

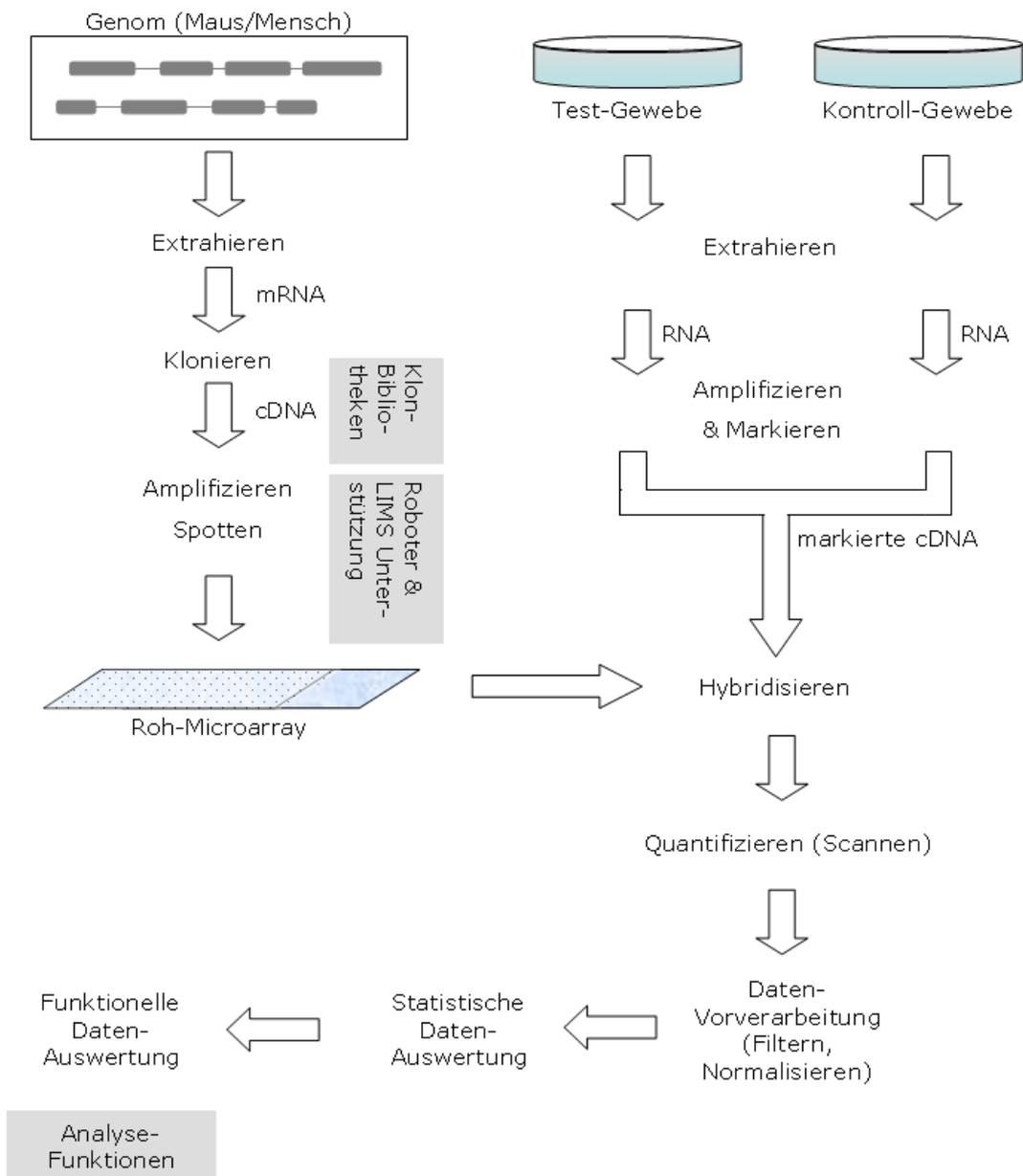
1. Einleitung

1.1. DNA-Microarray-Experimente

Die Entwicklung und der Einsatz neuer Messmethoden, die es ermöglichen, im Hochdurchsatz Zustände von Genom, Transkriptom und Proteom zu untersuchen, haben die moderne biologisch-medizinische Forschung revolutioniert. Studien über mehrere tausend Messpunkte mit Patientenkollektiven aus mehreren hundert Proben gehören mittlerweile zum Standard innerhalb dieses Bereiches. Vor allem im Bereich der Nukleinsäureanalytik haben sich hierzu innerhalb der letzten Jahre eine Vielzahl neuer Techniken etabliert (Übersicht in Gray und Collins 2000). Besonders erfolgreich entwickelten sich Microarray-basierte Messungen von Veränderungen im Gehalt der genomischen DNA oder im Expressionsmuster der mRNA.

Die DNA-Microarray-Technik basiert auf Hybridisierungsereignissen zwischen Nukleinsäurefragmenten, nutzt also deren Eigenschaft, reversible Bindungen zwischen komplementären Einzelstrangmolekülen eingehen zu können. Die zugrunde liegende Idee, eine markierte Probe auf immobilisierte DNA zu hybridisieren, geht auf Edwin Southern zurück (Southern *et al.