

# **Identifikation Psoriasis-assoziiertes Polymorphismen im MHC**

**Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität  
zu Kiel**

**vorgelegt von**

**Dipl. Biol. Kerstin Bade**

**Kiel  
2004**

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>Einleitung</b>	
<i>Psoriasis</i>	5
<i>Immunologie der Psoriasis</i>	5
<i>Epidemiologie der Psoriasis</i>	6
<i>Genetik der Psoriasis</i>	7
Grundlagen genetischer Analysen	7
Haplotypen-Karten	8
Genetische Kopplungsanalysen bei Psoriasis	9
<i>Immungenetik</i>	10
<i>HLA-Assoziationen</i>	10
Humaner Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex (MHC)	10
HLA-Assoziation mit Psoriasis	12
Psoriasis-Assoziation mit HLA-Haplotypen	12
<i>Psoriasis Verdachtsbereich 1 (PSORS1)</i>	13
Psoriasis assoziierte Bereiche telomer von HLA-C	13
Psoriasis assoziierte Bereiche zentromer von HLA-C	14
<b>Zielsetzung</b>	16
<b>Material und Methoden</b>	
I. <b><i>Kohorten</i></b>	17
I.1. <i>Kohorte 0</i>	17
I.2 <i>Kohorte II, III, V: Patienten</i>	18
I.3 <i>Kohorte I, IV: Kontrollen</i>	19
II. <b><i>SNP-Karte</i></b>	19
II.1. <i>DNA-Präparation</i>	19
II.2 <i>HLA-Typisierung</i>	20
II.2.1 <i>Typisierung: HLA-Klasse I</i>	20
II.2.2 <i>Typisierung: HLA-Klasse II</i>	20
II.3. <i>Sequenzinformationen</i>	20
II.3.1 <i>Sequenzen</i>	21
II.3.2 <i>Alignments</i>	21
II.3.3 <i>Exon-Strukturen</i>	21
II.4 <i>Polymerase Kettenreaktion (PCR)</i>	22
II.4.1 <i>Primer-Design</i>	22
II.4.2 <i>Primer-Herstellung</i>	22
II.4.3 <i>Polymerase-Kettenreaktion</i>	22
II.4.4 <i>Amplifikat-Aufreinigung</i>	24
II.5 <i>Hochdurchsatz-Sequenzierung</i>	24
II.5.1 <i>Sequenzier-Reaktion</i>	24
II.5.2 <i>Aufreinigung der Sequenzier-Reaktionen</i>	25
II.5.3 <i>Sequenzierung</i>	26
II.6 <i>Sequenzanalyse</i>	26
II.6.1 <i>Sequenz-Auswertung</i>	26
II.6.2 <i>Validierung von Substitutionen</i>	26

II.7	<i>Haplotypen</i>	27
II.7.1	Haplotypen-Übersicht	27
II.7.2	Haplotypen / HLA-Muster	27
III.	<b>Assoziationsanalysen</b>	28
III.1	<i>Genotypisierungs-Technologie: TaqMan® Technologie</i>	28
III.1.1	Genotypisierungs-Plattform Campus Kiel	29
III.1.2	Genotypisierungs-Ablauf	29
III.1.3	Markerauswahl für Genotypisierung	31
III.2	<i>Marker-Design</i>	32
III.2.1	Assay-on-Demand	33
III.2.2	Assay-by-Design	33
III.2.3	Marker-Alignment	35
III.3	<i>Überprüfung der Genotypisierung</i>	35
III.3.1	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht	35
III.3.2	Mendel-Check	35
IV.	<b>Segregation</b>	36
V.	<b>Statistik</b>	36
V.1	<i>Chi-Quadrat-Test</i>	36
V.2	<i>Fisher-Exakt Test</i>	36
V.3	<i>Transmissions-Ungleichgewichts-Test</i>	37
V.4	<i>Case / Control – Assoziationsanalyse</i>	37
V.5	<i>Chancenverhältnis (Odds Ratio; OR)</i>	38
V.6	<i>Daten-Plots</i>	38
V.7	<i>Kopplungsungleichgewichtsanalyse</i>	39
<b>Ergebnisse</b>		
I.1	<b><i>Erstellung einer hochauflösenden SNP-Karte im Bereich PSORS1</i></b>	40
I.1.1	<i>HCGIV-02</i>	41
I.1.1.1	Sequenzanalyse	41
I.1.1.2	SNP Haplotypen	41
I.1.1.3	SNP-Block	42
I.1.2	<i>HCGII-2</i>	44
I.1.2.1	Sequenzanalyse	44
I.1.2.2	SNP Haplotypen	45
I.1.2.3	SNP-Block	46
I.1.3	<i>NOB4</i>	47
I.1.3.1	Sequenzanalyse	48
I.1.3.2	SNP Haplotypen	49
I.1.3.3	SNP-Block	49
I.1.4	<i>TCF19</i>	51
I.1.4.1	Sequenzanalyse	51
I.1.4.2	SNP Haplotypen	54
I.1.4.3	SNP-Block	55

I.1.5 <i>POU5F1</i>	56
I.1.5.1 Sequenzanalyse	56
I.1.5.2 SNP Haplotypen	58
I.1.5.3 SNP-Block	58
<b>I.2 <i>Epidemiologische Untersuchung über Assoziationen zwischen Psoriasis vulgaris und polymorphen Positionen im MHC</i></b>	61
I.2.1 <i>Sequenzanalyse</i>	62
I.2.2 <i>Assoziationsanalysen</i>	64
<b>Erkrankt vs. Gesund (Case / Control – Analyse)</b>	
I.2.2.1. Ergebnisse Case/Control–Analyse; Kohorte I+II, Deutschland	64
I.2.2.2. Ergebnisse Case/Control–Analyse; Kohorte IV+V, USA	65
I.2.2.3. Gegenüberstellung Case / Control Deutschland / USA	67
<b>Transmissions-Ungleichgewichts-Test (TDT)</b>	
I.2.2.4. Ergebnisse TDT; Kohorte III, Deutschland	70
I.2.2.5. Vergleich TDT - Case / Control; Deutschland	71
I.2.2.6. Ergebnisse TDT; Kohorte V, USA	72
I.2.2.7. Vergleich TDT - Case / Control; USA	73
I.2.2.8. Gegenüberstellungen Case / Control Analysen – TDT- Analysen Deutschland - USA	76
I.2.2.9 Odds – Ratio (OR) Deutschland - USA	77
I.2.2.10 Spezifizierung assoziierter Allele	79
I.2.3 <i>Kopplungsungleichgewichtsanalyse</i>	80
I.2.4 <i>Haplotyp-Analyse</i>	81
I.2.4.1 Zwei-Marker-Haplotyp	81
I.2.4.2 Drei-Marker-Haplotyp	83
I.2.4.3 Vier-Marker-Haplotyp	83
I.2.4.4 Haplotyp-Konstruktion mit ausgewählten Markern	84
I.2.5 <i>Überprüfung Assoziation HLA-Cw*6 / signifikante Marker</i>	85
I.2.6 <i>Haplotyp-Rekonstruktion über 1,923kb</i>	87
I.2.6.1. Haplotypen-Identifizierung	87
I.2.6.2. Zuordnung rekonstruierter Haplotypen zu entsprechenden HLA-Mustern	90
I.2.6.3. Marker-Haplotypen / HLA-Cw*6	90
<b>II. Marker-Alignments</b>	91
<b>Diskussion</b>	
<i>SNP-Karte</i>	92
<i>Assoziationen zwischen Psoriasis vulgaris und polymorphen Positionen im Bereich des MHC</i>	100

---

<b>Zusammenfassung</b>	118
<b>Abstract</b>	119
<b>Literatur</b>	120
<b>Anhang</b>	
<i>Anhang I: Material und Methoden</i>	130
I.1 Beschreibung des zur Erstellung einer hochauflösenden SNP-Karte sequenzierten Bereiches im MHC, Chromosom 6p21.31	130
I.2 Primer-Design	131
I.3 Sequenzier-Primer-Design	133
I.4 Analysierte Assay-on-Demand	135
I.5 Analysierte Assays-by-Design	137
I.6 Markerverteilung	140
 <i>Anhang II: Ergebnisse</i>	
II.I.1 Überprüfung der Exon-Strukturen analysierter Sequenzen	141
II.II.1 Gesamtübersicht Chiquadrat-Werte; Deutsche Kohorte	142
II.II.2 Gesamtübersicht Chiquadrat-Werte; Programm Haplo_ccmap	145
II.II.3. Gesamtübersicht Marker US-Kohorte	148
II.II.4 Gesamtübersicht Chiquadrat-Werte; US Kohorte	149
II.II.5 Gesamtübersicht Chiquadrat-Werte; Programm Haplo_ccmap	151
II.II.6 Gesamtübersicht Multi_Transmit-Analyse, Deutsche Kohorte	153
II.II.7 Gesamtübersicht Multi_Transmit-Analyse, US Kohorte	156
II.II.8. Übersicht Odds Ratio (Deutsche + US Kohorte)	158
II.II.9 Gesamtübersicht Zwei-Marker-Analyse, Deutsche Kohorte	160
II.II.10 Gesamtübersicht Drei-Marker-Analyse, Deutsche Kohorte	163
II.II.11 Gesamtübersicht Vier-Marker-Analyse, Deutsche Kohorte	166
II.II.12 Übersicht ausgewählter Marker	169
II.II.13 Gesamtübersicht Analyse Multi_Transmit ausgewählter Marker	170
II.II.14 Zuordnung der genotypisierten Marker zu ihren Nummern innerhalb der Haplotyp-Konstruktion	173
<b>Abkürzungen und Symbole</b>	174
<b>Herstellernachweis</b>	177
<b>Curriculum vitae</b>	179
<b>Erklärung</b>	181
<b>Danksagung</b>	182

---

## **Einleitung**

### **Psoriasis**

Die Autoimmunerkrankung Psoriasis vulgaris, auch als Schuppenflechte bezeichnet, ist eine chronisch entzündliche Erkrankung der Haut. Charakterisiert wird die Psoriasis durch vier, in den erkrankten Hautpartien stattfindende Vorgänge. Dabei handelt es sich um eine Keratinozyten-Hyperproliferation, die Erweiterung papillarer Blutgefäße, das Eindringen polymorphonuklearer Leukozyten aus den Blutgefäßen der Haut in Dermis und Epidermis, sowie Änderungen in der Epidermis-Differenzierung. Aufgrund dieser Vorgänge zeigen die als Plaque bezeichneten erkrankten Hautpartien ihre charakteristische Rötung und Schälung (Stern, 1997). Psoriasis vulgaris zählt zu der am häufigsten vorkommenden Psoriasis-Form. Von ihr sind ca. 80-90% der Erkrankten betroffen (Lomholt, 1963). Ausbruchsursache und Stärke der Erkrankung sind multifaktoriellen Ursachen unterworfen. So besteht zum einen eine genetische Prädisposition, aber auch Umweltfaktoren nehmen Einfluss auf Ausbruch und Verlauf der Erkrankung (Lomholt, 1963; Henseler und Christophers, 1985; Naldi, 1995). Obwohl die Erkrankung bereits Anfang des 19. Jahrhunderts beschrieben wurde, sind auch heute noch die pathogenen Mechanismen weitgehend unbekannt. Bis in die frühen 80er Jahre ging man davon aus, dass die Psoriasis eine die Keratinozyten betreffende Erkrankung sei. Heute wird sie, unter anderem aufgrund von Untersuchungen über die Wirkung von Immunsuppressiva, zu den T-Zell-vermittelten Erkrankungen gezählt (Ellis et al., 1986; Griffiths et al., 1986).

### **Immunologie der Psoriasis**

An der Immunantwort beteiligte Zellen spielen in der Krankheitsentwicklung der Psoriasis vulgaris eine Rolle. Die Beteiligung der T-Zellen in der Krankheitsentwicklung zeigt sich durch den mit dem Ausbruch psoriatischer Läsionen einhergehenden epidermalen Influx und Aktivierung von CD4<sup>+</sup> T-Zellen. Auch konnte in nicht betroffenen Hautpartien von an Psoriasis erkrankten Personen eine Zunahme von CD8<sup>+</sup> T-Zellen in der Epidermis beobachtet werden (Baker et al., 1984). Vor allem durchgeführte Untersuchungen mit dem Immunsuppressiva Cyclosporin A stellten den Beweis für eine T-Zell-vermittelte Erkrankung dar (Ellis et al., 1986; Griffiths et al., 1986). Dieses inhibiert selektiv die Cytokin-Produktion durch CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten und zeigt sich sehr effektiv in der Behandlung der Psoriasis. Die Arbeitsgruppe um Wrone-Smith zeigte, dass durch das Einspritzen autologer T-Zellen bei auf SCID-Mäusen transplantiertes, nicht erkrankter psoriatischer Haut Läsionen induziert werden

konnten (Wrone-Smith et al, 1996). Im gleichen Modell zeigten sich Unterschiede zwischen den Injektionen gereinigter CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten. Nur die CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten konnten psoriatische Läsionen in nicht-erkrankter psoriatischer Haut induzieren (Nickoloff et al., 1999).

In psoriatischer Haut zeigt sich eine Überexpression von Cytokinen aktivierter T-Lymphozyten, dabei überwiegen vor allem T<sub>H</sub>1-Cytokine wie Interleukin-12 (Yawalkar et al., 1998), Interferon- $\gamma$  und Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (Gearing et al., 1990).

### **Epidemiologie der Psoriasis**

Die Prävalenz zur Entwicklung von Psoriasis variiert mit Ethnologie und geographischer Lage und wird allgemein mit 1 bis 3 % angegeben. Untersuchungen zeigen aber beachtliche Unterschiede im Vorkommen der Erkrankung in der jeweiligen Bevölkerung. So weisen Populationen kaukasischen Ursprungs eine stärkere Prävalenz auf, die im Bereich von 2 bis 5% liegt (Farber et al. 1991). Die niedrigsten Werte zeigen Untersuchungen in China mit 0,1 bis 0,3 %, sowie in West Afrika und bei Ureinwohnern Latein- und Nordamerikas (0 bis 0,3%) (Yui Yip, 1984; Farber et al., 1991). Genetische Untersuchungen, durchgeführt mit Familien- und Zwillings-Studien, haben gezeigt, dass eine starke genetische Komponente in der Pathogenese von Psoriasis vorhanden ist. So ergab eine von Lomholt auf den Faroer Inseln durchgeführte Untersuchung, dass bei 91% der an Psoriasis erkrankten Patienten weitere Erkrankungsfälle innerhalb der Verwandtschaft vorlagen (Lomholt, 1963). Einen weiteren Hinweis darauf, dass es einen starken genetischen Faktor gibt, stellen die unterschiedlichen Konkordanz-Raten von monozygotischen (50 bis 70 %) und dizygotischen Zwillingen (15 bis 23 %) dar (Farber et al., 1974; Brandrup et al., 1982). Auch weisen monozygotische Zwillinge Ähnlichkeiten im Bereich des Schweregrads der Erkrankung, dem Alter bei Krankheitsausbruch und dem Krankheitsverlauf auf (Farber et al., 1974). Ein weiteres epidemiologisches Merkmal stellt die Altersverteilung dar und die hierdurch mögliche Einteilung in einen juvenilen (Typ I) und einen adulten (Typ II) Krankheitsbeginn (Henseler und Christophers, 1985). Unter dem Typ I werden Personen gefasst, bei denen die Erkrankung vor dem 40. Lebensjahr ausbricht. Neben einer familiären Häufung und einem stärkeren Krankheitsverlauf als beim Typ II, besteht für den Typ I eine starke Assoziation mit Antigenen des HLA-Systems, insbesondere mit HLA-Cw\*6. Bei einer Psoriasis vom Typ II setzt die Erkrankung erst nach dem 40. Lebensjahr ein. Sie tritt sporadisch auf und zeigt einen schwächeren genetische Hintergrund als der Typ I (Henseler und Christophers, 1985).

Das die Ursache der Erkrankung aber nicht allein auf genetischer Basis liegt, zeigt sich vor allem anhand der im Bereich von nur 70 % liegenden Konkordanzrate monozygotischer Zwillinge. Weitere Faktoren, wie die Umwelt, tragen zur Pathogenese bei. Aus diesem Grund wird die Schuppenflechte zu den multifaktoriellen Erkrankungen gezählt. Triggernde Faktoren stellen unter anderem Stress, Drogen und Streptokokken-Infektionen dar (Naldi, 1995; Tagami, 1997; Telfer et al., 1992; Naldi et al., 2001).

## **Genetik der Psoriasis**

Da es sich bei der Psoriasis um eine komplexe Erkrankung handelt, wird versucht, über die genetische Disposition und die Ausprägung von Allelen potentieller Verdachtsgene, einen Einblick in die biochemischen Vorgänge zu erlangen.

### **Grundlagen genetischer Analysen**

Die Ansätze genetischer Untersuchungen komplexer Erkrankungen beruhen unter anderem auf Assoziations- und Kopplungsanalysen. Assoziationsanalysen überprüfen die auf Populationsfrequenzen fokussierte Korrelationen zwischen einer Erkrankung und dem Allel eines Verdachtsgens. Kopplungsanalysen hingegen beruhen auf der gemeinsamen Transmission von Markern und krankheitsassoziierten Genen innerhalb von Stammbäumen (Lander et al., 1994).

Zur Identifizierung einer der Erkrankung zugrunde liegenden Verdachtsregion, wird mit Kopplungsanalysen begonnen. Hier wird zugrunde gelegt, dass die Allele zweier auf einem Chromosom befindlicher Loci, aufgrund ihrer physikalischen Nähe zueinander, während der Meiose nicht unabhängig voneinander vererbt werden. Somit wird bei diesen Analysen die Kopplung über die gemeinsame Vererbung eines krankheitsassoziierten Gens mit einem genetischen Marker überprüft. Der Grad der Kopplung wird dabei über die Rekombinationsfraktion ( $\theta$ ) ermittelt. Diese gibt die Häufigkeit des Auftretens von Rekombinationsereignissen zwischen Krankheitsgen und Marker an. Bei unabhängiger Vererbung beträgt  $\theta = 0,5$ , bei kompletter Kopplung  $\theta = 0$  (Ott, 1991). Zur Abschätzung der Rekombinationsfraktion bedient man sich in Kopplungsanalysen des LOD-Scores ( $Z(\theta)$ ), einer Maßgröße für die Wahrscheinlichkeit genetischer Kopplung. Definiert ist er als Logarithmus ( $\log_{10}$ ) des Quotienten aus der Wahrscheinlichkeit von Kopplung zwischen Marker und Krankheitsgen und der Wahrscheinlichkeit unabhängiger Vererbung (Ott, 1991).



Im Zusammenhang mit Kopplungsanalysen werden parametrische und nicht-parametrische Analysen unterschieden. Im Fall von komplexen Erkrankungen, wie die Psoriasis eine darstellt, wird auf nicht-parametrische Analysen zurückgegriffen. Diese setzen im Gegensatz zu parametrischen Analysen keine den Vererbungsmodus definierende Parameter, wie Prävalenz ( $\Phi$ ) der Erkrankung oder Frequenz ( $p$ ) des Krankheitsallels  $D$ , voraus. Hier wird eine über die Erwartung hinausgehende Übereinstimmung von Allelen erkrankter Geschwister beobachtet (Lander et al., 1994).

Mit der auf Rekombination basierenden Kopplungsanalyse wird also eine grobe Lokalisation der Verdachtsregion vorgenommen. Über Feinkartierung des Kopplungsungleichgewichts wird nun versucht, möglichst viele der in dieser Region befindlichen Gene auszuschließen (Jorde, 1995). Der Analyse liegt die Annahme der überzufällig häufig gemeinsamen Vererbung von Allelen eng benachbarter Gene zugrunde, die somit einen auf einem Chromosom liegenden Haplotypen bilden. Sie wird über Assoziationsstudien durchgeführt. Diese können anhand von unverwandten Gruppen aus erkrankten und gesunden Personen (Case / Control), aber auch familienbasiert, mit sogenannten Trios, durchgeführt werden. Über die Nutzung der Trios wird der Einfluss von Populations-Stratifizierungen verringert (Lander et al., 1994; Falk et al., 1987). Bei diesen, aus einem erkrankten Nachkommen und seinen Eltern bestehenden Gruppen, wird die Transmission eines krankheitsassoziierten Marker-Allels eines heterozygoten Elternteils auf den erkrankten Nachkommen ermittelt. Das alternative Marker-Allel dient hierbei als familienbasierte Kontrolle. Möglich ist dies mittels eines Transmissions-Ungleichgewichts-Tests (TDT) (Spielmann et al., 1993; Spielmann et al., 1996).

### **Haplotypen-Karte**

Untersuchungen zeigen, dass das menschliche Genom in sogenannte Blöcke mit begrenzter Haplotyp-Diversität eingeteilt werden kann. Ursache hierfür ist, dass es innerhalb dieser Bereiche kaum Zeichen für Rekombination gibt, dafür aber starkes Kopplungsungleichgewicht herrscht. Aus diesem Grund können über 4 bis 5 häufige Haplotypen ca. 90% aller Haplotypen eines Blocks beschrieben werden. (Daly et al., 2001; Patil et al., 2001; Gabriel et al., 2002). Während die Größe der Blöcke variiert, korrelieren ihre Grenzen und ihre spezifischen Haplotypen zwischen unterschiedlichen Populationen (Gabriel et al., 2002). Innerhalb des auf Chromosom 6 liegenden Haupt-Histokompatibilitäts-Komplexes (**Major Histocompatibility Complex, MHC**) bestehen sogenannte „Polymorphic Frozen Blocks“ (PFBs), in denen es kaum zu Rekombinationen kommt. Als Grund hierfür wird vermutet, dass

der hohe Grad an auftretenden Polymorphismen die Rekombination weitgehend unterdrückt (Marshall et al., 1993, Dawkins et al., 1999). Die PFBs reichen über einige kb-Länge und wurden nahezu unverändert als Block von einem entfernten Vorfahren konserviert. Die sich daraus ergebenden konservierten Haplotypen, sogenannte ancestrale Haplotypen, sind innerhalb von Populationen zu verfolgen (Degli-Esposti et al., 1992). Sind die den Blöcken zugrunde liegenden Haplotyp erst einmal bekannt, können sie über einige wenige SNPs (sogenannten tag-SNPs) innerhalb des Blocks identifiziert werden. Die Genotypisierung dieser SNPs, als genetische Marker, stellen eine kostengünstigere Möglichkeit für die Durchführung genomweiter Assoziationsanalysen mit unverwandten Personen dar.

Bei SNPs bzw. **Single-Nucleotide-Polymorphismen** handelt es sich um über das Genom verteilte bi-alleleische Sequenzvarianten. Diese treten im Durchschnitt alle 100 bis 1000 **Basenpaare** (bp) mit einer Frequenz von mehr als 0,01 in der gesamten Population auf. Sie machen 90 % der DNA-Sequenz-Variationen im menschlichen Genom aus und sind, aufgrund ihrer hohen Dichte und Stabilität gegenüber Mutationen, als Marker für die Kartierung komplexer Erkrankungen geeignet (Collins et al., 1998; Brookes, 1999).

### **Genetische Kopplungsanalysen bei Psoriasis**

Bislang konnten in unabhängigen Studien, mit Hilfe genetischer Kopplungsanalysen, sieben Psoriasis-Verdachtsregionen identifiziert werden. Die erste große Genom-weite Untersuchung wurde 1994 mit 8 amerikanischen Familien kaukasischen Ursprungs durchgeführt. Sie führte zur Identifizierung einer als PSORS2 (**P**soriasis **S**usceptibility 2) deklarierten Region im Bereich Chromosom 17q25 (Tomfohrde et al, 1994; Nair et al., 1997). Später durchgeführte Untersuchungen zeigten weitere Verdachtsbereiche auf Chromosom 4q (PSORS3) (Matthews et al., 1996), Chromosom 1p21 (PSORS4) (Capon et al., 1999), Chromosom 3q21 (PSORS5) (Enlund et al., 1999), auf Chromosom 19p13 (PSORS6) (Lee et al., 2000) und auf Chromosom 1p (PSORS7) (Veal et al., 2001). Die stärkste Psoriasis-Verdachtsregion wurde auf dem Chromosom 6p21.3 von mehreren Gruppen, unabhängig voneinander, identifiziert (Trembath et al., 1997; Nair et al., 1997, Jenisch et al., 1998, Capon et al., 1999). Die als PSORS1 bezeichnete Region liegt in dem, für das menschliche Immunsystem essentiellen humanen Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex (Major Histocompatibility Complex; MHC). Dieser Bereich ist besonders interessant durch die Beteiligung der T-Zellen in der Krankheitsentwicklung von Psoriasis vulgaris.

## **Immungenetik**

Aufgrund der Beteiligung von T-Zellen an der Krankheitsentwicklung, der Ergebnisse genetischer Kopplungsanalysen und der starken Assoziation mit HLA-Allelen, erfolgt die Untersuchung der genetischen Grundlage der Erkrankung innerhalb des humanen Haupt-Histokompatibilitäts-Komplexes auf Chromosom 6. Dabei liegt unter anderem die Theorie zu Grunde, dass es im MHC ein krankheitsverursachendes Nicht-HLA-Gen gibt, das aufgrund des in diesem Bereich bestehenden starken Kopplungsungleichgewichts mit den Psoriasis assoziierten HLA-Allelen auftritt. Auch scheint es aufgrund der im MHC vorkommenden Genvariabilität sinnvoll, diese Region in ihrer Ausprägung mit sämtlichen Genen und Pseudogenen zu untersuchen.

## **HLA-Assoziation**

### **Humaner Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex (MHC)**

Der Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex liegt auf dem kurzen Arm des menschlichen Chromosom 6 im Bereich 6p21.31 und 6p21.32. Er wird unter anderem auch als **H**umanes-**L**eukozyten-**A**ntigen-System, kurz **HLA**-System, bezeichnet und ist essentiell für das menschliche Immunsystem. Seine zentrale Funktion besteht in der über MHC-Moleküle vermittelten Präsentation von Antigenen an T-Lymphocyten. Mit über 200 identifizierten Loci ist er die am dichtesten mit Genen besetzte Region, von denen mehr als 40 für Leukozyten-Antigene codieren. Auch finden sich hier die am stärksten polymorphen Proteine, welche durch Gene der Klasse I und II codiert werden, wobei manche bis zu 200 Allel-Varianten besitzen (MHC sequencing consortium, 1999). Der 4 **M**egabasen (Mb) große Bereich wird in drei, sich in Funktion und Struktur voneinander unterscheidende Klassen eingeteilt. Von telomer nach zentromer werden diese als MHC-Klassen I, III und II bezeichnet.

MHC-Klasse I-Moleküle werden an der Oberfläche fast aller kernhaltiger Zellen exprimiert. Sie präsentieren den cytotoxischen CD8+ T-Zellen Peptide von im Cytosol abgebauten Proteinen, z.B. von Viren. Die MHC-Klasse I umfasst, neben den klassischen Transplantationsantigenen HLA-A, HLA-B, HLA-C, auch die nicht-klassischen HLA-Gene (HLA-E, HLA-F, HLA-G), verschiedene Gen-Familien (MHC class I-related chain –MIC-, P5), sowie die größte Anzahl an Pseudogenen (Shiina et al., 1999). Zurückzuführen ist dies auf die

im Laufe der Evolution stattgefunden, wiederholte Duplikation von Genen und die Insertion repetitiver Segmente (Shiina et al., 1999). Innerhalb dieser Klasse spielen, neben den klassischen HLA-Genen, auch die MHC Klasse I verwandten Gene (MHC class I-related chain; MIC) eine immunologische Rolle (Shiina et al., 1999).

Die Klasse III codiert für viele, mit der angeborenen Immunität assoziierten Gene, deren Produkte wichtige Immunfunktionen besitzen. Hierzu zählen die Complement-Faktoren C2, Faktor B und C4 und Cytokine der Tumornekrosefaktoren TNF-Alpha und TNF-Beta (Janeway und Travers, 1997).

Die Moleküle der MHC-Klasse II werden vorwiegend auf B-Lymphozyten und Makrophagen exprimiert und werden für die Antigenpräsentation extrazellulärer Proteine für die T-Helfer-Zellen benötigt. Neben den HLA-Klasse II Loci (-DP, -DM, -DQ, -DR) sind weitere Loci dieser Klasse mit der Antigenprozessierung und dem Transport assoziiert.

Im MHC tritt die Besonderheit der Genvariabilität auf. Sie zeigt sich z.B. für die Expression der HLA-DR-Region im Bereich der MHC Klasse II. Hier sind, neben einem DRA-Gen ( $\alpha$ -Kette), mehrere DR-Gene ( $\beta$ -Kette) lokalisiert (Klein et al., 1986). Die Expression der DR-Gene erfolgt nicht über alle Gene, sondern in Abhängigkeit vom jeweiligen Haplotypen, da ihre Zahl auf den Chromosomen nicht konstant ist. Selbiges gilt für die Gene C4A und C4B der MHC-Klasse III.

Neben dem hohen Grad an Polymorphismus ist ein weiteres Merkmal des HLA-Systems das bestehende starke Kopplungsungleichgewicht, in welchem sich die Allele der HLA-Gene befinden. Dies führt dazu, dass bestimmte HLA-Muster überzufällig häufig gemeinsam, auf einem Haplotyp liegend, vererbt werden. Ein Beispiel hierfür stellt das gemeinsame Auftreten von HLA-A\*1, HLA-B\*8 und HLA-DR\*3 dar, das in der deutschen Normalbevölkerung häufiger vorkommt, als es aufgrund seiner Allel-Frequenzen zu erwarten wäre. Es handelt sich hierbei um eine auf einem Haplotyp liegende Kopplungsgruppe. Einige dieser Kopplungsgruppen sind in vielen ethnischen Gruppen zu finden. Sie werden aufgrund ihrer Konserviertheit als **ancestrale Haplotypen (AH)** bezeichnet. Bei den meisten der in der Bevölkerung auftauchenden HLA-Haplotypen handelt es sich um ancestrale Haplotypen bzw. um Rekombinanten zweier ancestraler Haplotypen (Degli-Esposti et al., 1992; Dawkins et al., 1999)

Der Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex ist stark mit Erkrankungen, vor allem Autoimmunerkrankungen, assoziiert. Krankheitsassoziationen sind zur Zeit für die Klassen I und II bekannt. So ist unter anderem das HLA-Klasse I - Allel HLA-B\*27 mit Morbus

Bechterew assoziiert, die HLA Klasse II – Allele DR\*15 und DQw\*6 mit der Erkrankung Narcolepsie.

### **HLA-Assoziation mit Psoriasis**

Bereits in den 70er Jahren zeigte eine Untersuchung, dass die HLA-Klasse I - Loci HLA-B\*13 und HLA-B\*17 (heute = B\*57) signifikant häufiger in an Psoriasis erkrankten Personen vorhanden waren, als in gesunden Kontrollpersonen. Selbiges wurde später auch für das HLA-B-Allel-37 festgestellt (Russel et al., 1972; White et al., 1972; Brenner et al., 1978). Für den HLA-C Locus konnte ein Zusammenhang zwischen Psoriasis und HLA-Cw\*6 hergestellt werden, sowie für HLA-Cw\*11 in japanische Patienten (Brenner et al., 1978; Tiilikainen et al., 1980; Nakagawa et al., 1990). Für HLA-Cw\*6 zeigte sich, neben einem fast 20fach erhöhtem Erkrankungsrisiko von Trägern des Allels, auch eine höhere Frequenz von HLA-Cw\*6 bei juvenilem Krankheitsbeginn (85,3%) als bei adultem (14,7%) (Tiilikainen et al., 1980; Henseler und Christophers, 1985). Bisher bestehen keine weiteren Krankheitsassoziationen für HLA-C, außer der Kopplung mit der Psoriasis. Eine innerhalb der Klasse II bestehende Assoziation mit der Psoriasis betrifft die Allele HLA-DR\*0701, DQA\*0201 und DQB\*0303 (Baker et al., 1984; Schmitt-Egenolf et al., 1993).

### **Psoriasis-Assoziation mit HLA-Haplotypen**

Aufgrund der Blockstrukturen des Haupt-Histokompatibilitäts-Komplexes (MHC) ist das Psoriasis-Risiko im Bereich des MHC nicht nur durch HLA-Cw\*6 markiert, sondern auch über ancestrale Haplotypen verfolgbar. In kaukasischer Bevölkerung handelt es sich bei den mit Psoriasis assoziierten ancestralen Haplotypen um AH57.1 und AH13.1. Beide enthalten neben HLA-Cw\*6 auch HLA-DR\*7. Weiter ist der HLA-Haplotyp Cw\*6-B\*37-DR\*7-DQ\*2 mit Psoriasis assoziiert, bei dem es sich nicht um einen ancestralen Haplotypen handelt. Innerhalb und zwischen den Haplotypen der Klasse I und Klasse II besteht eine unterschiedliche Stärke der Assoziation. Bezüglich der Klasse II zeigt der Haplotyp DR\*7-DQ\*9 (AH57.1) eine stärkere Assoziation als DR\*7-DQ\*2 (AH13.1) (Schmitt-Egenolf et al., 1993; Jenisch et al., 1995). Neben der an sich bestehenden Assoziation von AH57.1 mit Psoriasis (26x höheres Risiko), zeigt sich die stärkste Assoziation dieses Haplotyps mit den auf der Seite der HLA-Klasse I gelegenen Allelen (HLA-Cw\*6, HLA-B\*57) und somit eine wahrscheinliche Lokalisation des Verdachtgens auf der Seite der HLA-Klasse I (Schmitt-Egenolf et al., 1996; Jenisch et al., 1998). Obwohl für HLA-Cw\*6 ein starkes Verdachtsmoment als krankheitsbedingender Faktor besteht, ist davon auszugehen, dass dies

eher auf ein bestehendes starkes Kopplungsungleichgewicht mit dem auslösenden Faktor beruht. Einer der Gründe für diese Annahme liegt darin, dass nicht alle der an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen Träger von HLA-Cw\*6 sind. Auch enthält der mit Psoriasis assoziierte ancestrale Haplotyp EH8.1, anstelle von HLA-Cw\*6, das Allel HLA-Cw\*7 (Jenisch et al., 1999).

### **Psoriasis Verdachtsbereich 1 (PSORS1)**

Über die Genotypisierung mit Mikrosatelliten und anschließenden Kopplungsanalysen konnte der Psoriasis Verdachtsbereich bis auf eine 60 kb Region telomer von HLA-C eingegrenzt werden (Balendran et al., 1999; Oka et al., 1999; Nair et al., 2000). Innerhalb dieses Verdachtsbereichs liegen sowohl exprimierte Gene (POU5F1, TCF19, HCR, SPR1, SEEK1, CDSN, STG), als auch Pseudogene (NOB5, HCGIX-3, HCGII-2, NOB4).

### **Psoriasis assoziierte Bereiche telomer von HLA-C**

Im Zusammenhang mit Psoriasis vulgaris konnte eine Assoziation mit dem Gen POU5F1 festgestellt werden (Gonzalez et al., 2000). POU5F1 zählt zur POU-Familie der Transkriptionsfaktoren, welche die Aktivierung und Unterdrückung spezifischer Gen-Expressions-Programme regulieren. Aufgrund der Expression von POU5F1 in pluripotenten Stammzellen und seiner Funktion in der Frühentwicklung (Schöler et al., 1990; Rosner et al., 1990; Nichols et al., 1998; Niwa et al., 2000), gilt seine Beteiligung an der Erkrankung Psoriasis vulgaris als eher unwahrscheinlich (Okamoto et al., 1990; Gonzalez et al., 2000). Auch konnte das Ergebnis bei einer Studie mit Personen chinesischer Herkunft nicht bestätigt werden (Chang et al., 2003).

Für das untersuchte Gen TCF19, welches in der G<sub>1</sub>-S-Phase des Zellzyklus exprimiert wird und einen möglichen Transaktivierungsfaktor darstellt, wurde keine Assoziation mit Psoriasis vulgaris festgestellt (Ku et al., 1991; Teraoka et al., 2000).

Als Kandidat in der Verdachtsregion gilt das am distalen Ende von PSORS1 gelegene CDSN (Corneodesmosin). Es wird speziell in Keratinozyten in den terminalen Differenzierungsphasen exprimiert und ist mit Psoriasis vulgaris assoziiert (Zhou et al., 1993; Tazi-Ahnini et al., 1999; Allan et al., 1999; Jenisch et al., 1999). Die Gruppen um Tazi-Ahnini und Allan zeigen eine Assoziation zwischen der Erkrankung und dem SNP 1243 im Exon 2. (Tazi-Ahnini et al., 1999; Allan et al., 1999). Jenisch et al. (1999) konnte eine signifikante Assoziation mit einem als CD2 bezeichneten Haplotypen nachweisen, welcher durch die

beiden SNPs 619 und 1243 definiert wird. Dieser zeigt, trotz bestehendem Kopplungsungleichgewicht mit HLA-Cw\*6, eine stärkere Krankheitsassoziation (relatives Risiko: 3,4) als HLA-C (relatives Risiko: 2,5) (Jenisch et al., 1999). Keine Assoziation zwischen CDSN und Psoriasis vulgaris zeigte sich in Untersuchungen mit Probanden japanischer, spanischer und finnischer Herkunft (Ishihara et al., 1996; Gonzalez et al., 2000; Asumalahti et al., 2000).

Ein weiterer Kandidat in der PSORS1-Verdachtsregion ist das HCR-Gen (alpha-helix coiled-coil rod homolog), das in fast allen menschlichen Geweben und auch in Keratinozyten exprimiert wird. Eine Untersuchung von Asumalahti et al. zeigt ein mit Psoriasis assoziiertes, konserviertes Allel HCR\*WWCC. Dieses Allel besteht aus vier, zu Aminosäuresubstitutionen führenden SNPs, lokalisiert auf den Positionen 307, 325, 1723 und 2327. Aus diesen Substitutionen wurde der Name des Allels abgeleitet. So führt der SNP auf den Positionen 307 und 325 zum Austausch der Aminosäure Arginin zu Tryptophan (W), die Positionen 1723 und 2327 zum Austausch von Glycin zu Cystein (C). Von drei der Substitutionen wird vermutet, dass sie eine Änderung in der Sekundärstruktur des Proteins induzieren (Asumalahti et al., 2000; Asumalahti et al., 2002). Die Gruppe um O'Brien et al. (2001) geht davon aus, dass die Assoziation von HCR mit Psoriasis eher auf Kopplungsungleichgewicht mit HLA-Cw\*6 zurückzuführen ist, als auf eine direkte Beteiligung des Gens an der Krankheitsentwicklung (O'Brien et al., 2001).

Für die Gene SEEK1 (**P**soriasis **S**usceptibility 1 **C**andidate 1, PSORS1C1) und SPR1 (PSORS1C2) ergab die Untersuchung von Holm et al., dass von fünf in SEEK1 lokalisierten und mit Psoriasis assoziierten SNPs, zwei eine von HLA-Cw\*6 unabhängige Assoziation zeigen. Für SPR1 wurde ein, aufgrund von Kopplungsungleichgewicht mit HLA-Cw\*6 assoziierter SNP identifiziert (Holm et al., 2003).

### **Psoriasis-assoziierte Bereiche zentromer von HLA-C**

Neben der Region telomer von HLA-C wurde auch der Bereich zentromer von HLA-C auf seine Assoziation mit Psoriasis vulgaris untersucht. So konnten Veal et al., nach Durchführung einer hochauflösenden genetischen Untersuchung, zwei signifikant mit Psoriasis assoziierte SNPs (n.7 und n.9) im Bereich 7 und 4 kb proximal von HLA-C identifizieren ( $p < 10^{-9}$ ) (Veal et al., 2002).

Weiter zeigt, im Bereich zentromer der Klasse I, das MHC Klasse I verwandte Gen (MHC class I-related chain; MIC) MICA eine Assoziation mit Psoriasis (Tay et al., 2000). Die Expression der Gene MICA und MICB, unter anderem im gastrointestinalem Epithelium,

wird durch Zellstress (z.B. Hitzeschock) induziert. Ihre Moleküle werden durch Rezeptoren auf natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) und Gamma-Delta-T-Zellen ( $\gamma\delta$ -T-Zellen) erkannt (Groh et al., 1996; Li et al., 1999; Bauer et al., 1999).

Das in der MHC-Klasse III lokalisierte Gen TNF-Alpha zeigt bezüglich einer Assoziation zwischen der Psoriasis und eines in der Promotor-Region auf der Position -238 befindlichen SNP widersprechende Ergebnisse. Es wurde eine Assoziation zwischen der Erkrankung und dem SNP in kaukasischen Probanden festgestellt, welcher zu einer Beeinflussung der Transkription von TNF-Alpha zu führen scheint (Höhler et al., 1997, Kaluza et al., 2000). Nicht bestätigt werden konnte das Ergebnis in Untersuchungen mit japanischen Psoriasis-Erkrankten (Hamamoto et al., 2000; Nishibu et al., 2002).

