213
iVRaFvXlcfgV5lf6XA	ZNF414	-3,705727044	-0,64972936	0,175331143	0,64800099	1,761213
iV9RXSdR3SSOMM0Ixc	TAOK2;NR_002603.1;NA;O92617-5;K0220_HUMAN;ZNF688	-3,69500097	-2,43224109	0,658251813	0,21453304	1,761213
HigeI0SoKI_iuMUKSE	Q4ZG65_HUMAN	-3,692426778	-0,90336064	0,244652283	0,51145247	1,761213
9AbSdHVFUV0nUV0kkg	O15103_HUMAN;O6ZMK5_HUMAN;TAOK2;NR_002603.1;O60358_HUMAN;O60358_HUMAN;NA;Q92617-5;K0220_HUMAN;O6ZVJ0_HUMAN;O15103_HUMAN;O86VD5_HUMAN;NPIP;ZNF688;O9NRE7_HUMAN;O9NRE7_HUMAN;O9NRE7_HUMAN	-3,670313472	-1,94846944	0,53087276	0,27282403	1,761213
xfV.5pTRYJqJpQDgvw	RPL26	-3,651926814	-1,12169438	0,307151384	0,49192611	1,798895
oresIKQlkBELcLVjQo	SFRS18	-3,643092546	-1,65711398	0,45486464	0,27742905	1,798895
3ISUKZdCsjoNVHrSIA	CDR2L;MRIP_HUMAN;ZNF167;C17orf84	-3,602014859	-1,00070433	0,277817935	0,51224857	1,911961
u55B6pupZ3ef9e3h3g	KIF3B	-3,535228029	-1,08800677	0,307761412	0,48170493	2,277752
3IQULO9deD13Rrx9NE	DVL3	-3,530123886	-1,4874271	0,421352662	0,356355	2,277752
irXnd2eLE1IEGE5U3E	UBR4	-3,529930782	-1,59763441	0,452596527	0,39681903	2,277752
opEnnSQuTKICp5C4Pc	RAB12	-3,514242557	-1,8485704	0,526022426	0,27668771	2,277752
oA0kt16KJL1JKKJ9	UBAP1;DNAH7	-3,502760368	-0,39273271	0,112120919	0,76078086	2,27775

_Y	L;RPS8;NA;NA;NA;NA					2
iu7mpOjuHqJ3nq RUTc	LLGL1	-3,490334686	-0,69950262	0,200411332	0,62868604	2,27775 2
imv6qJecg7ROjp7 TKo	BCL11A	-3,486832854	-1,08835882	0,312133924	0,48552341	2,27775 2
WYi619X_XuuwC5 NESs	EFHA1;FNFA	-3,48640569	-1,1496398	0,32974929	0,45145441	2,27775 2
3M5JGKp5CJV0V4 nqJQ	1C07_HUMAN; A2ABE6_HUM AN	-3,476589717	-2,21414405	0,636872403	0,31986568	2,27775 2
3dRcZJIQqp3s7o7 jW4	NA	-3,476544857	-1,45954745	0,419827014	0,40381705	2,27775 2
HeuVd67ksd56Xi5 4fw	AKAP13	-3,464606189	-0,84995879	0,245326235	0,53270931	2,27775 2
Nic3g59cAjitXUBb 7Q	IL12A	-3,454164926	-1,22937203	0,355910056	0,38723066	2,64348 6
Hu5nvXRB8iLA3U nWo	CSDF1	-3,451809308	-1,29770685	0,37594975	0,36597907	2,64348 6
okB2FVvXISMOOnQ wd4o	INPP5B	-3,445122976	-1,27682969	0,370619482	0,42899955	2,64348 6
TqQ_0M9SfCpU3 hUuU	ARHGAP24	-3,430990536	-1,77816315	0,518265245	0,27706839	2,64348 6
KTqQDclEteItSn3q OU	NA	-3,428710738	-1,48739646	0,433806341	0,31755113	2,64348 6
cCUgLove1nmJeiO qBI	PASK	-3,422826345	-1,56245944	0,45648224	0,30869928	2,64348 6
ipTuNu_uEhXjueu e7U	SLC25A22	-3,422746196	-0,75278457	0,219935843	0,61827391	2,64348 6
uegjkhr17y6AR7C tU	PRMT2	-3,415218163	-0,57542332	0,168488013	0,66014905	2,64348 6
BeIF.VvHm.0UXt9 VOc	TMEM131	-3,403873008	-0,84383771	0,247905167	0,53843852	2,64348 6
ueEXSoQIjehINloS uk	RPS19	-3,39799977	-0,40491144	0,119161703	0,75261799	2,64348 6
6SigiHnodV4isq.uc o	SND1;CENTG3	-3,393515469	-1,73402974	0,510983303	0,24873345	2,64348 6
6VYPhBUB3UhNF B7VeY	IKZF1	-3,373448303	-2,22569422	0,659768289	0,24002772	2,64348 6
9BK03fpVgDe0Xk V6Jc	SLC25A35;RA NGRF	-3,367797658	-0,74396193	0,220904582	0,60567155	2,64348 6
oJx6x1UkUXTHCD 10d4	ITPR2	-3,363686039	-0,85792399	0,255054716	0,53713919	2,64348 6
KPh4XrxUv56.Xlz Co	NA	-3,362220091	-0,75390472	0,224228247	0,57112292	2,64348 6
NXJHuGi6JNoKeBy AKk	ZNF313	-3,357875472	-1,03743168	0,308954781	0,47228695	2,64348 6
fn9CIKQYgLGsGLh NU	SAT2	-3,345060995	-1,06196535	0,317472642	0,47210737	2,64348 6
0connsU_TX9QEd V.U4	CENTG3;NP_7 75840.2	-3,330461069	-0,63776647	0,191494949	0,63705718	2,64348 6
KVImingNyYiI5I17 gg	PKN1	-3,325589459	-1,37822202	0,414429393	0,44973082	2,64348 6
I9xRVcHCX8rSFKF UIA	CDH12	-3,311460697	-1,21148755	0,365846877	0,41825536	2,97640 3
Z4X_oUHUXGSSE Kqd7M	GUSL4_HUMA N;GUSL1_HUM AN;NA;GUSBP 1;GUSBL1;GU SBL1;NA;NA;N A;NA	-3,311365763	-1,3232419	0,399606082	0,42762401	2,97640 3
orHeelQp4Iipe6 Dkk	ALDH3A2	-3,310879302	-1,6689735	0,50408769	0,32617641	2,97640 3
WNVX3kICXf5B6ti Omk	NA	-3,306568476	-1,62337125	0,490953464	0,32569904	2,97640 3
HtlGu016oIgon6u T_U	DTNBP1	-3,303334029	-1,3415716	0,406126536	0,42246321	2,97640 3
fSvR6hSpXKRIt16 AKg	UNC13D	-3,300203405	-0,68526184	0,207642304	0,63081708	2,97640 3
xXS2uCBCveiuCxS KeY	TMEM16J	-3,298566691	-1,48593168	0,450477986	0,33989525	2,97640 3
HNLhGRVFIXbuF0	KIAA1407	-3,294682149	-2,35625641	0,715169568	0,2757905	2,97640