*, 1975), bei dessen *Southern-Blot* Technik eine radioaktiv-markierte DNA-Probe mit genomischer DNA reagiert, die auf einer flexiblen Membranen (z.B. aus Nitrozellulose) fixiert ist. Während hier jedoch eine spezifische mobile Sonde zur Identifikation und Quantifizierung von unbekannter immobilisierter DNA dient, wird z.B. bei einem Experiment mit einem Expressions-Microarray die gesamte mRNA einer Zelle markiert und auf eine Matrix von bekannten und exakt platzierten DNA-Fragmenten hybridisiert. Wurde diese Matrix zunächst auf Nylonfilter aufgebracht (Makroarrays), haben sich inzwischen solide Träger durchgesetzt. Man unterscheidet Microarrays, bei denen isolierte cDNA-Fragmente oder synthetisierte DNA-Oligomerfragmente auf eine Glasoberfläche (Objektträger) gebracht werden (Shena *et al.*, 1995, Lipshutz *et al.*, 1995) und solche, bei denen eine Synthese von Oligomeren direkt auf der Oberfläche stattfindet (Pease *et al.*, 1994). Letztere Technik hat durch die Vermarktung durch die Firma Affymetrix große Verbreitung gefunden. Ein Schema der Microarray-Methode zeigt Abb. 1.

a.



b.

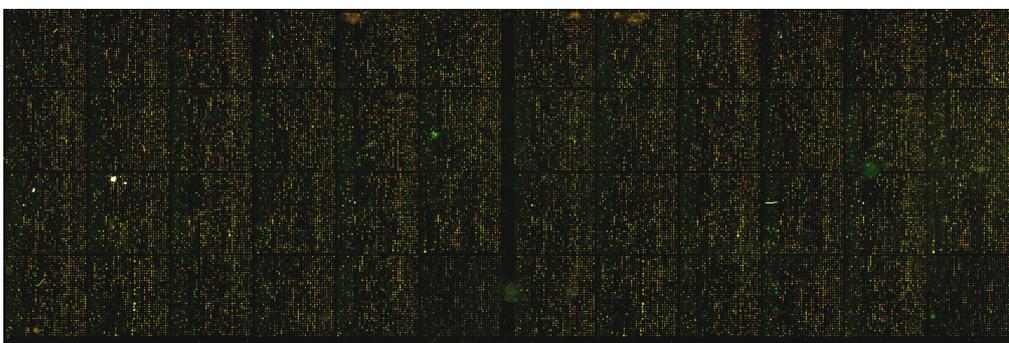


Abb. 1: DNA Microarrays

1.a. Schema der Methode am Beispiel von cDNA-Expression-Profiling; Grau unterlegt sind die in dieser Arbeit vorgestellten Computeranwendungen zur Bearbeitung des jeweiligen Schrittes.