Insgesamt zeigt sich ein sehr widersprüchliches Bild von scheinbar mit der Erkrankung assoziierten Genen. Sowohl innerhalb der klassischen HLA-Gene, als auch bei den Nicht-HLA-Genen, zeichnet sich keine eindeutige Zuordnungsmöglichkeit der Erkrankung zu bestimmten Genen ab. Aufgrund der im MHC vorhandenen Blockstrukturen und das herrschende starke Kopplungsungleichgewicht ist unklar, inwieweit die Assoziationen auf direkte Beteiligung der Gene schließen lassen oder auf Kopplungsungleichgewicht zurückzuführen sind.



## Zielsetzung

Im Zusammenhang mit der Autoimmunerkrankung Psoriasis vulgaris wurden bisher insgesamt 7 Verdachtsbereiche identifiziert, die auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert sind. Der als Psoriasis-Verdachtsregion 1 (PSORS1) bezeichnete Hauptverdachtsbereich liegt auf dem kurzen Arm des Chromosom 6, innerhalb des humanen Haupt-Histokompatibilitäts-Komplexes, einer immunologisch relevanten Region. Innerhalb dieser Region bestehen zwischen der Erkrankung und Nicht-HLA-Genen (z.B. CDSN, HCR), HLA-Genen (HLA-Cw\*6) und ancestralen Haplotypen (AH57.1) Assoziationen.

In dieser Arbeit sollen

- über ein dicht gesetztes Netz von SNP-Markern, innerhalb von PSORS1, weitere Assoziationen der Erkrankung mit polymorphen Positionen von Genen / Pseudogenen dieser Region identifiziert werden;
- die Region zentromer von PSORS1 über SNP-Marker auf einen Zusammenhang mit der Erkrankung Psoriasis vulgaris überprüft werden;
- das Vorkommen assoziierter polymorpher Positionen, als Haplotyp, im Zusammenhang mit Psoriasis assoziierten HLA-Haplotypen untersucht werden.

## Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit wird aufgrund dessen, dass sie aufeinander aufbaut, in zwei Teilbereiche gegliedert. Ein Bereich befasst sich mit der Feinkartierung einer im Psoriasis Verdachtsbereich PSORS1 im Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex auf Chromosom 6 gelegenen Region. Für diese wird mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine SNP-Karte erstellt (II.). Der zweite Bereich der Arbeit beruht auf der Durchführung von Assoziationsanalysen mit Markern, welche anhand der erstellten SNP-Karte ausgewählt werden. Die Analysen werden anhand von Kohorten gesunder und an Psoriasis vulgaris erkrankter Personen erstellt. Technische Grundlage hierfür ist die Hochdurchsatz-Genotypisierung mit der TaqMan®-Technologie (III.).

### I. Kohorten

Für die Sequenzanalyse stand die genomische DNA von gesunden Familien zur Verfügung (Tab. 1). Grundlage der Genotypisierung war die genomische DNA unverwandter, gesunder und an Psoriasis vulgaris erkrankter Personen, sowie genomische DNA von Familien mit erkrankten Mitgliedern (Tab.1). Die Assoziationsanalysen wurden mit aus Deutschland stammenden Personen durchgeführt und mit aus den USA stammenden Proben repliziert.

**Tabelle 1: Kohorten-Übersicht**

	Deutschland	Deutschland	Deutschland	Deutschland	USA	USA
Kohorte	0	I	II	III	IV	V
Gesundheitsstatus	Gesund	gesund	krank	gesund + krank	gesund	gesund + krank
Origin	kaukasisch	kaukasisch	kaukasisch	kaukasisch	kaukasisch	kaukasisch
Analyse	SNP-Karte	Case/Control LDA	Case/Control	TDT	Case/Control	Case / Control TDT
Einzelpers.(E) / Familie (F)	F	E	E	F	E	F
Personen Gesamt (M* / W*)	62	367 (197/164)	309 (184/125)	357 (166 / 191)	342	720 (335 / 385)
Familieninformation:						
Stammbäume	17			52		157
Anzahl Familien	17			104		197
Anzahl ASP*	0			17		18
Typisierung (2 ET* / 1 ET)	62			58 / 46		159 / 38
Erkrankte Personen (gesamt)	0			185		425

\*ET= Elternteil; \*M=männlich; \*W=weiblich; \*ASP=Affected Sibpairs; LDA = Linkage Disequilibrium Analyse

#### I.1. Kohorte 0

Für die Sequenzanalyse stand die genomische DNA von insgesamt 62 gesunden Personen kaukasischen Ursprungs zur Verfügung. Die 62 Personen setzten sich aus 17 Familien mit

durchschnittlich 3 Familienmitgliedern zusammen (Tab. 1). Rekrutiert wurden sie von Dr. Stefan Jenisch vom Institut für Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel. Sämtliche Personen wurden HLA-typisiert, wodurch eine Ermittlung der Anzahl unabhängiger Chromosomen auf 62 möglich war (Tab. 2).

**Tabelle 2: Familienübersicht SNP-Karte**

Familie	Generationen	HLA-	
		Personenanzahl	Haplotypen
1	1	6	4
2	1	2	3
3	1	4	4
4	1	3	4
5	1	7	4
6	1	5	4
7	1	3	4
8	1	4	4
9	1	3	4
10	1	2	3
11	1	3	4
12	1	3	3
13	1	3	3
14	1	3	4
15	1	3	2
16	1	3	4
17	1	5	4
Gesamt:		62	62

### **I.2 Kohorten II, III, V: Patienten**

Patienten mit Psoriasis vulgaris wurden vom Institut für Dermatologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Deutschland, und dem Department of Dermatology, University of Michigan, Ann Arbor, USA, nach gemeinsamen Kriterien rekrutiert. Die Diagnose Psoriasis vulgaris wurde von erfahrenen Dermatologen gestellt. Patienten wurden aufgenommen, wenn sie mindestens zwei der Kriterien Haut-, Kopfhaut-, Nagel- oder Gelenk-Läsionen, oder eine Läsion, die mehr als 1% der Gesamtkörperoberfläche betrifft, erfüllten (Christophers et al., 1993). Weitere Voraussetzung für die Aufnahme von Einzelpersonen und Familien war das Vorliegen der epidemiologischen Kriterien eines Krankheitsausbruchs vor dem 40. Lebensjahr und eine familiäre Häufung (Henseler et al., 1985). Alle Patienten waren kaukasischen Ursprungs. Sie wurden vom HLA-Labor des Instituts für Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, HLA-

typisiert bzw. wurden die Daten für die aus den USA stammenden Proben vom Department of Dermatology, University of Michigan, Ann Arbor, zur Verfügung gestellt.

Deutsche Kohorte: Für die Assoziationsanalyse Erkrankt versus Gesund (Case / Control) stand die genomische DNA von 309 unverwandten, erkrankten Personen zur Verfügung. Die Durchführung der familienbasierten Assoziationsanalyse erfolgte mit 52 Familien-Stammbäumen (Tab. 1).

Amerikanische Kohorte: Für die Durchführungen der Case / Control – und familienbasierten Assoziationsanalysen standen 157 Familien-Stammbäume zur Verfügung (Tab. 1).

### **I.3 Kohorten I, IV: Kontrollen**

Für die Case / Control – Analysen stand die DNA von 367 bzw. 342 Blutspendern aus Deutschland bzw. den USA zur Verfügung (Tab. 1). Sämtliche Personen sind kaukasischen Ursprungs. Die HLA-Typisierung der Proben wurde vom HLA-Labor des Instituts für Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, vorgenommen. Bezüglich der aus den USA stammenden Kontrollpersonen sind die Informationen, das Geschlecht betreffend, für die Hälfte der Teilnehmer nicht verfügbar.

## **II. SNP-Karte**

Für die Erstellung einer SNP-Karte wurde genomische DNA auf vorhandene Sequenzvariationen untersucht. Der analysierte Bereich liegt innerhalb des auf Chromosom 6 lokalisierten MHC und umfasst innerhalb der Klasse I eine Region von ca. 113 kb, zentromer und telomer von HLA-C gelegen. Zentromer von HLA-C handelt es sich dabei um das Pseudogen HCGIV-2. Telomer von HLA-C wurden die Pseudogene HCGII-2, NOB4 und die exprimierten Gene POU5F1 und TCF19 auf Sequenzvariationen untersucht. Für die Ermittlung der Anzahl unabhängiger Chromosomen und die Konstruktion von Haplotypen wurden die der Analyse zugrunde liegenden DNAs zusätzlich HLA-typisiert.

### **II.1. DNA-Präparation**

Die DNA-Präparation aus den Blutproben der an der Untersuchung beteiligten Personen wurde mit Hilfe eines kommerziell erwerblichen Kits der Firma QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland, vorgenommen. Benutzt wurde hierzu der Kit QIAamp® DNA Blood Midi Kit. Durchgeführt wurde die Präparation durch das HLA-Labor des Institutes für Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel.

## **II.2 HLA-Typisierung**

Zusätzlich zur DNA-Analyse wurde bei allen Personen eine Typisierung der Humanen-Leukocyten-Antigene (HLA) vorgenommen. Hierdurch konnte die Anzahl unabhängiger Chromosomen auf insgesamt 62 bestimmt werden. In jeder Familie wurden vorkommende HLA-Haplotypen einmal gezählt, repräsentativ für die Anzahl unabhängiger Chromosomen (Tab. 2). Es wurden die Humanen-Leukozyten-Antigene der Klasse I und II des MHC mit auf DNA-basierenden Techniken bestimmt. Die Typisierungen wurden durch das HLA-Labor des Institutes für Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel, durchgeführt.

### **II.2.1 Typisierung: HLA-Klasse I**

Die Bestimmung von HLA-A und HLA-B wurde durch Polymerase-Kettenreaktion mit sequenzspezifischen Oligonukleotiden (PCR-SSO) durchgeführt. Hierfür wurde ein kommerziell erhältlicher HLA-Typisierungs-Kit der Firma Dynal GmbH, Hamburg, Deutschland, benutzt (Dynal SSO-HLA-A, HLA-B). Die Typisierung des Klasse I Moleküls HLA-Cw wurde mittels Polymerase-Kettenreaktion mit sequenzspezifischen Primern (SSP) durchgeführt. Hierbei wurde ein im Institut für Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel, entwickelter Haustest benutzt.

### **II.2.2 Typisierung: HLA-Klasse II**

Die Typisierung der Klasse II Moleküle HLA-DR und HLA-DQ wurde, mittels einer Polymerase-Kettenreaktion mit sequenzspezifischen Primern (SSP), mit einem Kit der Firma Dynal GmbH, Hamburg, Deutschland, durchgeführt (Dynal SSP HLA DR DQ). Die PCR-SSP-Typisierung beruht darauf, dass ein Primer, dessen Sequenz komplementär zur Zielsequenz ist, sehr effektiv für die PCR-Reaktion genutzt werden kann, da die Primer-Paare am 3'-Ende perfekt zu einem einzelnen Allel oder einer Gruppe von Allelen passen.

## **II.3. Sequenzinformationen**

Die der Analyse zugrunde liegenden Sequenzen wurden von der Chromosom 6 Kartierungsgruppe des Sanger Institutes erstellt, mit aus den Datenbanken NCBI und Celera Discovery Systems™ stammenden Sequenzen aligned und auf ihre Exon-Struktur überprüft.

### **II.3.1 Sequenzen**

Die für die Sequenzanalyse zugrunde liegenden Sequenzdaten wurden von der Chromosom 6 Kartierungsgruppe des Sanger Institutes erstellt und im Oktober 1999 veröffentlicht. Daten über Gen-Bezeichnung, Status, Beginn und Ende des Gens innerhalb der Konsensussequenz und vermutete Funktionen sind in einer frei verfügbaren Gen-Liste einsehbar und hier im Anhang als Anhang I.1 beigelegt. Die dazugehörige Konsensussequenz ist ebenfalls im Internet frei verfügbar.

### **II.3.2 Alignment**

Alle aus der Konsensussequenz des Sanger Instituts genutzten Sequenzen wurden mit den entsprechenden Sequenzen aus der Datenbank des National Center for BioInformation (NCBI), USA, verglichen. Das Alignment wurde mittels des im Internet frei verfügbaren Programms ClustalW durchgeführt. Für die exprimierten Gene TCF19 und POU5F1 standen, neben den aus NCBI stammenden Sequenzen AP000509 und AC004195, Sequenzen aus der Datenbank Celera Discovery Systems™ zur Verfügung (TCF 19 → hCG25998; POU5F1 → hCG25999). Die untersuchten Pseudogene NOB4, HCGII-2, HCGIV-2 wurden mit den NCBI-Sequenzen AP000508 bzw. AP000509 verglichen. Die Sequenz AP000508 umfasst genomische DNA im Bereich der HLA-Klasse I Region. Sie beginnt zentromer von HLA-C mit dem Pseudogen RPL3.hom und endet mit dem telomer von HLA-C liegendem Pseudogen HCGII-2. Unter AP000509 ist der Bereich zentromer von HLA-C bis zum Gen HCR enthalten.

### **II.3.3 Exon-Strukturen**

Alle untersuchten Sequenzen wurden auf ihre Exon-Struktur überprüft. Hierfür wurden die im Internet verfügbaren Programme FGENESH und GENSCAN genutzt. Die Programme ermitteln anhand des Hidden Markov Modells innerhalb von Sequenzen vorhandene Exon-Strukturen. Von den Programmen vorhergesagte Aminosäuresequenzen wurden mit dem Programm Blast auf ihre Identität überprüft.

## **II.4 Polymerase Kettenreaktion (PCR)**

Für die untersuchten Bereiche wurden entsprechende PCR- und Sequenzier-Primer konstruiert, welche anschließend in der Polymerase-Kettenreaktion eingesetzt wurden.

### **II.4.1 Primer-Design**

Für die Amplifikation der Produkte der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden mit Hilfe des Programms Vector NTI™ und dem im Internet frei verfügbaren Programm Primer3, Version 0.6, PCR-Primer, sowie für die anschließende Sequenzierung die entsprechenden Sequenzier-Primer konstruiert. Die durchschnittliche PCR-Produktgröße betrug 1000 Basenpaare. Es wurden je nach Größe des untersuchten Bereiches zwischen 1 und 4 PCR-Primerpaare erstellt (Anhang I.2). Bei Verwendung von mehr als einem PCR-Primerpaar wurden diese so ausgewählt, dass die PCR-Produkte überlappten. Die Sequenzier-Primer wurden im Abstand von ca. 300 Basenpaaren voneinander platziert (Anhang I.3).

Die PCR-Primer umfassten die gesamte Länge der in der Gen-Liste des Sanger Institutes beschriebenen und hier untersuchten Gene (TCF19, POU5F1) und Pseudogene (NOB4, HCGII-2, HCGIV-2). Auch wurde die Lage von ermittelten Exon-Strukturen der einzelnen Gene / Pseudogene in die Auswahl und Platzierung der Primer berücksichtigt.

### **II.4.2 Primer-Herstellung**

Sämtliche PCR- und Sequenzier-Primer wurden von der Firma TIB MOLBIOL Syntheselabor, Berlin, Deutschland, hergestellt.

### **II.4.3 Polymerase-Kettenreaktion**

Die genomische DNA der insgesamt 62 Personen wurde mit den entsprechenden PCR-Primerpaaren für die untersuchten Regionen TCF19, POU5F1, NOB4, HCGII-2 und HCGIV-2 amplifiziert. Jede PCR-Reaktion umfasste ein Volumen von 52 µl und enthielt 50 ng genomische DNA.

Die Ansätze sahen folgendermaßen aus:

Lichrosolv® (Wasser für die Chromatographie)		12 µl
<b><u>MIX, bestehend aus:</u></b>		16 µl
10x PCR-Puffer (100 mM Tris-HCL, 500 mM KCL)	5,12 µl	
MgCl <sub>2</sub> (50mM)	3,08 µl	
dNTP-Mix (10mM)	0,40 µl	
Taq DNA polymerase (5 U/µl)	0,22 µl	
Primermix (jeweils 0,65 µM)		20 µl
DNA		<u>4 µl</u>
		52 µl

Bei Lichrosolv® handelt es sich um Wasser für die Chromatographie der Firma Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland. Alle benutzten Reagenzien stammen von der Firma Invitrogen *life technologies*, Karlsruhe, Deutschland. Die dNTPs wurden bei der Firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland, bestellt.

Durchgeführt wurde die Polymerase-Kettenreaktion in einem Biometra T1 Thermocycler der Firma Whatman Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland, unter den folgenden Bedingungen:

<b>Initiale Denaturierung</b>	: 5 min	95°
<b>Zyklen</b>	: 1x	
<b>Denaturierung</b>	: 20 sec.	95°
<b>Annealing</b>	: 20 sec.	entspr. jeweiligem Temperaturoptimum
<b>Elongation</b>	: 1 min	72°C
<b>Zyklen</b>	: 35x	
<b>Letzter Schritt</b>	: 5 min	72°C
<b>Zyklen</b>	: 1x	

Für die Optimierung der PCR-Primer wurden je Primerpaar mehrere Läufe bei unterschiedlichen Temperaturen durchgeführt. Die optimale Temperatur liegt für die benutzten PCR-Primer in einem Bereich von 58°C bis 61°C (Anhang I.2).

Alle PCR-Produkte wurden mit Hilfe eines 2%igen Agarosegels (2g Agarose der Firma Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland, 100 ml TBE-Puffer) auf eine erfolgreiche Amplifikation hin überprüft. Die Dauer der Elektrophorese betrug 25 Minuten bei 200 V, 500 mA. Es folgte eine Überprüfung unter UV-Licht auf das Vorhandensein der PCR-Produkte und die Dokumentation durch fotografieren des Gels.



#### **II.4.4 Amplifikat-Aufreinigung**

Vor Sequenzierung der amplifizierten PCR-Produkte erfolgte eine Aufreinigung dieser über einen Enzym-Verdau. Hierzu wurde jedem PCR-Produkt ein Reaktionsmix aus 0,30 µl Shrimp Alkaline Phosphatase (1 U/µl) und 0,15 µl Exonuclease I (10 U/µl) der Firma Amersham Biosciences, Freiburg, Deutschland, zugefügt, der auf ein Volumen von 2 µl mit autoklaviertem Wasser aufgefüllt wurde. Die Inkubation erfolgte bei 37°C für 15 Minuten. Zur anschließenden enzymatischen Inaktivierung wurden die Amplifikate für 15 Minuten bei 72°C inkubiert. Dieser Schritt erfolgte in Zusammenarbeit mit der I. Medizin des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel.

Für die im Hause der Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel, durchgeführten Sequenzierungen wurden die PCR-Produkte mit Hilfe des QIAquick® PCR Purification Kit (250) der Firma QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland, aufgereinigt.

#### **II.5 Hochdurchsatz-Sequenzierung**

Für die Sequenzierung der PCR-Produkte mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung, war die Fluoreszenz-Dye-Terminator Technologie technische Grundlage. Hierbei wird die DNA mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert und vom Gerät, während der Elektrophorese, mittels Laser angeregt und gemessen.

##### **II.5.1 Sequenzier-Reaktion**

Für die Sequenzier-Reaktion wurde der ABI Prism BigDye Terminator Kit (ABI Prism® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit Version 3.0) der Firma Applied Biosystem (Foster City, CA, USA) verwandt. Es wurden jeweils 2 µl des aufgereinigten PCR-Produkts eingesetzt.

##### **Ansatz pro Reaktion:**

PCR-Produkt	2 µl
Primer (1,6 pMol/µl)	1 µl
ABI Prism BigDye Terminator-RR-Mix	1 µl
Lichrosolv®-Wasser	<u>6 µl</u>
Gesamtvolumen	10 µl

Bei Lichrosolv® handelt es sich um Wasser für die Chromatographie der Firma Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland.

Die Reaktion verlief in einem Biometra Thermocycler der Firma Whatman Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland, unter folgenden Bedingungen:

<b>Initiale Denaturierung</b>	: 5 min	96°
<b>Zyklen</b>	: 1x	
<b>Denaturierung</b>	: 1 min	95°
<b>Annealing</b>	: 45 sec.	55°C
<b>Elongation</b>	: 4 min	60°C
<b>Zyklen</b>	: 25x	

### II.5.2 Aufreinigung der Sequenzier-Reaktionen

Vor Durchführung der Sequenzierungen erfolgte eine Aufreinigung der Produkte mittels Sephadex-Puder der Firma Amersham Biosciences Europe GmbH, Freiburg, Deutschland. Über diese Reinigung wird das Produkt der Sequenzier-Reaktion von Proteinen und Nukleotiden gereinigt, da diese nicht von dem Puder absorbiert werden.

Sephadex-Platten (MAHVN 4550) wurden mit Sephadex-Puder (G50 Superfine) über ein Multi-Screen Filterungssystem beladen. Die Produkte stammen von der Firma Amersham Biosciences, Freiburg, Deutschland. Es folgte das Befüllen der Platten mit 300 µl Wasser für die Chromatographie, Lichrosolv® der Firma Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland, und das Aufquellen über Nacht. Nach dem Quellen wurden die Platten für 5 min bei 2100 rpm zentrifugiert und der Wasser-Überstand entfernt. Ein erneuter Waschgang mit 150 µl Lichrosolv® -Wasser und anschließendem Zentrifugieren für 5 min bei 2100 rpm folgte anschließend. Die Produkte der Sequenzier-Reaktionen wurden mit 10 µl Lichrosolv®-Wasser zur Volumenvergrößerung aufgefüllt und auf die Reinigungssäulen gegeben. Diese wurden vorab mit einer MicroAmp® Optical 96- Mikrotiter-Platte (Applied Biosystem Inc., Foster City, CA, USA) verbunden. Durch Zentrifugation bei 2100 rpm für 5 min wurden die Proben durch die Reinigungssäule gedrückt und die Proben-Platten anschließend, bis zur Sequenzierung, bei minus 20°C im Dunkeln gelagert. Die Aufreinigung der Sequenzier-Reaktionen für die Hochdurchsatz-Sequenzierungen geschah in Zusammenarbeit mit der I. Medizin des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel.

Bei Sequenzierungen, die im Hause des Institutes für Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel, durchgeführt wurden, erfolgte die Aufreinigung der Produkte mit DyeEx™ 2.0 Spin Kit der Firma QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland, entsprechend dem Firmen-Protokoll.

### **II.5.3 Sequenzierung**

Die anschließende Hochdurchsatz-Sequenzierung erfolgte in dem mit 96 Kapillaren ausgestatteten ABI PRISM 3700 DNA Analyzer der Firma Applied Biosystem (Foster City, CA, USA). Das Prinzip der automatisierten DNA-Sequenzierung beruht auf der Fluoreszenz-Dye-Terminator Technologie (ABI Prism® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit Version 3.0, Applied Biosystem; ABI PRISM 3700 DNA Analyzer – 96 capillary sequencer). Für Sequenzierungen im Hause des Institutes für Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel, stand ein ABI PRISM 310 Genetic Analyzer der Firma Applied Biosystem (Foster City, CA, USA) zur Verfügung.

### **II.6 Sequenzanalyse**

Die sequenzierten Bereiche der Gene TCF19 und POU5F1, sowie der Pseudogene NOB4, HCGII-1 und HCGIV-2, wurden auf Sequenz-Variationen untersucht. Dabei handelte es sich um Basensubstitutionen (Single Nucleotid Polymorphismen; SNP), Insertionen und Deletionen (= Indel).

#### **II.6.1 Sequenz-Auswertung**

Zur Analyse der Sequenzen wurden die einzelnen Sequenzabschnitte jeweils innerhalb einer Familie zusammengefasst und verglichen. Hierfür stand das Programm Sequencher™ 4.0 der Firma Gene Codes Corporation, USA, zur Verfügung. Identifizierte Variationen konnten aufgrund der vorhandenen HLA-Daten den einzelnen Chromosomen zugeordnet und ihre Vererbung verfolgt werden.

#### **II.6.2 Validierung von Substitutionen**

Für die Validierung der SNPs mussten nachfolgende Kriterien erfüllt sein:

- Validierung über Segregationsanalyse
- alle SNP-Formen (homozygotes Auftreten beider möglichen Basenvarianten, sowie das heterogene Auftreten der Basen) müssen innerhalb einer Familie, wie in Abb. 1 dargestellt, auftreten und über Segregation verfolgbar sein
- replizierte Sequenzierung
- Vergleich von in Frage stehenden und validierten SNPs mit den Datenbanken des National Center for Biotechnology Information (NCBI) und Celera Discovery System™: Die Validierung über Datenbanken erfolgte über Positionsbestimmung auf

Chromosom 6. Weiter erfolgte ein Sequenzabgleich über Alignment sämtlicher, durch die Datenbanken validierter SNPs mit dem Programm ClustalW. Ebenso wurden die Abstände der SNPs in der MHC Konsensussequenz und den Sequenzierungen mit den Abständen der entsprechend auf Chromosom 6 kartierten NCBI Referenz-SNPs (NT\_007592.13) verglichen.

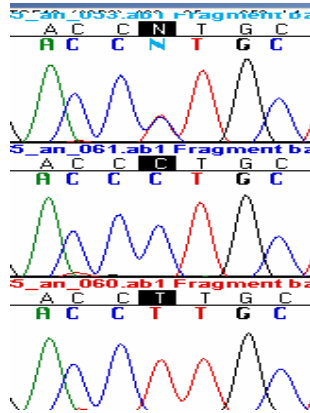


Abb. I.: Validierung von SNPs innerhalb von Familien.

## II.7 Haplotypen

Es wurde eine Übersicht über die auf den einzelnen Chromosomen auftretenden Haplotypen erstellt und ihr Auftreten in Kopplung mit bestimmten HLA-Mustern überprüft.

### II.7.1 Haplotypen-Übersicht

Ausgewählt wurden Haplotypen, welche über sämtliche polymorphe Positionen lückenlos verfolgbar waren und bei denen eine zweifelsfreie Zuordnung der polymorphen Positionen zu dem entsprechenden Chromosom möglich war.

Die einzelnen Haplotypen wurden zu sogenannten Blöcken zusammengefasst. Als Kriterium hierfür galt die Übereinstimmung der Haplotypen in ihrem Aufbau.

### II.7.2 Haplotypen / HLA-Muster

- Es wurde das Auftreten der beobachteten Haplotypen in Bezug auf ihr Vorkommen mit Allelen von HLA-B und HLA-C betrachtet.

- Es wurde das Auftreten bestimmter HLA-Kombinationen im Zusammenhang mit den zu Blöcken zusammengefassten Haplotypen überprüft.

Für den Punkt I.7 war aufgrund der Limitierung, entstanden durch die Aufnahme nur lückenloser Haplotypen in die Auswertung, die verbleibende Anzahl unabhängiger Chromosomen zu gering, um eine statistische Auswertung zu ermöglichen. Bei den hier festgestellten Kopplungen handelt es sich somit um reine Beobachtungswerte.

### **III. Assoziationsanalysen**

Der Durchführung von Assoziationsanalysen lagen Marker aus der oben erstellten SNP-Karte, sowie Marker aus der Literatur zu Grunde. Die auf das Vorliegen von Kopplungsungleichgewicht beruhenden Analysen wurden zum einen als Case / Control – Analysen mit unverwandten gesunden und erkrankten Personen durchgeführt. Zum anderen erfolgte die Analyse familienbasiert. Den jeweiligen Untersuchungen standen aus Deutschland und den USA stammende Kohorten gesunder und an Psoriasis vulgaris erkrankter Personen und Familien zur Verfügung. Die zu analysierenden polymorphen Positionen umfassten einen Bereich von insgesamt 1,923 kb, der sich innerhalb des auf Chromosom 6 gelegenen MHC von der Klasse I bis in die Klasse II erstreckt. Die Genotypisierungen wurden auf der Hochdurchsatz-SNP-Genotypisierungs-Plattform der 1. Medizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, durchgeführt.

#### **III.1 Genotypisierungs-Technologie: TaqMan® Technologie**

In der Hochdurchsatz-Typisierung haben sich in den letzten Jahren verschiedene Genotypisierungs-Technologien entwickelt, mit dem Ziel der möglichst kostengünstigen und schnellen Durchführung von Typisierung. Die derzeitigen Methoden beruhen auf der Nutzung von auf Fluoreszenz-Farbstoffen basierenden Verfahren wie u.a. TaqMan®-Technologien (Livak et al., 1995) oder Allel-spezifische Oligonukleotid-Ligations-Assays (Tobe et al. 1996). Daneben spielen aber auch Mini-Sequenzierungen (Chen et al., 1997) und die Mikroarray-Technologie (Hacia et al. 1998) in der Hochdurchsatz-Genotypisierung eine Rolle. Bei der TaqMan® Technologie wird die 5'-Exonuclease-Aktivität der *Taq*-Polymerase genutzt, um das sich während der PCR-Reaktion entwickelnde Fluoreszenz-Reportersignal zu messen (Livak et al., 1995). Für die SNP-Genotypisierung wurde je ein Paar TaqMan-Marker, sowie ein Paar PCR-Primer konstruiert. Die TaqMan-Marker unterscheiden sich an ihrer

polymorphen Position und sind in der Typisierung mit jeweils Ursprungs-Allel und Allel-Variante vertreten. Jeder der beiden Marker ist mit einem unterschiedlichen Fluoreszenz-Farbstoff gekoppelt. Die Kopplung der Marker mit dem Fluoreszenz-Farbstoff (als Reporter-Farbstoff bezeichnet) erfolgt am 5' Ende. Am 3' Ende der Marker befindet sich ein, wie der Reporter-Farbstoff, kovalent gebundener „Quenscher“-Farbstoff. Bei intakten Markern wird aufgrund der unmittelbaren Nähe von Reporter- und „Quenscher“-Farbstoff keine Fluoreszenz frei, da diese durch den „Quenscher“ unterdrückt wird. Während der Zweistrangsynthese in der Polymerase-Kettenreaktion hybridisiert die Sonde an die entsprechende polymorphe Position. In der Extensionsphase der Reaktion wird der Reporter-Farbstoff abgespalten und das entsprechende Fluoreszenzsignal frei. Die spezifische Genotypisierung wird über die Signalintensität der beiden unterschiedlichen Reporterfarbstoffe ermittelt. Das Verfahren kann neben der SNP-Genotypisierung auch zur Untersuchung von Insertionen und Deletionen angewandt werden. (Shi et al., 1999, Shi, 2001). In der hier durchgeführten Untersuchung wurden die Marker mit den Farbstoffen FAM™ (6-carbofluorescein) und VIC® (Handelsname bei Applied Biosystem) markiert.

### **III.1.1 Genotypisierungs-Plattform Campus Kiel**

Der Campus Kiel des Universitätsklinikums Schleswig Holstein hat eine Plattform für Hochdurchsatz-SNP-Genotypisierung etabliert, mit der sie durch Einsatz von 384-Well-Technologie in der Lage ist, Genotypisierungen von 40.000 SNPs pro Tag durchzuführen (Hampe et al., 1999, 2001; Olavesen et al., 2000). Hier wurde mit TaqMan®-Typisierungs-Technologie von Applied Biosystem gearbeitet. Das Prinzip beruht auf der Aktivität der 5'-Exonuclease der *Taq*-Polymerase und stellt eine Kombination von Polymerase-Kettenreaktion und kompetitiver Hybridisierung dar.

### **III.1.2 Genotypisierungs-Ablauf**

Vor Genotypisierung wurde in einem automatisierten Prozess (TECAN Genesis 150 pipetting robot, TECAN 96well Fluorometer, Tecan Deutschland GmbH, Crailsheim, Deutschland) genomische DNA gemessen und verdünnt, falls erforderlich. Anschließend wurden 2 ng DNA pro Well mittels eines 96- und 384-Kanal Pipettier-Roboter (Robbins Scientific Hydra microdispenser, Dunn Labortechnik GmbH, Asbach, Deutschland) in 96er bzw. 384er Mikrotiterplatten (Costar Corning Incorporated; Cambridge MA, USA, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) aliquotiert und bei 60°C getrocknet. Ebenfalls auf den Platten befanden sich zwei Kontrollen einer CEPH-Zell-Linie (Centre d'Etude du

Polymorphisme Humain, Paris, France), sowie vier Leerkontrollen. Die Kontrollen sind für jedes Platten-Layout immer auf den gleichen Positionen lokalisiert. Die Informationen bezüglich Platten-Layout und damit verbunden, die über Barcodes festgehaltenen Informationen über auf der Platte enthaltene DNA, wurden in das Datenbank-System eingegeben. Hierdurch konnte in den anschließenden Analysen das Genotypisierungsergebnis der DNA-Probe jedes Individuums analysiert werden. Nach Qualitätskontrolle und Hitzeversiegelung der Platten mit einem ABGENE ALPS300 (ABgene, Epsom, UK) wird eine Lagerung der Platten bei Raumtemperatur bis zu einem Jahr möglich.

Für die bi-allelische Genotypisierung wurde eine 5 µl PCR-Reaktionslösung angesetzt. Diese enthält 2,50 µl TaqMan®Universal PCR Master Mix (Applied Biosystem Inc., Foster City, CA, USA). Die Endkonzentration der mit FAM™ bzw. VIC® gekoppelten Marker entsprach 200 nM. Der Einsatz des Vorwärts- bzw. Rückwärts-Primers entsprach einer Endkonzentration von 900 nM. Aufgrund der jeweiligen unterschiedlichen Ausgangskonzentration sämtlicher Marker (Assay-on-Demand, Assay-by-Design), wurden sie mit LiChrosolv®, Wasser für die Chromatographie der Firma Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland, verdünnt. Selbiges galt für sämtliche eingesetzten Primer. Die Reaktion wurde dann auf ein Endvolumen von 5 µl entsprechend mit LiChrosolv® aufgefüllt. Die Zugabe der Reaktionslösung in die 384er-Mikrotiterplatte, welche die getrocknete DNA enthielt, wurde anschließend über einen automatisierten Prozess mit einem TECAN Genesis RSP10 Multipipettier-Roboter (Tecan Deutschland GmbH, Crailsheim, Deutschland) durchgeführt.

Die PCR im Biometra Thermocycler der Firma Whatman Biometra GmbH, Göttingen, Deutschland, fand unter den nachfolgenden Bedingungen statt:

<b>Temperatur:</b> 50°C	2 min
<b>Zyklen:</b> 1x	
<b>Temperatur:</b> 95°C	10 min
<b>Zyklen:</b> 1x	
<b>Temperatur:</b> 95°C	15 sec
60°C	1 min
<b>Zyklen:</b> 45	

Die durch Anlagerung des passenden Markers an das PCR-Produkt und durch Abspaltung des Quenscher frei werdende Fluoreszenz wurde im ABI Prism 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystem, CA, USA) gelesen und die Daten in die Datenbank importiert.

### III.1.3 Markerauswahl für Genotypisierung

Die durchgeführte Genotypisierung umfasst eine Auswahl von 98 Marker, welche sich auf einen Analysebereich von 1,923 kb verteilen. Die Marker wurden anhand folgender Kriterien ausgewählt:

- Verfügbarkeit bei ABI (Applied Biosystem, CA, USA)

Für die Genotypisierung genutzte Marker wurden zum Teil nach Verfügbarkeit über die Firma ABI Applied Biosystem Inc., Foster City, CA, USA, ausgewählt (Assay-on-Demand). Hierdurch konnte ein größerer Bereich in der Untersuchung berücksichtigt werden. Es wurden nicht nur Marker ausgewählt, die sich innerhalb der von uns mittels Sequenzanalyse untersuchten Region befanden, sondern auch solche, die sich in Bereichen zentromer bzw. telomer davon befanden.

- Daten der Sequenzanalyse

Weiter lagen der Marker-Auswahl unsere Sequenzierdaten zugrunde, um spezielle Bereiche genauer untersuchen zu können. In Frage kommende SNPs und Insertionen / Deletionen wurden nach ihrer Lokalisation (Exon / Intron) und nach der Häufigkeit ihres Auftretens ausgewählt. Über die Sequenzierdaten konnte sichergestellt werden, dass die Variante des untersuchten SNPs ausreichend vertreten war.

Um eine stärkere Abgrenzung zwischen im Bereich MICA und MICB gelegenen Markern zu bekommen, wurde ein Teil des dort lokalisierten Gens P5.1 (HCP-5) entsprechend den unter I. erfassten Punkten der Sequenzanalyse sequenziert, bearbeitet und aufgrund der Daten Marker ausgewählt.

Zusätzlich wurden von Dr. Stefan Jenisch durchgeführte Sequenzierungen des telomer von HLA-C gelegenen Pseudogens KIAA0055.hom in dieser Analyse, entsprechend dem vorhergehenden Punkt I.6 der Sequenzanalyse, ausgewertet und Marker aufgenommen.

Von Dr. Stefan Jenisch konstruierte Marker für den Bereich MICA und MICB beruhen auf die von ihm über diesen Bereich erfassten Sequenzdaten.

Die entsprechenden Sonden zählen zu Assay-by-Design, Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA.

- HLA-Haplotypen

Die der Sequenzanalyse zugrunde liegende Kohorte aus insgesamt 62 Personen umfasst ein breites Spektrum an HLA-Haplotypen. Zur Auswahl von Markern für die



Genotypisierung wurden sehr häufig auftretende HLA-Allel-Kombinationen, wie HLA-B\*5801 / HLA-Cw\*0304, mit Psoriasis assoziierten Allel-Kombinationen verglichen. Darunter fallen die Kombinationen HLA-B\*13 / HLA-Cw\*06, HLA-B\*57 / HLA-Cw\*06 und HLA-B\*37 / HLA-Cw\*06. Es wurden neben SNPs auch Insertionen / Deletionen berücksichtigt. Die entsprechenden Sonden zählen zu Assay-by-Design, Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA.

- Literatur

Es wurden Marker untersucht, deren Assoziation mit Psoriasis bereits bekannt ist und die innerhalb und außerhalb von PSORS1 lokalisiert sind (Tab. 3). Die entsprechenden Sonden zählen zu Assay-by-Design, Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA.

**Tabelle 3: Übersicht aus der Literatur entnommene Marker**

Marker / Veröffentlichung	Gen	Bezeichnung	Position/Bezeichnung*
		Genotypisierung	Literatur
Jenisch et al., 1999: Tissue Antigens, 54: 439-449	CDSN	CDSN00619	619
		CDSN01593	1593
		CDSN01215	1215
		CDSN01243	1243
Asumalahti et al., 2000: Human Molec.Genetics, 9 (10): 1533-1542 Asumalahti et al., 2002: Human Molec.Genetics, 11 (5): 589-597	HCR	HCG00251	307
		HCG00269	325
		HCG00715	771
		HCG01667	1723
		HCG02122	2178
		HCG02271	2327
Veal et al., 2002: Am. J. Hum. Gen., 71: 554-564	KIAA0055.hom	06KIA_01	*SNP: n.9
Höhler et al., 1997: J. Invest. Dermatol., 109 (4): 562-565	TNF-Alpha	06_TNF_238	-238
Okamoto et al., 2003: Am. J. Hum. Gen., 72: 303-312	BAT1	BAT1a2008	*SNPa2008
	IkBL	hcV3273586	*SNP96452
		IkBL86695	*SNP86695

### III.2 Marker-Design

Sämtliche Sonden wurden von der Firma Applied Biosystem hergestellt. Als Fluoreszenz-Farbstoffe dienten die beiden Farbstoffe VIC® und FAM™. Die Marker unterteilten sich in sogenannte Assay-on-Demand und Assay-on-Design. Marker „Assay-on-Design“ wurden teilweise von ABI anhand von uns vorgegebener Sequenzabschnitte designed bzw. erfolgte das Primer- und Sondendesign direkt durch mich. Ein Teil der Assays-on-Demand und Assay-on-Design wurden von der I. Medizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein,

Campus Kiel, zur Verfügung gestellt. Eine Gesamtübersicht über die Verteilung der Marker befindet sich im Anhang unter I.6.

### **III.2.1 Assay-on-Demand**

Marker "Assay-on-Demand" sind direkt über die Firma ABI (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA) als TaqMan® Assay-on-Demand™ SNP Genotypisierungs-Produkte erhältlich. Diese Assays sind komplett von ABI designed und benutzerfertig. Informationen über chromosomale Position, Art der Substitution etc. können einem Katalog entnommen werden. Eine Übersicht über die genotypisierten Assay-on-Demand enthält Anhang I.4.

### **III.2.2 Assay-by-Design**

Unter Assay-by-Design verstehen sich Sonden und PCR-Primer, die von Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA speziell für den entsprechend von uns zu untersuchenden SNP hergestellt wurden. Anhand der von uns erhobenen Sequenzdaten wurden, neben den benötigten PCR-Primern, auch die entsprechenden Sonden in einem automatisierten Verfahren von Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA konstruiert bzw. von uns konstruierte Sonden und Primer gefertigt (Anhang I.5).