Anhang

UVeA						3
NVQhcKv83XVfgz q6d4	P2RX7	-3,289357074	-0,87248706	0,265245469	0,54949749	2,97640 3
cuUXtx0__TiV7e UIQ	GRINA	-3,284790689	-1,45709776	0,443589226	0,45697884	2,97640 3
ZERGZntT5J8TAp qZjw	KLF10	-3,27462661	-1,55388178	0,47452182	0,34302936	2,97640 3
KnknIzUv4g_uwh NENU	GUSL4_HUMA N;GUSL1_HUM AN;NA;NA;GU SBP1;GUSBL1; GUSBL1;NA	-3,272936303	-0,83518276	0,255178435	0,54193641	2,97640 3
QIA3iTSC39S3F45 ONO	KIAA1731;EIF 1A1;SCARNA 9;NA	-3,267553248	-0,86760095	0,265520066	0,55792379	2,97640 3
okS1StUnVd86.e0 w7k	SCRN1	-3,265195147	-0,59453173	0,18208153	0,6607845	2,97640 3
39JjkrJqhl_johjhc	TAOK2;CCDC9 5	-3,264416499	-1,81466509	0,555892637	0,42369736	2,97640 3
3leF9Ou3_CVBR2v 19o	RERE	-3,253223881	-1,0204675	0,313678843	0,47421432	2,97640 3
Zov8vJoLS9Kk.y 7fk	ARHGAP12	-3,253015463	-1,05117774	0,323139484	0,48081382	2,97640 3
Zs1x86HR1ilfdrQO _0	SENP6	-3,252853826	-1,26827324	0,389895552	0,40650112	2,97640 3
NKKYJWSJAroBG5 cZ7A	ZZEF1	-3,247999187	-1,22359128	0,376721548	0,39926077	2,97640 3
3sU9Hovnnyt6hu7 uHc	KIAA0430	-3,244786219	-0,99135576	0,305522673	0,54111741	2,97640 3
EJ0RR5LUI6uEiYB 1N0	NUP98;PHLPP; CBARA1;DMXL 2;CTNNA2;MA GI2;GRM5;AD AMTS10;ULK2; PKP4;DCC;TU BA8;C1GALT1; CENTG3;SMG6 ;TESK2;SPTBN 1;ATAD2;COP S3;ST6GAL1;E CE1;NR6A1;H YDIN2;IQCD;R AGE;PIK3R3;R NF215;MYO9B ;CENTG2;TRE RF1;SENP6;NP _001092925.1 ;ORICH1;MED 15;PPP1R13B; PDE4B;C20orf 132;NP_68996 8	-3,242185756	-1,5558046	0,479862881	0,31429584	2,97640 3
oBxen_okdRRzqT eirU	GCS1_HUMAN	-3,241146517	-0,53953061	0,166462887	0,69929413	2,97640 3
ikU_DVLXBILHmD ful0	CENTG3;SRPK 2	-3,239718669	-0,93233441	0,287782521	0,55320156	2,97640 3
KfV5dIAaDd7e4X3 XIU	TBC1D20	-3,222043126	-0,82845727	0,25712172	0,55259318	2,97640 3
QYu6SuFPpEzYc. Okic	GNB2L1	-3,219746736	-0,36181496	0,112373732	0,77947804	2,97640 3
6UWSSUSkiihih6 g1w	Q7Z3N4_HUM AN;FAM39B;C XYorf1;Q9NSV Z_HUMAN	-3,217176186	-1,32300168	0,411230721	0,37142621	2,97640 3
Zdy6mqSKLyUI7h. gFc	NA	-3,214373071	-0,36797397	0,11447768	0,77453835	2,97640 3
3PimWU._eVoZom Ip4g	YWHAE	-3,212544702	-0,94639833	0,294594602	0,47973463	2,97640 3
91ed6iT5yX3FU1e jUQ	BMF	-3,19620612	-1,34906466	0,422083124	0,39144533	2,97640 3
o9S.Ipo.rbobrSUX Sw	MED30;TLK2;C ENTG3;NP_06 0219.2;GRAM	-3,188119395	-0,33062628	0,10370574	0,79499374	2,97640 3

	D1C:RPS10:NA;NA					
Nfqh3KOn296VpOf eic	Q96AM0_HUMAN	-3,182057053	-1,71516817	0,539012389	0,25093019	3,486123
cr0RN_3uucifgdK SU	NA	-3,180949611	-1,82445615	0,573557074	0,25903009	3,486123
fdyuoQihHokooSS 9Qg	SETX	-3,167141202	-0,80654439	0,254660067	0,57446776	3,486123
Nnhs.TpLQtQ6Sbf bWo	DHX30	-3,16680158	-1,31334188	0,414721873	0,4058203	3,486123
0X6jNfurQopB3XR o9U	NA	-3,165218607	-0,98156374	0,310109303	0,46869541	3,486123
ZTgknoovooP_W XiFU	ARHGEF1	-3,164595267	-2,22119174	0,701888092	0,30759424	3,486123
QpA6ukLF186LMak FOg	TIAL1	-3,162345555	-1,04791956	0,331374146	0,4832246	3,486123
reWD4IpeP0nUUj kj_4	GBE1	-3,16231418	-0,4160002	0,131549293	0,75262517	3,486123
HnVfl7oE_3rXJ7r1 T4	KIAA1267	-3,161766165	-1,0151213	0,321061473	0,48863025	3,486123
ixuDqeEfqpSA72u Nag	PFN1;NA;NA	-3,15943667	-1,68161624	0,532251922	0,4136402	3,486123
fOgUke5ohSfQom gp6U	NM_182905.2;Q7Z3N4_HUMAN;FAM39B;CXYorf1;Q9NSV7_HUMAN	-3,151052933	-0,97971308	0,310916098	0,48511508	3,486123
NglzjJ3QDg9ep7t6 ik	NA	-3,150631684	-0,66558103	0,211253202	0,61037248	3,486123
roa1X1.Td6Xv496 SSU	MCTP2	-3,145677642	-1,1608566	0,369032283	0,45671721	3,486123
BgFUhUUgIQu3JD l_sU	SETBP1	-3,14307815	-0,90309535	0,287328314	0,54458451	3,486123
c5HWSfueVt2Dh6 L9ec	CENTG3	-3,14054453	-0,70496791	0,224473145	0,59406318	3,486123
KcUjv16k7l_u0WB SOI	NA	-3,138426145	-2,07546786	0,661308493	0,20755694	3,486123
BLsHtfXe5SgGoqp 410	KIAA0100	-3,128922259	-1,09575358	0,350201598	0,51236988	3,486123
HVNdTpUiIIVKEA X6II	NA	-3,126978327	-0,83760505	0,267864042	0,52556647	3,486123
IrkLuBUKHokQPXB 5eo	NA	-3,11790079	-0,96112947	0,308261724	0,49535599	3,486123
ZhiVLsvu6bgd5W7 vdA	DUSP22	-3,108873919	-1,63479637	0,5258484	0,29319039	3,486123
KpE_xXo5JJ9NJDo Lp4	NM_207382	-3,1066402	-0,64838225	0,208708511	0,63781977	3,486123
cRJfHL1_fUs.Q_t1 1U	TRIM33	-3,10522352	-1,03924924	0,334677756	0,45703856	3,486123
TIIohSKfq.44DWk Ekk	STX8	-3,10213645	-1,07745075	0,347325389	0,50688952	3,486123
rCF0505LoT9_17.X uo	MCOLN2	-3,100147502	-1,49871861	0,483434612	0,31167928	3,486123
KgypCHAoSLCrnp ZReE	NA	-3,099806531	-1,30787734	0,421922248	0,40733977	3,486123
WXseCxRRY.A6ni_ qik	FGD2;NA	-3,095883554	-0,90463906	0,292207071	0,49896399	3,486123
EpZwAV6c63e9X.I uEU	TSPYL2	-3,094041016	-1,92123446	0,62094667	0,20291885	3,486123
ZgknUITv3gq8We EKLQ	C14orf102	-3,091616656	-0,96185888	0,311118418	0,52492376	3,486123
3_19QJK4tJVFIJsk n8	AKAP10	-3,087915166	-1,19811741	0,388002047	0,43655912	3,486123
oJBLhc54p_Uv6F4 C6k	CAPZB	-3,087372422	-0,93285972	0,302153285	0,50049156	3,486123
rS4IENEUNHkdSX qQwI	LARS2;HMGB1;B3GNT6;NLRP9;OSBPL8;ASXL2;MET;HSD17B14;TNPO2;TUBA8;EIF2S2;PTCH2;TRIM1	-3,076993208	-1,48010728	0,481023904	0,33015708	3,486123