1.b. Falschfarbenbild eines „eingescannten“ Microarrays (L. Hummerich)

Ein jüngerer Bereich der Microarray-Forschung nutzt fixierte Proben genomischer DNA, um Veränderungen in der Kopienzahl ganzer Bereiche des Genoms zu detektieren. Diese matrixCGH oder arrayCGH genannte Technik (Solinas-Toldo *et al.*, 1997, Pinkel *et al.*, 1998) stellt eine Weiterentwicklung der cytogenetischen Methode der chromosomalen *Vergleichenden Genomischen Hybridisierung (Comparative Genomic Hybridization, CGH; Kallioniemi et al., 1992, Joos et al., 1993, du Manoir et al., 1993)* dar. Die Auflösung zur Detektion von Veränderungen konnte dadurch von ca. 10 MB auf ca. 0,1 MB verbessert werden (Fiegler *et al.*, 2002, Wessendorf *et al.*, 2002, Ishkanian AS *et al.*, 2004). Vor allem im Bereich der Krebsforschung wurde die Methode erfolgreich für verschiedene Fragestellungen angewendet (z.B. Fritz *et al.*, 2002, Schwaenen *et al.*, 2004, Wessendorf *et al.*, 2003).

Als DNA-Microarray oder DNA-Chip gilt also im Allgemeinen ein miniaturisierter Träger mit einer meist aus Glas bestehende Oberfläche, auf die an definierten Positionen in einem komplexen Produktionsprozess unterschiedliche Nukleinsäuren als Hybridisierungsziele aufgebracht und immobilisiert wurden. Im Experiment werden dann die sich in Lösung befindenden komplementären Nukleinsäure-Moleküle hinzugegeben, welche zuvor mit Fluoreszenz-Farbstoffen markiert wurden. Dies ermöglicht die Detektion einer erfolgten Hybridisierung und sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Aussage bei der Auswertung. Diese mittels eines Fluoreszenz-Scanners gemessenen Intensitätswerte sind die Rohdaten des Experiments, welche dann in eine komplexe Datenanalyse einfließen (Abb. 1a). (Zusammenfassung: Holloway *et al.*, 2002)

Microarrays finden inzwischen in den unterschiedlichsten Forschungsgebieten Anwendung. Hervorzuheben sind hier die biologische Grundlagenforschung (Untersuchung von Polymorphismen, Entschlüsselung von Stoffwechsel- und Signalwegen in der Zelle, etc.) und medizinische Anwendungen (Suche nach neuen Ansatzstellen für die Medikament-Entwicklung (*drug targeting*), Therapie-Kontrolle, Diagnose) (Wilgenbus und Lichter, 1999). Sie wurden auch in verschiedenen großen Studien zur Tumorforschung erfolgreich eingesetzt. Perou *et al.*, konnten beispielsweise mit einem Microarray mit 8102 cDNA-Fragmenten 42 Patientenproben aus Mamakarzinom-Gewebe Profile erstellen, welche eine Klassifizierung in Subtypen und damit evt. eine angepasste Therapie mit höheren Überlebens- und Heilungschancen erlauben (Perou *et al.*, 1999). Goloub *et al.* erreichten eine Unterscheidung und Subklassifizierung von Akuter Myeloischer Leukämie (AML) and

Akuter Lymphoblastischer Leukämie (ALL) mit einem Affymetrix-Chip mit Oligofragmenten von 6817 unterschiedlichen Genen. Hierdurch wurde es ihnen unter anderem möglich, einen falsch diagnostizierten Patienten neu zu beurteilen (Goloub *et al.*, 2000). Alizadeh *et al.* untersuchten mit einem cDNA-Microarray, der 17856 hauptsächlich B-Zell-spezifische Gene enthielt, die Expressionsprofile von Patienten mit DLBCL (Diffuse large B-cell Lymphoma), der häufigsten Form von *Non-Hodgkin* Lymphomen. Sie konnten die klinische Unterscheidung von „Responders“ (der Tumor spricht auf die verabreichte Therapie an) und „Non-Responders“ (es ist keine Verbesserung feststellbar) mit molekularen Markern nachweisen und zwei unterschiedliche Signaturen erkennen (Alizadeh *et al.*, 2000). Rosenwald *et al.* zeigten durch Experimente mit einem 18000 Fragment „Lymphochip“-Microarray und spezialisierter bioinformatischer Analysemethoden, dass es eine Einteilung von CLL (B-Zell Chronisch-Lymphatische Leukämie)-Erkrankungen gibt, welche die klinische Prognose besser beschreibt als die zuvor gültige klinische Unterteilung. Die Therapiemöglichkeiten können dadurch individuell angepasst werden (Rosenwald *et al.*, 2001).

