

# Array-CGH für die Analyse von Tumorgenomen

Dass Tumoren rekurrente strukturelle und numerische Aberrationen enthalten können, wissen wir seit den 1960er Jahren. Diese Erkenntnisse wurden durch die zytogenetische Analyse von Tumorchromosomen ermöglicht, dem ersten genomweiten Untersuchungsverfahren in der Tumorgenetik. In den 1980er Jahren wurde die Zytogenetik durch den Einsatz von markierten DNA-Sonden, die auf Meta- oder Interphasechromosomen hybridisiert wurden, verfeinert. Die Verwendung von Tumor-DNA als Sonde zur vergleichenden Hybridisierung mit anders markierter Kontroll-DNA ermöglichte dann genomweite Ergebnisse über Kopienzahlveränderungen in Tumorgenomen durch deren Kartierung auf normale Metaphasechromosomen (komparative genomische Hybridisierung, CGH). Dieses Anfang der 1990er Jahre entwickelte Verfahren erfuhr wenige Jahre später durch die Arbeitsgruppe um Peter Lichter eine Weiterentwicklung zur Array-basierten CGH [16], die die molekulare Zytogenetik auf Genniveau anheb.

Bei der Array-basierten CGH handelt es sich um die vergleichende Hybridisierung von mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markierter Tumor- und Kontroll-DNA auf immobilisierte, in Arrayform angeordnete DNA-Fragmente mit bekannter Sequenz bzw. genomischer Lokalisation [12, 16]. Die relative Hybridisierungsintensität des Tumor- und Kontrollsignals auf dem Mikroarray ist dann idealerweise proportional zur relativen Kopienzahl dieser Sequenz im Tumor- und Kontrollgenom. Wenn das Kontrollgenom normal ist, bedeuten Zu- und Abnahmen im Signalintensitätsverhältnis, auch Testzu-Referenz-Verhältnis (T:R-Verhältnis) genannt, Zunahmen (Gewinne) und Ab-

nahmen (Verluste) der Kopienzahl im Tumorgenom. Die Daten werden in der Regel normalisiert, sodass das modale T:R-Verhältnis einen Standardwert erhält, typischerweise 1,0 auf einer linearen oder 0,0 auf einer logarithmischen Skala. Zusätzliche Untersuchungen, wie FISH (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung), quantitative PCR (Polymerasekettenreaktion) oder MLPA-Analyse („multiplex ligation-dependent probe amplification“-Analyse), können angeschlossen werden, um festzustellen, welche Kopienzahl mit einem bestimmten T:R-Verhältnis verbunden ist.

Dabei hat die Array-CGH-Analyse von Tumorgenomen der Untersuchung von Tumorchromosomen einiges voraus, ohne die Fähigkeit des genomweiten Screenings auf unbalancierte Aberrationen einzubüßen. Vorteile der Array-CGH sind:

- die 10- bis 1000-fach höhere Auflösung, die zu einer Identifizierung von (neuen) für die Pathogenese eines Tumortyps relevanten Genen führen kann;
- die Tatsache, dass Tumor-DNA verwendet wird und damit keine Zellkultivierung oder Präparation von Tumorchromosomen erfolgen müssen, aber kryokonserviertes und paraffinfixiertes Gewebe [5] untersucht werden kann: Ersteres bedeutet v. a. eine Zeitersparnis, Letzteres erlaubt die Analyse von Archivmaterial, das häufig in größeren Mengen vorliegt und bei dem oft eine Korrelation zu klinischen Patientendaten möglich ist;
- die eindeutige Kartierbarkeit auch von komplexen Aberrationen in Tumorgenomen;
- die durch die Verwendung von DNA-Arrays grundsätzlich mögliche Automatisierbarkeit.