Anhang

	4:ORC2L;SLCO1A2;FBF1;VPS13B;CLSPN;DL C1;SCD5;KIAA1772;C14orf145;MCM8;CARD11;GGNBP2;KIAA0247;IL6ST;PPL;HNF4A;PLEKHG1;ENOPH1;CCDC113;SCGB1A1;TMEM16K;WDR88;SRC;TRRAP;SGSM1;PNKD;S					
cNqKF7OXhb9XI159Jc	PRPF8	-3,070536059	-1,01966675	0,332081022	0,47183936	3,486123
x64jX3XE4pS3hc3qIo	SCMH1	-3,070376654	-1,90745534	0,621244738	0,21240219	3,486123
9nFFZSC.uIO6WV.15U	NA	-3,066445262	-0,31987798	0,104315567	0,80147148	3,916864
QT5HUI6kMIuAd7dSgA	BTBD11;AGPAT4;GPR144;NFIL3;CACNB2;SORBS2;OTOP1;NP_849190.1;NTRI_HUMAN;KIRREL3;WWC2;PCK2;NP_113654.3;PCDH11Y;JMJD2B;ADCK5;DSCAM;FAM119B;TSFM;CTNNA3;PRIM1;IDH3A;PPP2R2B;ATP11C;DSCAML1;SMC1B;MID1;PPARA;BCAS4;C6orf98;IFT52;ARFGAP3;PARVB;ATRN;ZNF141;PSMB1;TRIM	-3,065727271	-1,57807751	0,514748172	0,2946553	3,916864
fai.aRiC1TQIvp1.Sc	ZMYND8	-3,062013904	-1,40648229	0,459332432	0,46765671	3,916864
H14K54hIkKXwGon0L0	CEP290	-3,059888936	-0,67953615	0,222078696	0,60748344	3,916864
TeKQEpOoA6Cr4o6Fog	ZBTB4	-3,058212148	-0,79563643	0,260163911	0,57127263	3,916864
xoB14Cd3p6C14x4N1I	PCM1	-3,057403688	-0,81335199	0,26602702	0,5693916	3,916864
BrEiKUSgUs6gIAVJvU	FCRL2	-3,057038148	-1,66306572	0,544012092	0,22193516	3,916864
BFR79Xu.eVLIK9ejuU	RALY	-3,052907535	-1,93379877	0,633428544	0,1882105	3,916864
iqUuVHFJF_PfXUixL0	ARRDC1	-3,043564191	-0,71389467	0,23455877	0,63530603	3,916864
3e1t2Dh6L9efe0cRdU	CENTG3	-3,033378717	-0,65396886	0,215590905	0,61775678	3,916864
cqk77tOy0IHzkUO4oA	RPS6KA5	-3,032335907	-0,74806777	0,246696867	0,61743656	3,916864
Z_5NCdNII69uVhNXS0	TMEM16J	-3,01993498	-1,92790652	0,638393387	0,25143836	3,916864
3..iEi3R1JerhIkIdY	NA	-3,019748082	-1,37359721	0,454871458	0,37135218	3,916864
KhuO2fd65UnV9et4hw	KIAA0664	-3,019614682	-0,85209374	0,28218625	0,52697714	3,916864
o6gqbp3gN7RpPfRunk	EIF4G3	-3,014498212	-0,55022486	0,182526184	0,68718989	3,916864
6qdU103d1_HoPnnFSc	DYRK1B	-3,014089491	-1,0134645	0,33624234	0,4609657	3,916864
N_flnpOXig7P6f48RE	NFKBIZ	-3,009251303	-2,04418627	0,679300617	0,21576554	3,916864

TFIWCCIPoaWOul3XBQ	ANKHD1-EIF4EBP3	-3,008492273	-0,57608813	0,191487323	0,65729497	3,916864
fu.ikvWtFEookVN.hI	DIP2A	-3,00176425	-0,51881902	0,172838032	0,71493157	3,916864
Qoo8cYo44oi4V45Xgo	IPO9	-2,991094024	-0,5121512	0,171225375	0,70364573	3,916864
6eK7Ey19WIM8FE SxiU	DNM2	-2,987584862	-1,41055205	0,472137902	0,47573443	3,916864
ipQjZVHkdSXpDI WJ1s	SDCCAG10;AHR;SERPINE1;R3HDM1;DDX52;AURKB;DPF2;UBE2B;NP_055812.1;SGCD;USP29;NRP1;ZNF25;ZNF624;Q8N369_HUMAN;FOXK1	-2,986715499	-1,16417614	0,389784744	0,42090254	3,916864
NvofSHoJ7I7veQowXU	NA	-2,985195941	-0,82955833	0,277890749	0,54600649	3,916864
6Y6eREkn1_suxkl768	RPL10;NA;NA;NA;NA;SNORA70;NA	-2,983424407	-2,86804783	0,961327468	0,1731733	3,916864
inPrrkoIJqSu454W8	TRPV2	-2,982695937	-1,05633882	0,354155718	0,48626573	3,916864
i3L7NaVi5x7fbhO.0Q	C7orf28B;C7orf28A	-2,980033962	-1,16824194	0,392023029	0,45472684	3,916864
QJLI7hk9e54Xo99Qzk	CYorf15B	-2,977475893	-1,86099619	0,625024773	0,21433153	3,916864
0IVJOpRMUFRTokCeP8	GGA1	-2,974272479	-0,91015167	0,306008166	0,55128906	3,916864
rojzPr3I3pOeshypTU	IQCB1	-2,971591859	-1,08033412	0,363554004	0,43546433	3,916864
cXQU1KA_Eunks_HUuE	ASCC3	-2,963698104	-0,70328056	0,237298312	0,62427604	3,916864
cO6HlcT_I7IHpQWgOs	KIAA1641;NA	-2,958499568	-1,48193397	0,500907281	0,35805524	3,916864
xSevrSLi0gpVuMQg0k	GTF2I	-2,953874154	-0,86160045	0,291684886	0,57382332	3,916864
HIJ21.QHO4qXF_LRVQ	NA	-2,952968406	-0,79764961	0,270117896	0,57385139	4,356698
rjovhekON7pwTit3eU	01.09.2006	-2,949501391	-0,99499518	0,337343518	0,52437058	4,356698
If_in3T9VcPe55eJXI	WDR35	-2,946569804	-0,76349224	0,259112218	0,60559922	4,356698
HGK55In16EH2HXeIKE	CAPS	-2,945166218	-0,75497458	0,256343624	0,57876311	4,356698
0WORJBSUNee3QqzWxc	ZCCHC11	-2,94483387	-1,15208617	0,391222806	0,40557583	4,356698
NCTOUer1JenhLiHe3Q	SEN2;INVS;UPF2;USP36;GTF2F1;IRAK2;IL1RAPL2;COBLL1;TUBA8;TG;KIF3B;CSNK2A1P;EPS8;OAS3;ACVR1B;STX8;TMEM165;BPL2;EIF3D;PVR L2;PDZD2;SSR1;HRH2;KIAA1553;AK7;MLTK_HUMAN;ZNF659;FYT1D1;MORF4L2;PHLPP L;ZNF638;EXO SC10;THSD7B;NCAPD3;CGAT1_HUMAN;FAM62B;PPP1R13L;TPTE2;	-2,944315034	-1,13747272	0,386328468	0,45979557	4,356698
r57BOXu0dHyX6T	ELF2	-2,942577824	-1,60987288	0,547096109	0,29433467	4,35669