Durch den Einsatz der Microarray-basierten Technologien ist es möglich geworden, Veränderungen in Genom und Transkriptom umfassend zu verfolgen. Dies erlaubt die genauere Analyse von Tumorpathomechanismen, die Identifikation neuer prognostischer Marker sowie eine Verbesserung der Tumorklassifikation.

1.2. Datenverarbeitung in Hochdurchsatz-Experimenten

Der Einsatz von Hochdurchsatz-Methoden in der Forschung verlangt aufgrund der Quantität der Datenwerte, der Geschwindigkeit ihrer Generierung und der Komplexität der sich anschließenden Auswertung die Entwicklung von spezialisierten Datenverarbeitungssystemen. Die Bioinformatik hat sich in den letzten zehn Jahren zu einer eigenständigen Disziplin entwickelt. Neben den bereits älteren Gebieten der Sequenzuntersuchung (Vergleich von Sequenzen innerhalb und zwischen verschiedenen Spezies, Detektion von Sequenz-Motiven und kodierenden Sequenzen, etc.) und der Strukturerforschung von Proteinen, sind inzwischen eigene Forschungsschwerpunkte zur Entwicklung von Analysemethoden für komplexe biologische Experimente, zur Datenspeicherung und zum Datenaustausch entstanden. Hierbei ist vor allem die Bedeutung von forschungsrelevanten Datenbanken stark gewachsen. Daten unterschiedlichster Art und Menge sinnvoll zu speichern, zu bearbeiten und zur Verfügung zu stellen, ist für die Ausführung von vielen biologischen Experimenten zur Grundvoraussetzung geworden (Zusammenfassung: Persidis 1999). In der Bioinformatik werden Methoden aus der Mathematik (Statistik), der klassischen Informatik, Automatisierungsforschung, Bildverarbeitung und anderen Gebieten kombiniert und weiterentwickelt.

Bei der Durchführung von Microarray-Experimenten wird die Abhängigkeit von dedizierten Datenverwaltungssystemen besonders deutlich (vergl. Tabelle 1). Bereits bei der Entwicklung eines Arrays ist der Wissenschaftler darauf angewiesen, aus öffentlichen Datenbanken Gene, Klone, bzw. Sequenzen auszusuchen, die auf dem *Array* platziert werden sollen (*Feature Selection*). Beim Produktionsvorgang sind erhebliche Datenmengen zu verwalten, um eine verlässliche Qualität erreichen zu können und es ist eine hochgradige Automatisierung wünschenswert (Produktionssysteme, Qualitätsmanagement). Die im Experiment generierten Rohdaten sind wiederum umfangreich und müssen in einem mehrstufigen Prozess ausgewertet und gespeichert werden (Ergebnis-Datenbanken, Datenanalyse-Programme). Das Endergebnis schließlich ist meist zu komplex, um direkt die medizinische oder biologische Relevanz erkennen zu lassen. Die Interpretation eines Experiments und darauf basierende Entscheidungen müssen sich auf eine umfangreiche Datenbasis und eine verlässliche Analytik stützen können (Daten-Annotation und -Interpretation).