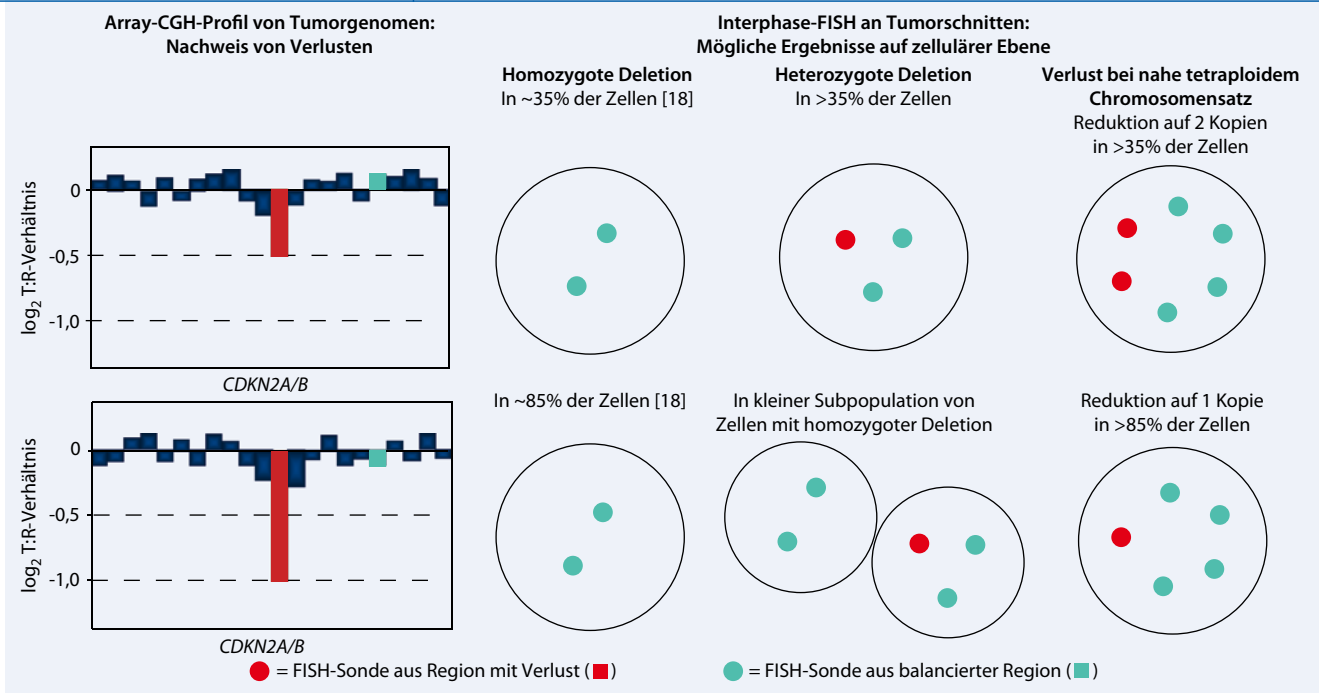
Bei der Array-CGH-Analyse bestehen folgende Einschränkungen:

- bei Verwendung von Tumor-DNA als Sonde ist es in der Regel nicht möglich, strukturelle Chromosomenstörungen nachzuweisen, wenn diese vollständig balanciert sind;
- bei der üblichen Verwendung eines DNA-Gemischs aus vielen Tumorzellen als Sonde wird eine Aberrationsmischung gemessen, d.h. es fehlt die Differenzierung der Imbalancen in unterschiedlichen Zellklonen einer Gewebeprobe (■ **Abb. 1**), und das Vorhandensein einer Aberration in mindestens 20% der Zellen ist erforderlich, um diese zuverlässig nachweisen zu können [14, 18];
- eine Aussage über den Ploidiegrad der Tumorzellen ist in der Regel nicht möglich.

Bei der Analyse von Tumorgenomen sind 2 Eigenschaften der Array-CGH besonders wichtig:

- die hohe Auflösung und
- das Potenzial der genomweiten Erfassung von Imbalancen.

Ersteres erlaubt die Identifizierung von (neuen) krebisrelevanten Genen und Letzteres den Nachweis von Aberrationsmustern, z. B. mit diagnostischer oder prognostischer Bedeutung. Beim Versuch der Kartierung relevanter Gene ist zu beachten, dass mittlerweile eine Vielzahl von Kopienzahlvarianten (CNV) in der konstitutionellen DNA gesunder Individuen beschrieben wurde. Daher ist ein Abgleich der in der Tumor-DNA identifizierten Imbalancen mit aktuellen Datenbanken bekannter CNV (z. B. <http://projects.tcag.ca/variation/>) zur Dateninterpretation unab-



**Abb. 1** ▲ Schematische Darstellung von Array-CGH-Profilen mit Verlusten unterschiedlichen Ausmaßes und dazugehörige mögliche Ergebnisse auf zellulärer Ebene durch Interphase-FISH an Tumorschnitten, Erläuterung s. **Infobox 1**

**Infobox 1: Erläuterungen zu ▣ Abb. 1**

Bei der Analyse von Tumorgenomen stellt die quantitative Interpretation des Array-CGH-Profiles aufgrund der genetischen Heterogenität der Tumorzellpopulationen eine Herausforderung dar. Daher können mehrere zelluläre Genotypen dem gleichen Array-CGH-Profilausschlag zugrunde liegen. Beispielsweise muss ein Profilausschlag auf  $-0,5 \log_2 T:R$ -Verhältnis nicht unbedingt einer heterozygoten Deletion entsprechen. Es kann auch eine homozygote Deletion bei einer Subpopulation von Zellen auf dem Schnitt vorliegen, z. B. bei Tumoren mit unterschiedlichen zellulären Komponenten oder einer Beimengung nichtneoplastischer Zellen (experimentell gezeigt von Weber et al. [18]). Alternativ ist eine Reduktion der Kopienzahl von z. B. 4 auf 2 bei nahe tetraploidem Chromosomensatz in den Tumorzellen möglich.