#### Markerdesign von ABI anhand unserer Sequenzdaten:

- Die für das Markerdesign benötigten Sequenzdaten wurden vorab mit Hilfe des Programms REPEAT MASKER, welches im Internet frei verfügbar ist, bezüglich ihrer Struktur überprüft. Dieses Programm überprüft DNA-Bereiche auf das Vorhandensein repetitiver Sequenzen, sowie auf Bereiche niedriger Komplexität (A.F.A. Smit und P. Green, unpubl. Data). Bereiche niedriger Komplexität beinhalten hauptsächlich poly-Purin oder poly-Pyrimidin Strecken oder besitzen einen extrem hohen Gehalt an AT oder GC. Über NCBI wurde mittels des Programms Blast die genaue Position jeden Markers auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 im Bereich p21.3 bestimmt. Diese Positionsangaben wurden später für die graphische Darstellung des Ergebnisses der Assoziationsanalyse benötigt. Sämtliche chromosomale Positionen der untersuchten SNPs, sowie der Insertionen / Deletionen, beziehen sich auf die NCBI-Referenzsequenz NT\_007592.13. Sie wurden den jeweiligen Aktualisierung der SNP-Datenbank durch NCBI entsprechend angeglichen. Sämtliche aus der SNP-Datenbank entnommene Informationen, bezüglich Position und Validierungsstatus der Referenz-SNPs, entsprechen dem jeweils aktualisierten Stand

der NCBI Datenbank bis einschließlich Aktualisierungs-Nummer (Build) 118. Ebenso konnte hierdurch überprüft werden, ob die Sondensequenz mit weiteren Positionen aligned.

- Entsprechend dem Protokoll von Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA, wurde eine Sequenz mit jeweils 100 bp in 5' und 3'-Richtung von der polymorphen Position, sowie die Basensubstitution selbst, angegeben. In der den Polymorphismus umgebenden Sequenz mussten eventuell bestehende weitere Substitutionen berücksichtigt und entsprechend UBI-Code kenntlich gemacht werden. Im Bereich 20 bp um die zu untersuchende polymorphe Position sollten sich keine weiteren SNPs befinden. Für die Untersuchung von Insertionen / Deletionen galt entsprechendes.

#### Eigenes Markerdesign:

Sobald kein automatisches Design der Sonden durch Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA, möglich war, wurden sowohl die PCR-Primerpaare, als auch die Sonden direkt von mir konstruiert.

Entsprechend den von Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA, erstellten Richtlinien für SNP-Detektions-Assays wurden, mit Hilfe des Programms Primer Express® Version 1.5 (Applied Biosystem Inc., Foster City, CA, USA), sowohl PCR-Primer, als auch die Marker für den zu untersuchenden Polymorphismus konstruiert. Die PCR-Produkte sollten dabei eine Länge von 50-150 bp nicht überschreiten. Sämtliche PCR-Primer wurden so konstruiert, dass sie eine Sequenzlänge von mind. 18 bp aufwiesen und eine Schmelztemperatur ( $T_m$ ) im Bereich von 58,5°C. Der Vorwärtsprimer wurde so ausgewählt, dass sein Abstand zur Sonde maximal 50 bp, mindestens aber 20 bp entsprach. Es folgte eine Überprüfung sämtlicher Primer auf ihre Spezifität mittels des Programms Blast von NCBI. Die konstruierten Markersequenzen umfassten mindestens 13 bp, maximal 30 bp. Der SNP befand sich dabei in der Mitte bzw. im hinteren Drittel der Sequenz, je nachdem, was bei der Konstruktion möglich war. Für die Konstruktion wurde entweder die 5'-Richtung der Sequenz benutzt bzw. bei Bedarf die komplementäre Sequenz, z.B. wenn der Anteil an Guanin-Basen zu hoch war. Die Schmelztemperatur, die 8-10°C über die der PCR-Primer liegen sollte, betrug für alle Sonden 67°C. Innerhalb eines Sondenpaars darf sie nur um 0,5°C voneinander abweichen. Ein wichtiger Punkt bei der Marker-Konstruktion war, dass das 5'-Ende der Marker nicht mit der Base Guanin beginnen darf, da dies zu Problemen mit dem gekoppelten Farbstoff führt.

### **III.2.3 Marker-Alignment**

Sämtliche Marker wurden fortlaufend auf ihr Alignment mit anderen Sequenzen überprüft. Hierdurch wurde sichergestellt, dass jede Sonde nur an der für sie definierten Position auf Chromosom 6 greift. Die Alignments starteten mit dem NCBI-Build 114 der SNP-Datenbank von NCBI. Hierzu wurde die im Internet unter NCBI Blast zur Verfügung stehende Seite benutzt.

### **III.3 Überprüfung der Genotypisierung**

Sämtliche Marker wurden nach erfolgter Genotypisierung und vor Aufnahme in die Analyse auf ihr Vorliegen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht und bezüglich ihrer fehlerfreien Segregation überprüft.

#### **III.3.1 Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (Hardy-Weinberg-Equilibrium; HWE)**

Vor Aufnahme des jeweiligen Markers in die Analyse wurde sein Vorliegen im populationsgenetischen Gleichgewicht entsprechend der Hardy-Weinberg-Regel überprüft. Sie besagt, dass in einer „idealen Population“ die relative Frequenz mit der bestimmte Allele im Genpool vertreten sind, über die Generationenfolge hinweg unverändert bleiben ( $p^2+2pq+q^2=1$ ). Das auf der Genotypisierungs-Plattform der I. Medizin des Universitätsklinikums Schleswig Holstein, Campus Kiel, automatisierte Verfahren zeigte dabei an, ob Abweichungen vorlagen. Ist dies der Fall, so wurde automatisch ihre Stärke ermittelt und zwischen signifikanter und noch nicht signifikanter Abweichung unterschieden.

In dieser Analyse eingesetzte Marker, die signifikante Abweichungen zeigten, wurden nicht in die Analyse aufgenommen.

#### **III.3.2 Mendel-Check**

Bevor die Informationen der genotypisierten Platten in die Datenbank gegeben werden, wurde die Mendelsche Segregation überprüft. Dieser Vorgang erfolgte über die Genotypisierungs-Abteilung der I. Medizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel. Es ist ein automatisierter Vorgang, in welchem innerhalb der genotypisierten Familien auf Fehler in der Vererbung nach den Mendelschen Regeln getestet wird. Treten Fehler auf, so wird der entsprechende Familienstammbaum angezeigt. Fehler können z.B. auftreten, wenn sich

innerhalb eines Familienstammbaums eine Person befindet, bei der es sich nicht um ein tatsächliches Familienmitglied handelt.

Marker die mehr als drei Mendelfehler zeigten, wurden aus der Analyse ausgeschlossen. Bei Markern innerhalb des Bereiches wurde jeder einzelne Mendelfehler für die Analysen auf Null gesetzt.

#### IV. Segregation

Für die Rekonstruktion von Haplotypen anhand der deutschen Kohorte (III) wurde das von Dr. Stefan Jenisch, Institut für Immunologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, entwickelte Programm Segregation benutzt. Das Programm entwickelt, durch Segregationsanalyse der vorhandenen MHC-Daten, der Vererbung zugrunde liegende Haplotypen.

#### V. Statistik

##### V.1 Chiquadrat-Test

Über den Chiquadrat-Test lässt sich die Signifikanz der Ergebnisse einer Untersuchung bestimmen. Er gibt an, ob Unterschiede zwischen erwarteten und beobachteten Werten als zufällig betrachtet werden müssen oder ob ein signifikanter Unterschied vorliegt.

Hier fand eine 2x2 Tabelle Anwendung (Abb. 2). Dem ermittelten Chiquadrat-Wert lag ein Freiheitsgrad zugrunde.

	<b>vorhanden</b>	<b>nicht vorhanden</b>	<b>Summe</b>
<b>Positiv</b>	a	C	a + c
<b>Negativ</b>	b	D	b + d
<b>Summe</b>	a + b	c + d	a + b + c + d

Abb. 2: Vier-Felder-Tafel

##### V.2 Fisher-Exakt-Test

Über diesen Test kann vor allem die statistische Signifikanz für Allel-Assoziationen zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe erkrankter Personen für kleinere Fallzahlen ermittelt werden. Zugrunde liegt die 4-Felder Tafel.

In dieser Analyse wurde ein von J. Ott entwickeltes Programm zur Analyse genetischer Kopplung 2BY2 Version 1.50 (UTILITY PROGRAMS FOR ANALYSIS OF GENETIC

LINKAGE, Copyright (C) 1988, J. Ott) benutzt. Neben der statistischen Signifikanz wurde über das Programm auch die Odds Ratio mit 95 % Konfidenzintervall (95% CI) ermittelt.

### **V.3. Transmissions-Ungleichgewichts-Test (Transmission-Disequilibrium-Test; TDT)**

Bei dem TDT-Test handelt es sich um eine familienbasierte Assoziationsanalyse. Er beruht auf dem Vergleich, wie oft ein bestimmtes Marker-Allel von Eltern auf ein erkranktes Kind übertragen oder nicht übertragen wird. Abweichungen können dann mittels Chi-Quadrat-Test statistisch bewertet werden (Spielmann et al., 1993). Innerhalb der familienbasierten Assoziationsanalyse mit Trios verringert sich der Einfluss von Populations-Stratifizierungen (Lander et al., 1994; Falk et al., 1987).

In dieser Untersuchung wurde das Programm Multi\_TRANSMIT, Version 2.5, das von David Clayton entwickelt wurde, genutzt (Clayton, 1999).

Multi\_TRANSMIT überprüft die Transmission der Marker von Eltern auf erkrankte Nachkommen in Bezug auf Assoziationen zwischen genetischem Marker und der Erkrankung. Weiter ist das Programm in der Lage, in der Familie vorkommende mögliche Haplotypen zu rekonstruieren, ihre Wahrscheinlichkeit zu bestimmen und einen gewichteten TDT durchzuführen. Sind die elterlichen Genotypen unbekannt, kann über Daten gesunder Nachkommen die Zahl möglicher elterlicher Genotypen verringert werden, die für die Überprüfung beachtet werden müssen. Mittels asymptotischen Chi-Quadrat-Test wird zum einen für jedes Allel, bzw. bei der Multi-Lokus-Analyse für jeden Haplotypen, unter Berücksichtigung von 1-df (Freiheitsgrad) auf übermäßige Transmission des entsprechenden Haplotypes getestet. Neben Einzel-Lokus-Analysen wurden Multi-Lokus-Analysen von mit bis zu vier Markern durchgeführt. Dabei wandert das Programm von Marker zu Marker und fasst jeden einzelnen mit den folgenden Markern zusammen. Bezüglich der Allel-Zuordnung muss beachtet werden, dass im Vergleich zur Case / Control hier eine neue Nummerierung der Allele erfolgt. Das Allel mit der höchsten Frequenz wird vom Programm Multi\_Transmit als Allel 1 gesetzt, das mit der niedrigeren Frequenz als Allel 2. Aus diesem Grund kann es bezüglich der Allel-Nummerierung zwischen den Case / Control Analysen und Multi\_Transmit zu unterschieden in der Allelnummer des betrachteten Allels kommen.

### **V.4. Case / Control - Assoziationsanalyse**

Durch diese Analysemethode erfolgt der direkte Vergleich der Häufigkeit des Auftretens eines Allels zwischen erkrankten, unverwandten Personen (Case) und nicht erkrankten, als gesund angesehenen Personen (Control). Unterschiede in den Allel-Frequenzen eines

bestimmten Markers zwischen diesen beiden Kohorten ist ein Hinweis auf das Vorliegen einer Assoziation zwischen Marker und Erkrankung.

Die Berechnung der statistischen Signifikanz von Frequenz-Unterschieden wurden mittels des Programms haplo\_ccmap durchgeführt, welches eine Analyseoption des Programms HAPMAX ist.

Das Programm ist im Internet frei verfügbar. Es errechnet den P-Wert eines global Chiquadrat-Test. Weiter berechnet es den P-Wert für das Wahrscheinlichkeitsverhältnis (**Likelihood Ratio, LR**), welches das Verhältnis der Wahrscheinlichkeit eines bestimmten Ergebnisses bei Kranken und Gesunden angibt. Dieser Wert wird später zum Plotten der Marker-Daten gegen ihre physikalische Position benutzt.

Die statistische Bewertung wurde zusätzlich mit einem Hausprogramm der I. Medizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, ermittelt. Das Programm führt über die Ermittlung der Allel-Frequenzen / Genotyp-Frequenzen einen automatisierten Chiquadrat-Test durch.

#### **V.5. Chancenverhältnis (Odds Ratio; OR)**

Weiter wurde die sogenannte Odds Ratio (OR) ermittelt, welche eine gute Approximation des **Relativen Risikos (RR)** darstellt für Erkrankungen mit niedrigem Risiko in einer Population. Der Berechnung liegt die Formel  $R_1 = (n_1 n_4 / n_2 n_3)$  zugrunde, mit  $n_1$  und  $n_2$  als Anzahl Patienten ( $n_1$ ) bzw. gesunden Kontrollpersonen ( $n_2$ ), welche das Charakteristikum zeigen. Demgegenüber beziehen sich  $n_3$  und  $n_4$  auf die entsprechende Anzahl Patienten bzw. Kontrollpersonen ohne das entsprechende Charakteristikum (Ott, 1991). Somit bezeichnet sie das Verhältnis von zwei Odds für ein bestimmtes Charakteristikum. Eine OR von 1 zeigt, dass es keinen Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen gibt. Je weiter sie von 1 entfernt ist, um so größer ist der Unterschied zwischen Patienten und Kontrollen.

#### **V.6. Daten-Plots**

Die graphische Darstellung der Daten erfolgte über eine unter dem Programm HAPMAX geführte Plotter-Funktion. Hierbei wurden die in den Assoziationsanalysen ermittelten Werte gegen die physikalische Position der Marker geplottet. Diese wurde vorab anhand der Referenzsequenz NT\_007592.13 ermittelt.

**V.7. Kopplungsungleichgewichtsanalyse (Linkage Disequilibrium-Analyse; LDA)**

Unter Kopplungsungleichgewicht versteht man die nicht zufällige gemeinsame Vererbung von Allelen, welche durch ihre Nähe zueinander gekoppelt sind. Über seine Berechnung kann die Stärke des Kopplungsungleichgewichts zwischen Marker-Loci ermittelt werden. Seine Berechnung erfolgt unter Nutzung unterschiedlicher statistischer Maße. Grundlage ist der LD-Koeffizient,  $D$ , welcher von der Allel-Frequenz in der Population abhängig ist. Sein maximaler Wert ist durch  $D_{\max} = \min(p_1q_2, p_2q_1)$  gegeben, der minimale Wert über  $D_{\min} = \max(-p_1q_1, -p_2q_2)$  (Lewontin, 1964, Ott, 1991). Aufgrund dieser Eingrenzung wird eine normalisierte Einschätzung des vorliegenden Kopplungsungleichgewichts genutzt. Das theoretische Maximum  $D'$  ergibt sich dann aus  $D' = D/D_{\max}$  oder  $D' = D/D_{\min}$  (Lewontin, 1964, Ott, 1991).  $D'$  ist weniger stark von der Allel-Frequenz abhängig als  $D$ , trotzdem kann es in einigen Fällen von ihr beeinflusst werden.

Zur Berechnung des Kopplungsungleichgewichts zwischen den genotypisierten Markern wurde eine Analyseoption des Programms HAPMAX genutzt.



## Ergebnisse:

Der Ergebnisteil ist in zwei Teilbereiche aufgliedert. Der molekularbiologisch ausgerichtete erste Bereich (I.1) befasst sich mit der hochauflösenden SNP-Kartierung einer Region innerhalb des MHC, auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6. Die erstellte SNP-Karte soll eine genauere Betrachtung des Bereiches in den anschließend durchgeführten Assoziationsanalysen ermöglichen. Der zweite Teilbereich (I.2) betrifft die epidemiologische Untersuchung der Autoimmunerkrankung Psoriasis vulgaris mittels über die SNP-Karte ausgewählter Marker.

### I.1 Erstellung einer hochauflösenden SNP-Karte im Bereich PSORS1

Die zur Konstruktion einer hochauflösenden SNP-Karte analysierte Region liegt innerhalb des als PSORS1 bezeichneten Psoriasis-Verdachtsbereichs, der sich in der Klasse I des Haupt-Histokompatibilitäts-Komplexes auf Chromosom 6 befindet (Abb. I.1a). Der untersuchte Bereich umfasst insgesamt 113kb, zentromer und telomer von HLA-C gelegen (Abb. I.1b). Als Grundlage der Sequenzierung stand die genomische DNA von 62 Personen zur Verfügung, welche insgesamt 17 Familien kaukasischen Ursprungs entstammte. Insgesamt wurden zwei exprimierte Gene, sowie drei als Pseudogene deklarierte Sequenzabschnitte untersucht.

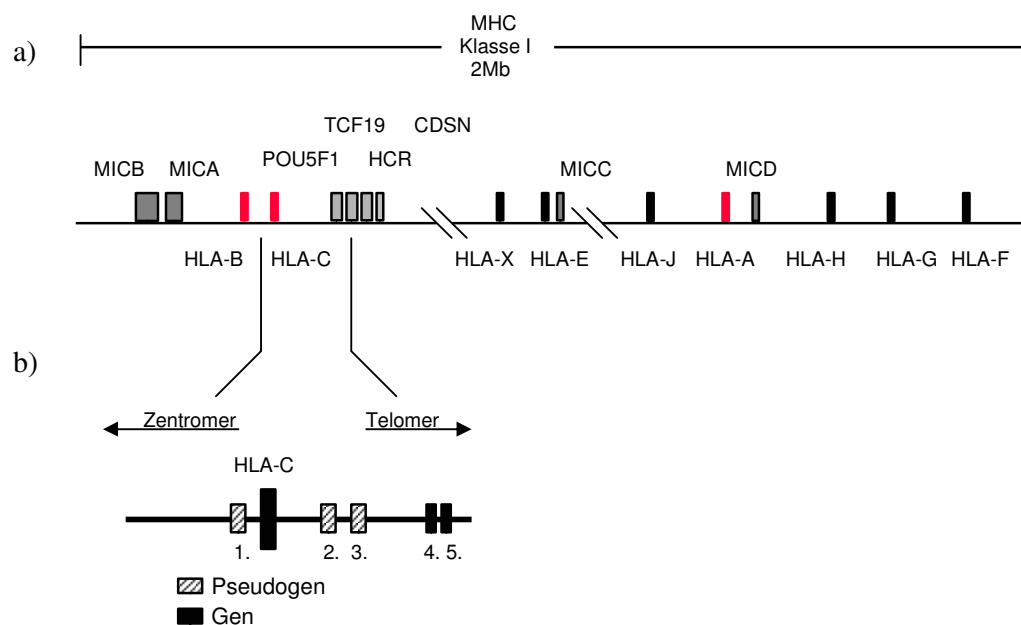


Abb. I.1.1a) Gesamtübersicht MHC Klasse I

I.1.1b) Ausschnitt des für die Konstruktion einer SNP-Karte sequenzierten Bereiches

1.HCGIV-02; 2. HCGII-2; 3. NOB4; 4. POU5F1 (OTF3); 5. TCF19 (SC1)

### I.1.1 HCGIV-02

HCGIV-02 ist ein Pseudogen aus der zur Familie der Multi-Gene gehörenden Hemochromatosis-Kandidaten-Gene, die im Laufe der evolutionären Entwicklung des Haupt-Histokompatibilitäts-Komplexes durch Duplikation entstanden ist. HCGIV-02 befindet sich ca. 1 kb zentromer von HLA-C und umfasst 234 bp.

Eine Überprüfung mittels der Programme GENSCAN und FGENESH ergab, dass die Sequenz keine Regionen enthält, die auf eine eventuelle Expression schließen lassen (Anhang II.I.1).

#### I.1.1.1 Sequenzanalyse

Insgesamt wurden 4 SNPs und ein Indel über die beschriebenen Kriterien identifiziert. Der durchschnittliche Abstand zwischen den vier SNPs beträgt 41 bp. Der kleinste Abstand liegt zwischen den Substitutionen auf Position 23 und 38 mit 15 bp. Der größte Sequenzabschnitt zwischen zwei SNPs liegt zwischen den Positionen 38 und 128 und beträgt 90 bp (Tabelle 1.1). Bei den vorliegenden SNPs handelt es sich zu 75% um Transitionen ( $C \leftrightarrow T / G \leftrightarrow A$ ), zu 25% um Transversion (hier  $C \leftrightarrow G$ ). Insgesamt zeigt sich, dass benachbarte SNPs nicht zufällig in Kombination miteinander vererbt werden ((2x2-Felder)-Chiquadrat-Test).

Tabelle 1.1: SNP-Übersicht für HCGIV-02

Position MHC Konsensus-Sequenz	Position Pseudogen	Substitution / Sequenzvariation	Validierungskriterium
1559509	9	*T / -T <sup>#</sup>	Segregation
1559523	23	T / C	Segregation
1559538	38	*C / G	Segregation
1559628	128	C / T	Segregation
1559687	187	C / T	Segregation

\*Sondenkonstruktion

# Deletion der Base T

#### I.1.1.2 SNP Haplotypen

Es konnte das Auftreten von insgesamt sieben unterschiedlichen Kombinationen beobachtet werden, hier als SNP-Haplotypen bezeichnet. Die Häufigkeit wurde über das Auftreten der einzelnen Haplotypen auf unabhängigen Chromosomen ermittelt (Tabelle 1.2).

Eine Überprüfung auf das Vorliegen von Kopplungsungleichgewicht zwischen diversen HLA-Haplotypen und den hier vorliegenden SNP-Haplotypen zeigt, dass jeweils bestimmte SNP- und HLA-Haplotypen der Klasse I kombiniert miteinander auftreten (Tabelle 1.3).

**Tabelle 1.2: Auftretende SNP-Haplotypen HCGIV-02**

Haplotyp	SNP Position					Häufigkeit (%)**
	9*	23	38	128	187	
1	T	T	G	T	C	14%
2	T	T	G	C	C	7%
3	T	T	C	T	C	5%
4	T	T	C	C	C	25%
5	/	T	G	C	C	5%
6	/	T	G	T	T	9%
7	T	C	G	T	C	35%

\* / = Deletion

\*\*Die prozentuale Häufigkeit bezieht sich auf das Vorkommen auf unabhängigen Chromosomen. Es fanden nur Chromosomen Berücksichtigung, bei denen eine eindeutige, lückenlose Zuordnung möglich war.

### I.1.1.3 SNP-Block

Die SNP-Haplotypen wurden aufgrund der farbig markierten, konservierten Positionen, welche über mehrere unabhängige Chromosomen hinweg komplette Übereinstimmung zeigten, in Blöcke eingeteilt (Tabelle 1.2). So besteht der erste Block für die Haplotypen 1 bis 4 aus drei SNPs der Positionen 9, 23 und 187, welche nur in Kombination miteinander auftreten. Ein zweiter Block besteht aus den Haplotypen 5 und 6 und setzt sich aus den Positionen 9, 23 und 38 zusammen. Der dritte Block, aus Haplotyp 7 bestehend, kam über alle definierten SNP-Positionen immer in der gleichen Ausprägung vor. Insgesamt sind der erste und dritte Block auf 86% der Chromosomen vertreten.

Schaut man sich die Vererbung der einzelnen Blöcke mit dem entsprechenden HLA-Haplotypen an, so zeigt sich von zentromer nach telomer in den Kombinationen HLA-B – HCGIV-2 – HLA-C nur eine Überschneidung (Tabelle 1.3). Diese erscheint zwischen dem SNP-Haplotypen 6 (Block 2) und dem SNP-Haplotypen 7 (Block 3).

Beide Haplotypen sind von den Ausprägungen ihrer SNP-Positionen und bezüglich der Insertion sehr unterschiedlich. Während der SNP-Haplotyp 7 einer der am häufigsten beobachteten Haplotypen (35%) ist, tritt der SNP-Haplotyp 6 eher selten auf (6%).

**Tabelle 1.3: SNP-Haplotypen / HLA-Haplotypen**

HLA-Cw	B	SNP-Haplotyp								SNP-Block		
		1	2	3	4	5	6	7		1	2	3
*01	*27			X						X		
*01	*55			X						X		
*02	*4004					X					X	
*02	*44					X					X	
*0303	*1501							X				X
*0303	*35											
*0304	*1501							X				X
*0304	*4001											
*0304	*55							X				X
*0304	*5801											
*04	*18	X								X		
*04	*35	X	X							X		
*04	*44											
*05	*44	X								X		
*06	*37		X							X		
*06	*57							X				X
*0701	*08				X						X	
*0701	*1517				X						X	
*0701	*49				X						X	
*0701	*57											
*0702	*07				X						X	
*0704	*44						X	X			X	X
*08	*14							X				X
*1203	*18				X					X		
*1203	*38	X								X		
*15	*07						X				X	
*15	*51						X				X	

\*Es wurden nur SNP-Analysen einbezogen, deren Basenzuordnung eindeutig war.

Hierdurch wurde die Anzahl unabhängiger Chromosomen zu gering um eine statistische Auswertung durchführen zu können.

## I.1.2 HCGII-2

Das Pseudogen HCGII-2 ist ein Mitglied der Hemochromatosis-Kandidaten-Genfamilie. Es umfasst 914 bp.

Eine Überprüfung der Sequenzstruktur mit den Programmen GENESCAN und FGENEH auf vorhandene Exon- / Intron-Bereiche ergab, dass keine Exonstrukturen vorhanden sind.

### I.1.2.1 Sequenzanalyse

Insgesamt konnten 13 SNPs validiert werden (Tabelle 1.4). Andere Sequenzvariationen, wie Insertionen oder Deletionen, wurden nicht beobachtet.

**Tabelle 1.4: SNP-Übersicht HCGII-2**

Position MHC Konsensus- sequenz	Position Pseudogen	Substitution / Sequenzvariation	Validierungs- kriterium
1539556	809	A / C	Segregation / NCBI: rs2894195
1539557	808	G / A	Segregation / NCBI: rs3130440
1539593	772	T / C	Segregation / NCBI: rs2394946
1539791	574	*A / G	Segregation / NCBI: rs1793892
1539887	478	T / C	NCBI : rs3869125
1539943	422	C / T	Segregation / NCBI: rs1639113
1539955	410	A / G	Segregation
1539965	400	*C / G	Segregation / NCBI: rs2394948
1539980	385	*A / G	Segregation
1540013	352	C / T	NCBI: rs3095256
1540021	344	*G / T	Segregation / NCBI: rs3095255
1540108	257	C / G	NCBI : rs3095254
1540138	227	*A / G	Segregation / NCBI: rs1793891

\* Sondenkonstruktion

Drei der insgesamt 13 SNPs konnten nur über NCBI validiert werden. Die SNPs der Positionen 257, 352 und 478 traten nur in heterozygoter Form auf bzw. konnten nicht über Segregation validiert werden. Der durchschnittliche Abstand zwischen dem Auftreten der SNPs beträgt 45 bp. Neben zwei direkt nebeneinander lokalisierten SNPs auf den Positionen 808 und 809, wurde als maximaler Abstand ein Sequenzbereich von 198 bp beobachtet. Dieser befindet sich zwischen den SNPs auf den Positionen 772 und 574. Bei 69% der

beobachteten Substitutionen handelt es sich um Transitionen, bei 31% um Transversionen (hier: A ↔ C/C ↔ G/G ↔ T). Bezogen auf das gemeinsame Auftreten benachbarter SNPs zeigt sich, dass sie nicht unabhängig voneinander vererbt werden ((2x2-Felder Tafel)-Chi-Quadrat-Test).

### I.1.2.2. SNP-Haplotypen

Über die Vererbung der SNPs sind 10 verschiedene SNP-Haplotypen identifizierbar. Von diesen unterscheiden sich 4 nur in einer Position (Tabelle 1.5). Die Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Haplotypen wurde über ihr Vorkommen auf unabhängigen Chromosomen ermittelt. Eine Überprüfung über das Vorliegen von Kopplungsungleichgewicht mit den klassischen Transplantationsantigenen HLA-B und -C zeigt, dass jeweils eine bestimmte Kombination von SNP- und HLA-Haplotypen vorliegt (Tabelle 1.6). Insgesamt treten zwischen dem Vorkommen verschiedener SNP-Haplotypen mit einem HLA-Haplotyp 4 Überschneidungen auf. So erscheint die HLA-Kombination HLA-B\*44/HLA-Cw\*02 sowohl mit dem SNP-Haplotypen 5, als auch mit dem SNP-Haplotypen 9. HLA-B\*35/HLA-Cw\*04 tritt gemeinsam mit den SNP-Haplotypen 7 und 9 auf, HLA-B\*44/HLA-Cw\*05 mit den SNP-Haplotypen 1 und 2. Die SNP-Haplotypen 9 und 10 erscheinen beide mit HLA-B\*08/HLA-Cw\*0701. Es fällt auf, dass sich die Überschneidungen nie zwischen SNP-Haplotypen ereignet, die sehr häufig auf den unabhängigen Chromosomen zu finden sind. Es sind vielmehr Überschneidungen zwischen häufigeren (z.B. SNP-Haplotyp 1; 25%) und selteneren (5-9%) Haplotypen.

Tabelle 1.5: Auftretende SNP-Haplotypen HCGII-2

SNP-Haplotyp	SNP-Position													Häufigkeiten (%)
	227	257	344	352	385	400	410	422	478	574	772	808	809	
1	G	C	G	C	G	C	G	C	T	A	C	A	C	25
2	G	C	G	C	G	G	G	C	T	A	C	A	C	3
3	G	C	G	C	A	C	A	T	T	G	T	G	A	5
4	G	C	G	C	A	C	A	C	C	A	T	G	A	11
5	G	C	G	C	A	C	A	C	T	A	T	G	A	5
6	G	C	T	C	A	C	A	C	C	A	T	A	C	3
7	G	G	T	C	A	G	A	C	T	A	T	A	C	9
8	G	G	G	C	A	G	A	C	T	A	T	G	A	3
9	A	C	G	C	A	C	A	C	T	A	T	G	A	31
10	A	C	G	C	A	G	A	C	T	A	T	G	A	5

\*Die prozentuale Häufigkeit bezieht sich auf das Vorkommen lückenloser Haplotypen auf unabhängigen Chromosomen.

### I.1.2.3 SNP-Block

Die insgesamt 10 Haplotypen lassen sich aufgrund ihrer Struktur (farbig markiert) von vier Grund-Haplotypen ableiten (Tabelle 1.5). Die SNP-Haplotypen 1 und 2 können zu einem Block zusammengefasst werden. Dieser scheint, bis auf eine Position, über seine volle Länge konserviert zu sein. Die SNP-Haplotypen 3 bis 6 ergeben einen zweiten Block. Die SNP-Haplotypen 7 und 8 stellen den dritten und die Nummern 9 und 10, ebenfalls stark konserviert, den vierten Block dar.

Eine Überprüfung über das Vorliegen von Kopplungsungleichgewicht zwischen HLA-Haplotypen und SNP-Blöcken zeigt nur wenige Überschneidungen (Tabelle 1.6). Überschneidungen treten, bezogen auf die gebildeten Blöcke, zwischen Block 1 und 2, 2 und 4 und 3 und 4 auf. Keine Überschneidung tritt zwischen den Blöcken 2 und 3 auf.

**Tabelle 1.6: Auftretende Kombinationen SNP- und HLA-Haplotypen**

HLA-		SNP-Haplotyp										SNP-BLOCK			
Cw	B	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4
*01	*27				X								X		
*01	*51				X								X		
*02	*4002								X					X	
*02	*44					X				X			X		X
*0303	*1501	X										X			
*0303	*35		X									X			
*0304	*1501	X										X			
*0304	*5801			X									X		
*04	*18	X										X			
*04	*35							X		X				X	X
*04	*44						X						X		
*05	*44	X		X								X	X		
*06	*37										X				X
*06	*57									X					X
*0701	*08									X	X				X
*0701	*57									X					X
*0702	*07	X										X			
*0704	*44					X							X		
*1203	*18									X					X
*1203	*39									X					X
*15	*51				X								X		

\* Es wurden nur SNP-Analysen einbezogen, deren Basenzuordnung eindeutig war. Hierdurch wurde die Anzahl unabhängiger Chromosomen zu gering um eine statistische Auswertung durchführen zu können.

### I.1.3 NOB4

NOB4 ist ein bisher weitgehendst unbeschriebenes Pseudogen, welches 3295 bp umfasst. Es ist 34 kb in telomerer Richtung von HLA-C gelegen. Es ist weder seine Orientierung, noch eine Funktion oder Homologie zu anderen Genen bekannt.

Eine Überprüfung der Struktur von NOB4 ergab im Bereich der Basen 2046 bis 2384 ein vermutetes, aus einem Exon bestehendes Gen (Anhang II.I.1). Dieses codiert für ein aus 112 Aminosäuren bestehendes Protein (Abb. I.1.2). In diesem Ergebnis stimmen die Programme FGENESH und GENSCAN überein.

---

```

M G Q V W A L V R S T L E L F H T D D E E E G E Y
atg gga caa gtg tgg gct ctg gtt cgt tcc acc ttg gaa ctt ttt cac act gat gat gag gag gaa gga gag tat

D E V T E E V T E Q V Y L P A K A K V A Q E E E
gac gaa gta aca gaa gag gtt aca gag cag gtt tat ttg cca gct aaa gct aaa gtg gca cag gag gaa gag

V H P Y P S A P P H Y Y F E E K E W P D P P D L S F
gtt cat ccc tac cct tct gca ccc cct cat tat tat ttt gaa gaa aaa gag tgg cca gac cct cca gat ctt tct ttt

L E D T G R K V V A P V T E Q H L E R L L S V L
ctg gag gac act ggg cga aaa gta gtt gcc cca gtg act gag cag cac ctc gag cga ctg ctg tca gtt cta

F R Q E F S R L D E R V I
ttc agg cag gag ttc agc agg cta gac gag agg gtg ata tag

```

**Abb. I.1.2:**

**Aminosäuresequenz der 338bp codierenden Sequenz**

---

Laut dem Programm GENSCAN wurde die Struktur, welche der Aminosäuresequenz zugrunde liegt, als optimales Exon eingestuft. Dabei muss berücksichtigt werden, dass dies nicht immer unbedingt mit den tatsächlichen vorhandenen Exonen innerhalb von Genen korrespondiert. Der von GENSCAN ermittelte Wert zur Einschätzung, ob es sich bei der Struktur tatsächlich um ein Exon handelt oder nicht, beruht auf einer logarithmische Wahrscheinlichkeitsmessung der Qualität der Charakteristika, basierend auf Sequenzeigenschaften. Das hier vorhergesagte Exon erreicht einen Wert von 0.947 und fällt somit in den Bereich der moderaten bis hohen Wahrscheinlichkeit für die Richtigkeit des Vorliegens eines Exons ( $0.50 < P < 0.99$ ). Eine mittels Blast durchgeführte Überprüfung der Aminosäuresequenz zeigte keine konservierten Domänen und somit keine Homologien zu anderen in der Datenbank vorhandenen Proteinen.



### I.1.3.1 Sequenzanalyse

Insgesamt konnten 29 Sequenzsubstitutionen validiert werden (Tabelle 1.7). Die Validierung von 5 SNPs war nur über die NCBI SNP-Datenbank möglich.

Tabelle 1.7: SNP-Übersicht NOB4

Position MHC Konsensussequenz	Position Pseudogen	Substitution / Sequenzvariation	Validierungskriterium
1521156	382	G / A	Segregation
1521197	423	A / C	Segregation / NCBI: rs7382551
1521306	532	C / A	Segregation
1521421	647	C / G	Segregation
1521463	689	T / C	Segregation
1521473	699	C / T	Segregation
1521612	838	T / C	Segregation
1521613	839	T / C	Segregation
1521685	911	T / G	Segregation
1521721	947	C / G	Segregation
1521752	978	G / C	Segregation / NCBI: rs6927461
1522195	1421	G / A	NCBI: rs2394888
1522254	1480	T / C	NCBI: rs2394889
1522255	1481	C / T	NCBI: rs2894183
1522435	1661	C / T	Segregation / NCBI: rs7767978
1522524	1750	C / G	Segregation/NCBI: rs7768019
1522526	1752	G / A	NCBI: rs2894184
1522614	1840	G / A	Segregation / NCBI: rs7768431
1522629	1855	T / C	Segregation/NCBI: rs7750355
1522635	1861	T / C	NCBI: rs7451198
1523023	2249	G / T	Segregation / NCBI: rs7769114
1523028	2254	A / G	Segregation / NCBI: rs7768843
1523166	2392	C / G	Segregation / NCBI: rs7769147
1523519	2745	G / A	Segregation / NCBI: rs7745136
1523693	2919	C / T	Segregation
1523708	2934	A / C	Segregation / NCBI: rs7745050
1523715	2941	C / T	Segregation / NCBI: rs7745197
1523835	3061	*A / T	Segregation
1523957	3183	*G / A	Segregation / NCBI: rs7745906

\* Sondenkonstruktion

Der durchschnittliche Abstand zwischen den SNPs beträgt 97 bp mit einem minimalen Abstand von 1 bp zwischen den Positionen 838 / 839 und 1480 / 1481. Der größte Abstand besteht zwischen den Positionen 992 / 1435 und umfasst 443 bp. Insgesamt zeigt sich auch hier, dass es sich häufig bei den Substitutionen um Transitionen handelt (62%), während die restlichen 38% sich auf die Kombinationen G ↔ T; A ↔ T; A ↔ C und C ↔ G aufteilen. Innerhalb der untersuchten Sequenz treten keine Insertionen oder Deletionen auf. Betrachtet man die Vererbung der SNPs untereinander, zeigt sich, dass benachbarte SNPs signifikant häufig ((2x2-Feldertafel)-Chiquadrat-Test) gemeinsam vererbt werden.

### **I.1.3.2 SNP-Haplotypen**

Beim Vergleich der auftretenden SNP-Kombinationen anhand validierter Positionen zeigen sich 10 SNP-Haplotypen, deren Häufigkeit über das Auftreten auf unabhängigen Chromosomen ermittelt wurde (Tabelle 1.8). Insgesamt lässt sich eine Korrelation zwischen den einzelnen SNP-Haplotypen und den HLA-B und HLA-C Mustern der einzelnen Personen erkennen (Tabelle 1.9). So tritt der Haplotyp 7 auf mehreren unabhängigen Chromosomen mit den HLA-Kombinationen HLA-Cw\*0303/HLA-B\*35 und HLA-B\*15 auf, sowie mit HLA-Cw\*0304/HLA-B\*58. Dieser SNP-Haplotyp ist der am häufigsten vorkommende Haplotyp in bezug auf die Anzahl auswertbarer unabhängiger Chromosomen. Er tritt, außer mit dem oben genannten, mit keinem weiteren HLA-Haplotyp auf. Eine Überschneidung im Vorkommen mit dem HLA-Haplotypen HLA-B\*51/HLA-Cw\*15 zeigt sich für die SNP-Haplotypen 2 und 4, beide eher selten und aufgrund ihrer Ähnlichkeit zu einem SNP-Block (1) gehörend.

### **I.1.3.3 SNP-Block**

Die SNP-Haplotypen können über die SNP-Positionen in drei auftretende Grund-Haplotypen eingeordnet werden, womit sich drei Blöcke ergeben (farbig markiert): Block 1: Haplotyp 1 bis 5; Block 2: Haplotyp 6; Block 3: Haplotyp 7 bis 10 (Tabelle 1.8). Der mit der Nummer 6 bezifferte SNP-Haplotyp bewegt sich in seinen SNP-Kombinationen zwischen den Blöcken 1 und 2, welche bei insgesamt 96% der unabhängigen Chromosomen auftraten. Insgesamt zeigt sich, dass es kaum Überschneidungen zwischen SNP-Blöcken und bestimmten Humanen-Leukozyten-Antigenen gibt (Tabelle 1.9). So tritt Block 1, unabhängig von den anderen, häufig mit HLA-Cw\*15, HLA-Cw\*0701 und HLA-Cw\*06 auf. In Kombination mit HLA-Cw\*04 erscheint sowohl der erste, als auch der dritte Block, jeweils mit entsprechend unterschiedlichem HLA-B-Allel.