Anhang

_5IQ						8
xjDwAHRqk765EX utUk	NXN ; PSCD1 ; R XFP2 ; STIM1 ; A CCN1 ; AUTS2 ; P DE6A ; ERBB2 IP :RNF216 ; PLXN C1 ; OPHN1 ; NU SAP1 ; DOCK5 ; GPR114 ; MAP2 K5 ; INSR ; PIP4 K2B ; CHST12 ; WBSCR17 ; SLC 27A2 ; CENTG3 ; TRAFD1 ; DIAP H3 ; ATR ; STRA 6 ; SYT11 ; RFC1 :LOXL3 ; NUP54 :TAOK1 ; SCFD 2 ; PEX3 ; SLC30 A6 ; GDNF ; STX BP1 ; PIK3R2 ; C LTCL1 ; DOT1L ; C5orf22 ; TMC5 :	-2,940015905	-1,15401729	0,392520763	0,41015258	4,35669 8
uG6fywkhQmfbpK gJJs	PTTG1IP	-2,933412071	-1,41630008	0,482816613	0,44247619	4,35669 8
KHk7h.XCaSeAh2J W54	RBM17	-2,931185549	-0,8362609	0,285297837	0,54133034	4,35669 8
Hp5NOqJT.EJJFOr vOo	NA	-2,930929287	-1,93288339	0,659478002	0,25560993	4,35669 8
od4ToRjShCedIX H1_o	NM_182905.2 ; Q7Z3N4_HUM AN ; FAM39B ; C XYorf1 ; Q9NSV Z_HUMAN	-2,929646982	-1,46346005	0,499534606	0,33265007	4,35669 8
N.aiaj79mSgkp1P 8mU	YTHDC1	-2,925198907	-1,55083855	0,53016516	0,33662334	4,35669 8
Q3IU1VYe70otUX5 P0g	STK10	-2,92350259	-0,66597556	0,227800573	0,61554516	4,35669 8
WJ0vq.Ri717nzPS 3uU	NA	-2,920723066	-1,02791687	0,351939177	0,52860254	4,35669 8
Kl3sjgQ_JRFeC.3R dU	NA	-2,91776517	-0,626908	0,214858964	0,64642478	4,35669 8
o143R7EdX9et5ws mrs	TUBGCP2 ; PTP RN2 ; TPK1 ; SLC O1B3 ; JMJD1B ; LSS ; TNPO2 ; NF S1 ; TUBGCP6 ; B UD31 ; CENTG3 :RNF20 ; CIZ1 ; ACOT7 ; Q86U W5_HUMAN ; S LC22A16 ; EPHA 6 ; SIGLECP3 ; Z NF556 ; C16orf 55 ; CARS ; C16o rf57 ; BMCC1_H UMAN ; PNPLA7 :TXNRD1 ; Q86 TT0_HUMAN ; WDR85 ; Q86U W5_HUMAN ; Q 8IV37_HUMAN	-2,916941593	-0,68631164	0,235284669	0,59536858	4,35669 8
07riWI_RT5ncl6kE Ek	DRG2 ; ASTN2 ; PTPRD ; CTNNA 1 ; LRP1B ; RIPK 5 ; NFX1 ; IL18 ; A SAM_HUMAN ; CDH22 ; ZNF55 0 ; ZYG11B ; CDS 1 ; C11orf77 ; MY H14 ; AKAP6 ; G DF5 ; LRRC39 ; H	-2,913617298	-1,28271784	0,440249253	0,40182612	4,35669 8

	FM1;CAGE1:C NBD1;TMEM18 4B					
o5FUQ7ead99abtq f40	AP2A2	-2,913559739	-0,55381789	0,190082902	0,67126978	4,35669 8
cpdPuxDrkOsjsJd _Q	CCAR1	-2,909553015	-1,16978846	0,402050919	0,44177287	4,35669 8
NuhfT1PnqWXvXU YQJE	SOS1;SLC30A6	-2,907878713	-1,09243616	0,375681473	0,52079184	4,35669 8
TmLz6QvVeS_ qe2e6c	WDR70	-2,904822485	-0,57036379	0,196350652	0,66447904	4,35669 8
xV310eH1X5Eqn3 v81Q	GCM1	-2,899946547	-0,53785169	0,185469517	0,68542728	4,35669 8
6nEFKK6IU9e3_ X16g	MBTPS1	-2,899579444	-1,58119311	0,545318086	0,41714077	4,35669 8
x67fHV6CXgOroM msKc	GATAD2B	-2,899340447	-0,94387112	0,325546838	0,53512636	4,35669 8
fNrt557tVK37urpE jc	MKNK1	-2,897891174	-0,81759719	0,282135228	0,53957948	4,35669 8