Bei dem hier gezeigten umschriebenen Verlust ist eine qualitative Interpretation des Array-CGH-Profiles durch den Vergleich mit Genomdatenbanken möglich, da die Tumorsuppressorgene *CDKN2A/B* im Bereich des Verlusts lokalisiert sind.

on von durch Kopienzahlverminderung inaktivierte Tumorsuppressorgene hin. Wenn ein umschriebener Verlust in einem Array-CGH-Profil nachweisbar ist (▣ **Abb. 1**) oder eine kleine, überlappend alterierte Region durch die Analyse größerer Tumorzahlen identifiziert wurde, kann das deletierte Kandidatentumorsuppressorgen durch einen Vergleich mit Genomdatenbanken direkt ermittelt werden, falls in dieser chromosomalen Region Gene mit bekannter Tumorsuppressorfunktion lokalisiert sind (qualitative Aussage). Allerdings kann bei heterozygoter Deletion eines Kandidaten oder beim Vorliegen mehrerer attraktiver Kandidaten oder von Genen mit unbekannter Funktion in der Region mit Kopienzahlverlust ein methodisch kombiniertes Vorgehen, z. B. zusätzliche Mutations-, Methylierungs-, Expressions- oder funktionelle Analysen, notwendig werden, um das tumorrelevante Gen zu identifizieren, zumal der Nachweis der biallelischen Inaktivierung bei einem Tumorsuppressorgen gefordert wird. In diesem Zusammenhang ist die Integration genomweiter genomischer und epigenomischer Analysen, um biallelische Geninaktivierung durch Deletion und aberrante Methylierung gleichzeitig zu bestimmen und damit Kandidatentu-

morsuppressorgene zu identifizieren, ein interessanter Ansatz [19].

Auch die quantitative Interpretation eines Kopienzahlverlusts ist bei der Array-CGH-Analyse von Tumorgenomen nicht trivial. Dies ist zum einen dadurch bedingt, dass Tumoren häufig genetisch heterogen sind. Sie können neoplastische Zellpopulationen mit unterschiedlichen genetischen Veränderungen aufweisen, die durch klonale Expansion entstanden sind, und enthalten meist auch eine Beimischung nichtneoplastischer Zellen ohne diese tumorspezifischen Aberrationen. Zum anderen können in Tumorgenomen hyperdiploide, z. B. nahe tetraploide Chromosomensätze vorliegen. In diesem Fall werden bei der Array-CGH-Auswertung relative Unterschiede zu 4 und nicht zu 2 Chromosomenkopien bestimmt. Insofern kann ein Profilausschlag auf  $-0,5 \log_2 T:R$ -Verhältnis entweder eine homozygote Deletion des Tumorsuppressorgens in etwa 35% der Zellen bedeuten (experimentell ermittelt von Weber et al. [18]) oder eine heterozygote Deletion in mehr als 35% der Zellen oder eine Reduktion der Kopienzahl z. B. von 4 auf 2 (▣ **Abb. 1**). Genauso ist ein Profilausschlag auf  $-1,0 \log_2 T:R$ -Verhältnis mit einer homozygoten Deletion in einer größeren Anzahl von Zellen auf dem Tumor-

dingbar, falls die Kontroll-DNA nicht vom gleichen Patienten stammt.

**Identifizierung von Tumorsuppressorgen**

Verluste im Array-CGH-Profil einer TumordNA weisen auf die Lokalisati-

schnitt oder mit einer stärkeren Reduktion der Kopienzahl z. B. von 4 auf 1 verbunden; darüber hinaus kann eine heterozygote Deletion in einer zellulären Subpopulation vorliegen (■ **Abb. 1**). Ohne zusätzliche Untersuchungen auf zellulärer Ebene, z. B. durch Interphase-FISH an Tumorschnitten, ist eine genaue quantitative Aussage nicht möglich. Darüber hinaus bietet eine unabhängige Methode, wie FISH, quantitative PCR oder MLPA-Analyse, eine qualitative Überprüfung des Befunds.