Tabelle 1.8: Auftretende SNP-Haplotypen für NOB4

SNP- Haplotyp	Positionen																												Häufigkeit (%)	
	382	423	532	647	689	699	838	839	911	947	978	1421	1480	1481	1661	1750	1752	1840	1855	1861	2249	2254	2392	2745	2919	2934	2941	3061		3183
1	G	A	C	T	T	C	T	G	T	C	G	G	T	C	C	C	G	G	T	T	G	A	C	G	C	A	C	A	G	19
2	G	A	C	C	C	T	C	T	G	G	G	G	T	C	C	C	G	G	C	T	G	G	C	G	C	A	C	A	G	4
3	G	A	C	C	C	T	C	T	G	G	C	G	T	T	C	C	G	G	C	T	G	G	G	G	C	A	C	A	G	23
4	G	A	A	C	C	T	C	T	G	G	G	G	T	C	C	C	G	G	C	T	G	G	C	G	C	A	C	A	G	4
5	G	A	A	T	T	C	T	G	T	C	G	G	T	C	C	C	G	G	T	T	G	A	C	G	C	A	C	A	G	4
6	G	C	A	C	T	T	C	T	T	C	G	A	C	T	C	C	A	G	C	C	T	G	G	A	C	A	T	A	G	4
7	A	C	A	C	T	T	C	T	T	G	C	G	T	C	T	G	G	A	C	T	G	G	C	A	C	C	T	T	A	30
8	A	C	A	C	T	T	C	T	T	G	C	G	T	C	T	G	G	G	C	T	G	G	C	G	C	A	C	A	G	4
9	A	C	A	C	T	C	C	T	T	G	C	G	T	C	T	G	G	G	C	T	T	G	G	G	C	A	C	A	G	4
10	A	C	A	C	C	T	C	T	G	G	G	G	T	C	C	C	G	G	C	T	G	G	C	G	C	A	C	A	G	4

Tabelle 1.9: SNP- / HLA-Haplotypen

HLA- Cw	B	SNP- Haplotyp										SNP- Block				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3		
*01	*27															
*01	*51															
*02	*4002															
*02	*44									X						X
*0303	*1501							X								X
*0303	*35							X								X
*0304	*1501							X								X
*0304	*5801															
*04	*18															
*04	*35				X								X			
*04	*44								X							X
*05	*44															
*06	*37	X												X		
*06	*57	X												X		
*0701	*08					X								X		
*0701	*49			X										X		
*0701	*57															
*0702	*07															
*0704	*44											X				X
*1203	*18							X							X	
*1203	*39															
*15	*07				X									X		
*15	*51		X		X									X		

\*Es wurden nur SNP-Analysen einbezogen, deren Basenzuordnung eindeutig war. Hierdurch wurde die Anzahl unabhängiger Chromosomen zu gering, um eine statistische Auswertung durchführen zu können.

## I.1.4 TCF19

TCF19, auch als SC1 bezeichnet, ist ein 103 kb in telomerer Richtung von HLA-C lokalisiertes Gen, welches in den frühen Phasen des Zellwachstums exprimiert wird (Ku et al., 1991). Seine Sequenz weist 3 Exone auf, die ein insgesamt ca. 2,5 kb großes Transkript umfassen. TCF19 codiert für ein aus 344 Aminosäuren bestehendes Protein.

Eine Überprüfung der Exon-Struktur mit Hilfe der Programme GENSCAN und FGENESH ergab ebenfalls eine aus drei Exonen bestehende Struktur (Anhang II.I.1).

### I.1.4.1 Sequenzanalyse

Insgesamt enthält TCF19 18 validierbare SNPs, welche zumeist in den Intron-Regionen liegen (Tabelle 1.10). Für insgesamt 5 SNPs war eine Validierung nur über die Datenbanken

NCBI und Celera Discovery System™ oder über die Veröffentlichung der Gruppe Teraoka et al. (2000) möglich. Unter anderem fallen hierunter auch drei Substitutionen im Bereich des Exon 2, die bereits von Teraoka et al. (2000) identifiziert wurden. Unter ihnen ist auch ein auf der Position 2738 lokalisierter Tri-Morphismus. Für diese Position ist von den Datenbanken der Austausch der Base Cytosin durch Adenin validiert. Eine von dieser Gruppe ebenfalls identifizierte Deletion im Intron 2 von 4 bp wurde in dieser Arbeit nicht sichtbar. Bezüglich der in der SNP-Datenbank von NCBI enthaltenen SNPs für TCF19, zeigt sich die Anzahl schwankend. Von Januar bis März 2003 stieg ihre Anzahl von 10 auf 50 Eintragungen mit unterschiedlichem Validierungsstatus. Seit August 2003 enthält sie 44 SNPs (NCBI-Build 116). Als einzige Sequenzvariation, neben den Substitutionen, wurde ein als polymorpher Block (PMB) bezeichneter, 35 bp umfassender Bereich identifiziert (Abb. I.1.3). Dieser ist nicht in der Konsensussequenz aus dem Jahr 1999 enthalten. Die an dieser Stelle laut Konsensussequenz befindlichen 5 Basen TTCAA (Position 1997) wurden nicht gefunden. Ein Sequenzabgleich von der, der Sequenzierung zu Grunde liegenden TCF19-Sequenz mit einer aus der Datenbank Celera Discovery System™ stammenden TCF19 Sequenz (hCG25998.3, 5813bp) zeigt, dass diese die 35 Basen enthält. Dies gilt ebenso für die aus der NCBI Datenbank stammende Sequenz AC004195, welche die komplette Sequenz des Bereichs Chromosom 6p21 enthält. Der Block taucht in homozygoter Form für 35 bp auf, die anstelle der fünf Basen TTCAA gefunden wurden. Weiter gibt es aber auch Sequenzen, in denen scheinbar 20 Basen des Bereichs heterozygot sind. Eine homozygote Sequenzvariante für diese 20 Basen konnte aber nicht gefunden werden. Insgesamt scheint weder das Vorkommen der 5 Basen TTCAA, noch der Ersatz durch die 35 Basen im Bereich des ersten Intron einen Einfluss auf die Exon-Grenzen zu haben.

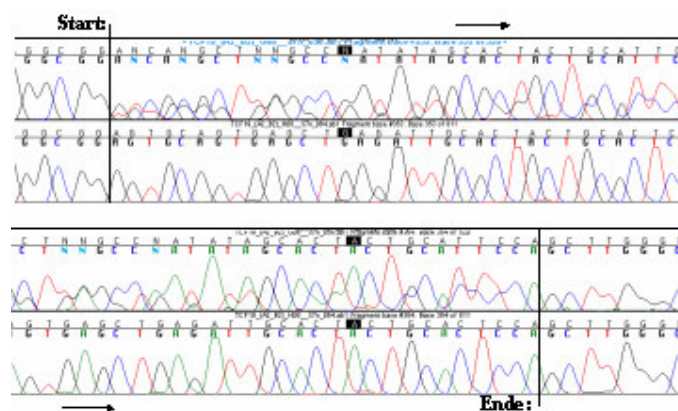


Abb. I.1.3: Übersicht polymorpher Block (PMB)

Der durchschnittliche Abstand der 18 SNPs zueinander beträgt 179 bp. Der minimalen Entfernung zwischen zwei SNPs (Positionen 1375 und 1390) von 15 bp, steht ein maximaler Abstand von 602 bp (Positionen 1804 und 2406) gegenüber. In die Ermittlung des durchschnittlichen Abstands wurde der polymorphe Block nicht einbezogen. Es zeigen sich 79% Transitionen, sowie 21% Transversionen, verteilt auf die Kombinationen T ↔ A und C ↔ A. Betrachtet man das gemeinsame Vorkommen benachbarter SNPs zeigt sich, dass diese signifikant nicht unabhängig voneinander vererbt werden, ermittelt über (2x2 Felder)-Chiquadrat-Test).

Tabelle 1.30 SNP-Übersicht TCF19

Position MHC-Konsensussequenz	Position Gensequenz	Substitution / Sequenzvariation	Validierungskriterium
1447543	*693	C / T	Segregation NCBI:rs1150765 / Celera:hCV2452216
1447583	733	A / G	Segregation NCBI:rs6905862 / Celera:hCV2452215
1447928	1078	T / A	Segregation/NCBI : rs6929434
1448225	1375	A / T	Segregation/Celera: hCV11197511
1448240	1390	G / A	Segregation/ Celera: hCV11197512
1448392	1542	C / T	Segregation
1448533	1683	C / A	Segregation NCBI:rs3130934/Celera:hCV11197515
1448654	1804	G / A	Segregation
1448848–1448853	1997	PM-Block	
1449256	*2406	C / T	Segregation/NCBI: rs7750641
1449562	*2712	G / A	NCBI:rs2073721 / Celera:hCV25472474 Teraoka et al., 2000
1449588	2738	C / A G	NCBI:rs2073722/Celera:hCV15949627 Teraoka et al., 2000
1449653	*2803	C / T	NCBI:rs2073724/Celera:hCV15949637 Teraoka et al., 2000
1449965	*3115	A / G	Segregation
1450024	3174	C / T	NCBI:rs2073723/Celera:hCV2452211
1450448	3598	C / T	NCBI:rs1065461/Celera:hCV7489586
1450539	3689	A / G	Segregation NCBI:rs1419881 / Celera:hCV7489577
1450706	3856	A / G	Segregation NCBI: rs1841/Celera: hCV11197516
1450767	3917	C / T	Segregation NCBI: rs1044870 / Celera: 8941388

\* Sondenkonstruktion

Von den 18 SNPs befinden sich 8 SNPs in den Exonen 2 und 3. Die vier im Exon 2 befindlichen SNPs liegen in dem für das Protein codierenden Bereich und führen zum Teil zu Änderungen in der Aminosäuresequenz (Tabelle 1.11).

**Tabelle 1.11 SNPs in codierenden Regionen / Exon-Bereichen**

Position	Gen	Substitution	*Funktion	Protein
Exon2: 2406		CCC / TCC	Nicht-Synonym	Pro / Ser
Exon2: 2712		GTG / ATG	Nicht-Synonym	Val / Met
Exon2: 2738		CCC / CCA	Synonym	Pro / Pro
Exon 2: 2803		CCT / CTT	Nicht-Synonym	Pro / Leu
Exon3: 3598		ACC / ACT	** Synonym (UTR3)	Thr / Thr
Exon3: 3689		A / G	**UTR3	
Exon3: 3856		A / G	**UTR3	
Exon3: 3917		GTT / GCT	** Nicht-Synonym (UTR5)	Val / Ala

Informationen entstammen NCBI Datenbank\* und Celera Discovery System™\*\*

#### I.1.4.2 SNP-Haplotypen

Beim Vergleich der auftretenden SNP-Kombinationen ergeben sich insgesamt 10 unterschiedliche SNP-Haplotypen, deren Häufigkeiten anhand der Anzahl unabhängiger Chromosomen ermittelt wurde (Tabelle 1.12). Die Haplotypen 1, 2, 9 und 10 sind am stärksten konserviert. Ein Vergleich bezüglich des Auftretens der einzelnen SNP-Haplotypen mit HLA-Haplotypen zeigt keine Überschneidungen (Tabelle 1.13).

**Tabelle 1.12 SNP-Haplotypen TCF19**

SNP Haplotyp	SNP Position																		Häufigkeit (%)	
	693	733	1078	1375	1390	1542	1683	1804	1997	2406	2712	2738	2803	3115	3174	3598	3689	3856		3917
1	C	A	T	A	G	C	C	G	PMB	C	G	C	C	A	C	C	A	A	C	11
2	C	A	T	A	G	C	C	G	N	C	G	C	C	A	C	C	A	G	C	11
3	C	G	T	T	A	C	A	G	N	C	A	A	C	A	T	T	G	A	C	11
4	C	G	T	T	G	C	A	G	N	C	A	G	C	A	T	T	G	A	C	3
5	C	G	T	T	G	T	C	A	N	C	G	C	C	G	C	C	G	A	T	17
6	C	G	T	A	G	C	A	G	N	C	G	C	T	A	C	C	G	A	C	6
7	C	G	T	A	G	C	C	G	N	C	G	C	C	A	C	C	A	A	C	3
8	C	G	A	A	G	C	C	G	N	C	G	C	C	A	C	C	G	A	C	6
9	T	A	T	A	G	C	C	G	N	C	G	C	C	A	C	C	A	A	C	15
10	T	A	T	A	G	C	C	G	N	T	G	C	C	A	C	C	A	A	C	17

\*N = in homozygoter Form vorkommende 35 Basen

\*\* Es wurden nur vollständig analysierbare, auf unabhängigen Chromosomen befindliche SNP-Haplotypen in die Analyse einbezogen.

### I.1.4.3 SNP-Block

Anhand gemeinsam vererbter SNP-Positionen können die Haplotypen in drei Blöcke eingeteilt werden (Tab. 1.12, farbige Markierung). Ein Block (1) wird durch die SNP-Haplotypen 1 und 2 gebildet, ein zweiter durch die SNP-Haplotypen 3 bis 7. Der dritte SNP-Block entsteht durch die Haplotypen 9 und 10. Die SNP-Kombinationen in den Blöcken 2 und 3 treten auf 78% der unabhängigen Chromosomen auf. Der als polymorpher Block (PMB) bezeichnete, nur in heterozygoter Form vorkommende Bereich, tritt nur in einem definierten Haplotyp auf.

Die Blöcke zeigen untereinander keine Überschneidungen in ihrem Vorkommen mit HLA-Haplotypen (Tabelle 1.13). So treten für HLA-Cw\*6 und HLA-Cw\*0701 nur die unter Block 3 zusammengefassten SNP-Haplotypen 9 und 10 auf.

**Tabelle 1.13 SNP-Haplotypen / HLA-Haplotypen**

HLA-Cw	B	SNP-Haplotyp										SNP-Block			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	
*01	*27		X										X		
*02	*44				X									X	
*0303	*1501			X										X	
*0303	*35							X						X	
*0304	*1501	X											X		
*0304	*4001	X											X		
*0304	*55	X											X		
*0304	*5801					X								X	
*04	*18					X								X	
*04	*35						X							X	
*04	*44					X								X	
*05	*44					X								X	
*06	*37									X					X
*06	*57									X					X
*0701	*08										X				X
*0701	*1517									X					X
*0701	*57										X				X
*0702	*07			X										X	
*08	*14									X					X
*1203	*18								X					X	
*1203	*38								X					X	
*15	*07		X										X		
*15	*51		X										X		



---

## **I.1.5 POU5F1**

POU5F1, auch unter den Bezeichnungen OCT3/4 und OTF3 bekannt, umfasst 6341 bp. Es besteht aus 4 Exonen und codiert für ein aus 265 Aminosäuren bestehendes, eine POU-homeo-Domäne besitzendes, DNA-bindendes Protein.

Von der 6341 bp umfassenden genomischen Sequenz wurden 4141 bp sequenziert. Ein Bereich zwischen den Positionen 2734 und 4934 fiel raus, da eine Überprüfung der Sequenz mit dem Programm REPEAT MASKER zeigte, dass dieser Bereich eine niedrige Komplexität aufweist. Eine Überprüfung der Sequenz von POU5F1 mit GENESCAN und FGENESH auf vorhandene Exone ergab, dass sich in diesem Bereich keine Exon-Strukturen befinden (Anhang II.I.1).

### **I.1.5.1 Sequenzanalyse**

Insgesamt wurden innerhalb der genomischen Sequenz von POU5F1 24 SNPs validiert, davon 13 SNPs nur über die Datenbanken NCBI und Celera Discovery System™ (Tabelle 1.14).

Die Zahl der in der NCBI SNP-Datenbank angegebenen SNPs schwankt und wurde von 16 im Januar 2003 bis März 2003 auf 62 SNPs erhöht. Zur Zeit beträgt die Anzahl an eingetragenen SNPs und Insertionen/Deletionen 39 (NCBI-Build: 116). Für 4 SNPs, die über Segregation validiert werden konnten, scheinen weder in der Datenbank Celera Discovery System™ noch in NCBI Eintragungen zu bestehen. Insgesamt treten im sequenzierten Bereich sieben Insertionen / Deletionen auf, von denen ebenfalls nicht alle in den Datenbanken vorhanden sind.

Für den durchschnittlichen Abstand der SNPs zueinander wurde nur der sequenzierte Bereich berücksichtigt. Nicht berücksichtigt wurden die vorkommenden Sequenzvariationen in Form von Insertionen / Deletionen. Es ergibt sich ein durchschnittlicher Abstand der SNPs von 167 bp. Ein maximaler Abstand von 626 Basen besteht zwischen den Positionen 768 und 1394. Der kleinste Abstand von 6 bp zeigt sich zwischen Position 6274 und 6280.

Tabelle 1.14: SNP-Übersicht POU5F1

Position MHC-Konsensussequenz	Position Gen	Substitution / Sequenzvariation	Validierungskriterium
1452087	23	T / C	Segregation/NCBI:rs13409
1452361	297	*T / C	Segregation/NCBI:rs1061118
1452596	532	*C / A	Segregation/NCBI:rs2394882 Celera: hCV16221667
1452603	539	T / C	NCBI:rs9263795
1452641 – 1452642	577	*GA / -GA <sup>#</sup>	Segregation/NCBI:rs3064866
1452832	768	C / T	Segregation
1453458	1394	A / G	NCBI: rs2106074/Celera: hCV16097375
1453531 – 1453536	1467	CCAAGC / -CCAAGC <sup>#</sup>	Segregation/NCBI:rs3064868
1453577 – 1453578	1512	*GA / -GA <sup>#</sup>	Segregation/NCBI:rs3064871
1453851	1787	C / G	NCBI:rs9501063
1453900	1836	*T / G	Segregation/NCBI:rs3130932
1454044	1980	G / C	Celera: hCV8941375
1454079	2015	GAG / -GAG <sup>#</sup>	Segregation/NCBI:rs9281234
1454083	2019	A / C	Celera: hCV2452207
1454136	2072	T / C	Segregation
1454551	2487	T / C	Celera : hCV2452206
1454559	2495	G / A	Segregation
1454682 – 1454684	2618	CTC / -CTC <sup>#</sup>	Segregation/NCBI:rs9281235
1457128	5064	G / A	NCBI: rs3130503
1457198	5134	A / -	Segregation
1457595	5531	G / C	Segregation
1457623	5559	G / A	NCBI: rs1265161/Celera: hCV7489549
1457683 – 1457686	5619	CAGA / -CAGA <sup>#</sup>	Segregation
1457712	5648	C / T	Segregation
1457726	5662	C / T	NCBI : rs3132522
1457741	5677	T / G	NCBI : rs3094193
1457771	5707	G / C	NCBI : rs3094192
1457804	5740	T / A	NCBI : rs3130504
1458074	6010	*G / A	Segregation/NCBI:rs1062630
1458338	6274	A / G	NCBI: rs1265160/Celera: hCV7489542
1458344	6280	T / C	Segregation/NCBI:rs2077010 Celera : hCV15864150

\* Sondenkonstruktion

# Deletion

Von den insgesamt 24 SNPs und 7 Sequenzvariationen befinden sich 4 SNPs in Exon-Bereichen (Tabelle 1.15).

**Tabelle 1.15: SNPs in Exon-Bereichen\***

Position	Gen	Substitution	Funktion	Protein
Exon1: 1836		T / G	Nicht-Synonym	Arg / Met
Exon1: 1787		C / G	Synonym	Pro / Pro
Exon4: 297		T / C	Synonym	Ser / Ser
Exon4: 23		T / C	UTR**	

\* Informationen aus NCBI Datenbank; \*\*untranslated region

Bei 62,5% der SNPs handelt es sich um Transitionen ( $G \leftrightarrow A$ ;  $T \leftrightarrow C$ ). Die restlichen 37,5% verteilen sich auf die Kombinationen  $C \leftrightarrow A$ ,  $G \leftrightarrow C$ ,  $T \leftrightarrow G$  und  $T \leftrightarrow A$ . Benachbarte SNPs, sowie benachbarte SNPs und Insertionen / Deletionen treten in festen Konstellationen miteinander auf. Das sie nicht unabhängig voneinander vererbt werden, zeigt ein durchgeführter (2x2Felder)-Chi-Quadrat-Test.

### I.1.5.2 SNP-Haplotypen

Insgesamt wurde das Auftreten von 17 SNP-Haplotypen beobachtet und die Häufigkeiten anhand der Anzahl unabhängiger Chromosomen ermittelt (Tabelle 1.16). Bezüglich ihres Auftretens mit HLA-C und HLA-B zeigte sich, dass es 4 Überschneidungen zwischen verschiedenen SNP-Haplotypen mit gemeinsamen HLA-Haplotypen gibt (Tabelle 1.17). So treten die SNP-Haplotypen 1, 5 und 17 gemeinsam mit dem HLA-Haplotypen HLA-B\*1501/HLA-Cw\*0304 auf, die SNP-Haplotypen 8 und 15 gemeinsam mit dem Haplotypen HLA-B\*35/HLA-Cw\*04. Die SNP-Haplotypen 9 und 10 treten gemeinsam mit dem Haplotypen HLA-B\*44/HLA-Cw\*05 und die SNP-Haplotypen 2,6,13 und 16 treten zusammen mit HLA-B\*08/HLA-Cw\*0701 auf.

### I.1.5.3 SNP-Block

Von den 17 SNP-Haplotypen lassen sich, aufgrund ihrer Struktur, drei Blöcke ableiten (Tabelle 1.16, farbige Markierung). Block 1 umfasst die SNP-Haplotypen 1 bis 8, Block 2 besteht aus den SNP-Haplotypen 9 bis 12, Block 3 aus 13 bis 17. Insgesamt treten die als Block 1 und 3 eingeteilten SNP-Haplotypen bei 76% der unabhängigen Chromosomen auf. Es zeigt sich, HLA-C betreffend, ein ausgewogenes Bild (Tabelle 1.17). So tritt z.B. nur der

Block 1 mit HLA-Cw\*15 auf. Für den zugrunde liegende SNP-Haplotypen 3 wurde ein Vorkommen von 14% auf unabhängigen Chromosomen beobachtet.

Tabelle 1.17: SNP-Haplotypen / HLA-Haplotypen

HLA-Cw	SNP-Haplotyp	SNP-Haplotyp																	SNP-Block				
		B	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	2	3	
*01	*27			x																	x		
*01	*51										x											x	
*02	*44													x									x
*0303	*1501																x						x
*0303	*35												x									x	
*0304	*1501	x				x															x		x
*0304	*4001	x																				x	
*0304	*55	x																				x	
*0304	*5801										x											x	
*04	*18										x											x	
*04	*35								x							x						x	
*04	*44										x											x	
*05	*44									x	x											x	
*06	*37							x														x	
*06	*57		x																			x	
*0701	*08		x			x								x							x		x
*0701	*1517		x																			x	
*0701	*49										x											x	
*0701	*57		x																			x	
*0702	*07																x						x
*0702	*0702																x						x
*0704	*44			x																		x	
*08	*14				x																	x	
*1203	*18											x											x
*1203	*38											x											x
*15	*07			x																		x	
*15	*51			x																		x	

Tabelle 1.16: Auftretende SNP-Haplotypen für POU5F1

SNP- Haplotyp	Positionen																												Häufigkeit (%)		
	23	297	532	539	577	768	1394	1467	1512	1787	1836	1980	2015	2019	2072	2487	2495	2618	5064	5134	5531	5559	5619	5648	5662	5677	5707	6010		6274	6280
1	A	A	C	T	N	C	A	N	N	C	A	G	N	A	T	T	G	N	G	N	G	G	N	C	C	T	G	G	A	T	9
2	A	A	C	T	N	C	A	N	N	C	A	C	N	A	T	T	G	N	G	N	G	G	N	C	C	T	G	A	G	T	12
3	A	A	C	T	N	C	A	N	N	C	A	C	N	A	T	T	G	N	G	N	G	G	N	C	C	T	G	G	G	T	14
4	A	A	C	T	N	C	A	N	N	C	A	C	N	C	T	T	G	N	G	N	G	A	N	C	C	T	G	A	G	T	2
5	A	A	C	T	N	C	A	N	N	G	A	G	N	A	T	T	G	N	G	N	G	G	N	C	C	T	G	G	A	T	2
6	A	A	C	T	N	C	A	N	N	G	A	C	N	A	T	T	G	N	G	N	G	G	N	C	C	T	G	A	G	T	2
7	A	A	C	T	N	C	A	N	N	G	A	C	N	C	T	T	G	N	G	N	G	G	N	C	C	T	G	A	G	T	2
8	A	A	C	T	N	C	G	_DEL	_GA	C	C	C	N	A	C	T	G	N	G	_A	G	G	_CAGA	C	C	T	G	G	G	C	2
9	G	A	C	C	N	T	A	N	N	C	A	C	N	A	C	T	A	N	G	N	C	G	_CAGA	T	C	G	G	G	G	C	2
10	G	A	C	T	N	T	A	N	N	C	A	C	N	A	C	T	A	N	G	N	C	G	_CAGA	T	C	G	G	G	G	C	14
11	G	A	C	T	N	C	A	N	N	C	A	C	N	A	T	T	G	N	G	N	G	G	_CAGA	C	C	T	G	G	G	C	5
12	G	A	C	T	N	C	A	_DEL	N	C	A	C	N	A	T	C	G	N	G	N	G	G	_CAGA	C	C	T	G	G	G	C	2
13	G	G	A	T	_GA	C	G	_DEL	_GA	C	C	C	N	A	C	T	G	_CTC	G	N	G	G	_CAGA	C	T	G	C	G	G	C	7
14	G	G	A	T	_GA	C	G	_DEL	_GA	C	C	C	N	A	C	T	G	N	G	_A	G	G	_CAGA	C	C	T	G	G	G	C	7
15	G	G	A	T	_GA	C	G	_DEL	_GA	C	C	C	_GAG	A	C	T	G	_CTC	A	N	G	G	_CAGA	C	T	G	C	G	G	C	14
16	G	G	A	T	_GA	C	A	N	N	C	A	C	N	A	T	T	G	N	G	N	G	G	N	C	C	T	G	A	G	T	2
17	G	G	A	T	_GA	C	A	N	N	C	A	G	N	A	T	T	G	N	G	N	G	G	N	C	C	T	G	G	A	T	2

## I.2. Epidemiologische Untersuchung über Assoziationen zwischen Psoriasis vulgaris und polymorphen Positionen im MHC

Für die Durchführung von Case / Control- (gesunde vs. erkrankter unverwandter Personen) und familienbasierten Assoziationsanalysen wurden 95 Marker auf der Hochdurchsatz-Genotypisierungsplattform der I. Medizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, genotypisiert. Bei den durchgeführten Analysen wird auf Assoziationen zwischen der Erkrankung und ausgewählten Markern getestet. Der Analysebereich umfasst 1,923 kb und beginnt im Bereich der Klasse I des MHC mit dem Gen **DDR1 (Discoidin Domain Rezeptor 1)**, einem Tyrosin-Kinase-Rezeptor. Der Analysebereich wurde bis in die MHC-Klasse III ausgedehnt, in welchem unter anderem Gene für Tumornekrosefaktoren und Hitzeschockproteine lokalisiert sind. Der Analysebereich endet mit einem zur Familie der Butyrophiline-Gene gehörenden Gen, **BTNL2**. Der analysierte Bereich wurde über den als **PSORS1** bezeichneten Psoriasis vulgaris - Verdachtsbereich hinaus gewählt, um die genaue Ausdehnung von mit Psoriasis vulgaris assoziierten Markern verfolgen zu können (Abb. I.2.1).

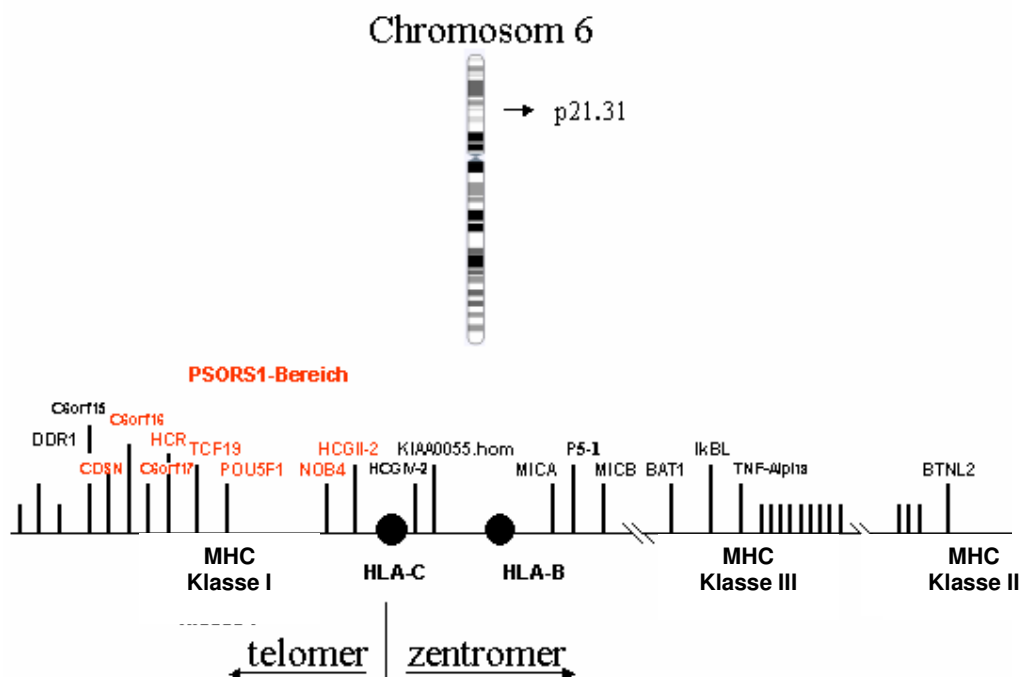


Abb. I.2.1 Übersicht Markerverteilung

## I.2.1 Sequenzanalyse

Für die Markerauswahl im Bereich zentromer von HLA-C (MHC Klasse I) wurde ein Bereich des Gens P5-1, sowie das Pseudogen KIAA0055.hom sequenziert und analysiert (Material und Methoden: Punkt I.4 bis I.6).

### P5-1

Neben KIAA0055.hom wurde für die Durchführung der Analysen ein ca. 1200 bp großer Teilbereich des Gens P5-1 sequenziert. P5-1 exprimiert in B-Zell-Linien, NK-Zellen und aktivierten T-Zellen (Vernet et al., 1993) ein 143 Aminosäuren umfassendes Protein, über dessen Funktion keine näheren Informationen vorliegen. Die Sequenzierung des Teilbereiches wurde zur näheren Abgrenzung der Gene MICA und MICB vorgenommen, zwischen denen es lokalisiert ist. Insgesamt konnten 8 SNPs validiert werden, wobei eine Validierung über Segregation nur bei zwei SNPs möglich war (Tab. 2.1). Es wurden über die Sequenzanalyse drei SNPs für die Markerkonstruktion ausgewählt (Tab. 2.1):

Tabelle 2.1: SNP-Übersicht P5-1

Position MHC Konsensussequenz	Position Pseudogen	Substitution	SONDENbezeichnung	Validierungskriterium
1749144	115	G / A		NCBI:rs2518030
1749753	724	G / T	06P5-1_00824	NCBI:rs2255221
1749785	756	G / A		NCBI:rs2255223
1749842	813	T / G	06P5-1_00913	NCBI:rs3997925
1749875	846	A / G	06P5-1_00946	NCBI:rs3130907
1749882	853	T / C	*	Segregation/NCBI:rs2243621
1750068	1039	G / A		NCBI:rs2263318
1750187	1158	C / T	*	Segregation/NCBI:rs2284178

\* keine Sondenkonstruktion möglich

### KIAA0055.hom

Das Pseudogen umfasst 3 kb und liegt zentromer von HLA-C. Nach Sequenzierung und durchgeführter Sequenzanalyse konnten 30 SNPs und zwei Sequenzvariationen validiert werden (Tab. 2.1). Zum Teil war eine Validierung nur über die SNP-Datenbank von NCBI möglich bzw. über eine Veröffentlichung der Gruppe um Veal et al. (2002). Der durchschnittliche SNP-Abstand beträgt 128 bp.

Für die Durchführung der Genotypisierung wurden 5 SNPs und eine Sequenzvariation, in Form einer Insertion/Deletion der Base Cytosin, ausgewählt (Tab. 2.2):

Tabelle 2.2: SNP-Übersicht KIAA0055.hom

Position MHC Konsensussequenz	Position Pseudogen	Substitution / Sequenzvariation	SONDENbezeichnung	Validierungskriterium
1561788	2	C / T		Segregation
1561800	14	G / A		Segregation
1561855	69	A / G		Segregation/NCBI:rs3132483
1561861	75	G / A		NCBI:rs3132482
1562044	258	C / T		NCBI:rs2524077
1562056	270	A / G		Segregation
1562208	422	G / C		Segregation
1562269	483	A / G		Segregation
1562271	485	A / G		Segregation/NCBI:rs2524076
1562287	501	T / G	06KIAA_587	Segregation/NCBI:rs2844613
1562300	514	T / C		Segregation
1562336	550	C / T		Segregation
1562420	634	T / A		Segregation/NCBI:rs2844611
1562489	702	_ / C	06KIAA_788	Segregation
1562523	737	C / T	06KIAA_823	Segregation
1562595	809	A / C		NCBI:rs6918237
1562739	953	A / G		Segregation
1562973	1187	G / A		NCBI:rs6919409
1563157	1371	A / T		NCBI:rs6919310
1563502	1716	G / T		NCBI:rs2524068
1563964	2178	A / G	06KIA_01	Segregation / Veal et al., 2002 (n.9)
1564165	2379	A / G	06KIA_02	NCBI:rs6906846
1564250	2464	G / A	06KIA_03	NCBI:rs2524067
1564003	2217	G / C		NCBI:rs2853948
1564340	2554	G / A		NCBI:rs6907206
1564654	2868	T / C		Segregation
1564752	2966	A / G		NCBI:rs6911623
1565037	3251	_ / G		Segregation
1565132	3346	A / G		NCBI:rs7381988
1565526	3740	T / C		Segregation
1565550	3764	G / A		Veal et al., 2002 (n.8)
1565632	3846	A / G		Segregation



## I.2.2 Assoziationsanalysen

Für die epidemiologische Untersuchung wurden Assoziationsanalysen auf Basis erkrankter versus gesunder Personen, sowie auf Familien basierend, mit deutschen und amerikanischen Probanden durchgeführt.

### Analyse: erkrankte Personen versus gesunde Personen (Case / Control - Analyse)

Für die Durchführung der Analysen standen unverwandte gesunde Kontrollpersonen und an Psoriasis vulgaris erkrankte unverwandte Personen zur Verfügung. Die analysierten Kohorten stammen aus Deutschland und den USA (Material und Methoden, Tab. 1).

#### I.2.2.1. Ergebnis Case / Control – Analyse; Kohorte I + II, Deutschland

Es wurden die Allel-Frequenzen von 95 genotypisierten Markern innerhalb einer Einzel-Markeranalyse ausgewertet und auf eine Assoziation mit Psoriasis vulgaris untersucht (Tab. 2.3).

**Tabelle 2.3: Marker mit P-Werten  $\leq 0.0001$ , ermittelt anhand der Allel-Frequenzen; Kohorte I + II (Deutschland)**

Bereich	Marker	Chiquadrat	P-Wert	haplo_CC
				P-Wert (LR)
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	33.7404	0.0001	1,12E-09
	hCV2438347	32.5504	0.0001	1,67E-09
<b>C6orf17</b>	hCV2438324	27.3852	0.0001	5,14E-08
<b>HCR</b>	HCG0002271	24.7018	0.0001	2,61E-07
	hCV2438318	23.7222	0.0001	3,85E-07
	HCG0001667	35.7443	0.0001	1,63E-09
	hCV2438314	36.6910	0.0001	9,05E-10
	hCV2452236	26.0430	0.0001	1,24E-07
	HCG0000269	28.0540	0.0001	4,82E-09
<b>TCF19</b>	TCF19_694	34.0409	0.0001	2,90E-09
<b>Pou5F1</b>	06Pou5_16075	31.5724	0.0001	1,09E-08
	hCV2452203	28.5839	0.0001	1,01E-07
<b>HCGII-2</b>	hCV8941350	34.7199	0.0001	2,58E-09
	06HCGII201	42.8936	0.0001	4,38E-11
	KIAA0055.hom	06KIAA_823	51.4694	0.0001
<b>MICA</b>	06KIA_01	54.9965	0.0001	1,84E-14
	MICA000005	35.6186	0.0001	2,57E-09
<b>P5-1</b>	MICA000001	12.9689	0.0003	6,00E-04
	P5-1_913	49.4135	0.0001	1,72E-13
<b>MICB</b>	hCV2995611	19.4130	0.0001	5,96E-06
	06MICB_011	46.7256	0.0001	2,57E-12
<b>TNF-Alpha</b>	TNF_alpha_-238	43.1613	0.0001	1,28E-11
<b>TNXB</b>	hCV3293884	13.4031	0.0002	4,00E-04

Insgesamt weisen 23 Marker hochsignifikante Werte im Bereich von  $p=0.0001$  auf. Bei der durchgeführten Einzel-Markeranalyse zeigen innerhalb und außerhalb von PSORS1 lokalisierte Marker hohe Signifikanzen. Dabei handelt es sich telomer von HLA-C um Marker, die in den Bereichen der ORFs (Open Reading Frames) 16 (SEEK-Gen) und 17 (SPR-Gen), HCR, TCF19, POU5F1 und HCGII-2 platziert wurden. Marker, die sich telomer von C6orf16 befinden, zeigen keine Assoziationen.

In der Region zentromer von HLA-C konnte für Marker innerhalb des Pseudogens KIAA0055.hom und der Gene MICA, P5-1 und MICB eine signifikante Assoziation ermittelt werden. Dies trifft ebenso auf einen in der Klasse III des MHC im Promoterbereich des Gens TNF-Alpha lokalisierten Marker zu. Als einziger Marker zentromer von TNF-Alpha zeigt ein im Bereich des Gens TNXB platzierter Marker eine Assoziation in bezug auf Psoriasis.

Eine Gesamtübersicht über die Analyse-Ergebnisse sämtlicher Marker befindet sich im Anhang (II.II.1 / II.II.2). Die sich aus der Berechnung mittels HAPMAX über Haplo\_CCmap aus den Wahrscheinlichkeitsverhältnissen ergebenden P-Werte wurden anschließend gegen die physikalischen Positionen der jeweiligen Marker auf Chromosom 6 geplottet (Abb. I.2.2). Diese wurde anhand der NCBI Referenzsequenz NT\_007592.12 ermittelt.

#### **I.2.2.2. Ergebnisse Case / Control – Analyse; Kohorte IV + V, USA**

Von 53 ausgewählten Markern konnten nach Genotypisierung 46 Marker ausgewertet werden. Es fielen die in Tabelle 2.4 angegebenen Marker aus der Analyse raus, da zum Teil die Genotypisierungsergebnisse noch nicht vorlagen bzw. Marker trotz wiederholter Genotypisierung keine auswertbaren Ergebnisse zeigten.

**Tab. 2.4: Innerhalb der US-Kohorte nicht genotypisierte Marker**

Ursprung	Kohorte	Gen	Markerbezeichnung
USA	IV + V	C6orf17	hCV2438324
		HCR	hCV2438314
		POU5F1	Pou5F16075
		MICA	MICA000007
			MICA_E4_8561
		TNF-Alpha	TNF-Alpha_1031
			TNF-Alpha_857

Neben dem Bereich PSORS1 umfassen die genotypisierten Marker auch Regionen, die innerhalb der deutschen Kohorte in vorhergehender Analyse eine signifikante Assoziation mit

der Erkrankung zeigten. Die über die 46 Marker untersuchte Region beginnt telomer des ORF 16 (Marker hCV11197333) und endet im Bereich des Gens TNF-Alpha (Anhang II.II.3). Nach Durchführung der Assoziationsanalyse erkrankte Personen versus gesunde Kontrollen erscheint vor allem zentromer von HCGII-2 ein mit der deutschen Kohorte vergleichbares Bild (Tab. 2.5).

**Tabelle 2.5: Marker mit P-Werten  $\leq 0.0004$ , ermittelt anhand der Allel-Frequenzen; Kohorte IV + V (USA)**

Bereich	Marker	CHI-		
		Quadrat	P-Wert	P-Wert (LR)
<b>CDSN</b>	hCV11197333	17.0035	0.0001	6,00E-04
	CDSN001243	19.4575	0.0001	4.41E-06
	CDSN001215	12.8727	0.0003	8.00E-04
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	40.0953	0.0001	3.35E-10
	hCV2438368	14.1660	0.0002	5.00E-04
<b>HCR</b>	hCV2438347	41.5444	0.0001	2.25E-10
	HCG0002271	20.6982	0.0001	1.15E-07
	hCV2438318	27.4727	0.0001	2.53E-07
	HCG0001667	30.1172	0.0001	5.60E-08
<b>TCF19</b>	hCV2452236	28.2165	0.0001	1.76E-07
	HCG0000269	32.7263	0.0001	4.81E-12
	hCV2452211	13.0097	0.0003	8.40E-03
<b>POU5F1</b>	06PO5_1577	11.2405	0.0008	8.40E-03
	06PO5_1901	11.5885	0.0007	7.70E-03
<b>HCGII-2</b>	hCV8941350	23.2194	0.0001	1.30E-07
	06HCGII201	31.4094	0.0001	1.92E-09
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_788	13.2258	0.0003	2.00E-04
	06KIA_823	46.0428	0.0001	5.98E-14
	06KIA_01	43.3776	0.0001	2.72E-13
<b>MICA</b>	MICA000005	18.1690	0.0001	4.00E-04
<b>P5-1</b>	P5-1_913	20.0248	0.0001	2.88E-11
	hCV2995611	12.7547	0.0004	1.48E-08
<b>MICB</b>	06MICB_011	15.8768	0.0001	1.93E-10
<b>TNF-Alpha</b>	06_TNF_238	21.2709	0.0001	4.70E-10

Insgesamt weisen 24 der eingesetzten Marker signifikante p-Werte auf (Tab. 2.5). Darunter fallen erneut Marker in der als PSORS1 bezeichneten Psoriasis Verdachtsregion, telomer von HLA-C. Diese liegen in den Bereich der Gene und Pseudogene CDSN, C6orf16, HCR, TCF19, POU5F1 und HCGII-2, die bereits in der deutschen Kohorte eine signifikante Assoziation mit der Erkrankung aufwiesen.