8.2 Liste der CpG-Islands mit validierter Annotation

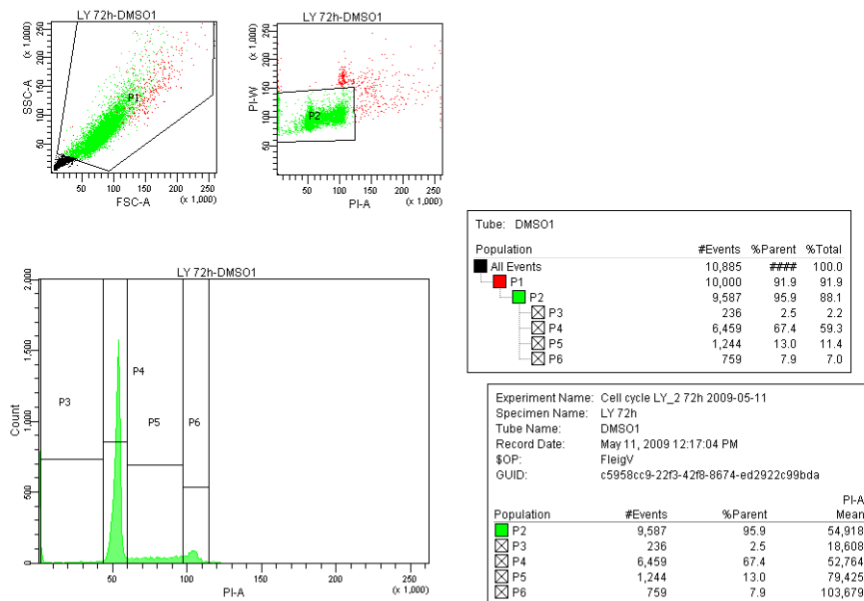
CpG_Island_ID	Mapping	Start	Ende
korrekt annotierte Klone			
CpG000070	12q13.12	47739460	47740924
CpG000105	10p12.1	27483681	27484891
CpG000192	1q41	218767182	218767702
CpG000279	14q23.1	60179078	60179855
CpG000369	17q25.1	69720836	69721043
CpG000716	11q14.3	89596129	89596409
CpG000966	11q23.1	111449826	111451103
CpG001054	20p12.2	11257478	11257784
CpG001093	1q32.1	204746528	204747456
CpG001158	11q23.1	111449826	111450322
CpG001277	20p11.21	25373304	25373681
CpG001282	3q13.33	120664657	120664941
CpG001496	9q34.3	139550912	139551440
CpG001540	3q26.1	166395726	166396232
CpG001591	11p15.4	6904141	6904825
CpG001600	1p34.3	36387803	36388131
CpG001687	11p15.4	6904141	6904825
CpG001933	1q32.3	210274732	210276110
CpG002115	2p24.3	12774682	12775162
CpG002172	16p13.3	1300395	1300886
CpG002222	17q21.33	45805173	45805931
CpG002307	12q13.13	52959901	52960341
CpG002367	16p12.1	27122260	27123067
CpG002870	6p22.1	27208086	27208716
CpG002944	10q25.2	114196902	114197485
CpG002966	6p22.1	27208086	27208716
CpG003387	6p24.3	10529696	10530144
CpG003398	19q13.2	46461324	46461406
CpG003441	8p21.2	25247037	25247319
CpG003635	19q13.33	54871234	54871575
CpG003953	8p23.1	11665251	11665451
CpG004308	13q32.3	99429986	99430149
CpG004524	1p36.13	16885118	16885408
CpG004648	2q31.1	176730470	176730901
CpG004825	12q24.31	122434207	122434412
CpG004903	3q13.2	114716237	114716692
CpG005206	11q13.3	69162738	69163538
CpG005310	17p13.1	7096484	7097068
CpG005967	12q13.13	52853680	52854120

CpG006019	2q32.1	187162648	187163716
CpG006227	22q13.2	40347411	40347900
CpG006756	3q12.3	102926306	102927284
CpG006873	2p24.2	16730703	16730982
CpG007341	1q25.2	178190354	178191398
CpG007540	2q31.1	169477583	169478200
CpG007583	3p22.1	40326747	40326941
CpG007616	14q11.2	23686261	23686491
CpG007815	7q32.1	128860680	128861967
CpG007817	2q33.1	201099148	201099494
CpG008444	17p12	12576695	12576918
CpG008593	19q13.42	60558148	60558435
CpG008878	19q13.12	40897102	40898011
CpG008980	2p14	66526260	66526494
CpG009329	5p12	42460196	42460529
CpG009415	1q42.12	224603232	224603663
CpG009696	9p21.3	21957127	21957567
CpG009998	11q13.4	70655093	70655503
CpG010052	9p21.3	21985297	21986139
CpG010142	11p13	32771049	32771203
CpG010160	10p14	8108807	8109019
CpG010271	12q13.2	54784036	54784271
CpG007429	6q23.2	134538183	134538899
neu annotierte Klone			
CpG000034	14	23679477	23680059
CpG000113	2	148494873	148495222
CpG000328	7	96477079	96477797
CpG002126	19	14748174	14748855
CpG000334	6	109276099	109276894
CpG001337	14	95811602	95811958
CpG001349	1	2874718	2875168
CpG002558	16	68035513	68035996
CpG004029	17	43456703	43457112
CpG005890	5	121483879	121484343
CpG000755	6	26888083	26888597
CpG001003	13	45524388	45524825
CpG007546	6	26888098	26888589
CpG004885	7	27216650	27216962

8.3 Zellzyklusanalyse von MEC-1 nach LY294002-Behandlung

8.3.1 DMSO 72 Stunden Replikant 1

FACSDiva Version 6.1.2



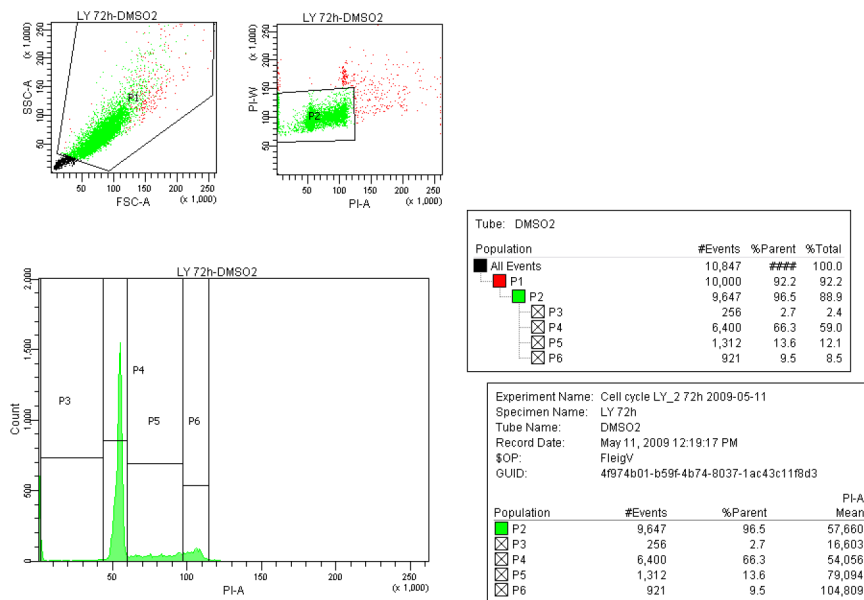
Global Sheet1

Page 1 of 1

Printed on: Thu Jan 14, 2010 09:54:51 CET

8.3.2 DMSO 72 Stunden Replikant 2

FACSDiva Version 6.1.2



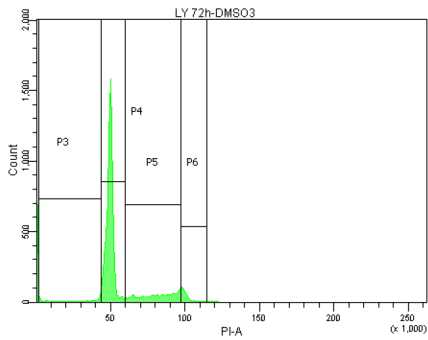
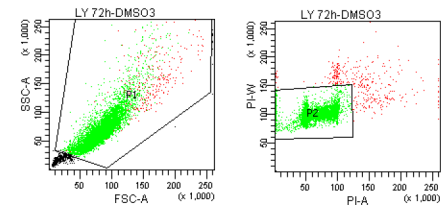
Global Sheet1

Page 1 of 1

Printed on: Thu Jan 14, 2010 09:55:05 CET

8.3.3 DMSO 72 Stunden Replikat 3

FACSDiva Version 6.1.2



Tube: DMSO3

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	10,618	###	100.0
P1	10,000	94.2	94.2
P2	9,637	96.4	90.8
P3	271	2.8	2.6
P4	6,521	67.7	61.4
P5	1,627	16.9	15.3
P6	477	4.9	4.5