Durch größere Verluste im Array-CGH-Profil, die eine Untergliederung im Ausmaß des Ausschlags aufweisen, wird die Komplexität der genetischen Verhältnisse in Tumorgenomen weiter verdeutlicht (Schema eines Profils aus eigenen unveröffentlichten Daten: ■ **Abb. 2**). Hier wäre es das Ziel, durch Array-CGH die Bruchpunkte des Verlusts zu bestimmen und damit die chromosomale Region zu definieren, in der Kandidatentumorsuppressorgene lokalisiert sind. Durch die Schwankungen des Profilausschlags sind jedoch nicht 2, sondern 4 Bruchpunkte zu vermuten (■ **Abb. 2**), sodass der Array-CGH-Befund klärungsbedürftig ist. Mittels FISH mit BAC(„bacterial artificial chromosome“-Sonden auf Chromosomen aus kultivierten Zellen dieses Tumors zeigte sich, dass die beiden Homologen des betroffenen Chromosoms Deletionen unterschiedlicher Größe tragen und die Bruchpunkte beider Deletionen nicht übereinstimmen (eigene unveröffentlichte Daten, ■ **Abb. 2**). Im Zusammenhang mit den FISH-Daten ist das Array-CGH-Profil dann eindeutig interpretierbar, und es kann eine überlappend verlorene Region (B<sub>2</sub>–B<sub>3</sub>), die die besonders interessanten biallelisch deletierten Gene enthält, abgelesen werden. Die Interpretation dieses Array-CGH-Profiles ist zusätzlich dadurch erschwert, dass die Ausschläge nicht die typischen log<sub>2</sub>-Werte erreichen. Dies kann z. B. durch eine Beimengung von nichtneoplastischen Zellen in der analysierten DNA bedingt sein.

### Identifizierung von Protoonkogenen

Gewinne im Array-CGH-Profil einer TumordNA weisen auf die Lokalisation von

medgen 2008 · 20:395–400 DOI 10.1007/s11825-008-0136-5  
© Springer Medizin Verlag 2008

R.G. Weber

### Array-CGH für die Analyse von Tumorgenomen

#### Zusammenfassung

Durch Array-CGH („comparative genomic hybridization“) können genomweit Kopienzahlveränderungen mit hoher Auflösung erfasst werden. In der letzten Dekade zeigte sich, dass diese in Tumorgenomen häufig und in größerer Anzahl vorliegen können. Über Abweichungen im Array-CGH-Profil einer Tumor-DNA können Tumorsuppressor- oder Protoonkogene kartiert werden, sodass krebserlevante Gene identifiziert werden konnten. Weiterhin werden Aberrationsmuster erfasst, was zur molekularen Subklassifikation von Tumortypen mit diagnostischer

Bedeutung führte. Auch zur Identifizierung neuer prognostischer Marker konnten Array-CGH-Analysen beitragen. In Zukunft werden eine Datenbewertung durch Einbeziehung von Analysen auf anderen molekularen Ebenen und eine gezielte Anwendung mit chromosomen- oder tumorspezifischen Mikroarrays wichtig sein.

#### Schlüsselwörter

Array-CGH · Tumorsuppressorgene · Protoonkogen · Molekulare Subklassifikation · Prognostischer Marker

### Array CGH for the analysis of tumor genomes

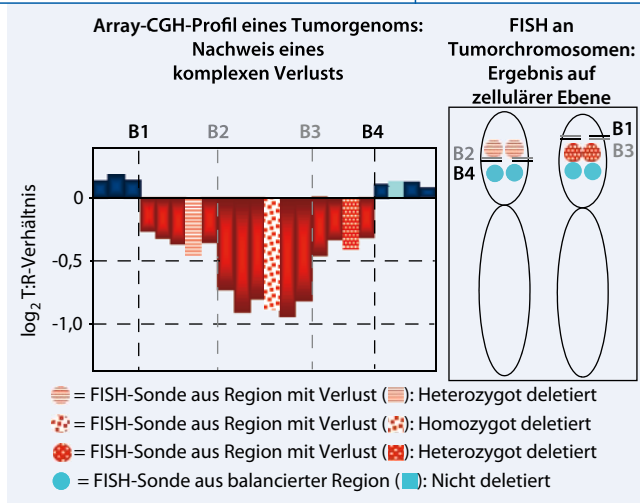
#### Abstract

Array comparative genomic hybridization (array CGH) allows the genome-wide analysis of copy number changes at a high resolution. In the last decade, such copy number aberrations have been found frequently and in large quantities in tumor genomes. Alterations in the array CGH profile of tumor DNA indicate the location of tumor suppressor or proto-oncogenes, thereby enabling identification of cancer-relevant genes. In addition, patterns of aberrations have been detected that allow the molecular subclassification of certain tumor types with diagnostic significance. Ar-

ray CGH analyses have also been instrumental in identifying new prognostic markers. In the future, data evaluation by integrated approaches, including other molecular levels and the selective use of chromosome and tumor-specific microarrays, will be of particular importance.