Zentromer von HLA-C zeigen Marker übereinstimmend mit den Ergebnissen der mit der deutschen Kohorte durchgeführten Analyse hohe Signifikanzen. Dabei handelt es sich um mit

der deutschen Kohorte identische Marker im Bereich des Pseudogens KIAA0055.hom und der Gene MICA, P5-1, MICB und TNF-Alpha.

Die Tabelle 2.5 enthält weiter die zum Plotten benutzten P-Werte, welche auf einen mit dem Programm Haplo\_ccmap durchgeführten Chiquadrat-Test bezüglich der Differenzen in den Wahrscheinlichkeitsverhältnissen (LR) beruhen (Abb. I.2.3). Eine Gesamtübersicht bezüglich für alle Marker ermittelten Werte befindet sich in den Anhängen II.II.4 und II.II.5.

### I.2.2.3. Gegenüberstellung Case / Control- Analyse Deutschland / USA

Ein Vergleich der signifikanten Marker aus den mit deutschen und amerikanischen Kohorten durchgeführten Analysen ergibt folgendes Bild (Tab. 2.6):

Tabelle 2.6: Vergleich signifikanter p-Werte Case/Control Analyse; Deutschland – USA

Bereich	Marker	Kohorte I + II		Kohorte IV + V	
		CHI-Quadrat	P-Wert	CHI-Quadrat	P-Wert
	hCV11197333	10.4716	0.0012	17.0035	0.0001
<b>CDSN</b>	CDSN001243	6.7110	0.0096	19.4575	0.0001
<b>CDSN</b>	CDSN001215	2.6551	0.1037	12.8727	0.0003
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	33.7404	0.0001	40.0953	0.0001
<b>C6orf16</b>	hCV2438368	5.9853	0.0145	14.1660	0.0002
<b>C6orf16</b>	hCV2438347	32.5504	0.0001	41.5444	0.0001
<b>C6orf17</b>	hCV2438324	27.3852	0.0001	*	
<b>HCR</b>	HCG0002271	24.7018	0.0001	20.6982	0.0001
<b>HCR</b>	hCV2438318	23.7222	0.0001	27.4727	0.0001
<b>HCR</b>	HCG0001667	35.7443	0.0001	30.1172	0.0001
<b>HCR</b>	hCV2438314	36.6910	0.0001	*	
<b>HCR</b>	hCV2452236	26.0430	0.0001	28.2165	0.0001
<b>HCR</b>	HCG0000269	28.0540	0.0001	32.7263	0.0001
<b>TCF19</b>	hCV2452211	5.5160	0.0189	13.0097	0.0003
<b>POU5F1</b>	06PO5_1577	8.1678	0.0043	11.2405	0.0008
<b>POU5F1</b>	06PO5_1901	8.5509	0.0035	11.5885	0.0007
<b>POU5F1</b>	hCV8941350	34.7199	0.0001	23.2194	0.0001
<b>POU5F1</b>	06Pou5_16075	31.5724	0.0001	*	
<b>Pou5F1</b>	hCV2452203	28.5839	0.0001	7.3856	0.0066
<b>HCGII-2</b>	06HCGII201	42.8936	0.0001	31.4094	0.0001
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_788	6.1738	0.0130	13.2258	0.0003
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_823	51.4694	0.0001	46.0428	0.0001
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_01	54.9965	0.0001	43.3776	0.0001
<b>MICA</b>	MICA000005	35.6186	0.0001	18.1690	0.0001
<b>MICA</b>	MICA000001	12.9689	0.0003	10.5183	0.0012
<b>P5-1</b>	P5-1_913	49.4135	0.0001	20.0248	0.0001
<b>P5-1</b>	hCV2995611	19.4130	0.0001	12.7547	0.0004
<b>MICB</b>	06MICB_011	46.7256	0.0001	15.8768	0.0001
<b>TNF-Alpha</b>	TNFalpha-238	43.1613	0.0001	21.2709	0.0001

\* Für die Marker war keine Genotypisierung möglich.

Bei zentromer von HLA-C platzierten Markern, beginnend mit KIAA0055.hom und endend mit TNF-Alpha, bestehen sowohl in der deutschen, als auch in der amerikanischen Kohorte

übereinstimmende signifikante Assoziation zwischen Marker und Erkrankung. Im Bereich telomer von HLA-C weist bei den dort lokalisierten, exprimierten Genen ein Marker im Bereich POU5F1 (hCV8941350) übereinstimmend in beiden Analysen hohe signifikante Werte auf. Selbiges gilt für die Marker hCV2438347 und hCV2438369, beide in C6orf16 gelegen. Für das Gen HCR zeigen neben Markern wie HCG002271, HCG001667 und HCG000269, welche Teil des von Asumalathi et al. (2000/2001) mit Psoriasis assoziierten Allels HCR\*WWCC sind, auch drei weitere Marker übereinstimmend hohe Signifikanzen. Teilweise sind in einer Kohorte beobachtete signifikante Assoziation in der anderen Kohorte nicht replizierbar. Dies betrifft vor allem Marker in den Bereichen der Gene CDSN, TCF19 und POU5F1, welche in der jeweils anderen Kohorte im Vergleich eine schwächere signifikante Assoziation aufweisen.

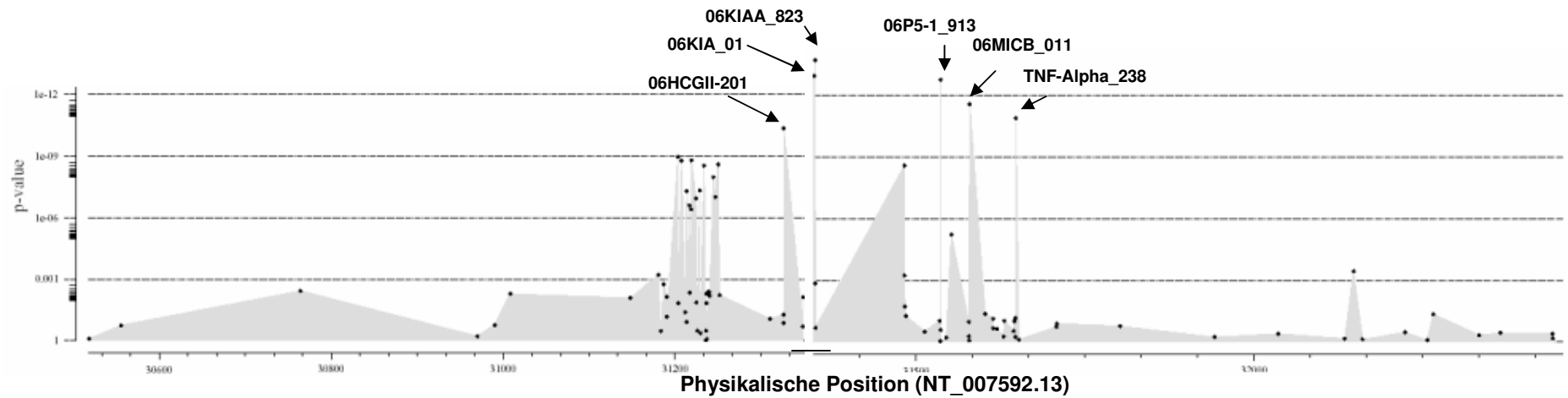


Abb. I.2.2: Übersichtabbildung Erkrankt vs. Gesund (Case/Control) – Analyse (95 Marker); Kohorte I + II (Deutschland)

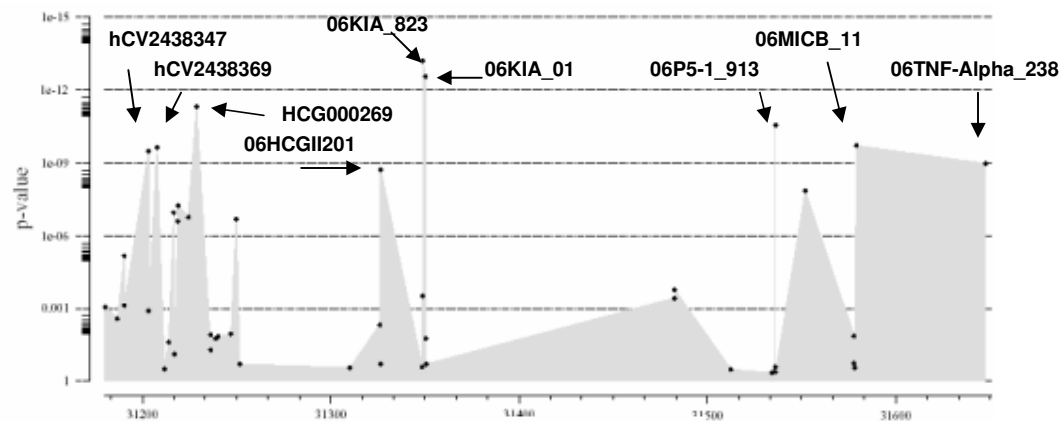


Abb. I.2.3: Übersicht Ergebnisse Assoziationsanalyse Erkrankt vs. Gesund (Case/Control) (46 Marker); Kohorte IV + V (USA)

### Transmissions-Ungleichgewichts-Test (Transmission-Disequilibrium Test; TDT)

Eine Überprüfung des vorhergehenden Ergebnisses wurde durch eine familienbasierte Assoziationsanalyse von Ein- bis Vier-Marker-Haplotypen mit dem Programm Multi\_Transmit, Version 2.5, vorgenommen. Für die Durchführung der Analyse des Transmissions-Ungleichgewichts standen 52 Familienstammbäume aus Deutschland und 157 Familienstammbäume aus den USA zur Verfügung (Material und Methoden, Tab. 1).

#### I.2.2.4. Ergebnisse TDT; Kohorte III, Deutschland

Es wurde für 94 genotypisierte Marker die Transmissionsrate sowohl von Einzelmarkern, als auch von Multi-Lokus-Haplotypen analysiert (Gesamtübersicht: Anhang II.II.6). Nicht in die Analyse einbezogen wurde ein im Gen TCF19 gelegener Marker (06TCF19\_2407), welcher trotz wiederholter Genotypisierung keine Ergebnisse zeigte. Die über Multi\_Transmit ermittelten p-Werte wurden gegen ihre physikalische Position geplottet (Abb. I.2.4).

Insgesamt liegen bei 5 Markern besonders hohe Signifikanzen vor. Dies betrifft einen in C6orf16 gelegenen Marker, sowie Marker aus den Regionen HCR, POU5F1 und KIAA0055.hom (Tab. 2.7).

Tabelle 2.7: TDT für Einzel-Markeranalyse, Signifikanzen ab p-Wert  $\leq 0.0001$ ,

#### Kohorte III, Deutschland

Bereich	Marker	Allel- Frequenz	Verhältnis Tm / eTm*	Chiquadrat	P-Wert
<b>C6orf16</b>	HCV2438369	0.3341	74/61.16	13.051	0.0003
<b>HCR</b>	HCG0000269	0.4363	112/96.33	11.143	0.0008
<b>POU5F1</b>	Pou5F16075	0.4423	111/96.04	11.068	0.0009
	HCV8941350	0.4476	105/90.51	11.361	0.0008
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_823	0.3357	77/64.56	11.039	0.0009

\* beobachtete Transmission / erwartete Transmission

Vier der Marker zeigten bereits in beiden Kohorten durchgeführten vorhergehenden Case / Control - Analysen eine signifikante Assoziation. Hierbei handelt es sich um den im Bereich des ORF16 gelegenen Marker hCV2438369, im Gen HCR um HCG000269, im Bereich des Gens POU5F1 um hCV8941350 und um den im Pseudogen KIAA0055.hom gelegenen Marker 06KIAA\_823. Der Marker Pou5F16075 weist eine signifikante Assoziation bei seiner Analyse innerhalb der deutschen Kohorte auf. Für die amerikanische Kohorte war keine erfolgreiche Genotypisierung möglich.

### I.2.2.5. Vergleich TDT - Case / Control Analyse; Kohorten III / I+II; Deutschland

Betrachtet man die in der Case / Control – Analyse hochsignifikanten Marker in bezug auf ihre über Multi\_Transmit ermittelten P-Werte, dann zeigt sich, dass fast alle Marker, wenn auch zum Teil deutlich schwächer, auch hier signifikant sind (Tab. 2.8).

Bei den Markern, für die das signifikante Ergebnis der Case / Control Analyse nicht wiederholt werden konnte, handelt es sich um die im Gen MICA platzierten Marker MICA000005 und MICA000001 (MHC Klasse I), sowie um einen in TNXB (MHC Klasse II) gelegenen Marker.

**Tab. 2.8: Vergleich signifikant assoziierter Marker in TDT -  
Case / Control Analyse; Kohorten III - I+II; Deutschland**

Bereich	Marker	TDT			Case/Control	
		Allel- frequenz	Verhältnis Tm / eTm*	Chiquadrat	P-Wert	P-Wert
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	0.3341	74/61.16	13.051	0.0003	0.0001
	hCV2438347	0.3430	72/60.38	10.663	0.0011	0.0001
<b>C6orf17</b>	hCV2438324	0.5135	120/108.84	7.3397	0.0067	0.0001
<b>HCR</b>	HCG0002271	0.4988	120/109.95	5.4167	0.0199	0.0001
	hCV2438318	0.5036	118/108.83	4.4532	0.0348	0.0001
	HCG0001667	0.4350	104/89.918	10.438	0.0012	0.0001
	hCV2438314	0.4604	105/90.69	10.561	0,0012	0.0001
	hCV2452236	0.5047	120/110.68	4.7301	0.0296	0.0001
	HCG0000269	0.4363	112/96.33	11.143	0.0008	0.0001
<b>TCF19</b>	TCF19_694	0.4436	98/ 84.26	10.306	0.0013	0.0001
<b>POU5F1</b>	Pou5F16075	0.4423	111/96.04	11.068	0.0009	0.0001
	hCV2452203	0.4607	99/92.63	3.1374	0.0765	0.0001
	hCV8941350	0.4476	105/90.51	11.361	0.0008	0.0001
<b>HCGII-2</b>	06HCGII201	0.4677	118/104.3	9.7847	0.0018	0.0001
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_823	0.3357	77/64.56	11.039	0.0009	0.0001
	06KIAA_01	0.3501	82/70.55	8.7869	0.0030	0.0001
<b>MICA</b>	MICA000005	0.3159	61/58.70	0.3216	0.5706	0.0001
	MICA000001	0.6459	145/144.97	4.67e-05	0.9945	0.0003
<b>P5-1</b>	P5-1_913	0.2060	33/25.81	8.4707	0.0036	0.0001
	hCV2995611	0.3287	66/56.96	7.0412	0.0080	0.0001
<b>MICB</b>	06MICB_011	0.2103	36/27.52	10.652	0.0011	0.0001
<b>TNF-Alpha</b>	TNF_alpha_-238	0.2126	33/25.62	8.5546	0.0034	0.0001
<b>TNXB</b>	hCV3293884	0.5609	123/117.15	2.2113	0.1370	0.0002

\*beobachtete Transmission / erwartete Transmission

Für den Bereich telomer von HLA-C weist der im ORF 16 gelegene Marker hCV2438369 sowohl im TDT, als auch in der Case / Control Analyse eine sehr starke Assoziation zwischen Marker und Erkrankung auf. Selbiges gilt für den im Gen HCR lokalisierten Marker HCG000269 und für die im Gen bzw. im Bereich POU5F1 gelegenen Marker Pou5F16075 und hCV8941350. Die restlichen Marker zeigen eine, wenn auch etwas schwächere,



Assoziation mit der Erkrankung, wie z.B. der im Pseudogen HCGII-2 gelegene Marker 06HCGII201.

Für den zentromer von HLA-C gelegenen Bereich zeigt vor allem der in dem Pseudogen KIAA0055.hom platzierte Marker 06KIAA\_823 eine sehr starke Assoziation. Aber auch für die in den Genen P5-1, MICB und TNF-Alpha platzierten Marker konnten, wie bereits in der vorangegangenen Case / Control-Analyse, Assoziationen mit der Erkrankung ermittelt werden.

### I.2.2.6. Ergebnisse TDT; Kohorte V, USA

Es wurde für 46 der insgesamt 53 genotypisierten Marker die Transmissionsrate ermittelt und mittels Chi-Quadrat-Test ausgewertet (Gesamtübersicht: Anhang II.II.7). Die in der Tabelle 2.4 angegebenen Marker konnten nicht in die Analyse einbezogen werden. Die über Multi\_Transmit ermittelten P-Werte wurden anschließend gegen ihre physikalische Position geplottet (Abb. I.2.5).

Marker, die bereits in der Case / Control – Analyse eine signifikante Assoziation zeigten, weisen in dieser Analyse zusätzlich eine signifikant höhere Transmission von Eltern auf erkrankten Nachwuchs auf (Tab. 2.9).

**Tabelle 2.9: TDT für Einzel-Markeranalyse, Signifikanzen ab p-Wert  $\leq 0.00001$ , Kohorte V (USA)**

Bereich	Marker	Allel- frequenz	Verhältnis Tm/eTm*	Chi-Quadrat	P-Wert
<b>C6orf16</b>	HCV11197333	0.6965	547/510.8	21.368	0.000004
	HCV2438369	0.3398	241/198.91	30.654	0.0000001
	HCV2438347	0.3398	239/197.72	29.753	0.0000001
<b>HCR</b>	HCG0002271	0.4943	364/327.38	17.456	0.000029
	HCV2438318	0.4944	371/333.68	18.059	0.000021
	HCG0001667	0.4178	301/260.79	23.833	0.000001
	HCV2452236	0.4939	373/335.7	17.832	0.000024
	HCG0000269	0.3956	272/236.5	20.375	0.000006
<b>POU5F1</b>	HCV8941350	0.4142	306/268.46	20.797	0.000005
<b>HCGII-2</b>	06HCGII201	0.4357	323/280.51	25.588	0.0000001
	KIAA0055.hom	06KIA_823	0.3408	253/204.1	41.367
	06KIA_01	0.3378	241/195.61	36.408	0.0000001
<b>P5-1</b>	P5-1_913	0.1902	108/78.26	32.468	0.0000001
<b>MICB</b>	06MICB_011	0.1902	110/79.341	34.574	0.0000001
<b>TNF-Alpha</b>	06_TNF_238	0.2016	122/90.81	31.055	0.0000001

\* beobachtete Transmission / erwartete Transmission

Dabei handelt es sich telomer von HLA-C erneut um Marker in den Bereichen C6orf16, HCR, POU5F1, sowie um einen Marker im Pseudogen HCGII-2. Zentromer von HLA-C weisen Marker im Bereich des Pseudogens KIAA0055.hom und der Gene P5-1, MICB und TNF-Alpha starke Assoziationen mit der Erkrankung Psoriasis vulgaris auf.

### I.2.2.7. Vergleich TDT - Case / Control Analyse; Kohorten V – IV + V; USA

Es wurde überprüft, ob in vorangegangener Case / Control – Analyse signifikante Marker auch im TDT in Assoziation mit der Erkrankung stehen. Dabei zeigte sich, dass nur drei der 19 Marker nicht in beiden Analysen signifikante Werte aufweisen (Tab. 2.10). Dabei handelt es sich um Marker in den Genen CDSN und C6orf16, sowie um einen im Pseudogen KIAA0055.hom platzierten Marker.

**Tab. 2.10:** Vergleich signifikant assoziierter Marker in TDT –  
Case / Control Analyse; Kohorten V – IV + V; USA

Bereich	Marker	TDT P-Wert	Case / Control P-Wert	
<b>CDSN</b>	hCV11197333	0.000004	0.0001	
	CDSN001243	0.048232	0.0001	
	CDSN001215	0.102468	0.0003	
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	0.0000001	0.0001	
	hCV2438368	0.107323	0.0002	
	hCV2438347	0.0000001	0.0001	
<b>HCR</b>	HCG0002271	0.000029	0.0001	
	hCV2438318	0.000021	0.0001	
	HCG0001667	0.000001	0.0001	
	hCV2452236	0.000024	0.0001	
<b>TCF19</b>	HCG0000269	0.000006	0.0001	
	hCV2452211	0.029738	0.0003	
<b>POU5F1</b>	06PO5_1577	0.014996	0.0008	
	06PO5_1901	0.016827	0.0007	
	hCV8941350	0.000005	0.0001	
<b>HCGII-2</b>	06HCGII201	0.0000001	0.0001	
	<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_788	0.131509	0.0003
		06KIA_823	0.0000001	0.0001
<b>MICA</b>	06KIA_01	0.0000001	0.0001	
	MICA000005	0.001138	0.0001	
	<b>P5-1</b>	P5-1_913	0.0000001	0.0001
hCV2995611		0.000583	0.0004	
<b>MICB</b>	06MICB_011	0.0000001	0.0001	
<b>TNF-Alpha</b>	06_TNF_238	0.0000001	0.0001	

In beiden Analysen weisen telomer von HLA-C Marker im Bereich C6orf16, HCR, POU5F1 und im Pseudogen HCGII-2 sehr starke Assoziationen auf.

Zentromer von HLA-C sind es erneut Marker im Pseudogen KIAA0055.hom und den Genen P5-1 und MICB, sowie in der Promotor-Region von TNF-Alpha, die eine sehr starke Assoziation mit der Erkrankung über beide Analysen hinweg zeigen. Dabei handelt es sich vor allem um die Marker 06KIAA\_823, 06KIA\_01 (KIAA0055.hom), P5-1\_913 (P5-1), 06MICB\_011 (MICB) und 06\_TNF\_238.

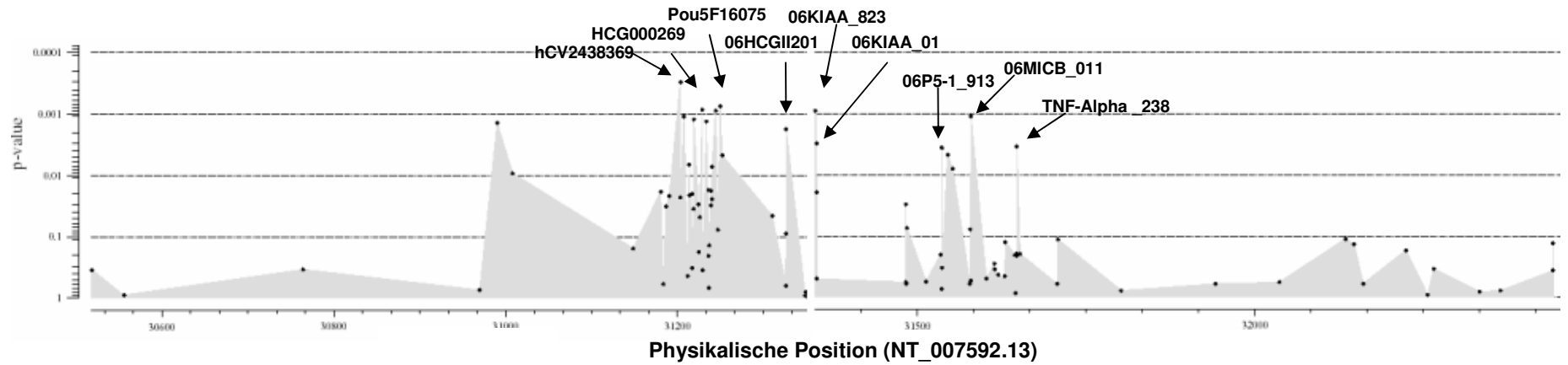


Abb. I.2.4: Übersicht Transmissions-Ungleichgewichts-Test (TDT) für einzelne Marker, 94 Marker, Kohorte III (Deutschland)

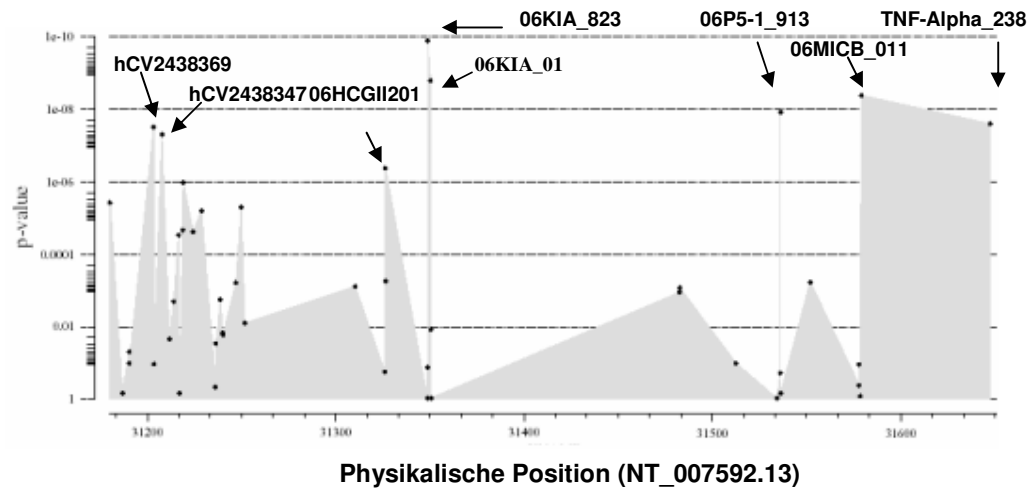


Abb. I.2.5: Übersicht Transmissions-Ungleichgewichts-Test (TDT) für einzelne Marker, 46 Marker, Kohorte V (USA)

### I.2.2.8. Gegenüberstellungen Case / Control Analysen – TDT Analysen

#### Deutschland - USA

Es wurden die in der deutschen und der amerikanischen Kohorte mittels Chiquadrat-Test ermittelten P-Werte von Markern gegenübergestellt, die signifikante Unterschiede im Vorkommen von Allelen zwischen gesunden und an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen aufweisen (Tab. 2.11). Nicht einbezogen wurden Marker, für die nicht in beiden Kohorten eine Typisierung möglich war.

**Tab. 2.11: Vergleich deutsche Kohorten / US-amerikanische Kohorten**

Bereich	Marker	Kohorte I + II	Kohorte III	Kohorte IV + V	Kohorte V
		Case / Control P-Wert	TDT P-Wert	Case / Control P-Wert	TDT P-Wert
	hCV11197333	0.0012	0.0187	0.0002	0.000004
<b>CDSN</b>	CDSN001243	0.0096	0.0220	0.0001	0.048232
<b>CDSN</b>	CDSN001215	0.1037	0.0217	0.0001	0.102468
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	0.0001	0.0003	0.0001	0.0000001
<b>C6orf16</b>	hCV2438368	0.0145	0.0229	0.0002	0.107323
<b>C6orf16</b>	hCV2438347	0.0001	0.0011	0.0001	0.0000001
<b>HCR</b>	HCG0002271	0.0001	0.0199	0.0001	0.000029
<b>HCR</b>	HCG0001667	0.0001	0.0012	0.0001	0.000001
<b>HCR</b>	HCG0000269	0.0001	0.0008	0.0001	0.000006
<b>HCR</b>	hCV2438318	0.0001	0.0348	0.0001	0.000021
<b>HCR</b>	hCV2438314	0.0001	0.0012	0.0001	0.000001
<b>HCR</b>	hCV2452236	0.0001	0.0296	0.0001	0.000024
<b>TCF19</b>	hCV2452211	0.0189	0.2059	0.0297	0.0003
<b>POU5F1</b>	06PO5_1577	0.0035	0.0243	0.0008	0.014996
<b>POU5F1</b>	06PO5_1901	0.0055	0.0072	0.0007	0.016827
<b>POU5F1</b>	hCV8941350	0.0001	0.0008	0.0001	0.000005
<b>Pou5F1</b>	hCV2452203	0.0001	0.0765	0.0066	0.000618
<b>HCGII-2</b>	06HCGII201	0.0001	0.0018	0.0001	0.0000001
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_788	0.0130	0.7941	0.0003	0.131509
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_823	0.0001	0.0009	0.0001	0.0000001
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIA_01	0.0001	0.0030	0.0001	0.0000001
<b>MICA</b>	MICA000005	0.0001	0.5706	0.0001	0.001138
<b>MICA</b>	MICA000001	0.0003	0.9945	0.0012	0.000837
<b>P5-1</b>	P5-1_913	0.0001	0.0036	0.0001	0.0000001
<b>P5-1</b>	hCV2995611	0.0001	0.0080	0.0001	0.000583
<b>MICB</b>	06MICB_011	0.0001	0.0011	0.0001	0.0000001
<b>TNF-Alpha</b>	TNFalpha-238	0.0001	0.0034	0.0001	0.0000001

Insgesamt zeigen telomer von HLA-C sieben Marker konstant über sämtliche, mit deutschen und US-amerikanischen Einzelpersonen und Familien durchgeführte Analysen eine starke Assoziation mit Psoriasis vulgaris. Dabei handelt es sich um die Marker hCV2438369 und hCV2438347 im Gen C6orf16 (SEEK), um einen Marker im Bereich POU5F1

(hCV8941350), sowie um den im Pseudogen HCGII-2 platzierten Marker 06HCGII201. Bei den ebenfalls durchgehend über alle Analysen stark mit der Erkrankung assoziierten Markern hCV2438314, HCG0001667 und HCG0000269 im Gen HCR handelt es sich um Marker des mit Psoriasis assoziierten HCR-Allels\*WWCC (Asumalahti et al., 2000, 2002).

Die übrigen Marker der Region weisen bezüglich ihrer Signifikanzen Schwankungen zwischen den in beiden Kohorten durchgeführten Analysen auf.

Zentromer von HLA-C sind es die im Pseudogen KIAA0055.hom, in den Genen P5-1, MICB und der Promoterregion von TNF-Alpha gelegenen Marker, für die eine durchgehend hohe Signifikanz ermittelt werden konnte. Dies spricht für eine Verbindung dieser Marker mit der Erkrankung.

### 1.2.2.9. Odds – Ratio (OR) Deutschland - USA

Die anhand der Allele ermittelten Odds – Ratios, der sowohl in deutschen als auch in amerikanischen Kohorten signifikanten Marker, stellen sich, wie folgt, dar (Tab. 2.12):

**Tab. 2.12: Übersicht über ermittelte Odds Ratios (95% Konfidenzintervall (CI))**

Marker	Assoziiertes	Kohorte I+II	Kohorte IV+ V
	Allel	Odds Ratio (95%CI)	Odds Ratio (95%CI)
hCV11197333	2	1,48 (1,17 - 1,88)	2,12 (1,48 - 3,03)
CDSN001243	1	1,34 (1,07-1,68)	2,15 (1,53 - 3,02)
CDSN001215	1	1,43 (0,93 - 2,19)	5,72 (1,97 - 16,72)
hCV2438369	1	2,13 (1,65 - 2,77)	3,64 (2,41 - 5,50)
hCV2438368	2	0,98 (0,76 - 1,25)	2,08 (1,41 - 3,05)
hCV2438347	2	2,10 (1,63 - 2,72)	3,75 (2,47 - 5,69)
HCG0002271	2	1,77 (1,41 - 2,22)	2,21 (1,57 - 3,12)
HCG0001667	2	2,07 (1,63 - 2,62)	2,78 (1,92 - 4,03)
HCG0000269	2	1,90 (1,50 - 2,42)	3,15 (2,11 - 4,73)
hCV2438318	1	1,75 (1,40 - 2,20)	2,46 (1,75 - 3,45)
hCV2452236	1	1,8 (1,44 - 2,26)	2,48 (1,77 - 3,48)
hCV2452211	1	1,38 (1,05 - 1,81)	2,07 (1,39 - 3,10)
06PO5_1577	1	1,43 (1,13 - 1,83)	1,82 (1,28 - 2,59)
06PO5_1901	1	1,41 (1,11 - 1,79)	1,84 (1,29 - 2,61)
hCV8941350	2	2,07 (1,62 - 2,63)	2,49 (1,71 - 3,63)
hCV2452203	2	1,86 (1,48 - 2,34)	1,60 (1,14 - 2,24)
06HCGII201	1	2,16 (1,71 - 2,73)	2,82 (1,95 - 4,08)
06KIAA_788	1	1,38 (1,07 - 1,77)	2,01 (1,38 - 2,94)
06KIAA_823	2	2,6 (1,99 - 3,38)	4,29 (2,76 - 6,66)
06KIA_01	2	2,69 (2,06 - 3,52)	4,09 (2,64 - 6,33)
MICA000005	2	2,33 (1,76 - 3,09)	2,40 (1,60 - 3,62)
MICA000001	2	1,55 (1,22 - 1,96)	1,77 (1,25 - 2,51)
P5-1_913	2	5,66 (3,31 - 9,67)	5,06 (2,33 - 10,97)
hCV2995611	2	1,74 (1,36 - 2,24)	1,95 (1,35 - 2,82)
06MICB_011	2	4,86 (2,97 - 7,95)	3,90 (1,91 - 7,95)
TNFalpha-238	1	4,21 (2,66 - 6,66)	4,90 (2,35 - 10,22)

Die stärksten Odds Ratios, und damit die stärkste Assoziation zwischen einem Phänotyp und einem Allel, liegen übereinstimmend für beide Kohorten im Bereich zentromer von HLA-C. Dabei handelt es sich um drei Marker, die in den Genen P5-1, MICB und TNF-Alpha platziert wurden. Marker im Pseudogen KIAA0055.hom (06KIAA\_823, 06KIAA\_01) und im Gen MICA (MICA000005) weisen ebenfalls in beiden Kohorten eine Assoziation zwischen dem Phänotyp Psoriasis vulgaris und einem Marker-Allel auf. Im Bereich telomer von HLA-C kann für den im Pseudogen HCGII-2 gelegenen Marker HCGII201 in beiden Kohorten eine moderate Stärke in der Krankheitsassoziation gezeigt werden. Betreffend der Marker im HCR-Gen besteht vor allem für die Marker HCG000269 und HCG0001667 in beiden Kohorten eine Assoziation. Eine Gesamtübersicht befindet sich im Anhang II.II.8.

Graphisch stellt sich das Ergebnis wie folgt dar (Abb. I.2.6):

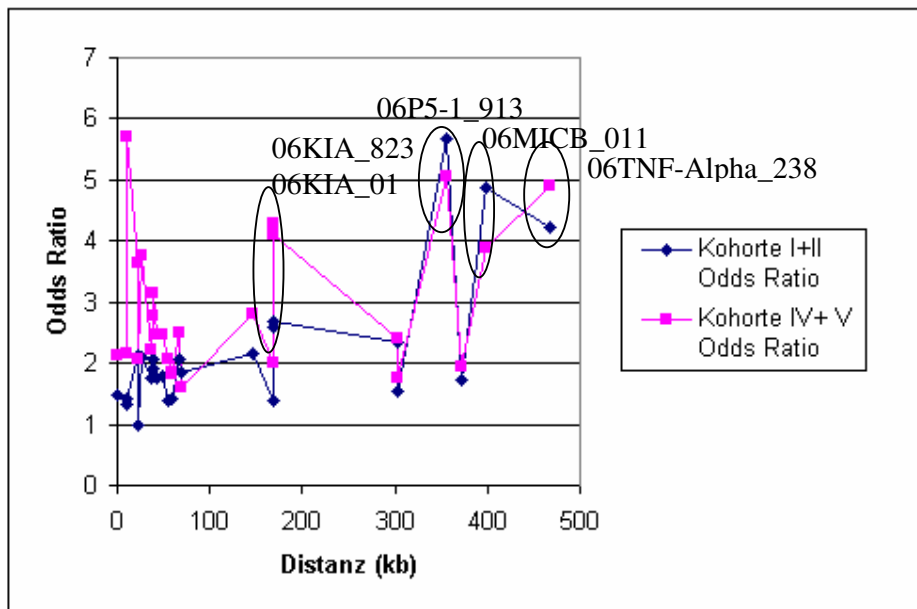


Abb.I.2.6:Vergleichende Darstellung der OR

Sowohl die deutschen, als auch die US-amerikanischen Kohorten zeigen übereinstimmend, dass die stärkste Assoziation zwischen dem Phänotyp Psoriasis vulgaris und den Allelen der Marker 06P5-913, 06MICB\_011 und 06TNF\_238 besteht.

### I.2.2.10 Spezifizierung assoziierter Allele

Konstante Ergebnisse über alle Analysen und eine hohe OR zeigen vor allem 11 Marker, von denen 5 zentromer von HLA-C lokalisiert sind. Bezogen auf das Vorkommen der Genotypen zeigt sich, dass bestimmte Basen in an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen überrepräsentiert sind (Tab. 2.13).

**Tabelle 2.13: Genotypfrequenzen konstanter Marker, Kohorte I; Transmissionsverhältnis betr. Allel-Frequenz, Kohorte II (Deutschland)**

Bereich	Marker	Genotyp	Fisher-Exakt-Test				Multi_Transmit Transmission**
			Kontrollen	Psoriatischer	p-Wert	Odds Ratio (95%CI)	
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	A	11	29	5,9E-05	1,77 (1,33 - 2,36)	74 / 61,16
		G	222	136			
		A/G	101	141			
<b>HCR</b>	HCR0001667	G	185	97	0,00011	1,66 (1,27 - 2,17)	104 / 89,92
		T	14	36			
		G/T	135	172			
<b>HCR</b>	HCR000269	C	193	104	0,00026	1,62 (1,24 - 2,13)	112 / 96,33
		T	24	34			
		C/T	118	167			
<b>POU5F1</b>	hCV8941350	G	184	97	0,0001	1,68 (1,28 - 2,19)	105 / 90,51
		C	14	32			
		G/C	127	174			
<b>HCGII-2</b>	06HCGII201	A	23	54	4,4E-05	1,70 (1,31 - 2,21)	118 / 104
		G	167	80			
		A/G	138	173			
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIA_823	T	10	31	1E-06	2,04 (1,52 - 2,74)	77 / 64,56
		C	229	128			
		C/T	89	146			
	06KIA_01	G	10	33	1E-06	2,13 (1,58 - 2,86)	82 / 70,55
A	230	124					
A/G	88	140					
<b>P5-1</b>	P5-1_913	G	0	3	1,8E-10	4,91 (2,84 - 8,48)	33 / 25,81
		T	307	228			
		T/G	17	75			
<b>MICB</b>	06MICB_011	T	0	4	1,5E-09	4,18 (2,52 - 6,93)	36 / 27,5
		C	312	225			
		T/C	21	75			
<b>TNF-Alpha</b>	06_TNF_238	A	0	5	1,2E-08	3,59 (2,24 - 5,77)	33 / 25,62
		G	299	224			
		A/G	25	79			

\* Ermittelt wurden die p-Werte homozygot 1 und heterozygot ½ versus homozygot 2 und heterozygot ½ in Patienten verglichen mit Kontrollen.

\*\* Verhältnis beobachtete Transmission / erwartete Transmission

Telomer von HLA-C handelt es sich bei der in Erkrankten überrepräsentierten Base für den Marker hCV2438369 um die Base Adenin, für den zentromer von POU5F1 lokalisierten Marker hCV8941350 um die Base Cytosin. Die mit Psoriasis assoziierten Marker-Allele des Gens HCR wurden bereits von Asumalahti et al. beschrieben (Asumalathi et al., 2000, 2002).



Dabei handelt es sich bei beiden Markern um eine Überrepräsentation der Base Thymin in erkrankten Personen. Für HCGII-2 liegt in an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen eine Überrepräsentation der Base Adenin vor, bei 06KIA\_823 ist es die Base Thymin und für 06KIA\_01 und P5-1\_913 jeweils die Base Guanin. Für das Gen MICB zeigt sich die Base Thymin und für die Promoterregion von TNF-Alpha die Base Adenin in an Psoriasis vulgaris erkrankte Personen stärker vertreten als in Kontrollpersonen.

### **I.2.3 Kopplungsungleichgewichtsanalyse (Linkage Disequilibrium; LD)**

Für die genotypisierten Marker wurde über eine Analyseoption des Programms HAPMAX das Kopplungsungleichgewicht zwischen den einzelnen Markern ermittelt. Berechnet wurde  $D'$ , welcher ein normalisiertes Maß des Kopplungsungleichgewichtes darstellt. Hierdurch können Regionen mit hohem (rot) bzw. niedrigem (blau) Kopplungsungleichgewicht identifiziert werden (Abb. I.2.7). Die Analyse erfolgte anhand der deutschen und amerikanischen Kontrollkohorte (Kohorte I, IV).