Ablauf des Experiments	Fragen an die Datenverarbeitung
Pre-Experiment: <ul style="list-style-type: none"> Planung & Design der Studie 	Welche Fragmente sollen auf den Microarray? Was ist grundsätzlich über die Fragmente bekannt?
Experiment <ul style="list-style-type: none"> Proben- und Microarray-Vorbereitung Hybridisierung Scannen 	Wie lässt sich der Produktionsprozess steuern? Wie wird eine ausreichende Qualität gewährleistet? Wie werden die Daten archiviert?
Daten-Vorverarbeitung <ul style="list-style-type: none"> Quantifizieren der Signale Qualitätskontrolle der Signale Normalisierung Filterung 	Existiert eine verlässliche automatisierte Spot-Erkennung? Wie lässt sich die Qualität bewerten? Wie gut sind die Daten?
Weiterführende Daten-Verarbeitung <ul style="list-style-type: none"> Veränderte / interessante Fragmente identifizieren Anwendung von <i>Clustering</i> und anderen Techniken des <i>Data Mining</i> 	Lassen sich Gruppen oder einzelne Fragmente identifizieren? Was sind die Kern-Aussagen des Experimentes?
Wissenschaftliche Interpretation der Ergebnisse <ul style="list-style-type: none"> Vergleich mit bekannten Ergebnissen Modell / Hypothesenbildung 	Wie hoch ist die biologische / medizinische Relevanz der Ergebnisse?
Post-Experiment <ul style="list-style-type: none"> Verifizierung der Daten mit anderen Methoden Planung / Durchführung von zusätzlichen Experimenten 	Welche Ergebnisse lassen sich verifizieren? Wie lässt sich die Studie erweitern?

Tabelle 1: Durchführung eines Microarray-Experiments und dazugehörige Fragen an die Datenverarbeitung (nach Bobo, 2002)

Die neuen Technologien der molekularen Forschung bieten die Möglichkeit zur Analyse komplexer Zusammenhänge in Genom und Transkriptom. Für die erfolgreiche Anwendung ist das enge Zusammenwirken von Biologie und Informatik notwendig. Dies betrifft sowohl die Planung und Vorbereitung des Experiments, als auch die Durchführung und Analyse. Für Teilbereiche dieser Problematiken stellt die vorliegende Arbeit neue Methoden vor. Sie wurden im Rahmen von Forschungsprojekten zur Untersuchung der Entstehung und Progression von Krebserkrankung entwickelt und angewandt.

2. Problemstellungen und Relevanz

2.1. Entwicklung eines Managementsystems für Klon-Bibliotheken

Informationen über die auf einem DNA-Microarray aufgebrachten Zielsequenzen stellen die Basis für die Auswertung eines Microarray-Experiments dar (Holloway *et al.*, 2002). Jede Aussage über eine hybridisierte Probe stützt sich auf diese Informationen. Es ist daher von grundlegender Bedeutung, möglichst umfassende und verlässliche Angaben zu einer vorhandenen Klonsammlung für Microarray-Experimente zur Verfügung zu haben. Typischerweise handelt es sich um Sammlungen von in *E.coli*-Bakterien amplifizierten Plasmidfragmenten. Die Fragmente sind zwischen 150 und 2000 kb lang und möglichst hochspezifisch für bestimmte Sequenzen des Genoms, meistens für Gen-assoziierte Bereiche.

Grundsätzliche Anforderung an ein Datenverwaltungssystem für eine Klon-Bibliothek umfassen folgende Punkte:

A. Quantität

Es sollen sämtliche Fragmente erfasst werden; neue Sammlungen oder Einzelklone müssen jederzeit aufgenommen werden können. Es muss daher mit einer großen Datenmenge umgegangen werden.

B. Flexibilität

Die Fragmente entsprechen Sequenzen unterschiedlicher Organismen, beinhalten sowohl cDNA-Klone, als auch Oligomer-Proben und genomische DNA-Abschnitte und stammen von verschiedenen Herstellern und Sammlungen. Die Struktur des Systems muss diese Heterogenität zulassen.

C. Information und Aktualität

Die Fragmente sollen eine möglichst umfassende Annotation erhalten. Dies beinhaltet z.B. enthaltene Gene, offizielle Datenbank-Kennungen und wenn möglich Informationen zu Funktionen, die dem neuesten Wissensstand entsprechen und sich aktualisieren lassen.

D. Interaktivität

Es muss die Möglichkeit für einzelne Benutzer gegeben sein, Informationen zum Wachstum der Klone und zu einer erfolgten Sequenzierung eingeben zu können.

E. Verfügbarkeit

Die gesammelten Informationen müssen jederzeit und von unterschiedlichen Benutzern abrufbar sein.

F. Datenschutz

Die Daten müssen jedoch zugleich gegen einen unbefugten Zugriff geschützt werden.