#### Keywords

Array CGH · Tumor suppressor gene · Proto-oncogene · Molecular subclassification · Prognostic marker



**Abb. 2** ▲ Schematische Darstellung eines Array-CGH-Profiles mit komplexem Verlust (rote Balken) und dazugehöriges Ergebnis auf zellulärer Ebene durch FISH an Tumorchromosomen nach eigenen unveröffentlichten Daten, *B1, B4* Bruchpunkte, die die Deletion proximal und distal begrenzen, *B2, B3* aufgrund des Profilverlaufs vermutete, zusätzliche Bruchpunkte (Aufklärung mittels FISH), weitere Erläuterung s. Text

durch Kopienzahlvermehrung aktivierte Protoonkogene hin. Dabei wird bei der Analyse von Tumorgenomen im Wesentlichen auf Amplifikationen geachtet. Diese bewirken ausgeprägte Profilausschläge z. B. auf  $3,0 \log_2$  T:R-Verhältnis, was einer Kopienzahl von mehr als 20 pro Zelle entspricht, wenn man Interphase-FISH-Analysen an den dazugehörigen Tumorschnitten durchführt (■ **Abb. 3**, experimentell ermittelt von Hoischen et al. [6]). Bei umschriebenen Amplikons mit einem einzelnen Gipfel ist das „Zielgen“ der Amplifikation in einem Vergleich mit Genomdatenbanken oft dadurch ablesbar, dass es im Bereich des höchsten Ausschlags lokalisiert ist [1, 6]. Häufig sind Amplikons jedoch groß, z. B. 3,4 Mb [4], sodass die Identifizierung der relevanten Kandidatenprotoonkogene in genreichen Regionen und beim Vorliegen mehrerer Amplifikationsgipfel schwierig sein kann. Hier kann eine zusätzliche Array-CGH-Analyse mit Mikroarrays mit höherer Auflösung für die interessante Region und die Durchführung von Expressionsanalysen zielführend sein [4, 13].

Geringfügigen Gewinnen, d. h. Profilausschlägen auf  $0,5 \log_2$  T:R-Verhältnis, wurde in der Tumorgenetik häufig nicht weiter nachgegangen. Dies liegt zum einen an der Vielzahl der genomischen Aberrationen, die in vielen, besonders in den malignen Tumoren vorliegt, die bedingt,

dass meist nur die offensichtlichsten Befunde (d. h. die umschriebenen Verluste und die Amplifikationen) weiter verfolgt werden. Zum anderen umfassen Gewinne mit geringem Ausschlag meist größere chromosomale Regionen, z. B. einen Chromosomenarm oder sogar ein ganzes Chromosom. Eine weitere Eingrenzung von Kandidatengenen durch einen solchen Befund kann meist nur dann erzielt werden, wenn der Gewinn einen euchromatischen Bruchpunkt aufweist, an dem ein Protoonkogen lokalisiert ist. Des Weiteren ist bei Tumorgenetikern umstritten, ob eine geringe Kopienzahlvermehrung in Tumoren eine wichtige pathogenetische Bedeutung hat. Daher ist es von besonderem Interesse, dass Pfister et al. [11] jetzt mittels Array-CGH eine durch Interphase-FISH verifizierte Mikroduplikation in niedriggradigen Astrozytomen identifiziert haben. Ihre Arbeit zeigt, dass ein Profilausschlag auf  $0,5 \log_2$  T:R-Verhältnis bei der Array-CGH-Analyse eines Tumorgenoms einer Kopienzahlerhöhung auf 3 bei diploidem Chromosomensatz entsprechen kann (■ **Abb. 3**) und dass diese Duplikation von tumorigenetischer Bedeutung ist, da sie das *BRAF*-Protoonkogen beinhaltet, in dem auch Punktmutationen in dieser Tumorentität nachweisbar waren. Darüber hinaus konnte ein *BRAF*-knock-down mittels RNA-Interferenz die Proliferation kultivierter niedrig-

gradiger Astrozytomzellen blockieren, so dass die Bedeutung der *BRAF*-Duplikation auch durch funktionelle Analysen bestätigt wurde [11].

Tumorrelevante Kandidatengene können auch mittels „array painting“ identifiziert werden, wenn die Testsonde für die Array-CGH aus mittels Durchflusszytometrie sortierten und amplifizierten Tumorchromosomen besteht. An den so kartierten Bruchpunkten chromosomaler Translokationen können Protoonkogene lokalisiert sein, die durch Genfusion aktiviert wurden [7].