In der Analyse wurde deutlich, dass in ihrer physikalischen Distanz nebeneinander liegende Marker in Kopplungsungleichgewicht miteinander stehen. Telomer und zentromer von HLA-C bilden sich jeweils Blöcke, in denen dort lokalisierte Marker in starkem Kopplungsungleichgewicht miteinander stehen. Ein Block umfasst die Region beginnend im Gen CDSN (CDSN001215) bis zum zentromer von HLA-C gelegenen Pseudogen KIAA0055.hom (06KIA\_03). Dieser Block entspricht dem Psoriasis Verdachtsbereich 1. Ein zweiter Block liegt zentromer von HLA-C. Er beginnt im Bereich des Gens P5-1 (06P5-1\_946) und endet mit dem Marker hCV7514890, der im Gen LTB lokalisiert ist. Er enthält die stark mit Psoriasis assoziierten Marker der Gene P5-1, MICB und der Promotorregion TNF-Alpha.

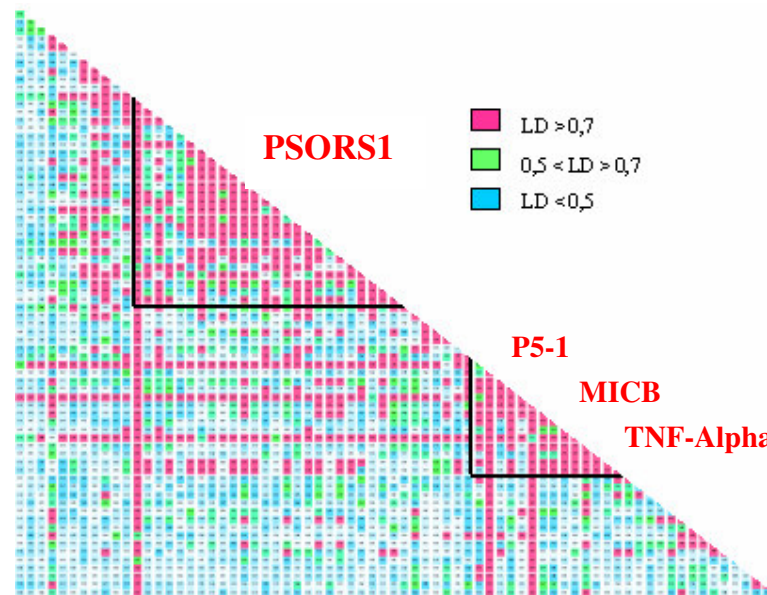


Abb. I.2.7 Kopplungsungleichgewicht zwischen genotypisierten Markern

Vier der 95 genotypisierten Marker stehen über den gesamten untersuchten Bereich von 1,983 kb mit den anderen eingesetzten Markern im Kopplungsungleichgewicht. Diese Marker werden als sogenannte Long-Range-Marker bezeichnet. Dabei handelt es sich um die Marker CDSN001215 (CDSN), 06P5-1\_946 (P5-1), MICB0VIIIa (MICB) und im Bereich IκBL um den Marker IκBL738. Diese vier Marker sind sowohl in den durchgeführten Case / Control-Analysen, als auch in den durchgeführten TDT-Analysen bezüglich einer Assoziation mit der Erkrankung Psoriasis vulgaris eher unauffällig.

### I.2.4 Haplotyp-Analyse

Aufgrund der vorhandenen Familienstrukturen ist es möglich mit dem Programm Multi\_Transmit, Version 2.5, Haplotypen zu bilden und die gemeinsame Vererbung von Markern zu überprüfen. Hier wurden mittels des Programms Haplotypen untersucht, die aus zwei bis vier Markern gebildet wurden. Es folgte eine Überprüfung der Transmission dieser Haplotypen innerhalb der Familien. Das Programm untersucht das gemeinsame Vorkommen von entsprechend hintereinander lokalisierten Markern.

#### I.2.4.1 Zwei-Marker-Haplotyp

Bei der Durchführung einer Zwei-Marker-Analyse, also eines aus zwei aufeinanderfolgenden Markern bestehenden Haplotyps, zeigen sich vor allem bei Marker-Kombinationen im Bereich telomer von HLA-C signifikante Ergebnisse. Die höchsten Signifikanzen erzielten

insgesamt sieben Marker-Haplotypen (Tab. 2.14). Eine Gesamtübersicht über die Ergebnisse sämtlicher Marker ist der Anlage beigelegt (Anhang II.II.9).

**Tabelle 2.14: Auszug aus Zwei-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)**

Marker-kombination	Start-Marker	Allel-Frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
12 / 13	CDSN001215	0.5924	141.12/154.65	13.144	0.0003
26 / 27	HCG0000269	0.5029	103.97/121.62	13.870	0.0002
27 / 28	hCV2452223	0.4925	103.44/118.66	12.206	0.0005
37 / 38	06PO5_1901	0.3337	110.8/94.49	12.768	0.0004
47 / 48	06KIAA_788	0.2483	79.19/66.62	10.905	0.0009
66 / 67	06MICB_011	0.1456	36.08/27.30	10.998	0.0009
84 / 85	hCV11409075	0.3580	83.85/71.87	11.213	0.0008

\* beobachtete Transmission / erwartete Transmission

Vier der sieben Haplotypen sind im Bereich telomer von HLA-C lokalisiert. Sie betreffen Markerkombinationen zwischen den Bereichen CDSN / C6orf16, Marker innerhalb des Gens HCR, sowie Marker im Bereich POU5F1. Zentromer von HLA-C treten Marker-Haplotypen im Bereich KIAA0055.hom, Kombinationen zwischen MICB (Klasse I) und BAT1 (Klasse III), sowie innerhalb des im Bereich des MHC Klasse III lokalisierten Gens TNXB auf. Die höchsten Signifikanzen für eine über der Erwartung liegenden Transmission zeigen dabei zwei der überprüften Marker-Haplotypen. Dabei handelt es sich zum einen um eine Kombination innerhalb von KIAA0055.hom mit 79 tatsächlichen zu 67 erwarteten Transmissionen. Zum anderen handelt es sich um einen Marker-Haplotyp, der MICB und BAT1 und somit die Klasse I und III verbindet.

### I.2.4.2 Drei-Marker-Haplotyp

Es folgt die Konstruktion eines weiteren Haplotypen, der drei benachbarte Marker umfasst. Dabei zeigt sich ein der Zwei-Marker-Analyse entsprechendes Bild. Auch hier erfolgt im Bereich telomer von HLA-C eine stärkere Transmission von Marker-Haplotypen von Eltern auf den erkrankten Nachwuchs (Gesamtübersicht: Anhang II.II.10). Insgesamt sechs Marker-Haplotypen zeigen die höchsten Signifikanzen. Vier liegen im Bereich telomer von HLA-C und betreffen die Gene HCR, POU5F1 und das Pseudogen HCGII-2 (Tab. 2.15).

**Tabelle 2.15: Drei-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)**

Marker-kombination	Start-Marker	Allel-Frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
26 / 27 / 28	HCG000269	0.3547	101.88/119.46	13.834	0.0002
36 / 37 / 38	06PO5_1577	0.2773	111.52/95.24	12.722	0.0004
44 / 45 / 46	06HCGII203	0.26880	83.19/70.37	11.339	0.0008
45 / 46 / 47	06HCGII201	0.2330	81.03/67.52	12.818	0.0003
66 / 67 / 68	06MICB_011	0.1132	36.08/27.31	10.972	0.0009
75 / 76 / 77	TNF_alpha_1031	0.0831	47.61/35.34	15.751	0.00007

\* beobachtete Transmission / erwartete Transmission

Eine der Markerkombinationen verbindet die Pseudogene HCGII-2 und KIAA0055.hom und somit den Bereich telomer und zentromer von HLA-C. Auch diese Kombination zeigt eine signifikant häufigere Transmission als erwartet. Zentromer von HLA-C bilden Marker im Bereich MICB und Marker aus dem Bereich BAT1 (Klasse III) einen Haplotypen, der über die erwartete Transmission hinaus vertreten ist. Ein in der Promoter-Region von TNF-Alpha lokalisierter Marker-Haplotyp, der die drei in dieser Region lokalisierten Marker der Positionen -238,-857 und -1031 umfasst, zeigt die höchste Signifikanz. Für diesen Haplotyp erfolgte eine tatsächliche Transmission von 48 Allelen gegenüber einer erwarteten Transmission von 35 Allelen.

### I.2.4.3 Vier-Marker-Haplotyp

Es wurde mittels Familienanalyse ein aus 4 aufeinanderfolgenden Markern bestehender Haplotyp konstruiert und seine Transmission analysiert (Gesamtübersicht: Anhang II.II.11). Insgesamt zeigen 8 der konstruierten Haplotypen sehr hohe Signifikanzen, aufgrund einer über der Erwartung liegenden Transmission von Eltern auf erkrankte Nachkommen (Tab. 2.16).

**Tabelle 2.16: Vier-Marker-Analyse; Kohorte III (Deutschland)**

Marker- kombination	Start- Marker	Allel- Frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
10 / 11 / 12 / 13	hCV8941548	0.1062	45.70/35.74	11.662	0.0006
35 / 36 / 37 / 38	06PO5_0597	0.2487	113.02/96.74	12.722	0.0004
43 / 44 / 45 / 46	HCGII20002	0.2463	82.12/68.72	13.022	0.0003
44 / 45 / 46 / 47	06HCGII203	0.1973	81.67/67.86	13.226	0.0003
63 / 64 / 65 / 66	06MICB_003	0.0832	36.00/27.35	11.031	0.0009
64 / 65 / 66 / 67	06MICB_004	0.0827	36.00/26.992	11.525	0.0007
74 / 75 / 76 / 77	hCV2451908	0.0524	44.85/33.56	13.769	0.0002
75 / 76 / 77 / 78	TNF_alpha_1031	0.0680	47.40/35.25	15.489	0.00008

\* beobachtete Transmission / erwartete Transmission

Vier der Markerkombinationen befinden sich im Bereich telomer von HLA-C und betreffen C6orf15, POU5F1 und das Pseudogen HCGII-2. Zwei dieser Marker-Haplotypen sind HLA-C übergreifend und verbinden die Pseudogene HCGII-2 und KIAA0055.hom. Zentromer von HLA-C sind es wieder Markerkombinationen, die den Bereich MICB (Klasse I) und BAT1 (Klasse III) verbinden bzw. Marker, die im Bereich der Klasse III des MHC liegen, welche über die Erwartung von Eltern auf erkrankte Nachkommen übertragen werden.

#### **1.2.4.4 Haplotyp-Konstruktion mit ausgewählten Markern**

Mit Hilfe des Programms Multi\_Transmit wurde die Transmission von 34 Markern überprüft, welche zum einen entweder in der vorhergehenden Haplotypen-Transmission auffällig waren oder über sämtliche Analysen hinweg eine signifikante Assoziation mit der Erkrankung zeigen (Anhang II.II.12). Ziel der Analyse ist es, speziell die gemeinsame Vererbung dieser ausgewählten Marker beobachten zu können. Sie liegen in ihrer physikalischen Distanz zum Teil weit auseinander, so dass das Programm bei einer Analyse sämtlicher Marker nicht in der Lage ist, sie miteinander in Verbindung zu bringen. Die Haplotypen umfassen bis zu 4 Marker (Gesamtübersicht: Anhang II.II.13).

Es zeigen sich folgende hochsignifikante Marker-Haplotypen (Tab. 2.17):

**Tabelle 2.17: Haplotypen-Transmission; 2 bis 4 Marker; Kohorte III (Deutschland)**

Marker-Nr.	Start-Marker	Haplotyp	Allel*	Allel-Frequenz	TM/eTM*	Chiquadrat	P-Wert
3 / 4	CDSN001215	1.1	A-G	0.5924	141.12/154.65	13.1440	0.0003
4 / 5	hCV2438369	2.2	G-/	0.5128	143.00/155.95	12.8940	0.0003
8 / 9	HCG0001667	2.1	T-C	0.3380	109.84/94.37	11.8910	0.0006
10 / 11	HCG0000269	2.1	T-(+GA)	0.3246	110.36/94.87	11.0510	0.0009
17 / 18	06KIAA_788	1.2	C-T	0.2483	79.19/66.62	10.9050	0.0009
26 / 27	06MICB_004	1.2	T-A	0.14045	36.00/27.33	11.0830	0.0009
27 / 28	06MICB_011	2.1	T /	0.1456	36.08/27.30	10.9980	0.0009
3 / 4 / 5	CDSN001215	1.1.1	A-G-	0.4725	146.11/159.54	12.664	0.0004
4 / 5 / 6	hCV2438369	2.2.2	G-/G	0.1244	72.28/59.50	12.292	0.0005
8 / 9 / 10	HCG0001667	2.1.2	T-C-T	0.2220	112.44/96.11	11.969	0.0005
12 / 13 / 14	06PO5_1901	1.2.2	A-C-C	0.2022	84.79/71.81	11.063	0.0009
15 / 16 / 17	06HCGII203	1.2.1	A-A-C	0.2437	81.77/69.31	10.840	0.0009
21 / 22 / 23	MICA000005	2.2.2	A-A-T	0.0712	35.95/27.17	11.463	0.0007
25 / 26 / 27	06MICB_003	1.1.2	C-T-T	0.1015	36.00/27.24	11.255	0.0008
26 / 27 / 28	06MICB_004	1.2.1	T-T-/	0.1009	36.00/26.88	11.734	0.0006
27 / 28 / 29	06MICB_011	2.1.1	T-/-	0.1132	36.08/27.31	10.972	0.0009
31 / 32 / 33	TNF-Alpha_1031	2.1.2	C-C-A	0.0831	47.61/35.34	15.751	0.00007
4 / 5 / 6 / 7	hCV2438369	2.2.2.2	G-/G-C	0.0921	72.30/59.82	11.453	0.0007
8 / 9 / 10 / 11	HCG0001667	2.1.2.1	T-C-T-(+GA)	0.1893	111.49/94.79	12.514	0.0004
11 / 12 / 13 / 14	06PO5_1577	1.1.2.2	(+GA)-A-C-C	0.1757	83.92/70.88	11.124	0.0009
12 / 13 / 14 / 15	06PO5_1901	1.2.2.1	A-C-C-A	0.1793	85.97/72.54	11.841	0.0006
14 / 15 / 16 / 17	hCV8941350	2.1.2.1	C-A-A-C	0.1476	71.10/58.46	11.663	0.0006
20 / 21 / 22 / 23	06KIA_0002	1.2.2.2	C-A-A-T	0.0525	35.69/26.98	11.163	0.0008
25 / 26 / 27 / 28	06MICB_003	1.1.2.1	C-T-T-/	0.0811	33.00/24.69	11.173	0.0008
26 / 27 / 28 / 29	06MICB_004	1.2.1.1	T-T-/-	0.0814	35.00/26.24	11.084	0.0009
30 / 31 / 32 / 33	hCV2451908	2.2.1.2	T-C-C-A	0.0524	44.85/33.56	13.769	0.0002
31 / 32 / 33 / 34	TNF-Alpha_1031	2.1.2.1	C-C-A-T	0.0680	47.39/35.25	15.489	0.00008

\* +GA = Insertion; / keine Basenzuordnung möglich

Vor allem die Haplotypen, in denen die Marker 06MICB\_011 und TNF\_Alpha\_238 einen Bestandteil des Haplotypen bilden, weisen hohe Signifikanzen und damit eine hohe, über der Erwartung liegende Transmission von Eltern auf erkrankte Nachkommen auf (Tabelle 2.17). Diese beiden Marker sind über sämtliche Analysen sowohl in den deutschen, als auch in den US-Amerikanischen Kohorten signifikant mit der Erkrankung Psoriasis vulgaris assoziiert. Zusätzlich zeigen beide eine übereinstimmend hohe Odds-Ratio. Innerhalb der einzelnen Gene / Pseudogene werden immer wieder die gleichen Markerkombinationen vererbt, was sich anhand der hohen Transmission der überprüften Zwei- bis Vier-Marker-Haplotypen zeigt.

### 1.2.5 Überprüfung Assoziation HLA-Cw\*6 mit signifikanten Markern

Es wurde die Assoziation zwischen dem Psoriasis assoziierten Allel HLA-Cw\*6 und in den Analysen signifikanten Markern überprüft.

Für die deutsche (D, I+II) und die amerikanische Kohorte (US, IV+V) zeigte sich folgendes Ergebnis:

**Tabelle 2.18: Überprüfung Assoziation HLA-Cw6 / signifikante Marker**

Marker	Kontrollen (No.)*		Psoriatischer (No.)		Fishers-Exakt-Test
	Cw6 (+)	Cw6 (-)	Cw6 (+)	Cw6 (-)	P-Wert
hCV2438369 (D)	46	73	150	22	2,00E-18
hCV2438369 (US)	30	25	54	12	1,13E-03
hCV2438347 (D)	45	73	149	22	2,00E-18
hCV2438347 (US)	30	25	54	12	1,13E-03
HCG002271 (D)	47	141	151	81	1,00E-19
HCG002271 (US)	31	77	53	34	5,00E-06
HCG001667 (D)	45	109	149	61	1,64E-15
HCG001667 (US)	30	61	54	22	7,82E-07
HCG000269 (D)	45	101	147	55	4,76E-15
HCG000269 (US)	28	44	53	17	8,02E-06
hCV8941350 (D)	44	101	147	60	2,9E-14
hCV8941350 (US)	31	61	54	21	6,86E-07
06HCGII201 (D)	49	128	153	73	7,04E-16
06HCGII201 (US)	30	63	57	8	1,15E-12
06KIA_823 (D)	44	61	153	25	1,17E-14
06KIA_823 (US)	31	22	57	11	1,86E-03
06KIA_01 (D)	44	60	151	25	3,4E-14
06KIA_01 (US)	30	24	56	11	7,16E-04
P5-1_913 (D)	9	10	75	5	1,09E-05
P5-1_913 (US)	9	2	34	1	1,38E-01
06MICB_011 (D)	11	13	75	5	9,52E-07
06MICB_011 (US)	9	1	36	2	5,12E-01
06TNF_238 (D)	10	17	76	9	1,84E-07
06TNF_238 (US)	9	8	37	3	1,41E-03

\*No. = Anzahl Personen; Cw6(+)/(-) = HLA-Cw6 positive/negative Personen

HLA-Cw\*6 ist mit sämtliche Markern, bis einschließlich 06KIA\_01, hochsignifikant assoziiert. Mit den Markern für P5-1, MICB und TNF-Alpha zeigt HLA-Cw\*6 eine wesentlich schwächere Assoziation.

Aus diesem Grund erfolgte nun umgekehrt die Überprüfung der Assoziation der Marker mit HLA-Cw\*6-positiven Personen der deutschen und amerikanischen Kohorte (Tabelle 2.19). Dabei zeigt sich, dass die mit Psoriasis assoziierten Allele der Marker P5-1, MICB und TNF-Alpha signifikant mit HLA-Cw\*6 assoziiert sind.

**Tabelle 2.19: Überprüfung Assoziation Marker / HLA-Cw\*6**

Marker	Kontrollen (No.)*		Psoriatiker (No.)		Fishers-Exakt-Test P-Wert
	Assoz. Allel	nicht assoz. Allel	Assoz. Allel	nicht assoz. Allel	
	P5-1_913	P5-1_913	P5-1_913	P5-1_913	
HLA-Cw6(+) (D)	9	75	75	82	1,70E-09
HLA-Cw6(+) (US)	9	28	34	28	2,61E-03
	MICB_011		MICB_011		
HLA-Cw6(+) (D)	11	66	75	81	1,81E-07
HLA-Cw6(+) (US)	9	30	36	24	2,75E-04
	06TNF_238		06TNF_238		
HLA-Cw6(+) (D)	10	66	76	81	5,23E-08
HLA-Cw6(+) (US)	9	28	37	24	4,28E-04

\*No. = Anzahl Personen; Cw6(+) = HLA-Cw6 positive Personen

## I.2.6 Haplotyp-Rekonstruktion über 1,923kb

Mit Hilfe eines von Dr. Stefan Jenisch entwickelten Programms wurden die der Genotypisierung zugrunde liegenden Haplotypen über die gesamten 1,923kb, unter zur Hilfenahme der bekannten HLA-Muster, rekonstruiert. Zu Grunde lagen die Genotypisierungsdaten von 86 Markern, die innerhalb der deutschen Kohorte III genotypisiert wurden (Anhang II.II.14).

### I.2.6.1. Haplotypen-Identifizierung

Über das Programm ist die Rekonstruktion von 254 Haplotypen möglich, die auf maternalen bzw. paternalen Chromosomen liegen. In die Haplotyp-Konstruktion wurden sämtliche Haplotypen einbezogen, bei denen 85% der auf dem entsprechenden Chromosom liegenden Allele vorhanden sind. Hierdurch verringerte sich die Zahl aussagekräftiger Haplotypen auf 198. Insgesamt zeigt sich der Bereich von Marker 9 (Lokalisation im Gen STG) bis Marker 71 (Lokalisation im Gen LTB) gut konserviert. Es konnten 37 Haplotypen identifiziert werden (Tab. 2.20a/b). Die Haplotypen 22 bis 37 traten innerhalb der identifizierbaren Haplotypen mit einer unter 5% liegenden Häufigkeit auf. Die am häufigsten auftretenden Haplotypen sind die mit den Nummern 8 und 19 bezeichneten Markerkombinationen. Innerhalb der Haplotyp-Konstruktion wurden Marker rot markiert, welche in der Literatur signifikant mit Psoriasis vulgaris assoziiert sind bzw. Marker, die über hier durchgeführte Analysen anhand der Odds-Ratio in beiden Kohorten (Deutschland / USA) eine starke Assoziation zwischen Phänotyp und Allel zeigen (Tab. 2.21).





Tabelle 2.21: Farbig markierte Marker in Haplotyp-Konstruktion

Gen / Pseudogen	Marker-Nr.	Markerbezeichnung	Assoz.	Assoz.	Literatur / Analyse
			Allel	Base	
CDSN	11	CDSN001243	1	G	Tazi-Ahnini et al. (1999); Allan et al. (1999) Jenisch et al. (1999)
C6orf16	12	hCV2438369	1	A	OR: 2,14 / 3,64
	14	hCV2438347	2	*	OR: 2,14 / 3,64
HCR	18	HCG0002122	1	A	Asumalahti et al. (2000 / 2002)
	19	HCG0001667	2	T	Asumalahti et al. (2000 / 2002)
	20	hCV2452235	2	C	Asumalahti et al. (2000 / 2002)
	22	HCG0000269	2	T	Asumalahti et al. (2000 / 2002)
POU5F1	33	hCV8941350	2	C	OR: 2,06 / 2,70
HCGII-2	38	06HCGII201	1	A	OR: 2,16 / 2,82
KIAA0055.hom	41	06KIA_823	2	T	OR: 2,6 / 4,29
	42	06KIA_0001	2	G	Veal et al. (2002) OR: 2,69 / 4,09
P5-1	52	P5-1_913	2	G	OR: 5,67 / 5,06
MICB	59	06MICB_011	2	T	Dr. Stefan Jenisch OR: 4,86 / 3,9
TNF-Alpha	70	06_TNF_238	1	A	Höhler et al. (1997) OR: 4,21 / 4,89

\* Für diesen Marker war keine Basenzuordnung möglich.

### I.2.6.2. Zuordnung rekonstruierter Haplotypen zu entsprechenden HLA-Mustern

Aufgrund der vorhandenen HLA-Daten konnte überprüft werden, ob bestimmte HLA-Kombinationen mit bestimmten Markerkombinationen auftreten (Tab. 2.22).

Es zeigte sich, dass eine Zuordnung zwischen HLA-Mustern und bestimmten Allel-Kombinationen der Marker möglich ist. So tritt der Haplotyp 8 nur in Kombination mit den HLA-Mustern HLA-A\*1, A\*2 und A\*3, jeweils mit HLA-C\*7 und HLA-B\*8, auf. Der Marker-Haplotyp 17 tritt nur in Kombination mit HLA-A\*11, -A\*23 und -A\*24, jeweils mit HLA-C\*4 und HLA-B\*44, auf.

**Tabelle 2.22: Zuordnung Haplotyp – HLA-Muster**

Haplotyp-Nr.	HLA-Muster HLA -A / -C / -B
1	2/4/35; 3/4/35;
2	31/4/35; 11/4/65
3	24/3/62;
4	3/2/51;
5	2/7/7; 3/7/7; 24/7/7
6	24/3/62;
7	24/4/35; 28/4/35; 31/4/35; 11/4/65;
8	1/7/8; 2/7/8; 3/7/8
9	2/5/44; 25/5/44; 32/5/44
10	2/12/25; 24/12/38; 3/12/38; 26/12/38
11	2/3/60;
12	2/3/60; 3/3/40
13	28/3/62; 2/7/62
14	1/15/52; 32/3/62; 2/3/60
15	2/3/60; 1/3/62; 28/3/62; 2/7/62
16	24/1/27; 31/1/27; 11/3/55
17	11/4/44; 23/4/44; 24/4/44
18	1/6/37; 28/6/37
19	1/6/57; 2/6/57;
20	1/6/13; 24/6/13
21	2/6/13; 30/6/13; 24/6/13

Zum Teil treten Überschneidungen zwischen unterschiedlichen Haplotypen und einem einzigen HLA-Muster auf, wie das bei dem HLA-Haplotyp HLA-A\*24 / HLA-C\*3 / HLA-B\*62 der Fall ist. Er tritt mit den Marker-Haplotypen 3 und 6 auf.

### I.2.6.3. Marker-Haplotypen / HLA-Cw\*6

Innerhalb der Kohorte treten die drei mit Psoriasis vulgaris assoziierten Haplotypen HLA-Cw\*6 / B\*13, HLA-Cw\*6 / B\*37 und HLA-Cw\*6 / B\*57 auf (Tab. 2.23). Die in dieser Analyse anhand Odds Ratio und Multi\_Transmit ermittelten Psoriasis vulgaris assoziierten Allele der Marker P5-913, MICB011 und TNF-Alpha\_238 treten in gemeinsamer

Kombination nur im Haplotypen 19 auf. Dieser wiederum erscheint ausschließlich in Kombination mit dem mit Psoriasis vulgaris assoziiertem HLA-Haplotypen HLA-Cw\*6 / HLA-B\*57. Von den insgesamt 14 auswertbaren, unabhängigen Chromosomen, für welche der HLA-Status HLA-Cw\*6 / HLA-B\*57 ermittelt wurde, trat der Haplotyp 19 insgesamt acht mal bei gesunden Personen und sechs mal bei Personen mit Psoriasis vulgaris auf.

**Tabelle 2.23: Marker-Haplotyp / mit Psoriasis vulgaris assoziierte HLA-Muster**

Haplotyp-Nr.	HLA-Muster HLA -A / -C / -B	Personen		
		gesund	erkrankt	*Status unbek.
21	2/6/13; 30/6/13; 24/6/13	3	5	1
20	1/6/13; 24/6/13	6	0	0
18	1/6/37; 28/6/37	4	2	0
19	1/6/57; 2/6/57;	8	6	0

\*Status = Krankheitsstatus

## II. Marker-Alignments

Sämtliche Marker wurden fortlaufend auf ihr Alignment mit anderen Sequenzen überprüft. Begonnen wurde mit Build 114 der NCBI-SNP-Datenbank. Bis zum Build 117 zeigten sich keinerlei Doppel-Alignments. Mit Build 117 und der zunehmenden Komplettierung der Referenz-Sequenzen des menschlichen Genoms änderten sich zu einem sämtliche Positionen um 45440bp. Zum anderen wurden Doppel-Alignments sichtbar. Betroffen hiervon sind neben Assays-on-Demand, die innerhalb der Analysen aber keinerlei Signifikanzen aufwiesen, auch Assays-by-Design. Hier betrifft es die nachfolgenden Marker:

**POU5F1** : 06Pou5\_362 (rs1061118) / Pou5F1\_6075 (rs1062630)

**KIAA0055.hom** : 06KIA\_01, 06KIA\_02 (rs6906846)

Bei POU5F1 handelt es sich u.a. um ein Alignment mit auf Chromosom 12 vorliegendem Gen CLECSF6, dem auf Chromosom 8 vorliegenden Pseudogen POU5F1P1. Die für KIAA0055.hom entwickelten Sonden alignen mit dem auf Chromosom 15 lokalisierten und exprimierten Gen USP8, hier im Exon 15. Die Sonden müssen mit entsprechender Vorsicht betrachtet werden. Innerhalb der durchgeführten Analysen sind 06Pou5\_362 und 06KIA\_02 unauffällig und zeigen weder bei der durchgeführten Case / Control-Analyse, noch im durchgeführten TDT-Test hohe Signifikanzen. Das trifft sowohl auf die amerikanische, als auch auf die deutsche Kohorte zu. Weiter zeigen diese Sonden keinerlei Auffälligkeiten bezüglich der Überprüfung der Mendelschen Vererbung.

## Diskussion

Für die nähere Charakterisierung und die anschließende Überprüfung auf Assoziationen zwischen Psoriasis vulgaris und Genen / Pseudogenen des MHC, wurde eine Feinkartierung einer ca. 113 kb großen Region im Bereich von HLA-C, MHC-Klasse I, vorgenommen. Marker aus dieser SNP-Karte wurden anschließend in Assoziationsuntersuchungen eingesetzt.

## SNP-Karte

Über die Methode der Hochdurchsatz-Sequenzierung und über anschließende Sequenzanalyse wurde eine Feinkartierung polymorpher Positionen in der Region des Psoriasis Verdachtsbereiches 1 (PSORS1) vorgenommen. Solche Karten beziehen ihren Nutzen aus der Möglichkeit, auch über nicht auf familiäre Strukturen basierende Analysen zur Identifizierung von Krankheitsgenen beitragen zu können. Auch können sie im Hinblick auf pharmakogenetische Untersuchungen genutzt werden. Aus diesem Grund wurden Teile der auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 innerhalb der Klasse I des Haupt-Histokompatibilitäts-Komplexes im Bereich PSORS1 lokalisierten Gene / Pseudogene sequenziert und analysiert. Hierunter fallen (Richtung Telomer ► Zentromer) die Gene TCF19, POU5F1 und die Pseudogene NOB4 und HCGII-2. Im zentromer von HLA-C gelegenen Bereich wurde das Pseudogen HCGIV-02 untersucht. Weiter wurden die mittels Segregationsanalyse und SNP-Datenbanken identifizierten SNPs im Hinblick auf ihr gemeinsames Auftreten miteinander und mit bestimmten HLA-Mustern, hier HLA-C und HLA-B, untersucht. Für die Untersuchung stand die genomische DNA von insgesamt 62 Personen kaukasischen Ursprungs zur Verfügung. Diese 62 Personen verteilen sich auf insgesamt 17 Familien. Um einen Einblick in die Kombination von bestimmten Gen- / Pseudogen-Allelen in Verbindung mit HLA-Mustern zu bekommen, wurden sämtliche Personen HLA-typisiert. Hierdurch waren neben den Klasse I Molekülen HLA-A, -B und -C auch die Klasse II Moleküle HLA-DR und -DQ bekannt. Durch die vorhandenen HLA-Muster war eine Identifizierung von insgesamt 62 unabhängigen Chromosomen möglich. Weiter erleichterte die Bekanntheit des HLA-Musters die Zuordnung der SNPs zu den entsprechenden Chromosomen über Segregationsanalyse.

Insgesamt zeigt sich nach Analyse der untersuchten Bereiche der für das MHC charakteristische hohe Grad an Polymorphismen. Im MHC ist vor allem innerhalb konservierter Blöcke, der sogenannten „Polymorphic Frozen Blocks“ (PFBs), der Poly-

morphismus hoch. Der ausgeprägte Grad an Polymorphismen scheint ein Grund dafür zu sein, das es zwar zwischen den Blöcken, aber kaum innerhalb der Blöcke zu Rekombinationen kommt (Marshall et al., 1993, Dawkins et al., 1999).

Auch ist die Differenzierung zwischen tatsächlich exprimierten Genen und Pseudogenen durch Anzahl und Positionen der SNPs deutlich sichtbar.

Innerhalb der Pseudogene folgen die Basensubstitutionen dichter aufeinander, als dies bei Genen, welche funktionell von Bedeutung sind, der Fall ist. Dies entspricht der Entstehung bzw. der Definition von Pseudogenen. Sie entstehen zum einen durch Duplikation der DNA-Sequenzen von Genen, wobei es durch dabei entstehende Modifikationen der Sequenzen durch z.B. Mutationen zu einem Verlust der Gen-Funktion auf Transkriptions- oder Translationsebene kommen kann. Sie werden dann als konventionelle Pseudogene bezeichnet. Weiter ist die Entstehung von sogenannten prozessierten Pseudogenen möglich, bei denen mRNA durch reverse Transkription in DNA umgewandelt und durch Insertion ins Genom aufgenommen wird.

Die untersuchten Pseudogene HCGII-2 mit 13 SNPs und HCGIV-02 mit 4 SNPs zeigen sich in Bezug auf die Größe des sequenzierten Bereichs sehr polymorph. Beide sind Mitglieder einer Multi-Gen-Familie der Hemochromatosis-Kandidaten Gene (HCG), aus denen HCGII-2 und HCGIV-02 durch Duplikation entstanden sind. Es wird vermutete, dass die Gene, welche für die Hemochromatosis-Erkrankung verantwortlich sind, im Bereich der Klasse I des MHC lokalisiert sind. Bei der Hemochromatosis handelt es sich um eine autosomal rezessiv vererbte Erkrankung, die den Eisenmetabolismus betrifft. Der molekulare Defekt der Erkrankung ist unbekannt. Simon et al. konnten das verantwortliche Gen (HFE) auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 lokalisieren und fanden eine Kopplung des Gens mit HLA-A (Simon et al., 1987).

Das Pseudogen NOB4 ist eines von insgesamt 5 mit der Bezeichnung NOB versehenen Pseudogenen im Bereich der Klasse I des MHC, sämtlich zentromer und telomer um HLA-C lokalisiert. Mit 29 validierten SNPs innerhalb eines sequenzierten Bereiches von 3300 bp zeigt es sich ebenfalls sehr polymorph. Über die Entstehung der NOB-Pseudogene und ihre Homologien ist bisher nichts bekannt.

Bezogen auf die Größe des untersuchten Sequenzbereiches liegt die Anzahl identifizierter SNPs innerhalb der exprimierten Gene TCF19 und POU5F1 unter denen der Pseudogene. So sind für die Gene POU5F1 und TCF19 in einem ca. 4000 bp umfassenden Bereich insgesamt

24 bzw. 18 SNPs identifiziert worden. Im Vergleich dazu war die Zahl validierbarer SNPs innerhalb der Pseudogene, bezogen auf die Größe des sequenzierten Bereichs, höher. Bei innerhalb von Genen auftretenden Basensubstitutionen sind diese häufiger in Intron- und nicht-kodierenden Regionen lokalisiert als in kodierenden. Treten sie in kodierenden Regionen auf (cSNP), handelt es sich häufig um synonyme Substitutionen, die keine Veränderung in der Aminosäuresequenz bewirken. Aber auch nicht-synonyme Substitutionen finden statt. Diese können zu einem vorzeitigen Stopp in der Protein-Übersetzung führen, und damit zu einem unvollständigen Genprodukt. Auch kann der Basenaustausch eine Aminosäuresubstitution bewirken, die zu einer Veränderung oder Einschränkung in der Funktion des entsprechenden Proteins führt. Solche Substitutionen sind aufgrund ihrer Wirkung in ihrer Allel-Frequenz niedriger. Grund hierfür ist, dass sie einer stärkeren Selektion ausgesetzt sind, wodurch sich der negative Effekt populationsgenetisch gesehen nicht durchsetzt. Im exprimierten Gen POU5F1 treten von insgesamt 24 validierten SNPs 3 in einen, für ein Protein kodierenden Bereich auf. Davon führt nur eine der drei Substitutionen zu einem nicht-synonymen Aminosäureaustausch. TCF19 hingegen zeigen 4 in der Exon 2 Region lokalisierte Substitutionen. Drei der Substitutionen führen zu einem nicht-synonymen Austausch einer Aminosäure.

Während die untersuchten Pseudogene sich also als sehr polymorph präsentieren, erscheinen SNPs in den exprimierten Genen TCF19 und POU5F1, in bezug auf die Größe der jeweiligen Gene, weniger häufig. Hier treten auffällig häufig anstelle des Austausches einzelner Basen Sequenzmodifikationen in Form von Insertionen bzw. Deletionen auf.

So zeigt TCF19 einen als polymorphen Block (PMB) bezeichneten Sequenzabschnitt, der ca. 35 Basen umfasst und im Bereich des ersten Introns liegt. Eine genauere Analyse dieses Blocks war nicht möglich, da der Abschnitt entweder nur homozygot vorkam, wobei er in seiner Sequenz der Sequenz AC004195 (NCBI) entsprach, oder er in heterozygoter Form auftrat. Aus diesem Grund gibt es keinen Hinweis darauf, wie die zweite homozygote Variante des Blocks aussehen könnte. In Sequenzierungen, in denen die heterozygote Form auftritt, scheinen innerhalb des Blocks bei ca. 20 Basen Polymorphismen aufzutreten. Es sind eindeutig übereinander liegende Piks zu erkennen.

Eine durch Teraoka et al. (2000) für TCF19 identifizierte Deletion von 4 bp innerhalb des zweiten Introns konnte in der hier durchgeführten Sequenzanalyse nicht ermittelt werden.

Bei POU5F1 finden sich sieben validierte Insertionen / Deletionen, sämtlich in Intron-Regionen lokalisiert und zum Teil durch die SNP-Datenbank von NCBI bereits erfasst. Die

---

Größe dieser Insertionen bzw. Deletionen reicht von einer Base auf Position 5134 bis zu sechs Basen auf Position 1467. Schaut man sich die im Bereich POU5F1 möglichen Haplotypen an, zeigt sich, dass diese Insertionen bzw. Deletionen nicht zufällig mit den sie umgebenden SNPs vorkommen. Vielmehr scheint ihr Vorkommen mit dem Auftreten bestimmter Basen auf bestimmten Positionen gekoppelt zu sein. Mit Hilfe des Programms FGENEH wurden Länge und Zusammensetzung der Aminosäuresequenz unter Berücksichtigung der Insertionen / Deletionen überprüft. Es ergeben sich keine Änderungen in ihrer Sequenz.

Demgegenüber zeigen sich innerhalb der untersuchten Pseudogene kaum Insertionen oder Deletionen. Im Bereich des zentromer von HLA-C gelegenen Pseudogens HCGIV-02 wurde eine aus einer Base bestehende Insertion / Deletion im Anfangsbereich der Sequenz identifiziert. Das ebenfalls aus der HCG-Familie stammende Pseudogen HCGII-2 und das Pseudogen NOB4 zeigen keine Insertionen oder Deletionen.

Neben der Anzahl der validierbaren SNPs und anderer Sequenzvariationen werden auch Unterschiede zwischen Pseudogenen und Genen im Hinblick auf Vorkommen und Dichte der SNPs zueinander deutlich. So zeigen die exprimierten Gene TCF19 und POU5F1 einen größeren durchschnittlichen Abstand zwischen den SNPs, als die untersuchten Pseudogene. Sie besitzen somit einen höheren Grad an Konserviertheit. Während der durchschnittliche Abstand zwischen dem Auftreten benachbarter SNPs innerhalb von Genen bei 179 bp (TCF19) bzw. 167 bp (POU5F1) liegt, ist er bei SNPs im Bereich von Pseudogenen wesentlich geringer. Hier liegt er bei NOB4 bei 97 bp, bei HCGII-2 beträgt er 45 bp bzw. 41 bp bei HCGIV-2. Dies hängt schon allein damit zusammen, dass der minimale Abstand, der zwischen dem Auftreten zweier SNPs liegt, sehr klein ist. Bei den untersuchten Pseudogenen HCGII-2, NOB4 und HCGIV-02 liegt er im Schnitt bei ca. 5 bp. Auch beträgt der maximale Abstand zwischen zwei SNP innerhalb der Pseudogene durchschnittlich nur 244 bp, somit folgen die SNPs sehr dicht aufeinander. Demgegenüber zeigen identifizierte SNPs innerhalb der exprimierten Gene TCF19 und POU5F1 einen minimalen Abstand, der doppelt so groß ist, wie der innerhalb der untersuchten Pseudogene. Die maximale Entfernung zwischen zwei in TCF19 und POU5F1 vorkommenden SNPs, entspricht dem ca. 2,5fachen der maximalen Entfernung zwischen in Pseudogenen lokalisierten SNPs.