Existierende Systeme sind meist auf Ergebnis-Daten fokussiert. Die Anforderungen, z.B. auch genomische Klondaten zu integrieren, werden von anderen Datenbanken nicht erfüllt.

2.2. Kontrolle und Archivierung des Prozessablaufs zur Herstellung von Microarrays

Die Anwendung von DNA-Microarrays ist in Bezug auf die Datenmenge in vielerlei Hinsicht ein Hochdurchsatz-Verfahren (*high-throughput application*). Es können einerseits mit einer einzelnen Hybridisierung mehrere tausend Zielstellen – exprimierte Gene bei cDNA-Arrays, bzw. genomische Kopienzahlen bei der Matrix CGH - gleichzeitig überprüft und entsprechend viele Datenpunkte als Messergebnis generiert werden. Andererseits fallen jedoch bereits vor der eigentlichen Durchführung des Hybridisierungs-Experiments Datenmengen an, die erfasst und bearbeitet werden müssen. Die Produktion der Arrays ist ein mehrstufiger Prozess, bei dem an verschiedenen Stellen schwer zu erfassende Fehler entstehen können und welcher vollständig kontrolliert werden muss. Dies ist vor allem dann von Bedeutung, wenn – wie im vorliegenden Fall – Microarrays für klinische Projekte eingesetzt werden bzw. für externe Kollaborationspartner produziert werden und dadurch eine gewisse Qualitäts- und Auskunftspflicht besteht. Bei einem möglichen wöchentlichen Durchsatz von ca. 10.000 Proben zur Arrayproduktion, besteht ferner ein großer Bedarf, möglichst viele Abschnitte des Prozesses automatisiert ablaufen zu lassen.

Ziel dieses Teilprojekts war es, ein Prozessdatenbank-System zu entwickeln, welches die Herstellung der Microrarrays begleitet und unterstützt. Es soll im Einzelnen folgende Aufgaben erfüllen:

- A. Direkte Anbindung an einen Laborroboter, der die Mehrzahl der automatisierbaren Schritte durchführt und Daten mit dem System austauschen soll. Es handelt sich dabei um den Pipettier-Roboter *Minitrak* (Perkin Elmer, Rodgau-Jüdesheim).
- B. Erfassung und gesicherte Archivierung sämtlicher Daten, die bei der Produktion anfallen und Relevanz für eine Proben-Rückverfolgung und Fehleranalyse haben können.
- C. Abbildung des aktuellen Produktions-Protokolls, um Benutzer und Roboter leiten zu können.
- D. Netzwerk-Kommunikation mit der Klon-Datenbank.

Es soll ein auf den Microarray-Produktionsprozess spezialisiertes Labordatensystem (*Laboratory Information Management System, LIMS*) entwickelt werden. Wünschenswert ist dabei eine gewisse Flexibilität hinsichtlich des Protokolls, sowie eine Absicherung des Prozesses und der Prozessdaten vor unbefugtem, bzw. unkontrolliertem Zugriff. Im akademischen Bereich wurde ein solches System bisher nicht vorgestellt. Kommerzielle Software ist unangemessen teuer und müsste für die beschriebenen Anforderungen grundlegend angepasst werden.

2.3. Generierung von Primersequenzen für *Real-Time PCR* Experimente

Trotz großer Fortschritte in Bezug auf die Verlässlichkeit (Reproduzierbarkeit) von Ergebnissen aus Microarray-Experimenten, liefert die Methode als so genannte *screening method* primär einen *Überblick* über die biologische Wirklichkeit. Die Ergebnisse bedürfen in jedem Fall einer nachfolgenden Verifizierung durch alternative Methoden. Hierzu bietet sich z.B. die *Quantitative Real-Time PCR* an (Wittwer *et al.*, 1989). Bei dieser Methode wird die Amplifikation eines definierten Sequenzabschnitts durch fluoreszenzmarkierte Sonden-Moleküle gemessen. Der Vergleich mit Sequenzabschnitten bekannter Konzentration erlaubt eine exakte Quantifizierung. Die Generierung der Primersequenzen im großen Maßstab für diese Technik ist aufwendig und von entscheidender Bedeutung für den Ausgang des Experiments. Einerseits kann es zu falsch-negativen Aussagen kommen, falls die Sequenz nicht