## Diagnostische Bedeutung

Da die Array-CGH-Analyse eine genomweite Erfassung von Kopienzahlveränderungen ermöglicht, können Aberrationsmuster erkannt und ein genetisches Profil von Tumoren erstellt werden. Bei unterschiedlichen Hirntumorentitäten ist es beispielsweise gelungen, durch eine Clusteranalyse der Array-CGH-Daten genetische Subgruppen zu identifizieren und damit zur molekularen Subklassifikation dieser Tumoren beizutragen [6, 9]. Interessanterweise war dies nicht nur bei hochmalignen Hirntumoren, den Medulloblastomen, möglich [9], sondern auch bei den in der Regel gutartigen Gangliogliomen [6].

Eine weitere Dimension kommt zur molekularen Definition hinzu, wenn man das transkriptionelle Profil zusätzlich zum genomischen betrachtet und auch balancierte Umbauten berücksichtigt, die mittels FISH detektiert werden können. Durch diese kombinierte Vorgehensweise konnte beispielsweise eine molekulare Signatur des Burkitt-Lymphoms definiert werden, die eine genauere Abgrenzung zum diffusen großzelligen B-Zell-Lymphom erlaubt [8]. Darüber hinaus konnten Subgruppen in anderen reifen, hochmalignen B-Zell-Lymphomen identifiziert werden [8].

## Prognostische Bedeutung

Um Kopienzahlveränderungen mit prognostischer Relevanz mittels Array-CGH zu identifizieren, werden meist die genomischen Aberrationen in Tumoren von Patienten mit unterschiedlichem Tumor-

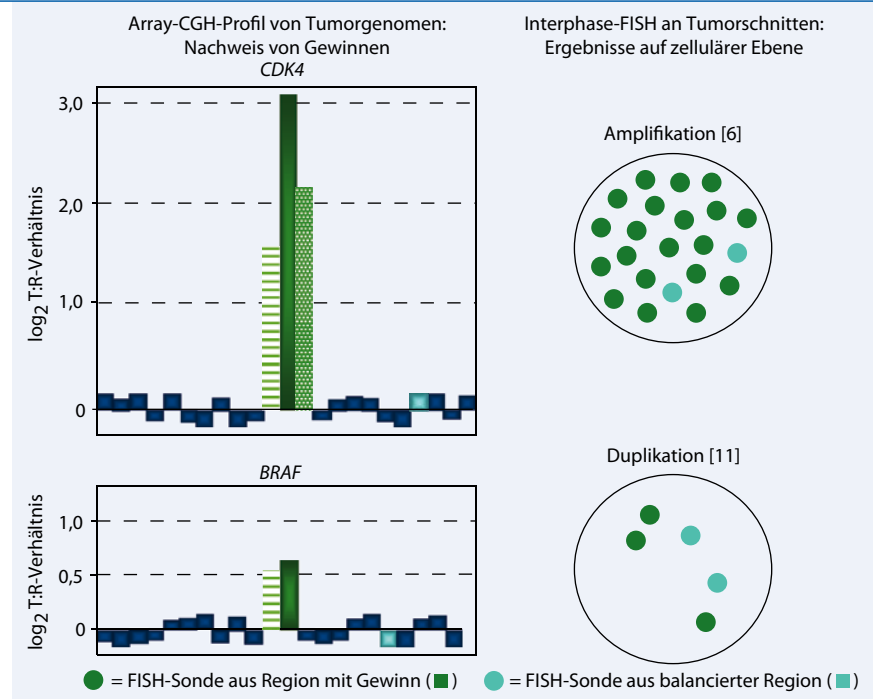
grad, Tumorstadium oder klinischen Verlauf verglichen. Beispielsweise fand sich bei der Array-CGH-Analyse von Prostatakarzinomen, dass der Verlust auf 8p23.2 mit fortgeschrittenem Tumorstadium assoziiert und der Gewinn auf 11q13.1 prädiktiv für das Auftreten eines Tumorrezidivs waren [10]. Eine Alternative ist es, Gruppen mit unterschiedlichem Therapieansprechen zu vergleichen. Bei Kindern mit akuter lymphatischer Leukämie z. B. ergaben Array-CGH-Analysen verschiedene Aberrationen bei Patienten mit unterschiedlich ausgeprägter „minimal residual disease“ nach initialer Therapie [17].