In bezug auf die Art der innerhalb der untersuchten Familien auftretenden Substitutionen überwiegen die Transitionen, also der Austausch einer Purinbase gegen eine Purinbase (G ↔ A) bzw. Pyrimidinbase gegen Pyrimidinbase (C ↔ T). Andere Substitutionen, wie zum



---

Beispiel der Austausch einer Purinbase gegen eine Pyrimidinbase, als Transversion bezeichnet, sind eher selten.

Neben den bi-allelischen SNPs konnte auch ein tri-allelischer Polymorphismus identifiziert werden. Dieser ist innerhalb des zweiten Exons des Gens TCF19 lokalisiert. Es handelt sich hierbei um den möglichen Austausch einer Pyrimidinbase durch eine Purinbase (und damit Transversion). Bei den Basen handelt es sich um Cytosin, welches scheinbar das ancestrale Allel definiert, und durch Guanin oder aber durch Adenin ausgetauscht werden kann. Innerhalb der SNP-Datenbank ist die Substitution Cytosin / Adenin als Referenz-SNP aufgenommen. Über Teraoka et al. wurde der Tri-Morphismus auf der Position 2738 bereits validiert (Teraoka et al., 2000). Der Austausch der Cytosin-Base durch die Adenin-Base auf der Position 3 des Triplets führt zu einem synonymen Aminosäureaustausch. Beide Triplets codieren für die Aminosäure Prolin. Ein Austausch der Cytosin-Base durch die Guanin-Base auf eben dieser Position würde ebenfalls zu einem synonymen Aminosäureaustausch führen. Auch hier codieren beide Triplets für die Aminosäure Prolin. Einer Allel-Frequenz von 0.82, betreffend die Base Cytosin, stehen dem Vorkommen der Basen Guanin und Adenin mit Allel-Frequenzen von 0.11 und 0.07 gegenüber.

Ein Vergleich der Anzahl untersuchter Chromosomen, die dieser Arbeit zu Grunde lagen, mit denen der in den Datenbanken NCBI und Celera™ enthaltenen Angaben, zeigt, dass mit den in dieser Arbeit untersuchten 62 unabhängigen Chromosomen die Anzahl deutlich höher liegt. Die Datenbank von NCBI stellt eine fortlaufend bearbeitete und aktualisierte Informationsquelle dar. Betreffend unserer untersuchten Gene POU5F1 und TCF19 liegen nunmehr zum Teil Frequenzinformationen bezüglich der SNPs vor. Teilweise werden in der Datenbank enthaltene SNPs entnommen oder neue SNPs hinzugefügt. Die Zahl der eingetragenen Sequenzvariationen (SNPs / Insertionen / Deletionen) von POU5F1 hat sich von 39 (Build 116) auf 55 (Build 119) erhöht. In ihr sind auch SNPs vertreten, die auf mehr als einer Position alignen. Für TCF19 sind nunmehr 54 SNPs (Build 119) angegeben.

Über die einzelnen Aktualisierungen hinweg hat sich auch der Informationsgehalt erhöht. Nunmehr liegen zum Teil Informationen über Validierungsstatus der SNPs vor, aber auch Genotypisierungsinformationen. Weiter gibt es Informationen über das Vorliegen von Alignments der SNPs auf unterschiedlichen Chromosomen, wie das bei Genen, die im Laufe der Evolution dupliziert wurden, der Fall sein kann. Ein Bereich, der gerade für das MHC von Bedeutung ist. Hier ist vor allem das Kriterium entscheidend, dass ein eindeutiges und zweifelfreies Vererbungsschema in mindestens zwei Familien besteht. Die Kriterien, die in

---

unserer Sequenzanalyse zur Validierung von SNPs angesetzt wurden, sind eng gesetzt, um die Aufnahme möglicher falsch positiver SNPs zu vermeiden. Nach Einschätzung von Marth und Kollegen wurde für weniger als 15% der in Datenbanken enthaltenen SNPs, das Vorliegen eines Polymorphismus anhand einer Population überprüft. Marth et al. untersuchten das tatsächliche Vorliegen von Polymorphismen von in öffentlich zugänglichen SNP-Datenbanken eingetragenen SNPs anhand dreier Populationen. Betreffend falsch-positiver SNPs gehen sie davon aus, dass diese in aus Duplikation entstandenen Bereichen eine Frequenz von 50% für beide Allele in allen Populationen zeigen (Marth et al, 2001).

Innerhalb der einzelnen untersuchten Gene und Pseudogene ist ein Auftreten von verschiedenen Ausprägungen des Gens bzw. Pseudogens zu beobachten, hier als SNP-Haplotyp bezeichnet. Aufgrund der geringen physikalischen Entfernung der identifizierten SNPs innerhalb der analysierten Bereiche ist ein unabhängiges Auftreten der SNPs nicht wahrscheinlich. Man könnte erwarten, dass bei dem Auftreten von, wie im Beispiel POU5F1, 24 SNPs eine Kombination der SNPs in Höhe von  $2^{24}$  möglich wäre, und damit eine entsprechend hohe Anzahl unterschiedlicher SNP-Haplotypen. Das wäre der Fall, wären die SNPs voneinander unabhängig. Tatsächlich tritt aber nur eine limitierte Anzahl an SNP-Haplotypen auf. Hier zeigt sich, dass die einzelnen SNPs untereinander gut konserviert sind und in fester Kombination miteinander stehen. Aufgrund der mittleren Entfernung der SNPs zueinander und ihrer Kopplung miteinander, lässt sich vermuten, dass benachbarte SNPs der untersuchten Bereich in Kopplungsungleichgewicht miteinander stehen. Unter Kopplungsungleichgewicht (**L**inkage **D**isequilibrium = LD) versteht sich die häufiger als erwartete gemeinsame Vererbung nah beieinander lokalisierter Allele. Insgesamt lassen sich bei den Pseudogenen HCGIV-02, HCGII-2, NOB4, sowie beim exprimierten Gen TCF19 jeweils 10 SNP-Haplotypen definieren, in deren Ausprägung auch Sequenzvariationen wie Insertionen bzw. Deletionen einbezogen sind. Grundlage für die Definition eines SNP-Haplotyps ist seine vollständige und zweifelsfreie Verfolgung auf einem unabhängigen Chromosom. Somit scheinen hier 10 feste SNP-Kombinationen aufzutreten, die über sämtliche SNP-Positionen hinweg auf voneinander unabhängigen Chromosomen zu verfolgen sind. Für POU5F1 wurden 17 SNP-Haplotypen identifiziert, was mit der großen Anzahl an Insertionen und mit diesen gekoppelten SNPs zusammenhängt.

Kopplungsungleichgewicht besteht aber nicht nur zwischen benachbarten SNPs innerhalb eines Gens / Pseudogens, sondern ist über das gesamte Genom verfolgbar. So beruhen genomweite Assoziationsanalysen auf der Hypothese, dass zwischen dem zu untersuchenden,

krankheitserregenden Allel und seinem nächsten benachbarten Marker das stärkste Kopplungsungleichgewicht besteht. Die Stärke des Kopplungsungleichgewichts ist durch molekulare Faktoren, wie dem Auftreten von Crossing over, beeinflussbar. Eine weitere Rolle spielen populationsgenetische Faktoren wie Gendrift und Selektion (Ardlie et al., 2002).

Über HLA-Typisierung sämtlicher, der Sequenzanalyse zugrunde liegender Familienmitglieder kaukasischen Ursprungs, konnte sich ein Bild darüber gemacht werden, ob sich das Vorkommen der einzelnen SNP-Haplotypen mit bestimmten HLA-B und HLA-C Allelen im Kopplungsungleichgewicht befindet. Die Kombination von Allel-Ausprägungen der klassischen Transplantationsantigene HLA-B und HLA-C werden hier als HLA-Haplotyp bezeichnet. In diesem Überblick bleiben die Allele des HLA-A-Lokus, obwohl bekannt, in der Betrachtung außen vor. Der Grund hierfür liegt in der Entfernung zum untersuchten Bereich von ca. 1,2 Mb. Eine Untersuchung von Reich et al. zeigte, dass sich in Nordeuropäern Kopplungsungleichgewicht über einen Bereich von im Durchschnitt 60 kb erstreckt. Sie gehen dabei von einem SNP aus, dessen Frequenz der seltener vorkommenden Allel-Variante mindestens 35% beträgt. Der Untersuchung lag unter anderem eine amerikanische Population mit nordeuropäischen Vorfahren zu Grunde. Es wurden 19 zufällig ausgewählte genomische Regionen untersucht (Reich et al., 2001). Walsh et al. kamen in einer 2003 veröffentlichten Untersuchung zu dem Schluss, dass sich Regionen des MHC auf Chromosom 6, die nicht die klassischen HLA-Loki umfassen, bezüglich Variationen und Struktur des Kopplungsungleichgewicht nicht wesentlich vom restlichen Genom unterscheiden (Walsh et al., 2003).

Die in dieser Arbeit analysierten Bereiche zeigen bezüglich des gemeinsamen Vorkommens von SNP-Haplotypen mit HLA-Haplotypen untereinander kaum Überschneidungen. Dies trifft sowohl für die Pseudogene als auch für die exprimierten Gene zu. Vor allem das Pseudogen NOB4 und das Gen TCF19, jeweils mit 10 verschiedenen SNP-Haplotypen, zeigen sich sehr konstant im Auftreten von Kombinationen aus SNP- und HLA-Haplotypen.

Insgesamt scheint es eine feste Konstellation zwischen SNP-Haplotypen und HLA-Haplotypen zu geben. Dies gilt insbesondere für HLA-C als Bestandteil zu Grunde liegender HLA-Haplotypen. Von den vorhandenen HLA-Haplotypen ausgehend, stehen die einzelnen SNP-Haplotypen auffällig oft in Verbindung mit ein und demselben HLA-C-Allel. Dagegen zeigt sich im Hinblick auf HLA-B ein anderes Bild. So tritt ein SNP-Haplotyp wiederholt mit identischem HLA-C-Allel auf, welches aber in Kombination mit unterschiedlichen HLA-B-Allelen steht. Dies trifft auf sämtliche untersuchten Bereiche zu und spricht für

Kopplungsungleichgewicht zwischen den identifizierten SNP-Haplotypen bzw. untersuchten Genen und Pseudogenen und HLA-C oder aber für einen SNP-Haplotypen, der spezifisch für das jeweilige HLA-C / HLA-B Muster ist.

Weiter lassen sich die identifizierten SNP-Haplotypen sämtlicher Gene und Pseudogene in drei (HCGIV-02, NOB4, TCF19, POU5F1) bis vier Blöcke (HCGII-2) unterteilen. Das Kriterium für die Zuordnung der einzelnen SNP-Haplotypen zu den entsprechenden Blöcken beruht auf der vorhandenen Ähnlichkeit der Haplotypen untereinander. Somit treten hier als Blöcke bezeichnete Grund-Haplotypen auf, deren Grundgerüst an SNP-Kombinationen identisch ist. Die durchschnittliche Übereinstimmung der zu einem Block zusammengefassten SNP-Haplotypen liegt bei 66% der vorkommenden SNPs und Sequenzvariationen und umfasst im Schnitt 4 SNP-Haplotypen. Wird nun das Vorkommen der einzelnen Blöcke im Hinblick auf die einzelnen HLA-Haplotypen betrachtet, zeigt sich, dass es zwischen den einzelnen Blöcken kaum zu Überschneidungen kommt. Insgesamt entsprechen die Kombination der Blöcke mit HLA-Haplotypen den Kombinationen zwischen betrachteten SNP-Haplotypen und HLA-Haplotypen. Hier wird es deutlicher, dass bestimmte, zu Blöcken zusammengefasste SNP-Haplotypen mit bestimmten HLA-C-Allelen im Kopplungsungleichgewicht stehen. So treten im Gen TCF19 nur die als Block 2 zusammengefassten SNP-Haplotypen mit den drei vorhandenen HLA-Cw\*4 Allelen auf, jeweils in Kombination mit verschiedenen HLA-B-Allelen. Ein weiteres Beispiel, ebenfalls für TCF19, zeigt, dass das mit der Autoimmunerkrankung Psoriasis assoziierte Allel HLA-Cw\*6 nur mit den im Block 3 zusammengefassten SNP-Haplotypen 9 und 10 auftritt. Diese umfassen 32% der auswertbaren unabhängigen Chromosomen.

Die hier untersuchten Gene und Pseudogene bzw. die identifizierten SNP-Haplotypen, telomer und zentromer von HLA-C gelegen, zeigen alle Kopplungsungleichgewicht mit HLA-C.

---

## **Assoziationen zwischen Psoriasis vulgaris und polymorphen Positionen im Bereich des MHC**

Für die Überprüfung auf Assoziationen zwischen der Erkrankung Psoriasis vulgaris und Markern im MHC auf Chromosom 6, wurden diese innerhalb und außerhalb des als PSORS1 bezeichneten Psoriasis Verdachtsbereiches platziert. Der überprüfte Bereich umfasst ca. 1,923 kb, beginnend in der Klasse I des MHC und endend in der Klasse III des MHC. Für die Assoziationsanalysen standen, neben aus Deutschland stammenden erkrankten und gesunden Personen, auch Kohorten aus den USA zur Verfügung. Insgesamt wurden 95 Marker genotypisiert, von denen 53 mit der amerikanischen Kohorte erneut genotypisiert wurden. Anhand vorhergehender Feinkartierung polymorpher Positionen innerhalb der Gene TCF19, POU5F1, NOB4, HCGII-2 und HCGIV-2 wurden aus diesem Bereich 20 Positionen aufgrund ihres Vorkommens mit bestimmten HLA-Mustern ausgewählt. Ein Teil dieser Sonden konnte nicht aussagefähig genotypisiert werden. Die Gründe hierfür lagen in den dicht aufeinander folgenden Polymorphismen innerhalb der Pseudogene. Somit bleiben für den Bereich TCF19 4 Sonden, POU5F1 5 Sonden, NOB4 1 Sonde und für HCGII-2 3 Sonden, welche nach Genotypisierung ausgewertet werden konnten (Anhang I.I.5). Aufgrund der durchgeführten Sequenzanalyse des Pseudogens KIAA0055.hom wurden 6 Positionen für die anschließenden Assoziationsanalysen ausgewählt, für das Gen P5-1 wurden für drei polymorphe Positionen Sonden hergestellt. Neben den Genen MICA, MICB und HCR stellt der Bereich, für den im Vorfeld eine SNP-Karte erstellt wurde, die am dichtesten mit Markern besetzte und untersuchte Region dar (Anhang I.I.6.)

Nach Durchführung von Assoziationsanalysen, in denen an Psoriasis vulgaris erkrankte Personen gesunden Personen gegenübergestellt wurden, sowie familienbezogener Assoziationsanalysen, zeigt sich eine Eingrenzung des mit Psoriasis vulgaris assoziierten Bereiches auf die als PSORS1 bezeichnete Region. Ebenso wurden vereinzelte Marker zentromer von HLA-C identifiziert, welche eine starke Assoziation mit der Erkrankung aufweisen. Drei der in diesem Bereich in den Genen P5-1, MICB und in der Promoter-Region des Gens TNF-Alpha platzierten Marker zeigen die höchsten Werte für die, über die Odds Ratio ermittelte Stärke der Assoziation zwischen Marker und dem Phänotyp Psoriasis vulgaris.

Der Bereich PSORS1 wird nach Auswertung der Genotypisierungsdaten dieser Arbeit über den vor C6orf15 gelegenen Marker hCV11197333 und dem ca. 146 kb entfernt von diesem liegenden Marker 06HCGII201 im Pseudogen HCGII-2 eingegrenzt. In diesem Pseudogen, welches unmittelbar telomer von HLA-C liegt, wurden die letzten Marker für PSORS1 platziert. Marker telomer von hCV11197333 zeigen keine Assoziationen mit der Erkrankung. Bei Markern zentromer von HCGII-2 und somit zentromer von HLA-C besteht nur vereinzelt eine Assoziation mit Psoriasis vulgaris.

In der als PSORS1 bezeichneten Region zeigen, bis auf C6orf15 und TCF19, fast alle dort lokalisierten Gene über ihre Marker in mindestens einer Kohorte eine Psoriasis-Assoziation. Zu den innerhalb von exprimierten Gene lokalisierten Markern, die in den Kohorten eine schwache bis moderate Assoziation mit der Erkrankung aufweisen, gehören Marker im Bereich der Gene CDSN, C6orf17, POU5F1. Weiter zeigt ein im Pseudogen HCGII-2 angesiedelter Marker eine Assoziation mit Psoriasis vulgaris. Marker innerhalb der Gene C6orf16 (SEEK) und HCR weisen in PSORS1 die stärksten Assoziationen auf. Der über die Analysen ermittelte, mit Psoriasis in Verbindung stehende Bereich telomer von HLA-C entspricht in seiner Ausprägung in etwa der auf 111 kb eingegrenzten Psoriasis Verdachtsregion PSORS1 (Oka et al., 1999). Die Psoriasis Verdachtsregion auf Chromosom 6 wurde zuerst über Balendran et al. (1999) auf eine 285 kb große Region im Bereich Klasse I und III eingegrenzt und von Oka et al. (1999) auf eine 111 kb Verdachtsregion um HLA-C verkleinert (Balendran et al., 1999; Oka et al., 1999). Diese wurde von Nair et al. weiter auf eine ca. 60 kb Region eingeengt, welche zwei mit Psoriasis assoziierte Risiko-Haplotypen 1 und 2 (RH1 und RH2) umfasst. Beide werden über zwei Marker durch eine 2 kb-Region voneinander getrennt. Trotz der Definition von zwei Risiko-Haplotypen gehen Nair et al. davon aus, dass sich das Psoriasis Verdachtsgen auf dem Risk-Haplotypen 1 befindet, welcher 59,4 kb umfasst und sich direkt telomer von HLA-C befindet (Nair et al., 2000).

Aber auch außerhalb der Psoriasis-Verdachtsregion, bei zentromer von HLA-C gelegenen Markern, gibt es zwischen einzelnen Markern und der Erkrankung signifikante Assoziationen. Ihre Assoziation mit der Erkrankung ist sowohl in den mit den deutschen, als auch mit den US-amerikanischen Kohorten durchgeführten Assoziationsanalysen sichtbar. Hierbei handelt es sich um Marker die in Richtung Telomer ► Zentromer von HLA-C in dem Pseudogen KIAA0055.hom, sowie in den Genen MICA, P5-1 und MICB platziert wurden. Diese Marker liegen im Bereich der MHC Klasse I, wobei sich MICB an der Grenze zur MHC Klasse III befindet. Weiter zeigt ein in der Promoter-Region von TNF-Alpha gelegener Marker in

---

beiden Kohorten eine signifikante Assoziation mit der Erkrankung. Bei TNF-Alpha handelt es sich um ein in der Klasse III des MHC lokalisiertes Gen. Auffällig ist, dass es sich hierbei immer um einzelne Marker handelt, welche signifikant mit Psoriasis assoziiert zu sein scheinen. Im Gegensatz dazu zeigen in der PSORS1-Region jeweils mehrere innerhalb eines Gens platzierten Marker signifikante Werte, die aber zum Teil nicht konstant über beide, den Analysen zur Verfügung stehenden Kohorten aus Deutschland und den USA, verfolgbar sind. Das mag zum einen daran liegen, dass dieser Bereich im Hinblick auf Psoriasis bisher besser untersucht wurde und dieses Wissen zum Teil mit in die Markerauswahl einging. Grund für das bestehende Interesse an gerade diesem Bereich liegt an den dort lokalisierten und exprimierten Genen. Vor allem die dort lokalisierten Gene HCR und CDSN werden aufgrund ihrer Funktionen als Kandidaten-Gene für Psoriasis gehandelt.

Die Situation von im Bereich PSORS1 angesiedelter Marker stellt sich für die einzelnen Verdachtsgene wie folgt dar:

Corneodesmosin (CDSN) wird speziell in Keratinozyten in der Phase der terminalen Differenzierung exprimiert (Zhou et al., 1993). Eine Verbindung zwischen dem Gen CDSN und der Erkrankung Psoriasis vulgaris konnte bisher nur in Populationen kaukasischen Ursprungs nachgewiesen werden (Tazi-Ahnini et al., 1999, Allen et al., 1999). Eine japanische Untersuchung von 9 Markern, bei denen drei SNPs auf den Positionen 619, 1240 und 1243 zu einer Aminosäuresubstitution führen, ergab keine signifikante Assoziation mit japanischen Psoriasis vulgaris Patienten (Ishihara et al., 1996). Auch Gonzalez et al. (2000) konnte keine Assoziation im Zusammenhang mit seiner Untersuchung von 95 spanischen Patienten feststellen, ebenso wenig eine von Asumalahti et al. (2000) durchgeführte Assoziationsanalyse mit Patienten finnischer Herkunft (Gonzalez et al., 2000; Asumalahti et al., 2000). Jenisch et al. (1999) bestätigten die Assoziation von CDSN mit Psoriasis in einer Population kaukasischen Ursprungs. Weiter wurden von der Gruppe sieben verschiedene Allele des CDSN-Gens identifiziert, die für sechs verschiedene Proteinformen des Gens codieren. Ein als CD2 bezeichnetes Allel, welches durch die beiden SNPs 619 und 1243 definiert wird, befindet sich in starkem Kopplungsungleichgewicht mit HLA-Cw\*6 (Jenisch et al., 1999).

Von den in dieser Analyse ausgewählten Markern für die SNP-Positionen 619, 1593, 1215 und 1243, konnten nach durchgeführter Genotypisierung nur die Marker 1215 und 1243 ausgewertet werden. Für die Marker der Positionen 619 und 1593 sind trotz Konstruktion

neuer Primer und Sonden keine Erhebung von Genotypisierungsdaten möglich. Von den Markern CDSN001215 und CDSN001243 zeigt nur CDSN001243 durchgängig über alle Analysen hinweg signifikante Ergebnisse. Diese sind aber sowohl in den Einzel-Marker-Analysen, als auch in der Überprüfung von Marker-Haplotypen als eher schwach einzustufen. Bei dem Marker handelt es sich um einen SNP, der sich im zweiten Exon des Gens auf Position 1243 befindet und zu einer Aminosäuresubstitution von Serin zu Leucin führt (Ishihara et al., 1996). Vermutet wird, dass die SNPs der Positionen 619, 1240 und 1243 zu einer Störung in der Proteinverarbeitung führen. Bezüglich der Assoziation des SNP auf Position 1243 mit Psoriasis vulgaris gibt es gegensätzliche Aussagen darüber, welches Allel mit der Erkrankung assoziiert ist. Tazi-Ahnini et al. gehen von einer signifikanten Zunahme des für Leucin kodierenden Alleles aus, Allen et al. dagegen von einer Zunahme des für Serin kodierenden Allels (Tazi-Ahnini et al., 1999; Allen et al., 1999). Nach der hier durchgeführten Untersuchung ergibt sich keine direkte Beteiligung der SNP-Position 1243 an der Erkrankung. Sowohl in den Assoziationsanalysen für Einzel-Marker und Marker-Haplotypen, als auch in der Odds Ratio zeigen sich nur schwache Assoziationen. Auch für den Marker CDSN001215 besteht keine, sich durchgängig bestätigende Assoziation mit Psoriasis vulgaris. Während sich in der Berechnung für die Stärke der Assoziation des Markers mit dem Phänotyp für die deutsche Kohorte eine OR von 1,43 zeigt und somit scheinbar keine Assoziation besteht, springt sie in der US-amerikanischen Kohorte auf 5,72. Das wiederum würde bedeuten, dass das Allel 1 des Markers absolut mit der Erkrankung assoziiert ist. Dies widerspricht aber den Ergebnissen der in beiden Kohorten durchgeführten Analysen. Da beide Kohorten kaukasischen Ursprungs sind, sollten die Ergebnisse nicht in dieser Form voneinander abweichen, was aber auf die unterschiedlichen Größen zurück zu führen sein kann. Viel wahrscheinlicher ist, dass der SNP auf Position 1215 Teil eines mit Psoriasis assoziierten Haplotyps ist, wie von Jenisch et al. bereits gezeigt wurde (Jenisch et al., 1999). Dies bestätigt sich in der durchgeführten Überprüfung der Transmission von Marker-Haplotypen, die aus zwei bis vier Markern bestehen. Als Teil eines Haplotyps wird er signifikant häufiger von Eltern auf erkrankte Nachkommen übertragen.

In der Analyse des zwischen den in dieser Untersuchung eingesetzten Markern bestehenden Kopplungsungleichgewichts wird deutlich, dass der die SNP-Position 1215 beschreibende Marker zu den sogenannten Long-Range-Markern gehört. Dabei handelt es sich um Marker, die über eine große Distanz in Kopplungsungleichgewicht mit weiteren Markern stehen. Er scheint Teil eines, im starken Kopplungsungleichgewicht stehenden Blocks aus Markern zu sein, der vom Gen CDSN bis über HLA-C hinaus in das Pseudogen KIAA0055.hom reicht.



---

Ob es sich bei dem Gen CDSN um ein aktiv an der Erkrankung beteiligtes Gen handelt oder seine Krankheitsassoziation auf Kopplungsungleichgewicht mit HLA-C beruht, ist anhand der hier vorliegenden Daten und der fehlenden weiteren Marker innerhalb des Gens nicht klar zu beurteilen. Untersuchungen von Gonzalez et al. (2000) und Asumalahti et al. (2000) zeigen, dass zumindest keine HLA-Cw\*6 unabhängige Beteiligung des Gens besteht. Auch in dieser Analyse geht die Tendenz eher in Richtung auf eine auf Kopplungsungleichgewicht beruhende Krankheitsassoziation, was gestützt wird durch die niedrigen OR und einer über der Erwartung liegenden Transmission der Marker als Teil eines Zwei- bis Vier-Marker-Haplotypen.

Ebenfalls im Psoriasis Verdachtsbereich liegend und mit Markern abgedeckt wurden zwei in unserer Analyse als C6orf16 und C6orf17 bezeichnete Gene. Hierbei handelt es sich bei C6orf16 um SEEK1, welches mit drei Markern in die Analyse einging. Unter der Bezeichnung C6orf17 läuft das Gen SPR, ebenfalls mit drei Markern vertreten. Eine Charakterisierung der beiden Gene erfolgte durch Holm et al. (2003). Beide Gene überlappen sich. Das Gen SEEK1 bzw. PSORS1C1 besteht aus insgesamt 6 Exonen. Seine Orientierung ist in Richtung telomer – zentromer. Es kodiert für vermutlich zwei Protein-Isoformen. Das interessante an SEEK1 ist, dass innerhalb seiner Intron-Regionen die Gene SPR1 (in Intron 3 und 5) und CDSN (in Intron 1) mit entgegengesetzter Orientierung lokalisiert sind. SPR1 bzw. PSORS1C2 beinhaltet 2 Exone und kodiert ein aus 134 Aminosäuren bestehendes Protein. Weiter ergab die Untersuchung von Holm et al., dass fünf in dem Gen SEEK1 lokalisierte SNPs mit Psoriasis assoziiert sind, von denen zwei SNPs eine von HLA-Cw\*6 unabhängige Assoziation zeigten. Im Gen SPR1 (PSORS1C2) zeigte ein SNP in der durchgeführten Analyse mit erkrankten und gesunden Personen eine signifikante Assoziation, welche aber nicht unabhängig von HLA-Cw\*6 war (Holm et al., 2003). Die Bezeichnungen SEEK1 und SPR1 stammen von Oka et al. (1999), während die Bezeichnung PSORS1C1 und PSORS1C2 auf Holm et al. (2003) zurückgehen.

Die von Holm et al. (2003) mit Psoriasis assoziierten SNPs sind innerhalb unserer Untersuchung nicht abgedeckt. Bezüglich der im Gen PSORS1C2 (SPR1) lokalisierten Marker zeigen diese kaum bis schwache Signifikanzen. Diese konnten aber nicht repliziert werden. So zeigt sich der Marker hCV2438322 in den, mit den aus den USA stammenden Kohorten, durchgeführten Analysen schwach mit der Erkrankung assoziiert. Diese Assoziation ist aber innerhalb der deutschen Kohorten nicht replizierbar.

---

Marker innerhalb von PSORS1C1 (SEEK1) zeigen hohe Signifikanzen. Dabei handelt es sich um die Marker hCV2438369 (Allel 1) und hCV2438347 (Allel 2). Die Assoziationen mit Psoriasis zeigen sich in der deutschen Kohorte sowohl in der Case / Control-Analyse, als auch in der familienbasierten Assoziationsanalyse. Beide erreichen bezüglich der Stärke ihres mit der Erkrankung assoziierten Allels Werte von 2,13 bzw. 2,10. Die hohen ORs konnten innerhalb der US-amerikanischen-Kohorten repliziert werden. Die Marker hCV2438369 und hCV2438347 sind in der NCBI-SNP-Datenbank mit den Referenznummern rs9501055 und rs4084091 angegeben und innerhalb eines Introns lokalisiert. Beide werden, auf Zwei- bis Vier-Marker-Haplotypen liegend, hochsignifikant von Eltern auf den erkrankten Nachwuchs übertragen. Eine Kopplung der beiden Marker bestätigt sich durch eine Untersuchung der Marker bezüglich dem Vorliegen von Kopplungsungleichgewicht. Es zeigt sich, dass beide miteinander in komplettem Kopplungsungleichgewicht liegen. Der ermittelte D'-Wert ist 1,00, womit er dem in dieser Analyse zugrunde liegenden Wert der absoluten Kopplung von 1 entspricht.

Neben CDSN ist das HCR-Gen (alpha-Helix Coiled-coil Rod homolog) ein starker Kandidat als Psoriasis Verdachtsgen. Der Grund hierfür liegt darin, dass das von HCR kodierte Protein unter anderem in Keratinozyten exprimiert wird, die im psoriatischen Krankheitsbild eine starke Hyperproliferation zeigen. Asumalahti et al. untersuchten die Rolle des im Bereich PSORS1 gelegenen Gens. Es zeigte sich, dass HCR in psoriatischen Läsionen überexprimiert wird. Weiter wurde ein mit Psoriasis assoziiertes Allel mit der Bezeichnung HCR\*WWCC identifiziert, welches über vier SNPs auf den Positionen 307, 325, 1723 und 2327 charakterisiert wird. Von drei der darin enthaltenen SNPs (Position 307, 325 und 1723) wird vermutet, dass sie zu einer Änderung in der Sekundärstruktur des Proteins führen (Asumalahti et al., 2000; Asumalahti et al., 2002). Demgegenüber stehen Untersuchungen der Gruppe um O'Brien et al., die eine Rolle von HCR als Psoriasis Verdachtsgen aufgrund eines bestehenden Kopplungsungleichgewichts zwischen den HCR-Polymorphismen und HLA-Cw\*6 als unwahrscheinlich betrachtet (O'Brien et al., 2001). In unserer Untersuchung war HCR mit insgesamt 9 Markern vertreten. Das Allel HCR\*WWCC, welches aufgrund der nicht-synonymen Aminosäureaustausche auf den Positionen 309 (ehemals 251), 325 (ehemals 269), 1723 (ehemals 1667) und 2327 (ehemals 2271) benannt wurde, war mit den Positionen 325, 1723 und 2327 vertreten. Für die Position 309 konnte aufgrund einer direkt vor diesem SNP liegenden weiteren Basensubstitution keine Sonde konstruiert werden. Von den für das Allel HCR\*WWCC genotypisierten Markern zeigt sich vor allem für die Positionen 325

(Marker: HCG0000269) und 1723 (Marker: HCG0002271) neben hohen Signifikanzen in beiden Kohorten auch eine hohe bis moderate OR. Für die Position 325 beträgt sie 3,36 bzw. 3,15 und verweist somit auf eine starke Assoziation zwischen Marker und Phänotyp. Für die Position 1723 konnte eine moderate OR von 2,07 bzw. 2,77 für die deutsche bzw. US-amerikanische Kohorte ermittelt werden. Der Marker für die Position 2327 ist im Vergleich zu den Positionen 325 und 1723 sowohl in den Assoziationsanalysen, als auch in der ermittelten OR als schwächer assoziiert einzustufen. Sämtliche im Gen HCR lokalisierte Marker befinden sich miteinander in starkem Kopplungsungleichgewicht. Alle drei Positionen, sowie der Marker hCV 2452235, der für die ebenfalls im Allel HCR\*WWCC befindliche Position 771 (ehemals 715) steht, werden auffällig oft von Eltern auf erkrankte Nachkommen vererbt. Bei Überprüfung der Transmission von Marker-Haplotypen anhand ausgewählter Einzelmarker, wurde ein im Gen HCR gelegener Drei-Marker-Haplotyp (Positionen 1723, 771, 325) auffällig häufig von Eltern auf erkrankte Kinder übertragen. Das identifizierte Markerallel T-C-T stellt einen Teil des von Asumalahti et al. identifizierten HCR-Haplotyps dar, welcher von der Gruppe auf allen HLA-Cw\*6 positiven Chromosomen vorgefunden wurde (Asumalahti et al., 2000).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die hier untersuchten Marker als Teile des Allels HCR\*WWCC stark mit der Erkrankung assoziiert sind. Dies gilt vor allem für die Marker der Position 325 und 1723, von denen zusammen mit der hier nicht untersuchten Position 307 eine Änderung in der Sekundärstruktur des Proteins vermutet wird.

Ebenfalls im Bereich PSORS1 angesiedelt ist das Gen TCF19, welches im Hinblick auf seine Assoziation mit Psoriasis vulgaris bereits von verschiedenen Gruppen untersucht wurde. TCF19 ist ein regulatorischer Faktor des Zellwachstums und wird in der G<sub>1</sub>-S-Phase des Zellzyklus exprimiert. Es stellt möglicherweise einen Transaktivierungsfaktor dar, wodurch es eine wichtige Rolle in der Transkription solcher Gene übernehmen könnte, die für die späteren Phasen der Zellzyklusprogression erforderlich sind (Ku et al., 1991). TCF19 wurde unter anderem von der Gruppe um Teraoka et al. auf seine Assoziation mit Psoriasis vulgaris überprüft. Bei den von dieser Gruppe untersuchten drei, im Exon 2 befindlichen SNPs, sowie eine im Intron 2 befindliche Deletion, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den erkrankten Personen und den gesunden Kontrollen, allesamt japanischer Herkunft (Teraoka et al., 2000).

---

Insgesamt bleiben in dieser Untersuchung alle im Bereich TCF19 platzierten Marker in den Analysen unauffällig. Zeigten Marker innerhalb einer Kohorte eine signifikante Assoziation, konnte dies innerhalb der anderen Kohorte nicht repliziert werden.

In direkter Nachbarschaft von TCF19 befindet sich POU5F1. POU5F1 zählt zur POU-Familie der Transkriptionsfaktoren und ist ein Regulator in undifferenzierten pluripotenten Zellen und Zellen der Keimbahn (Schöler et al, 1990; Rosner et al., 1990) Es ist essentiell für die initiale Formation von pluripotenten Stammzellen in Säugerembryonen und spielt in diesen eine Rolle als Hauptregulator der Pluripotenz (Nichols et al., 1998; Niwa et al., 2000). Eine Untersuchung von Gonzalez et al. zeigte eine Assoziation zwischen einem POU5F1- B -Allel und Psoriasis, wobei dieses im Kopplungsungleichgewicht mit HLA-Cw\*6 steht. Trotzdem scheint das entsprechende Allel von POU5F1 stärker zur Krankheitssuszeptibilität beizutragen als HLA-Cw\*6. Aus diesem Grund und dadurch, dass dieses Allel signifikant häufiger auch in HLA-Cw\*6 negativen erkrankten Personen zu finden war als in Kontrollen, grenzen sie die Psoriasis Verdachtsregion auf einen Bereich ein, der sich telomer von HLA-C und zentromer von CDSN befindet (Gonzalez et al., 2000). Chang et al. konnte bei einer durchgeführten Assoziationsanalyse mit 105 an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen und 160 gesunden Kontrollpersonen, alle chinesischer Herkunft, das obige Ergebnis nicht bestätigen (Chang et al., 2003).

Innerhalb unserer Analyse wurden insgesamt 8 Marker in und um POU5F1 platziert, welche neben SNPs auch eine Sequenzvariation in Form einer Deletion (GA) innerhalb des zweiten Introns umfasst. Besonders ein Marker (hCV8941350), der zentromer von POU5F1 lokalisiert ist, zeigt signifikante Assoziationen sowohl in der deutschen, als auch in der amerikanischen Kohorte. Die für diesen Marker ermittelte OR liegt in beiden Kohorten bei 2,07 bzw. 2,49 und zeigt damit eine moderate Stärke in der Assoziation zwischen Marker und Phänotyp. Eine etwas schwächere Assoziation zeigt der Marker hCV2452203, ebenfalls zentromer von POU5F1 platziert, sowie innerhalb von POU5F1 die Marker 06PO5\_1577 und 06PO5\_1901. Bei der Berechnung der Stärke der Assoziation zwischen Phänotyp und Marker zeigen sich den schwach signifikanten Analyseergebnisse entsprechenden Werte im Bereich 1,4 bis 1,8. Anhand der in den Analysen fehlenden, durchgehend starken Assoziation, ist davon auszugehen, dass POU5F1 keinen wirklichen Anteil an der Erkrankung hat. Der zentromer von POU5F1 lokalisierte Marker hCV8941350 zeigt bei einer Überprüfung der Transmission ausgewählter Einzelmarker nur in Verbindung mit den im Pseudogen HCGII-2 lokalisierten

Markern hochsignifikante Werte, mit denen er nach Überprüfung des Kopplungsungleichgewichts in starkem Kopplungsungleichgewicht steht.

Von den innerhalb der Pseudogene HCGII-2 und NOB4 lokalisierten Markern zeigt vor allem der Marker 06HCGII201 über sämtliche Analysen hinweg konstant hohe signifikante Werte. Dieser Marker ist im Pseudogen HCGII-2 auf Position 227 lokalisiert und betrifft eine G / A Substitution. Der Marker zeigt durchgehend signifikante Werte in den durchgeführten Analysen, sowie eine OR von 2,16 für die deutsche Kohorte und 2,82 für die US-amerikanische Kohorte. Somit besteht eine moderate Assoziation zwischen Marker und Erkrankung. Das entsprechende Allel wird durch die Base Adenin bestimmt, welche innerhalb der familienbasierten Analysen signifikant häufiger als erwartet auf das erkrankte Kind übertragen wird. Der Marker zeigt starkes Kopplungsungleichgewicht mit den zentromer von ihm lokalisierten Markern 06KIAA\_823 und 06KIA\_01. In bezug auf die ORs sämtlicher telomer von HLA-C im Bereich PSORS1 lokalisierter Marker, zeigt HCGII201, neben den bereits erwähnten Markern im Gen HCR (Position 325 und 1723) und SEEK1 (hCV2438369, hCV243834), die stärkste Assoziation zwischen Marker und Phänotyp durchgehend in beiden Kohorten. Da es sich bei HCGII-2 um ein Pseudogen handelt, ist es sehr wahrscheinlich, dass das entsprechend assoziierte Allel entweder Teil eines assoziierten Haplotyps ist bzw. sich im Kopplungsungleichgewicht mit dem Verdachtsgen befindet.

Im Gegensatz zum Bereich telomer von HLA-C zeigt sich der Bereich zentromer von HLA-C innerhalb dieser Untersuchung weniger, dafür aber stärker mit der Erkrankung assoziiert. Nur 5 der insgesamt 49 in diesem Bereich platzierten Marker zeigen konstant signifikante Unterschiede zwischen an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen und gesunden Kontrollpersonen. Dies gilt sowohl für die deutschen, als auch für die aus den USA stammenden Kohorten. Insgesamt befinden sich vier dieser Marker im Bereich der Klasse I des MHC, ein Marker ist im Bereich der Klasse III des MHC angesiedelt. Die stärkste Assoziation mit Psoriasis vulgaris zeigen dabei Marker der Gene P5-1, MICB (MHC-Klasse I) und ein Marker in der Promoter-Region von TNF-Alpha (MHC-Klasse III).