Experiment Name: Cell cycle LY_2 72h 2009-05-11
 Specimen Name: LY 72h
 Tube Name: DMSO3
 Record Date: May 11, 2009 12:20:02 PM
 \$OP: FeigV
 GUID: 45744c46-e517-4d7f-9ea3-b66c8c57e3ff

Population	#Events	%Parent	PI-A Mean
P2	9,637	96.4	53,142
P3	271	2.8	25,833
P4	6,521	67.7	48,376
P5	1,627	16.9	80,721
P6	477	4.9	100,376

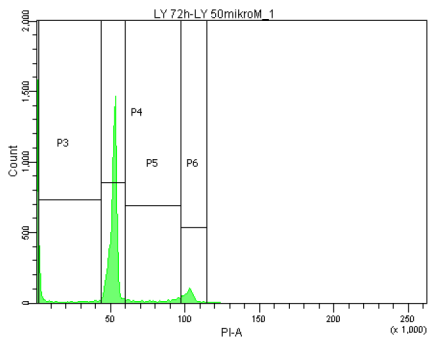
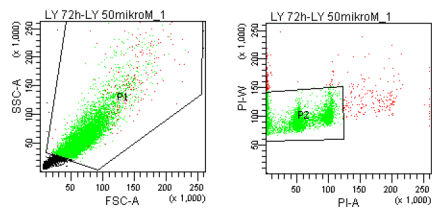
Global Sheet1

Page 1 of 1

Printed on: Thu Jan 14, 2010 09:55:19 CET

8.3.4 LY294002 72 Stunden Replikat 1

FACSDiva Version 6.1.2



Tube: LY 50mikroM_1

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	11,440	###	100.0
P1	10,000	87.4	87.4
P2	9,709	97.1	84.9
P3	783	8.1	6.8
P4	5,818	59.9	50.9
P5	567	5.8	5.0
P6	695	7.2	6.1

Experiment Name: Cell cycle LY_2 72h 2009-05-11
 Specimen Name: LY 72h
 Tube Name: LY 50mikroM_1
 Record Date: May 11, 2009 12:20:56 PM
 \$OP: FeigV
 GUID: ea888f50-7dc5-4c97-aada-57a24f004a9

Population	#Events	%Parent	PI-A Mean
P2	9,709	97.1	44,395
P3	783	8.1	11,986
P4	5,818	59.9	51,719
P5	567	5.8	80,270
P6	695	7.2	102,881