exakt dem tatsächlich auftretenden mRNA-Fragment entspricht. Andererseits können leicht falsch-positive Ergebnisse entstehen, sowohl durch Kreuzhybridisierungen mit anderen Sequenzabschnitten, als auch durch genomische Kontaminationen. Beim Primer-Design müssen daher die Sequenzen sehr sorgfältig gewählt und sämtliche Parameter überprüft werden. Für den Einsatz bei Hochdurchsatz-Experimenten ist es unabdingbar diesen Ablauf weitestgehend zu automatisieren. Während dies für die Parameter-Überprüfung bereits durchgeführt wird, müssen die Auswahl und Eingabe der Ausgangssequenz noch manuell erfolgen. Es war daher wichtig, weitere Schritte dieses Prozesses durch eine Software-Lösung zu ergänzen.

2.4. Computergestützte Analyse von Microarray-Ergebnissen

Das vorläufige Endergebnis eines Microarray-Versuches nach der ersten statistischen Auswertung (Tabelle 1) besteht im Normalfall aus verschiedenen Listen von DNA-Fragmenten (bzw. Genen), die aufgrund der Messwerte interessant erscheinen, weil sie z.B. Unterscheidungen zwischen untersuchten Gruppen erlauben. Die tatsächliche medizinische Relevanz, bzw. der biologische Zusammenhang ist in diesem Stadium der Analyse nur selten abzuschätzen. Die Interpretation des Ergebnisses kann aufgrund der Datenmenge und der heute verfügbaren Informationsdichte nicht mehr allein durch das geschulte Auge eines Spezialisten durchgeführt werden, es bedarf auch hier einer breiten Unterstützung durch bioinformatische Methoden. Dazu müssen möglichst umfassend Zusatzinformationen (Annotationsdaten) zu den analysierten Proben und Fragmenten gesammelt und in die Analyse miteinbezogen werden. Die möglichen Zusammenhänge innerhalb dieser Daten, bzw. zwischen diesen Daten und den Messwerten müssen daraufhin untersucht werden. Wünschenswert ist ferner eine Vergleichsmöglichkeit der Ergebnisse von unterschiedlichen methodischen Ansätzen.

Ein Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war, ein Softwaresystem zu entwickeln, das diese Aufgaben ermöglicht, um eine umfassende und valide Interpretation der Ergebnisse zu erlangen. Es baut damit auf die zuvor beschriebenen Aufgaben und Systeme auf, indem es auch deren Daten einbezieht.

Als inhaltliche Anforderungen lassen sich folgende Fragestellungen hervorheben:

A. Welche Informationen gibt es zu den untersuchten Fragmenten eines

Experiments?

- B. Sind Korrelationen dieser Annotationsdaten mit dem Messdaten erkennbar, lassen sich also biologische Zusammenhänge detektieren (gemeinsame Regulation, gleiche genomische Lokalisierung, etc.)?
- C. Wo gibt es Parallelen im Ergebnis verschiedener Studien gleicher oder unterschiedlicher Methodik?

Die Integration unterschiedlicher Informationsquellen stellt eine Schlüsselrolle in der komplexen Datenanalyse von Hochdurchsatz-Methoden dar. Problematiken hierbei stellen die Quantität, Heterogenität und Aktualität der verfügbaren Datenquellen dar (Haas *et al.*, 2001). Die Speicherung, Bearbeitung und die Vernetzung der Informationsmengen müssen mittels spezialisierter Methoden der Bioinformatik gelöst werden. Als Forschungszweig ist dazu das *Data Mining*, bzw. das so genannte *Knowledge Discovery from Databases* (KDD) entstanden. KDD bezeichnet den „nichttrivialen Prozess der Identifikation valider, neuartiger, potenziell nützlicher und klar verständlicher Muster in Daten.“ (Oberlé, 2000)

Ziel dieses Projektes war es, ein System zu schaffen, welches die Interpretation von experimentellen Ergebnissen mit Hilfe von Annotationsdaten und die Zusammenführung von relevanten Informationen aus heterogenen Datenquellen ermöglicht.