Sind die für einen Tumortyp prognostisch relevanten Kopienzahlveränderungen bereits definiert, ist eine Entwicklung von spezifischen DNA-Mikroarrays für diesen Tumortyp interessant. Ein solcher Mikroarray wurde z. B. für die chronisch lymphatische B-Zell-Leukämie entwickelt, um im Rahmen von klinischen Studien evaluieren zu können, ob Therapieentscheidungen vom Vorliegen bestimmter chromosomaler Aberrationen abhängig gemacht werden sollten [14].

Auch ein kombiniertes Vorgehen, bei dem die Bedeutung der Array-CGH-Daten durch Proteinexpressionsprofile evaluiert wird, kann zur Identifizierung von prognostischen Markern führen. Beim Mammakarzinom wurde beispielsweise nach Array-CGH- und Gewebemikroarrayanalyse deutlich, dass die Amplifikation von *TOP2A* und von *ERBB2* mit einem schlechteren Krankheitsverlauf assoziiert war [2]. Durch diese Methodenkombination konnte außerdem beim Medulloblastom ein für diesen Tumortyp neues Protoonkogen, *CDK6*, als unabhängiger prognostischer Marker identifiziert werden [9].

## Ausblick

In der Tumorgenetik haben wir das Zeitalter genomweiter Untersuchungen aller Arten von DNA-Veränderungen erreicht. Über Kopienzahlveränderungen in unterschiedlichen Tumorentitäten wurden mittels Array-CGH in der letzten Dekade viele relevante Daten generiert, von denen einige hier exemplarisch dargestellt wurden. Dass jeder einzelne Tumor nicht nur



**Abb. 3** ▲ Schematische Darstellung von Array-CGH-Profilen mit Gewinnen unterschiedlichen Ausmaßes und dazugehörige Ergebnisse auf zellulärer Ebene durch Interphase-FISH an Tumorschnitten, Erläuterungen s. **Infobox 2**

eine Vielzahl an Kopienzahlaberrationen größerer und kleinerer chromosomaler Abschnitte, sondern auch eine große Anzahl von mutierten Genen (durchschnittlich etwa 90) enthält, wissen wir erst seit einigen Jahren [15]. Allerdings trägt nur ein Bruchteil dieser Mutationen zum neoplastischen Prozess bei, sodass die Begriffe Driver- und Passenger-Mutationen geprägt wurden. Seit kurzem wissen wir auf Sequenzniveau, was schon aus tumorzytogenetischen Untersuchungen auf chromosomaler Ebene bekannt war, nämlich dass es auch eine Vielzahl von genomischen Rearrangements in Tumorzellen gibt [3].

Die Herausforderungen in der Zukunft werden also sein, die durch genomweite Untersuchungen generierten Befunde zu bewerten bzw. die bisher erhobenen Daten spezifischer anzuwenden. Zum ersten Punkt gehört die kombinierte Bewertung durch Einbeziehung von Analysen auf anderen molekularen Ebenen, nämlich der Genexpression, der Proteinexpression und -funktion, einschließlich der zellulären Ebene z. B. durch Untersuchungen an Tumorschnitten oder -zellkulturen. Ein neuer Aspekt bei der Analyse von Tumorgenomen ist auch die Kombination der Untersuchung von Kopienzahl-

### Infobox 2: Erläuterungen zu **Abb. 3**

Bei der Array-CGH-Analyse von Tumorgenomen können ausgeprägte Gewinne vorkommen (z. B. ein Profilausschlag auf 3,0 log<sub>2</sub> T:R-Verhältnis, grüner Balken im oberen Profil), die in der Regel als Amplifikationen bezeichnet werden und einer starken Vermehrung der Kopienzahl auf zellulärer Ebene entsprechen (z.B. auf mehr als 20 Kopien, experimentell gezeigt von Hoischen et al. [6]). Das „Zielprotoonkogen“ der Amplifikation ist bei einem Amplikon mit einem einzelnen Gipfel meist in der Nähe des höchsten Ausschlags lokalisiert und daher durch einen Vergleich mit Genomdatenbanken ablesbar (hier das *CDK4*-Gen nach Hoischen et al. [6]).

Interessanterweise konnte jetzt gezeigt werden, dass auch ein geringfügiger Gewinn, d. h. ein Profilausschlag auf 0,5 log<sub>2</sub> T:R-Verhältnis (grüne Balken im unteren Profil), der auf zellulärer Ebene einer Duplikation entspricht, für die Tumorgenese relevant sein kann. Das „Zielprotoonkogen“ *BRAF* war im Bereich dieses Gewinns lokalisiert und wies auch Punktmutationen in der untersuchten Tumorentität auf ([11], s. Text).

veränderungen mit der genomweiten Erfassung von uniparentalen Disomien mit SNP („single nucleotide polymorphism“)-Arrays. In diesem Zusammenhang steht auch die zukünftige Berücksichtigung einer möglichen allelspezifischen Expression bei der Interpretation von mit Array-

Hier steht eine Anzeige.