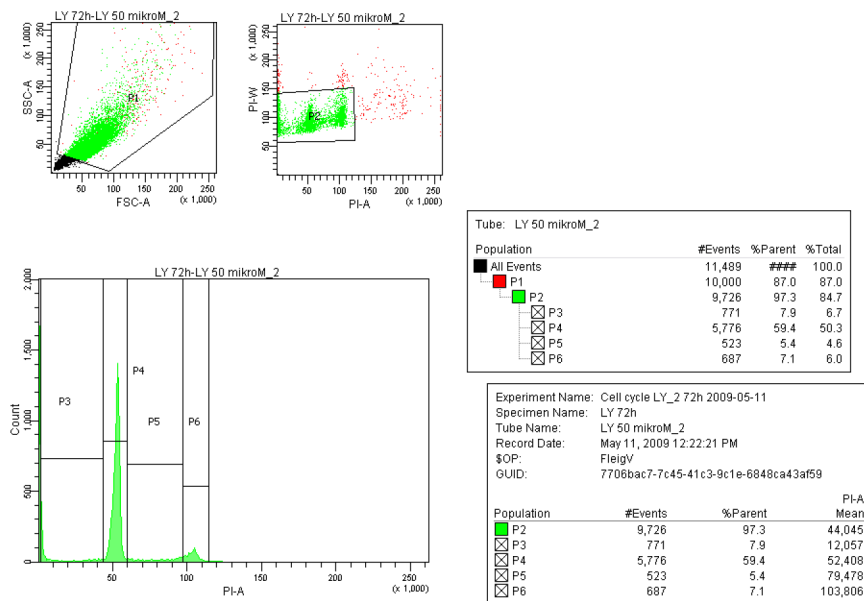
Global Sheet1

Page 1 of 1

Printed on: Thu Jan 14, 2010 09:55:48 CET

8.3.5 LY294002 72 Stunden Replik 2

FACSDiva Version 6.1.2



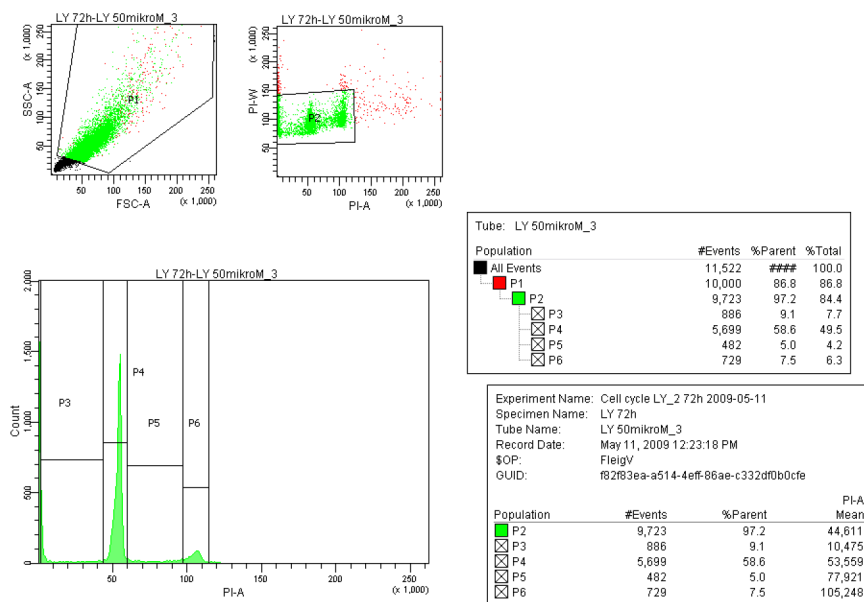
Global Sheet1

Page 1 of 1

Printed on: Thu Jan 14, 2010 09:56:02 CET

8.3.6 LY294002 72 Stunden Replik 3

FACSDiva Version 6.1.2



Global Sheet1

Page 1 of 1

Printed on: Thu Jan 14, 2010 09:56:16 CET

8.4 SAM-Vergleich der Methylierungsdaten von Cerebelli und Medulloblastomen

Clone	Fold Change	CpG_Island_ID
Im Tumor hypermethylierte CpG-Islands		
MCPG1_29_D06	3,8643787	UHNmmcpG0002448
MCPG1_68_B03	3,6648753	UHNmmcpG0005420
MCPG1_24_A1	3,5366712	UHNmmcpG0001913
MCPG2_7_F04	3,1587	UHNmmcpG0007912
MCPG2_57_C02	2,457976	UHNmmcpG0012674
MCPG2_77_H11	2,2358613	UHNmmcpG0014663
MCPG1_15_A04	2,2319064	UHNmmcpG0001259
MCPG2_77_E12	2,1145236	UHNmmcpG0014628
MCPG2_43_E05	2,024217	UHNmmcpG0011357
MCPG1_65_D05	1,9015373	UHNmmcpG0005120
MCPG2_30_G04	1,8737899	UHNmmcpG0010132
MCPG2_60_E07	1,7758131	UHNmmcpG0012991
MCPG2_43_B06	1,7647535	UHNmmcpG0011322
MCPG1_16_A04	1,7442074	UHNmmcpG0001244
MCPG1_1_A01	1,6997689	UHNmmcpG0000001
MCPG2_54_E03	1,6698691	UHNmmcpG0012411
MCPG1_26_E05	1,6461331	UHNmmcpG0002050
MCPG1_6_B04	1,6450199	UHNmmcpG0000499
MCPG1_75_A12	1,5934252	UHNmmcpG0006489
MCPG1_22_B09	1,5329474	UHNmmcpG0001788
MCPG1_70_F03	1,5046618	UHNmmcpG0005811
MCPG1_25_D08	1,4786048	UHNmmcpG0002128
MCPG1_50_D01	1,4710962	UHNmmcpG0004207
MCPG2_38_G05	1,4551952	UHNmmcpG0010901
MCPG1_30_B05	1,4325848	UHNmmcpG0002428
MCPG2_35_E10	1,3965219	UHNmmcpG0010594
MCPG2_70_B05	1,3909223	UHNmmcpG0013913
MCPG1_1_B02	1,385621	UHNmmcpG0000035
MCPG1_54_A09	1,3827908	UHNmmcpG0004841
MCPG1_50_C09	1,3611876	UHNmmcpG0004461
MCPG2_5_H11	1,3606312	UHNmmcpG0007751
MCPG2_75_F11	1,3590978	UHNmmcpG0014447
MCPG2_60_H12	1,3468522	UHNmmcpG0013032
MCPG2_32_D07	1,316941	UHNmmcpG0010291
MCPG2_7_E07	1,2972066	UHNmmcpG0007903
MCPG2_61_F03	1,2909622	UHNmmcpG0013095
MCPG1_37_C10	1,2641426	UHNmmcpG0003357
MCPG1_63_H04	1,2495215	UHNmmcpG0005095
Im Tumor hypomethylierte CpG-Islands		
MCPG2_23_G2	0,8159021	UHNmmcpG0009458
MCPG2_30_E03	0,8135732	UHNmmcpG0010107
MCPG1_23_F10	0,80494183	UHNmmcpG0002195
MCPG1_23_A4	0,80360365	UHNmmcpG0001993
MCPG2_78_D11	0,80215746	UHNmmcpG0014711
MCPG2_41_H12	0,8010528	UHNmmcpG0011208
MCPG2_72_H07	0,7994782	UHNmmcpG0014179
MCPG1_24_D04	0,7925323	UHNmmcpG0002015
MCPG1_45_E06	0,78697795	UHNmmcpG0003985
MCPG2_13_H04	0,778893	UHNmmcpG0008512
MCPG1_24_E04	0,7759617	UHNmmcpG0002017
MCPG2_52_G10	0,7695339	UHNmmcpG0012250
MCPG1_26_F09	0,7507436	UHNmmcpG0002180
MCPG2_30_B07	0,7506484	UHNmmcpG0010075
MCPG2_51_F08	0,7491108	UHNmmcpG0012140
MCPG1_19_B02	0,74521446	UHNmmcpG0006923
MCPG1_63_D06	0,7450534	UHNmmcpG0005151
MCPG2_42_H11	0,7410451	UHNmmcpG0011303
MCPG2_52_C12	0,73882544	UHNmmcpG0012204
MCPG1_28_F01	0,73859245	UHNmmcpG0002307
MCPG1_70_F12	0,73851055	UHNmmcpG0006099
MCPG2_43_F05	0,73840773	UHNmmcpG0011369
MCPG1_62_D09	0,73732626	UHNmmcpG0006783
MCPG2_72_F10	0,728069	UHNmmcpG0014158
MCPG2_54_C11	0,72703594	UHNmmcpG0012395

MCPG1_42_C11	0,72691965	UHNmmcpG0003773
MCPG2_66_E09	0,72518986	UHNmmcpG0013569
MCPG1_54_E03	0,7170221	UHNmmcpG0004657
MCPG2_17_H02	0,71698356	UHNmmcpG0008894
MCPG2_23_A7	0,7164858	UHNmmcpG0009391
MCPG2_28_B05	0,71544963	UHNmmcpG0009881
MCPG2_55_C02	0,70609266	UHNmmcpG0012482
MCPG2_42_C07	0,70148283	UHNmmcpG0011239
MCPG1_11_B10	0,7002949	UHNmmcpG0001075
MCPG2_63_D11	0,7002735	UHNmmcpG0013271
MCPG1_46_B01	0,69673216	UHNmmcpG0003835
MCPG1_12_A06	0,6915904	UHNmmcpG0000930
MCPG2_30_E10	0,6884343	UHNmmcpG0010114
MCPG1_33_G06	0,6883087	UHNmmcpG0007077
MCPG1_4_E09	0,68260705	UHNmmcpG0000282
MCPG2_57_G11	0,6823885	UHNmmcpG0012731
MCPG1_66_F07	0,6804377	UHNmmcpG0005555
MCPG2_63_H10	0,6789391	UHNmmcpG0013318
MCPG2_33_H08	0,6706328	UHNmmcpG0010436
MCPG2_15_A08	0,667017	UHNmmcpG0008624
MCPG1_77_C04	0,6644754	UHNmmcpG0006238
MCPG2_46_E10	0,6630958	UHNmmcpG0011650
MCPG2_26_A01	0,6616727	UHNmmcpG0009673
MCPG1_51_C06	0,6612039	UHNmmcpG0004381
MCPG1_67_D11	0,6596776	UHNmmcpG0005695
MCPG1_51_F08	0,6586375	UHNmmcpG0004451
MCPG2_62_C05	0,6478714	UHNmmcpG0013157
MCPG2_23_A9	0,6371436	UHNmmcpG0009393
MCPG1_66_H05	0,6304577	UHNmmcpG0005495
MCPG2_71_F04	0,62300456	UHNmmcpG0014056
MCPG2_22_F6	0,6227217	UHNmmcpG0009354
MCPG2_55_D11	0,62205815	UHNmmcpG0012503
MCPG1_79_A01	0,6200851	UHNmmcpG0006522
MCPG2_71_H07	0,61104816	UHNmmcpG0014083
MCPG1_28_E02	0,60368824	UHNmmcpG0002337
MCPG2_1_E10	0,5981835	UHNmmcpG0007330
MCPG2_2_C01	0,5955544	UHNmmcpG0007393
MCPG1_75_G08	0,59544903	UHNmmcpG0006373
MCPG2_57_G12	0,5868629	UHNmmcpG0012732
MCPG1_44_C09	0,5761524	UHNmmcpG0003710
MCPG1_12_D12	0,57156914	UHNmmcpG0001128
MCPG1_56_F06	0,5618388	UHNmmcpG0004771
MCPG2_39_E02	0,5482316	UHNmmcpG0010970
MCPG2_74_B11	0,53348565	UHNmmcpG0014303
MCPG2_65_F08	0,52154917	UHNmmcpG0013484
MCPG2_14_F11	0,5205067	UHNmmcpG0008591
MCPG2_40_G01	0,516064	UHNmmcpG0011089
MCPG2_11_E05	0,50177956	UHNmmcpG0008285
MCPG2_28_D10	0,4827328	UHNmmcpG0009910
MCPG1_44_A07	0,4793093	UHNmmcpG0003642
MCPG2_63_C10	0,47739428	UHNmmcpG0013258
MCPG2_48_D02	0,47312257	UHNmmcpG0011822
MCPG2_12_F01	0,46781534	UHNmmcpG0008389
MCPG2_45_A11	0,4313126	UHNmmcpG0011507
MCPG1_13_D06	0,42500356	UHNmmcpG0000952
MCPG2_8_H02	0,37221548	UHNmmcpG0008030
MCPG2_59_D05	0,33908144	UHNmmcpG0012881
MCPG1_31_G07	0,3279267	UHNmmcpG0002869