2.5. Untersuchung der Pathomechanismen von *Non-Melanom* Hautkrebs

Non-Melanom Hautkrebs, zu welchem das Basalzellkarzinom (*basal cell carcinoma*, BCC) und das Spinalzellkarzinom (*squamous cell carcinoma*, SCC) gerechnet wird, gehört zu den häufigsten Krebserkrankungen der weißen Bevölkerung (Dooley *et al.*, 2003). Den größten Risikofaktor stellt chronische UV-Bestrahlung (Sonnenlicht) dar. Die molekularen Grundlagen der mehrstufigen Karzinogenese sind bisher nur zum Teil bekannt. Untersuchungen an Tiermodellen erlauben es, detaillierte Erkenntnisse zu involvierten Genen in den einzelnen Stadien, bzw. den zugrunde liegenden Mechanismen der Tumorenstehung zu gewinnen. Das Modell zur mehrstufigen

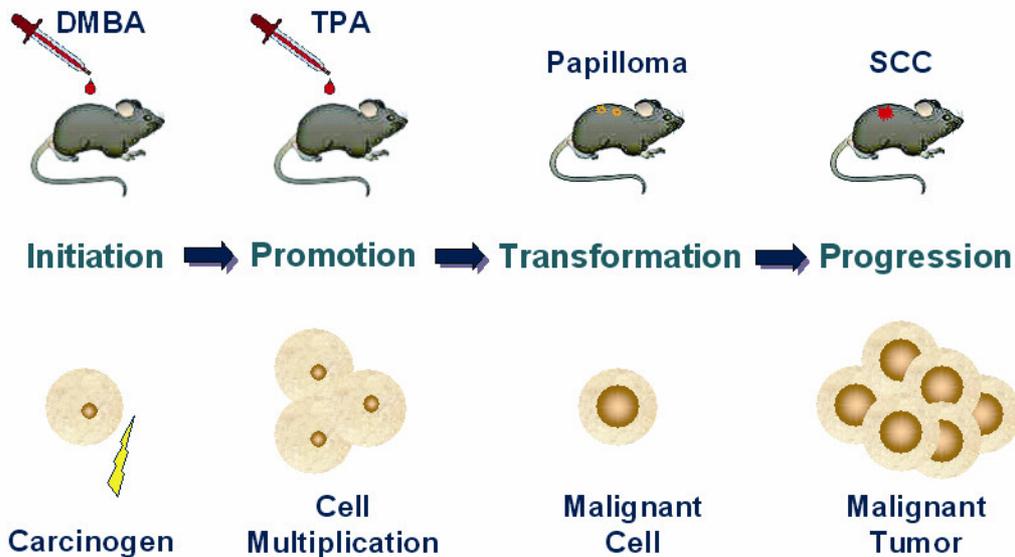


Abb. 2: Mausmodell zur chemisch-induzierten Karzinogenese.

Nach Sensibilisierung durch DMBA, wird TPA auf die dorsale Haut der Maus appliziert. Nach ersten Entzündungsreaktionen entstehen Papillome und später Karzinome der Haut.

Quelle: L. Hummerich

Karzinogenese der murinen Haut ist eines der am besten untersuchten Tiermodelle überhaupt (Ito *et al.*, 1995). Hierbei wird eine chemisch-induzierte Karzinogenese durch die Applikation einer sehr geringen Dosis eines genotoxischen Karzinogens erreicht (7,12-Dimethylbenzanthracen, DMBA; Abb. 2). Die so behandelten Versuchstiere entwickeln jedoch keinerlei Tumoren, wenn sie nicht zusätzlich mehrmals mit einer Tumor-Promotor-Chemikalie (12-O-Tetradekanoyl-Phorbol-13-Ester, TPA) behandelt werden. Die Entwicklung zum benignen Papillom dauert mehrere Wochen, während sich erst nach weiteren Monaten teilweise maligne Karzinome ausbilden.

Ziel des Projektes war es, den Pathomechanismus der Entstehung von Papillomen und Progression zu Karzinomen mit Hilfe von Microarrays zu untersuchen. Die Erkenntnisse am Mausmodell sollen Rückschlüsse über menschlichen *Non-Melanom* Hautkrebs erlauben.