CGH identifizierten Imbalancen. Zum zweiten Punkt gehören gezielte Array-CGH-Analysen mit spezifischen Mikroarrays, die entweder eine höhere Auflösung für ein bestimmtes Chromosom oder eine bestimmte chromosomale Region haben oder tumortypspezifisch sind.

### Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. R.G. Weber**

Institut für Humangenetik,  
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität,  
Wilhelmstraße 31, 53111 Bonn  
ruthild.weber@ukb.uni-bonn.de

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

### Literatur

1. Albertson DG, Ylstra B, Seagraves R et al. (2000) Quantitative mapping of amplicon structure by array CGH identifies CYP24 as a candidate oncogene. *Nat Genet* 25: 144–146
2. Callagy G, Pharoah P, Chin SF et al. (2005) Identification and validation of prognostic markers in breast cancer with the complementary use of array-CGH and tissue microarrays. *J Pathol* 205: 388–396
3. Campbell PJ, Stephens PJ, Pleasance ED et al. (2008) Identification of somatically acquired rearrangements in cancer using genome-wide massively parallel paired-end sequencing. *Nat Genet* 40: 722–729
4. Ehrbrecht A, Müller U, Wolter M et al. (2006) Comprehensive genomic analysis of desmoplastic medulloblastomas: identification of novel amplified genes and separate evaluation of the different histological components. *J Pathol* 208: 554–563
5. Fensterer H, Radlwimmer B, Sträter J et al.; EORTC Gastrointestinal (GI) Group (2007) Matrix-comparative genomic hybridization from multicenter formalin-fixed paraffin-embedded colorectal cancer tissue blocks. *BMC Cancer* 7: 58
6. Hoischen A, Ehrler M, Fassunke J et al. (2008) Comprehensive characterization of genomic aberrations in gangliogliomas by CGH, array-based CGH and interphase FISH. *Brain Pathol* 18: 326–337
7. Howarth KD, Blood KA, Ng BL et al. (2008) Array painting reveals a high frequency of balanced translocations in breast cancer cell lines that break in cancer-relevant genes. *Oncogene* 27: 3345–3359
8. Hummel M, Bentink S, Berger H et al.; Malignant Lymphomas Network Project of the Deutsche Krebshilfe (2006) A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* 354: 2419–2430
9. Mendrzyk F, Radlwimmer B, Joos S et al. (2005) Genomic and protein expression profiling identifies CDK6 as novel independent prognostic marker in medulloblastoma. *J Clin Oncol* 23: 8853–8862
10. Paris PL, Andaya A, Fridlyand J et al. (2004) Whole genome scanning identifies genotypes associated with recurrence and metastasis in prostate tumors. *Hum Mol Genet* 13: 1303–1313
11. Pfister S, Janzarik WG, Remke M et al. (2008) *BRAF* gene duplication constitutes a mechanism of MAPK pathway activation in low-grade astrocytomas. *J Clin Invest* 118: 1739–1749
12. Pinkel D, Seagraves R, Sudar D et al. (1998) High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet* 20: 207–211
13. Rücker FG, Bullinger L, Schwaenen C et al. (2006) Disclosure of candidate genes in acute myeloid leukemia with complex karyotypes using microarray-based molecular characterization. *J Clin Oncol* 24: 3887–3894
14. Schwaenen C, Nessling M, Wessendorf S et al. (2004) Automated array-based genomic profiling in chronic lymphocytic leukemia: development of a clinical tool and discovery of recurrent genomic alterations. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 1039–1044
15. Sjöblom T, Jones S, Wood LD et al. (2006) The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science* 314: 268–274
16. Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S et al. (1997) Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 20: 399–407
17. Steinemann D, Cario G, Stanulla M et al. (2008) Copy number alterations in childhood acute lymphoblastic leukemia and their association with minimal residual disease. *Genes Chromosomes Cancer* 47: 471–480
18. Weber RG, Hoischen A, Ehrler M et al. (2007) Frequent loss of chromosome 9, homozygous CDKN2A/p14(ARF)/CDKN2B deletion and low TSC1 mRNA expression in pleomorphic xanthoastrocytomas. *Oncogene* 26: 1088–1097
19. Zardo G, Tiirikainen MI, Hong C et al. (2002) Integrated genomic and epigenomic analyses pinpoint biallelic gene inactivation in tumors. *Nat Genet* 32: 453–458