Anmerkung: hier wurde ein linearer *fold-change* verwendet

Publikationen und Konferenzbeiträge

Publikationen

Identification of an aggressive cell subtype in a patient with medulloblastoma

V. Fleig, A. Korshunov, M. Remke, S. Pfister, P. Lichter, B. Radlwimmer
(Manuskript in Vorbereitung)

Interference with energy metabolism by AICAR induces HPV suppression in cervical carcinoma cells and apoptosis in the absence of LKB1

J. Nafz, J. De-Castro-Arce, **V. Fleig**, A. Patzelt, S. Mazurek and F. Rösl, *Biochemical Journal* 2007

The Epithelial Glucocorticoid Receptor Is Required for the Normal Timing of Cell Proliferation during Mammary Lobuloalveolar Development but is Dispensable for Milk Production

T.M. Wintermantel, D. Bock, **V. Fleig**, E.F. Greiner and G. Schütz, *Molecular Endocrinology* 2005

Konferenzbeiträge

7th Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research (ISSCR) in Barcelona, Spanien, Juli 2009

Establishment and characterization of a medulloblastoma cancer stem cell model (Poster)

Fleig, Verena J.¹, Hofmann, Stefanie¹, Warta, Rolf², Goidts, Violaine¹, Ernst, Aurélie¹, Engel, Felix¹, Lichter, Peter¹, Herold-Mende², Christel, Radlwimmer, Bernhard¹

¹ Molecular Genetics, DKFZ-German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

² Neurosurgical Research, University Hospital Heidelberg, Heidelberg, Germany

2nd DKFZ - NCI International Conference on Stem Cells and Cancer and 5th International Heinrich F.C. Behr-Symposium in Heidelberg, Oktober 2008

Isolation and characterization of medulloblastoma-initiating cells from established cell lines (Poster)

Verena Fleig¹, Stefanie Hofmann¹, Rolf Warta², Violaine Goidts¹, Aurélie Ernst¹, Felix Engel¹, Peter Lichter¹, Christel Herold-Mende², Bernhard Radlwimmer¹

¹ Division of Molecular Genetics, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

² Division of Neurosurgical Research, University Hospital Heidelberg, Heidelberg, Germany

2nd Joint Scientific Conference In Life Sciences in Heidelberg, September 2008

Establishment and characterization of a medulloblastoma stem cell model (Poster)

Verena Fleig¹, Stefanie Hofmann¹, Rolf Warta², Violaine Goidts¹, Aurélie Ernst¹, Felix Engel¹, Peter Lichter¹, Christel Herold-Mende², Bernhard Radlwimmer¹

¹ Division of Molecular Genetics, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

² Division of Neurosurgical Research, University Hospital Heidelberg, Heidelberg, Germany

PhD Students Retreat DKFZ, *XIII. Graduate Seminar*, Weil der Stadt, Juli 2008

DNA-Methylation patterns in B-CLL (Poster)

Verena Fleig¹, Nicolas Delhomme¹, Natalia Becker¹, Daniel Mertens², Stephan Stilgenbauer², Hartmut Döhner², Peter Lichter¹, Bernhard Radlwimmer¹

¹ Molecular Genetics, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

² Department of Internal Medicine III, University of Ulm, Ulm, Germany

Retreat des Forschungsschwerpunktes „Funktionelle und strukturelle Genomforschung“ des Deutschen Krebsforschungszentrums in Schöntal, November 2007

Establishment and characterization of a medulloblastoma stem cell model (Poster)

Verena Fleig¹, Violaine Goidts¹, Aurélie Ernst¹, Peter Lichter¹, Christel Herold-Mende², Bernhard Radlwimmer¹

¹ Division of Molecular Genetics, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

² Division of Neurosurgical Research, University Hospital Heidelberg, Heidelberg, Germany

3rd Heinrich F.C.Behr Symposium Microbes in Malignancy in Heidelberg, Oktober 2004

AMP and AICAR selectively downregulate HPV transcription and induce apoptosis in cervical carcinoma cells (Poster)

Julia Nafz¹, Verena Fleig¹, Andrea Patzelt¹, Frank Rösl¹

¹ Angewandte Tumorstudiologie, Abteilung Virale Transformationsmechanismen, Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Germany

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Insbesondere möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Peter Lichter dafür bedanken, dass er mir die Möglichkeit gegeben hat, diese interessante Arbeit anzufertigen. Ebenso danke ich ihm für seine hervorragende Betreuung, seine Unterstützung, wenn es schwierig wurde und die Erfahrung, die ich in dieser Zeit gesammelt habe.

Herrn Prof. Dr. Buselmaier danke ich sehr für die Übernahme der Pflichten als Prüfer und Gutachter dieser Arbeit und für seine Unterstützung.

Großer Dank gilt Herrn Dr. Bernhard Radlwimmer für die Übernahme der Betreuung meiner Doktorarbeit, die fachlichen Diskussionen und hilfreichen Anregungen.

Frau PD Dr. Anne Régnier-Vigouroux und Herrn Prof. Dr. Stephan Frings danke ich für ihre unkomplizierte Zusage, als meine Promotionsprüfer zu fungieren.

Weiterhin möchte ich den Kooperationspartnern Prof. Dr. Stephan Stilgenbauer und Prof. Dr. Hartmut Döhner vom Universitätsklinikum Ulm und Prof. Dr. Guido Reifenberger vom Institut für Neuropathologie, Düsseldorf meinen herzlichen Dank aussprechen. Vor allem Dr. Daniel Mertens danke ich für die anregenden Diskussionen.

Ganz besonders möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Lutz Gissmann für seinen Beistand bedanken.

Dr. Tina Seiffert und Sibylle Ohl danke ich für ihre Unterstützung bei meinen letzten Experimenten.

Bei Dr. Violaine Rosenstiel-Goidts möchte ich mich für ihre Anleitung zu Beginn meiner Doktorarbeit bedanken.

Josy, danke für die Hilfe beim FACSen (und auch sonst)!

Bei Stefanie Hofmann bedanke ich mich für ihre Hilfe und Unterstützung im Labor.

Ganz herzlich danken möchte ich außerdem allen, mit denen ich in den vergangenen Jahren das Freud und Leid des Laboralltags geteilt habe: allen Mitgliedern der Abteilung Lichter, vor allem Angela Schulz, Dr. Suzin Choi, Josy Bageritz, Sabrina Pleier, Dr. Daniel Göttel und Dr. Daniel Stange.

Meinen Eltern, meinem Bruder und Jasi danke ich herzlich für ihre Geduld beim Korrekturlesen und die konstruktiven Kommentare.

Jasmin Strunck danke ich für ihre Freundschaft, dass sie sich durch meine Doktorarbeit gequält hat, die Vienna-Abende und vieles mehr...

Merci Nico pour ton amour, ta patience et ta foi illimitée en moi.

Meiner Familie danke ich dafür, dass sie immer für mich da ist, für ihre großartige Unterstützung und ihren steten Rückhalt.