Für das zentromer von HLA-C gelegene Pseudogen KIAA0055.hom wurde bereits eine mit Psoriasis vulgaris bestehende Assoziation festgestellt (Veal et al., 2002). Dabei handelt es sich unter anderem um eine (A / G)-Substitution auf Position 2178 des Pseudogens KIAA0055.hom, in unserer Untersuchung als Marker 06KIA\_01 bezeichnet. Dieser Marker

zeigt sich durchgehend in beiden Kohorten stark signifikant und erreicht, bezüglich der OR, Werte von 2,69 (deutsche Kohorte) bzw. 4,09 (US-amerikanische Kohorte). Damit zeigt er eine starke Assoziation zwischen Marker-Allel und der Erkrankung. Gleichzeitig wurde mit Aktualisierung des Build 116 in Build 117 ein nicht mehr spezifisches Alignment der Sondensequenz sichtbar. So kommt auch eine Region auf Chromosom 15 in Betracht. Hierbei handelt es sich um Exon 15 des Gens USP8 (Synonym: KIAA0055). Beide Sequenzen zeigen an der entsprechenden SNP-Position die Base Adenin. Aufgrund der vorhergehenden Sequenzanalyse wurde diese Base wegen ihres prominenten Auftretens als Wildtyp-Allel betrachtet. Es ist relativ unwahrscheinlich, dass genau für diese Position im USP8 Gen ebenfalls eine (A / G)-Substitution besteht. Trotzdem würde die mit Fluoreszenz-Farbstoff markierte Sonde für die Base Adenin sowohl in KIAA0055.hom, als auch in USP8 ansetzen. Im Hinblick auf die Genotypisierung zeigt sich das Vorliegen des Markers in populationsgenetischem Gleichgewicht. Das Verhältnis der Allel-Frequenzen des Adenin-Allels zum Guanin-Allel zeigt keine Auffälligkeiten (Kontrollen: 0.8354 (A-Allel) - 0.1646 (G-Allel); Psoriatiker: 0.6532 (A-Allel) - 0.3468 (G-Allel)). Aus diesen Gründen wurde der Marker vorerst in der Analyse belassen, aber unter Vorbehalt betrachtet. Ein weiterer Grund liegt in seinem gemeinsamen Vorkommen mit dem, in seiner Assoziation mit Psoriasis vulgaris stärker signifikanten Marker 06KIAA\_823. Dieser Marker beschreibt eine (C / T) - Substitution auf Position 737 innerhalb des Pseudogens. Anhand der Daten der vorhergehenden Sequenzanalyse zeigt sich beim Vergleich der HLA-Muster von den der Sequenzanalyse zugrunde liegenden Personen, dass jeweils mit den Psoriasis-assoziierten HLA-Mustern HLA-B\*37/HLA-Cw\*6 und HLA-B\*57/HLA-Cw\*6 auf Position 737 (06KIAA\_823) die Base Thymin und auf Position 2178 (06KIA\_01) die Base Guanin in Erscheinung tritt. Dies sind beides jeweils die Allele, die in dieser Untersuchung eine signifikante Assoziation mit der Erkrankung aufweisen. Auch treten die Allele beider Marker in sich entsprechenden Verhältnissen zueinander auf (06KIAA\_823: Kontrollen: 0.8338 (C-Allel) - 0.1662 (T-Allel); Psoriatiker: 0.6590 (C-Allel) - 0.3410 (T-Allel)). Beide Marker stehen im kompletten Kopplungsungleichgewicht miteinander ( $D' = 1,00$ ). Der von Veal et al. ebenfalls mit Psoriasis assoziierte SNP n.7 wurde in der vorangegangenen Sequenzanalyse nicht sichtbar und konnte aus diesem Grund in der Analyse nicht berücksichtigt werden. Weitere im Bereich des Pseudogens KIAA0055.hom lokalisierte Marker blieben in der Analyse unauffällig. Aufgrund der signifikanten Assoziationen in den Einzelmarker-Analysen und in den Überprüfungen der Transmission ausgewählter Marker ist es wahrscheinlich, dass die mit Psoriasis vulgaris assoziierten Allele Teil eines assoziierten Haplotyps sind.

---

Die Marker 06P5-1\_913 und 06MICB\_11 der Gene P5-1 und MICB beschreiben SNPs, die sich in codierenden Regionen befinden. Sie zeigen, bezogen auf sämtliche innerhalb der Klasse I des MHC untersuchten Marker, die stärksten Assoziationen mit Psoriasis vulgaris.

Bei P5-1 handelt es sich um ein Mitglied einer, im Laufe der Evolution des MHC durch wiederholte Duplikation entstandenen Multi-Gen-Familie. Mitglieder dieser Familie sind in ihren Sequenzen verwandt mit dem **H**umanen **E**ndogenen **R**etrovirus (HERV-L / HERV-16) (Kulski et al., 1999). Seine Transkription ist auf lymphoide Gewebe begrenzt. Es wurde ein 2,5 kb großes mRNA-Transkript in B-Zell-Linien, NK-Zell-Linien und aktivierten T-Zellen entdeckt (Vernet et al., 1993). Eine CDS von 432 bp codiert für ein aus 143 Aminosäuren bestehendes Protein (NCBI: NP\_006665), über dessen Funktion bzw. vermutete Funktion keine näheren Informationen vorliegen. Innerhalb von P5-1 beschreibt der Marker 06P5-1\_913 in der genomischen Sequenz die Position 813. Es handelt sich bei der untersuchten Substitution um einen codierenden SNP (cSNP) mit einer Basensubstitution von Thymin zu Guanin. Das mit Psoriasis vulgaris assoziierte Guanin-Allel zeigt für die Stärke der Assoziation zwischen Allel und der Erkrankung einen über die OR ermittelten Wert von 5,66 (deutsche Kohorte) bzw. 5,06 (US-amerikanische Kohorte). Es zeigt damit in dieser Untersuchung die stärkste Assoziation. Nur Marker im Bereich MICB und TNF-Alpha zeigen einen ähnlich starken Zusammenhang mit Psoriasis vulgaris. Der Rest der in PSORS1 und zentromer von HLA-C untersuchten Marker liegen in ihren OR wesentlich niedriger. Der Marker zeigt über sämtliche Analysen einen hochsignifikanten Unterschied zwischen erkrankten Personen und gesunden Kontrollpersonen. Ein Vergleich der für das Protein codierenden Sequenz L06175 (NCBI) mit der Proteinsequenz zeigt, dass der SNP innerhalb der 432 bp auf Position 421 für die Aminosäure Tryptophan (**TGG**) codiert. Ein Austausch von Thymin durch Guanin (**GGG**) würde zum Austausch der Aminosäure Tryptophan mit Glycin führen. Ob bzw. welche Wirkungen dies haben kann ist aufgrund dessen, dass die Funktion des Proteins unbekannt ist, nicht abzuschätzen. Auffällig ist auch hier, wie bei TNF-Alpha und MICB, die niedrige Frequenz des assoziierten Allels. Im Vergleich der Allelfrequenzen von Kontrollen und Psoriatikern erscheint das assoziierte Allel kaum in den Kontrollen (Kontrollen: 0.9738 (T-Allel) - 0.0262 (G-Allel) / Psoriatiker: 0.8676 (T-Allel) - 0.1324 (G-Allel)).

Zusammen mit den Markern P5-1\_913 und 06TNF\_238 zeigt der Marker 06MICB\_011 innerhalb der gesamten untersuchten Region die stärkste Assoziation. Lokalisiert ist er in

---

einem als MICB bezeichneten Gen. Dieses befindet sich innerhalb der Klasse I des MHC 229 kb zentromer von HLA-C und ist Mitglied einer Familie aus 5 Genen / Pseudogenen. Die hier untersuchten Gene MICA und MICB ( MH C class I chain-related) sind nah beieinander lokalisiert und beide sehr polymorph. Sie codieren ein schweres glykosylierendes Protein, welches Ligand für den Rezeptor NKG2D Type II ist (Braham et al., 1994; Braham und Spies, 1996; Groh et al., 1996). Wird der Ligand gebunden, führt dies zur Aktivierung der Antwort natürlicher Killerzellen (NKs), CD8  $\alpha$ -T-Zellen und  $\gamma\delta$ -T-Zellen (Bauer et al., 1999; Groh et al., 1998). Das von den MIC-Genen codierte Protein wird durch Zellstress induziert (Groth et al., 1996).

Der Marker 06MICB\_011 steht für eine (C / T) – Substitution im vierten Exon von MICB, die zu einem Aminosäureaustausch von Threonin zu Isoleucin in der Alpha 3 Domäne des Proteins führt. Seine OR liegt für die untersuchte deutsche Kohorte bei 4,86, für die US-amerikanische Kohorte bei 3,9 und zeigt somit, ebenso wie die Marker 06P5-1\_913 und 06TNF\_238, eine starke Assoziation mit der Erkrankung. Auch zeigte er sich in sämtlichen Analysen durchgehend signifikant. Auffällig ist auch hier, wie bei 06P5-1\_913 und 06TNF\_238, die niedrige Allel-Frequenz. Vergleicht man das Vorkommen des mit Psoriasis vulgaris assoziierten Allels (Base: Thymin), so tritt es kaum in gesunden Kontrollpersonen auf (Kontrollperson: 0.0315 / Psoriatischer: 0.1365). Der Vergleich dieser Frequenzen lässt darauf schließen, dass sich die drei Allele auf einem Haplotypen befinden müssen.

Im Zusammenhang mit der Erkrankung Psoriasis vulgaris wurde bisher hauptsächlich MICA untersucht. So zeigte eine von Choi et al. mit einer koreanischen Population durchgeführte Untersuchung von MICA, ein als MICA5.1 bezeichnetes Mikrosatelliten-Allel (GCT/AGC), das Teil der mit Psoriasis assoziierten Haplotypen HLA-A\*30 – B\*13 – Cw\*0602 und A\*1 – B\*37 – Cw\*0602 ist (Choi et al., 2000). Gonzalez et al. konnten einen als A9 bezeichneten Tri-Nukleotid-Repeat-Polymorphismus in der Transmembran-Region von MICA unabhängig von HLA-Cw\*6 mit der Erkrankung der Psoriatischen Arthritis in Verbindung bringen, nicht aber mit Psoriasis allein (Gonzalez et al., 1999, 2000). Tay et al. untersuchten verschiedene MICA-Allele (PERB11.1) im Hinblick auf ihre Assoziation mit Psoriasis vulgaris. Dabei zeigte sich eine starke Assoziation zwischen einem als PERB11.1\*06 bezeichneten Allel und der Erkrankung, die besonders auf eine sich im Intron 4 befindende Deletion zurückzuführen ist. Auch hier zeigte sich, dass das PERB11.1\*06-Allel in 44% der Erkrankten aber nur in 7% der gesunden Kontrollpersonen vertreten war (Tay et. al., 2000).



---

Der innerhalb der Klasse III des MHC in der Promoter-Region von TNF-Alpha platzierte Marker 06TNF\_238 zeigt, zusammen mit Markern in MICB und P5-1, in sämtlichen Analysen den stärksten signifikanten Unterschied zwischen erkrankten und gesunden Personen. Es konnte eine, mit einer OR von 4,21 und 4,89, sehr starke Assoziation zwischen Marker-Allel und Phänotyp ermittelt werden.

TNF-Alpha (Tumornekrosefaktor) ist ein multifunktionales proinflammatorisches Cytokin. Unter anderem ist es an der schnellen Abwehr von Infektionen beteiligt. Bezüglich der Erkrankung Psoriasis vulgaris wurde festgestellt, dass in erkrankter Haut eine Überexpression von TNF-Alpha erfolgt (Gearing et al., 1990). Eine Assoziation zwischen dem Promoter-Polymorphismus auf Position -238, der Typ I- Psoriasis und psoriatischer Arthritis wurde von der Gruppe um Thomas Höhler et al. (1997) festgestellt. Dieser SNP scheint die Transkription von TNF-Alpha zu beeinflussen (Kaluza et al., 2000). Nicht bestätigt werden konnte eine Verbindung zwischen diesem SNP und Psoriasis vulgaris in Untersuchungen an japanischen Psoriasis-Erkrankten (Nishibu et al., 2002). In den mit unseren Kohorten durchgeführten Analysen zeigt sich eine Überrepräsentation des Adenin-Alleles, was den Untersuchungen von Höhler et al.(1997) entspricht. Auch die geringe Frequenz, mit denen das Allel auftritt, wird in unserer Untersuchung bestätigt. Höhler et al. ermittelten für das krankheitsassoziierte Allel eine Frequenz von 3,5%, bezogen auf die Gesamtbevölkerung (Höhler et al., 1997). Höhler et al. beobachteten in an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen eine starke Konservierung des HLA-Haplotyps B\*57 / Cw\*6, zusammen mit der Base Adenin des Promotor-Polymorphismus auf Position 238 von TNF Alpha (Höhler et al., 1997). Auch dies kann von uns bestätigt werden. Innerhalb der rekonstruierten Haplotypen, die der deutschen Kohorte zugrunde liegen, tritt das mit Psoriasis vulgaris assoziierte Adenin-Allel nur in Kombination mit dem HLA-Muster HLA-B\*57 / HLA-Cw\*6 auf. Bei anderen mit Psoriasis assoziierten HLA-Haplotypen wie HLA-B\*13 / HLA-Cw\*6, HLA-B\*37 / HLA-Cw\*6 tritt das Guanin-Allel des Markers auf. Auch konnte in dieser Arbeit eine signifikante Assoziation des Allels mit HLA-Cw\*6 ermittelt werden. Als weitere Marker in dem Bereich von TNF-Alpha wurden Substitutionen auf den Positionen -857 und -1031 in der Promoter-Region ausgewählt. Für die Substitution -857 ist eine Assoziation mit einer inflammatorischen Darmerkrankung (IBD) bekannt (Van Heel et al., 2002). Beide Marker bleiben in diesen Analysen unauffällig.

Eine Überprüfung der Transmission der Marker P5-1\_913, 06MICB\_011 und 06TNF\_238 ergab, dass alle drei häufiger als erwartet gemeinsam auf den erkrankten Nachwuchs vererbt

werden. Mit Hilfe eines Programms, welches die den Analysen zugrunde liegenden Haplotypen rekonstruiert, konnte festgestellt werden, dass die mit Psoriasis assoziierten Allele der drei Marker nur auf einem Haplotyp liegend vorkommen und somit gemeinsam vererbt werden. Das eingeschränkte Vorkommen dieser Allele auf nur einem Haplotyp würde ihre niedrigen Frequenzen erklären. Der Haplotyp (Nr. 19 in Tab. 2.20) ist gekoppelt mit dem Psoriasis-assoziierten ancestralen Haplotyp EH57.1, welcher HLA-B\*57 und HLA-Cw\*6 beinhaltet. Eine Kopplung zwischen dem Promoter-Polymorphismus -238 des Gens TNF-Alpha und EH57.1 ist bereits bekannt. Es tritt nach Rekonstruktion der zugrunde liegenden Haplotypen keines der drei stark mit Psoriasis assoziierten Allele alleine, ohne die anderen beiden Allele auf. Weiter konnte bezüglich der assoziierten Allele der Pseudogene HCGII-2 (Allel 1) und KIAA0055.hom (jeweils Allel 2) festgestellt werden, dass sie ebenfalls Teil des konstruierten Haplotypen Nr. 19 sind. Ihr Vorkommen wurde aber auch kombiniert in den rekonstruierten Haplotypen 18, 20 und 21 festgestellt, welche mit allen mit Psoriasis assoziierten HLA-Haplotypen gekoppelt sind. Dabei handelt es sich um die HLA-Haplotypen HLA-B\*13/Cw\*6 und HLA-B\*37/Cw\*6, jeweils mit unterschiedlichen HLA-A - Allelen.

Weitere Marker in der Klasse III des MHC, in den Bereichen BAT1 und IκBL, wurden aufgrund ihrer Assoziation mit der Erkrankung der Rheumatoiden Arthritis ausgewählt (Okamoto et al., 2003). In den hier durchgeführten Analysen zeigen sie keine signifikanten Unterschiede zwischen erkrankten und gesunden Personen. Der Grund für die Auswahl der in BAT1 und IκBL platzierten Marker lag darin, dass Psoriasis oftmals im Zusammenhang mit anderen Erkrankungen auftreten kann und ca. 6 – 10% der an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen eine psoriatische Arthritis entwickeln (Espinoza et al., 1998). Die im Bereich des Gens IκBL lokalisierten Marker IκBL86695 und hCV3273586 zeigten in der Untersuchung von Okamoto et al. eine Assoziation mit der Erkrankung Rheumatoide Arthritis, wobei die stärkste Assoziation zwischen der Erkrankung und dem Marker hCV3273586 bestand (Okamoto et al., 2003). Bei diesem handelt es sich um die von Okamoto et al. als SNP96452 bezeichnete (T/A)-Substitution auf Position -62 in der Promoter-Region von IκBL. Diese führt zu einer Unterbrechung im Bindungsmotif des transkriptionalen Repressors δEF1 und beeinflusst hierdurch eventuell die Transkription von IκBL (Okamoto et al., 2003). Im Zusammenhang mit Psoriasis vulgaris konnte in unserer Untersuchung keine Assoziation festgestellt werden. Ebenso wenig für die anderen 4 Marker, die für den Bereich BAT1 und IκBL ausgewählt wurden, um diesen abzudecken. Die Untersuchung des Kopplungsungleichgewichts weist für den im Intron 2 von IκBL gelegenen Marker IκBL86695 ein

---

bestehendes, starkes Kopplungsungleichgewicht auf, das zwischen ihm und sämtlichen telomer und zentromer von ihm platzierten Marker besteht.

Bezüglich der rekonstruierten Haplotypen über die gesamte untersuchte Länge von 1,923kb zeigt sich, dass die Marker über den größten Teil des untersuchten Bereiches miteinander gekoppelt sind. Die identifizierten Haplotypen können einem bestimmten HLA-Muster zugeordnet werden, in denen kaum Überschneidungen auftreten. Für einige Haplotypen, wie der Nr. 17 (Tab. 2.20), besteht eine Kopplung nur mit einem bestimmten HLA-Muster, hier HLA-C\*44 / HLA-B\*4.

Die im Kopplungsungleichgewicht stehende Region beginnt mit dem Marker 8 (hCV11197333), welcher telomer vom Gen STG lokalisiert ist, und endet scheinbar mit Marker 71 (hCV7514890), welcher im Bereich des zur TNF-Familie gehörenden Gens LTB lokalisiert ist. Das entspricht dem Ergebnis der Überprüfung des zwischen den Markern bestehenden Kopplungsungleichgewichts. Auffällig ist, dass die in der Literatur mit Psoriasis assoziierten Allele der Gene CDSN (Marker 11: SNP 1243; Allel 1: G) und HCR (Marker 22: Position 325; Allel 2: T / Marker: 20: Position 771; Allel 2: C / Marker 19: Position 1723, Allel 2: T / Marker 18: SNP 2178, Allel 1: A) in komplett miteinander kombinierter Form nur im Zusammenhang mit solchen rekonstruierten Haplotypen vorkommen, die mit HLA-Cw\*6 gekoppelt sind (Haplotypen 18 bis 21 – Ergebnisse: Tab. 2.20). Die für das Gen HCR hier auftretende Allel-Kombination T - C - T - A entspricht dabei dem von Asumalathi beobachteten HCR-Haplotyp, der auf allen HLA-Cw\*6 positiven Chromosomen beobachtet wurde (Asumalathi et. al., 2000). Das über alle Positionen hinweg kombinierte Auftreten assoziierter Allele mit HLA-Cw\*6 betrifft aber nicht nur aus der Literatur bekannte Allele. Auch die in dieser Analyse identifizierten Marker-Allele, die eine starke Assoziation mit Psoriasis vulgaris zeigen, treten in Kombination miteinander ebenfalls nur mit HLA-Cw\*6 auf. Die hochsignifikanten Allele der Marker P5-1, MICB und TNF-Alpha, in Kombination mit weiteren assoziierten Marker-Allelen, sogar nur mit HLA-Cw\*6 / HLA-B\*57. Eine Untersuchung von HLA-Cw\*6 auf seine Assoziation mit signifikanten Markern aus den Bereichen SEEK1, HCR, HCGII-2, KIAA0055.hom, P5-1, MICB und TNF-Alpha zeigt, das HLA-Cw\*6 mit sämtlichen Markern, bis in die Region des Pseudogens KIAA0055hom, signifikant assoziiert ist. Die Stärke der Assoziation nimmt bezüglich der Marker in P5-1, MICB und TNF-Alpha ab. HLA-Cw\*6 zeigt nur eine schwache Assoziation mit diesen Markern. Untersucht man hingegen die Marker auf ihre Assoziation mit HLA-Cw\*6, so ist

---

festzustellen, das zwar HLA-Cw\*6 nicht stark mit den drei Markern assoziiert ist, diese drei Marker dafür aber stark mit HLA-Cw\*6.

Innerhalb der MHC Klasse I zeigen immer wieder Allele verschiedener Gene eine Krankheitsassoziation. Oftmals können diese Assoziationen aber aufgrund von Kopplungsungleichgewicht nicht unabhängig voneinander bestätigt werden, wie das im Zusammenhang mit HLA-Cw\*6 der Fall ist. Aufgrund der im MHC, wie auch überhaupt im Genom vorhandenen Blockstrukturen, innerhalb derer es kaum zu Rekombinationen kommt, müssen auch die hierdurch entstehenden Haplotypen, welche einen Block beschreiben können, berücksichtigt werden (Daly et al., 2001, Gabriel et al., 2002). Aus diesem Grund können mit einer Erkrankung assoziierte ancestrale Haplotypen auftreten, welche diese Blöcke umfassen. So sprechen die in den unterschiedlichen Genen beobachteten Assoziationen nicht unbedingt für eine unabhängige Beteiligung dieser Gene an der Erkrankung. Diese Assoziationen lassen sich auch über eine gemeinsame Haplotyp-Variante erklären, die der Erkrankung zu Grunde liegt. Marker, die auf genau diesen assoziierten Strukturen liegen, werden immer starke Assoziationen mit der Erkrankung zeigen, da sie Teil des zugrunde liegenden Haplotypen sind. Je spezifischer sie für diesen assoziierten Haplotypen sind, wie das für die Marker in P5-1, MICB und TNF-Alpha im Zusammenhang mit AH57.1 der Fall ist, um so stärkere Assoziationen zeigen sich in den Odds Ratios.

So zeigt der ancestrale Haplotyp AH57.1, benannt nach dem HLA-B-Allel 57, im Vergleich mit AH13.1 und dem Haplotyp 37.1 in der Beziehung zwischen HLA-Allelen und Psoriasis vulgaris die stärkste Assoziation. Personen, die AH57-Positiv sind, tragen ein 26x höheres Risiko Psoriasis vulgaris zu entwickeln, als AH57-negative Personen (Schmitt-Egenolf et al., 1996). Auf dem, im Kopplungsungleichgewicht mit AH57.1 befindlichen, rekonstruierten Haplotyp 19 (Tab. 2.20) liegen nicht nur die hoch assoziierten Allele von P5-1, MICB und TNF-Alpha. Es befinden sich auch sämtliche, in dieser Analyse mit Psoriasis assoziierte Allele kombiniert auf diesem ancestralen Haplotyp. Neben den, über Kopplungsungleichgewicht mit diesem Haplotypen assoziierten Allele der untersuchten Pseudogene HCGII-2 und KIAA0055.hom, befinden sich hier auch in der Zelldifferenzierung aktive Gene. Somit treffen auf diesem Haplotypen Differenzierungsgene, wie CDSN und HCR, auf immunologisch relevante Gene, wie MICB und TNF-Alpha. Auch P5-1 scheint im immunologischen Bereich eine Rolle zu spielen, betrachtet man seine Expression u.a. in aktivierten T-Zellen (Vernet et al., 1993). Über seine Funktion ist bislang aber nichts näheres bekannt.

---

Aus dieser Kombination könnte sich die Stärke des Risikos für AH57-positive Personen erklären bzw. das demgegenüber schwächere Risiko zwischen Psoriasis und AH13.1 und dem Haplotyp 37.1.

Es zeigt sich, dass alle im Verlauf dieser Arbeit identifizierten bzw. bestätigten, mit Psoriasis assoziierten Allele der untersuchten Gene und Pseudogene in Kombination miteinander auftreten können. Dieses gleichzeitige Auftreten auf einem Haplotypen findet aber nur in Kombination mit HLA-Cw\*6 statt. Das Humane Leukocyten Antigen HLA-C ist mit diesen Markern assoziiert. Die Psoriasis assoziierten Positionen von P5-1, MICB und TNF-Alpha treten, gemeinsam mit den anderen assoziierten Positionen, sogar nur mit dem ancestralen Haplotypen AH57.1 auf. Eine Überprüfung zeigte die sehr starke Assoziation dieser Marker-Allele mit HLA-Cw\*6. Die drei Positionen charakterisieren einen zentromer von HLA-C gelegenen Risiko-Haplotypen. Somit besteht neben dem hier bestätigten Basisrisiko im Psoriasis Verdachtsbereich 1 (PSORS1), ein weiterer Risikobereich zentromer von HLA-C. Während innerhalb von PSORS1 gelegene Gene in die zellbiologischen Komponenten der Erkrankung, wie die veränderte Epidermidifferenzierung, involviert sind, wird über den zentromer von HLA-C gelegenen Bereich die Verbindung zu einer weiteren Komponente der Erkrankung hergestellt. Über ihn könnte die immunologische Ausprägung der Erkrankung Berücksichtigung finden, so z.B. über MICB, dessen Expression in der Epidermis durch Zellstress induziert werden kann. Wird die Expression von MICB ausgelöst, kann es von seinem entsprechenden Rezeptor (NKG2D) gebunden werden, was zur Aktivierung von z.B. natürlichen Killerzellen (NK),  $\gamma\delta$ -T-Zellen führt (Groh et al., 1996; Li et al., 1999; Bauer et al., 1999). In psoriatischen Läsionen treten neben CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellen auch sogenannte NK-T-Zellen auf, also Zellen, die Marker natürlicher Killerzellen besitzen (Wrone-Smith et al., 1996). Da für CD4<sup>+</sup> T-Zellen nachgewiesen wurde, dass sie psoriatische Läsionen auslösen können (Nickoloff et al., 1999), aber eine genetische Assoziation mit dem MHC-Klasse I Molekül HLA-Cw\*6 besteht (Farber et al., 1974, Tiilikainen et al., 1980), wurde nach einer Verbindung gesucht. Nickoloff et al. zeigten anhand eines SCID-Maus-Modells, dass NK-T-Zellen eine Rolle in der Psoriasis spielen könnten (Nickoloff et al., 2000). Da AH57.1, der das mit Psoriasis assoziierte MICB-Allel enthält, sowohl in gesunden, als auch in erkrankten Personen zu finden ist, muss es einen von außen kommenden, auslösenden Faktor geben. Auslöser der Erkrankung können Faktoren wie Stress, Rauchen oder Entzündungen sein.

Das Vorkommen der auf einem Haplotyp lokalisierten, assoziierten Allele von P5-1, MICB und TNF-Alpha ist aber nicht unabhängig vom Psoriasis Verdachtsbereich 1 (PSORS1), wie sich anhand der rekonstruierten Haplotypen zeigt.

Die Probanden dieser Untersuchung waren kaukasischen Ursprungs. Das in Populationen nicht kaukasischen Ursprungs durchgeführte Untersuchungen andere Ergebnisse zeigen, wie das z.B. für TNF-Alpha oder auch CDSN der Fall ist (Nishibu et al., 2002; Gonzalez et al., 2000), ist wahrscheinlich auf die unterschiedlichen, durch Rekombination entstandenen Haplotypen in den einzelnen Populationen zurückzuführen.

Ob und inwieweit die assoziierten Gene jedoch tatsächlich für die Krankheitsentwicklung ursächlich sind, oder ob sie Teil einer Kette von Ereignissen sind, muss weiter überprüft werden. Die in dieser Analyse rekonstruierten Haplotypen 19 bis 21, die sämtliche Psoriasis assoziierten Allele der verschiedenen Gene / Pseudogene kombiniert mit HLA-Cw\*6 tragen, treten sowohl in gesunden, als auch in erkrankten Personen auf. Das würde bedeuten, dass diese Allel-Kombinationen der Gene im Zusammenhang mit HLA-Cw\*6 für die Erkrankung prädisponieren, aber noch nicht unbedingt der eigentliche Auslöser sind. Sie könnten aber synergetisch die Schwere des Krankheitsverlaufes beeinflussen, da Träger von HLA-Cw\*6 in der Regel die Erkrankung in jüngeren Jahren entwickeln (Henseler und Christophers, 1985). Insgesamt zeigt sich, dass neben PSORS1 ein weiterer Psoriasis Verdachtsloкус zentromer von HLA-C besteht.

## Zusammenfassung

Der hier durchgeführten Arbeit lag die Untersuchung polymorpher Positionen des MHC im Zusammenhang mit der Autoimmunerkrankung Psoriasis vulgaris zugrunde.

Zur Vorbereitung der Identifizierung von mit Psoriasis vulgaris assoziierter Positionen im MHC, wurde zur näheren Charakterisierung des Psoriasis Verdachtsbereichs 1 (PSORS1) eine SNP-Karte über eine 113 kb große Region innerhalb von PSORS1 erstellt. Hierzu wurden die Gene TCF19 und POU5F1 und die Pseudogene NOB4, HCGII-2 und HCGIV-02 sequenziert und analysiert. Grundlage der Sequenzierung war die genomische DNA von 62 Personen, welche insgesamt 17 Familien kaukasischen Ursprungs entstammten. Es zeigt sich, bezogen auf die Größe des sequenzierten Bereichs, ein deutlicher Unterschied zwischen der Menge und dem Abstand identifizierter Single-Nukleotide-Polymorphismen (SNPs). Daneben war die Konstruktion von häufig auftretenden SNP-Haplotypen möglich, welche nach ihrem Auftreten bestimmten HLA-Mustern, bezogen auf HLA-B und HLA-C, zuzuordnen waren. Aus diesem Grund wird das Vorliegen von Kopplungsungleichgewicht zwischen konstruierten SNP-Haplotypen und Ausprägungen von HLA-C vermutet.

Nach der Feinkartierung obiger Region erfolgte der Einsatz dieser und weiterer Marker in einer epidemiologischen Untersuchung der Autoimmunerkrankung Psoriasis vulgaris. Grundlage waren TaqMan®-Genotypisierungsdaten deutscher und US-amerikanischer Kohorten. Insgesamt wurde ein von der MHC-Klasse I bis in die Klasse III reichender Bereich von ca. 1,923 kb auf seine Assoziation mit der Erkrankung überprüft. Es zeigt sich, dass im Vergleich zu den im Bereich PSORS1 lokalisierten Markern, Marker im Bereich zentromer von HLA-C die stärksten Assoziationen aufweisen. Dabei handelt es sich um drei Marker, die sich in den Genen P5-1 und MICB innerhalb der Klasse I des MHC und in der Promoter-Region des in der Klasse III gelegenen Gens TNF-Alpha befinden. Es besteht also, neben dem durch PSORS1 gegebenen Basisrisiko, ein weiterer Risikobereich, zentromer von HLA-C. Er stellt eine Verbindung zwischen in PSORS1 enthaltenen Differenzierungsgenen und zentromer von HLA-C liegenden, immunologisch relevanten Genen dar. Eine Rekonstruktion von Haplotypen, welche der Marker-Vererbung zugrunde lagen, zeigt das starke Kopplungsungleichgewicht, das in der Region besteht. Auch konnte ein Haplotyp identifiziert werden, welcher als einziger die drei zentromer von HLA-C mit Psoriasis assoziierten Marker-Allele aufweist. Dieser stellt einen von PSORS1 nicht unabhängigen Haplotypen dar.

## Abstract

The following work was done for further investigations of polymorphic positions in the MHC in association with the autoimmunity disorder Psoriasis vulgaris.

To prepare the identification of positions in the MHC, which were associated with the disorder, a SNP-Map was constructed about a region of 113 kb inside the Psoriasis susceptibility region 1 (PSORS1) for closer characterisation. For this the genes TCF19 and POU5F1 and the pseudogenes NOB4, HCGII-2 and HCGIV-2 were sequenced and analysed.

Working basis was the nucleotide sequencing of genomic DNA of about 62 persons, derived from 17 families. All persons were of caucasian origin. In relation to the extent of the sequenced genes and pseudogens a distinct difference in the amount and interval of identified single-nucleotide-polymorphisms (SNP) was seen. Furthermore the construction of frequently occurred SNP-haplotypes were possible with an association to definite HLA-patterns. The HLA-patterns were related to the alleles of HLA-B and HLA-C. Because of this linkage disequilibrium is suspected between identified SNP-haplotypes and the occurrence of distinct HLA-C-alleles.

After building a high-density-SNP-Map of the region of interest, identified positions out of this map and positions out of literature were used for an epidemiological examination of the autoimmune disorder. It based on TaqMan®-genotyping data from cohorts out of Germany and the USA. Altogether a region of approximately 1,923 kb was investigated for association, which started in the MHC class I and ended in the MHC class III. It was shown that assays in the area centromeric of HLA-C were stronger associated with psoriasis vulgaris compared with assays localized in the PSORS1 region. These assays were located in the genes P5-1 and MICB in MHC class I and in the promoter-region of the TNF-alpha gene, MHC class III. Besides basic risk in PSORS1 there is also a risk area centromer of HLA-C. It is a connection between differential genes in PSORS1 and those genes, centromeric of HLA-C, which were immunological relevant. A reconstruction of the assay segregation underlying haplotypes of the whole investigated area shows the insistence of strong linkage disequilibrium in the region. It was also possible to identify a single haplotype which carries the three strong with psoriasis associated assay-alleles, located centromeric of HLA-C. This haplotyp occurs only in combination with PSORS1.



---

## Literatur

Allen, M.H., Veal, C., Faassen A., Powis, S.H., Vaughan, R.W., Trembath, R.C., Barker, J.N. (1999) A non-HLA gene within the MHC in psoriasis. *Lancet* **353**: 1589-1590.

Ardlie, K.G., Kruglyak, L., Seielstad, M. (2002) Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev Genet* **3**: 299-309.

Asumalahti, K., Laitinen, T., Itkonen-Vatjus, R., Lokki, M.L. Suomela, S., Snellman, E., Saarialho-Kere, U., Kere, J. (2000) A candidate gene for psoriasis near HLA-C, HCR (Pg8), is highly polymorphic with a disease-associated susceptibility allele. *Hum Molec Genet* **9**: 1533-1542.

Asumalahti, K., Veal, C., Laitinen, T., Suomela, S., Allen, M., Elomaa, O., Moser, M., de Cid, R., Ripatti, S., Vorechovsky, I., Marcusson, J.A., Nakagawa, H., Lazaro, C., Estivill, X., Capon, F., Novelli, G., The Psoriasis Consortium, Saarialho-Kere, U., Barker, J., Trembath, R. & Kere, J. (2002) Coding haplotype analysis supports HCR as the putative susceptibility gene for psoriasis at the MHC PSORS1 locus. *Hum Molec Genet* **11**: 589-597.

Baker B.S., Swain, A.F., Fry, L., Valdimarsson, H. (1984) Epidermal T lymphocytes and HLA-DR expression in psoriasis. *Br J Dermatol* **110**: 555-565.

Balendran, N., Clough, R.L., Arguello, J.R., Barber, R., Veal, C., Jones, A.B., Rosbotham, J.L., Little, A.M., Madrigal, A., Barker J.N.W.N., Powis, S.H., Tremabth, R.C. (1999) Characterization of the major susceptibility region for psoriasis at chromosom 6p21.3. *J Invest Dermatol* **113**: 322-328.

Bauer, S., Groh, V., Wu, J., Steinle, A., Phillips, J.H., Lanier, L.L., Spies, T. (1999) Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science* **285**: 727-729.

Braham, S., Bresnahan, M., Geraghty, D.E., Spies, T. (1994) A second lineage of mammalian major histocompatibility complex class I genes. *Proc Natl Acad Sci* **91**: 6259-6263.

Braham, S., and Spies, T. (1996) Nucleotide sequence of a human MHC Class I MICB cDNA. *Immunogenetics* **43**: 230-233.

Brandrup, F., Holm, N, Grunnet, N., Henningsen, K., Hansen, H.E. (1982) Psoriasis in monozygotic twins: variations in expression in individuals with identical genetic constitution. *Acta Derm* **62**: 229-236.

Brenner, W., Gschnait, F., Mayr, W. (1978) HLA B13, B17, B37 and Cw6 in psoriasis vulgaris: association with the age of onset. *Arch Dermatol* **262**: 337-339.

Brookes, A.J. (1999) The essence of SNPs. *Gene* **234**: 177-186.

Capon, F., Novelli, G., Semprini, S., Clementi, M., Nudo, M., Vultaggio, P., Mazzanti, C., Gobello, T., Botta, A., Fabrizi, G., Dallapiccola, B. (1999) Searching for psoriasis susceptibility genes in Italy: genome scan and evidence for a new locus on chromosom 1. *J Invest Dermatol* **112**: 32-35.

- Capon, F., Semprini, S., Dallapiccola, B., Novelli, G. (1999) Evidence for interaction between psoriasis-susceptibility loci on chromosomes 6p21 and 1q21. *Am J Hum Genet* **65**: 1798 - 1800.
- Chang, Y.T., Tsai, S.F., Lee, D.D., Shiao, Y.M., Huang, C.Y., Liu, H.N., Wang, W.J., Wong, C.K. (2003) A study of candidate genes for psoriasis near HLA-C in Chinese patients with psoriasis. *Br J Dermatol* **148**: 418.
- Chen, X., Kwok, P.Y. (1997) Template-directed dye-terminator incorporation (TDI) assay: A homogeneous DNA diagnostic method based on fluorescence resonance energy transfer. *Nucleic Acids Res* **25**: 347-353.
- Choi, H.B., Han, H., Youn, J.I., Kim, T.Y., Kim, T.G. (2000) MICA 5.1 allele is a susceptibility marker for psoriasis in the Korean population. *Tissue Antigens* **56**: 548-550.
- Christophers, E., Sterry, W. (1993) Psoriasis. In Fitzpatrick, T.B., Eisen, A.Z., Wolff, K., Freedberg, I.M., Austen, K.F. (ed.), *Dermatology in General Medicine*, (New York): 489-514.
- Clayton D. (1999) A generalization of the Transmission/Disequilibrium Test for uncertain-haplotype transmission. *Am J Hum Genet* **65**: 1170-1177.
- Collins, F.S., Brooks, L.D., Chakravarti, A. (1998) A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Res* **8**: 1229-1231.
- Daly, M.J., Rioux, J.D., Schaffner, S.F., Hudson, T.J., Lander, E.S. (2001) High-resolution haplotype structure in the human genome. *Nat Genet* **29**: 229-232.
- Dawkins, R., Leelayuwat, C., Gaudieri, S., Tay, G., Hui, J., Cattley, S., Martinez, P., Kulski, J. (1999) Genomics of the major histocompatibility complex: haplotypes, duplication, retroviruses and disease. *Immunological Reviews* **167**: 275-304.
- Degli-Esposti, M.A., Leaver, A.L., Christiansen, F.T., Witt, C.S., Abraham, L.J., Dawkins, R.L. (1992) Ancestral haplotypes: Conserved population MHC haplotypes. *Hum Immunol* **34**: 242-252.
- Ellis, C.N., Gorsulowsky, D.C., Hamilton, T.A., Billings, J.K., Brown, M.D., Headington, J.T., Cooper, K.D., Baadsgaard, O., Duell, E.A., Annesly, T.M., et al. (1986) Cyclosporine improves psoriasis in a double-blind study. *J Am Med Assoc* **256**: 3110-3116.
- Enlund, F.; Samuelsson, L.; Enerback, C.; Inerot, A.; Wahlstrom, J., Yhr, M., Torinsson, A., Riley, J., Swanbeck, G., Martinsson, T. (1999) Psoriasis susceptibility locus in chromosome region 3q21 identified in patients from southwest Sweden. *Eur J Hum Genet* **7**: 783-790.
- Espinoza, L.R., Vansolingen, R., Cuellar, M.L., Angulo, J. (1998) Insights into the pathogenesis of psoriasis and psoriatic arthritis. *Am J Med Sci* **316**: 271-276.
- Falk, C.T., Rubinstein, P. (1987) Haplotype relative risks: an easy reliable way to construct a proper control sample for risk calculations. *Ann Hum Genet* **51**: 227 - 233.

- Farber, E.M., Nall, L., Watson, W. (1974) Natural history of psoriasis in 61 twin pairs. *Arch Dermatol* **109**: 207-211.
- Farber, E.M. & Nall, L. (1991) Epidemiology: natural history and genetics. In Roegnigk, H.H. and Maibach, H.L. (eds): Psoriasis. Marcel Dekker, NY: 209-258.
- Gabriel, S.B., Schaffner, F., Nguyen, H., Moore, J.M., Roy, J., Blumenstiel, B., Higgins, J., DeFelice, M., Lochner, A., Faggart, M., Liu-Cordero, S.N., Rotimi, C., Adeyemo, A., Cooper, R., Ward, R., Lander, E.S., Daly, M.J., Altshuler, D. (2002) The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* **295**: 2225-2229.
- Gearing, A.J., Fincham, N.J., Bird, C.R., Wadhwa, M., Meager, A., Cartwright, J.E., Camp, R.D. (1990) Cytokines in skin lesions of psoriasis. *Cytokine* **2**: 68-75.
- Gonzalez, S., Martinez-Borra, J., Torre-Alonso, J.C., Gonzales-Roces, S., Sanchez del Rio, J., Rodrigues Perez A., Brautbar, C., López-Larrea, C. (1999) The MIC-A9 triplet repeat polymorphism in the transmembrane region confers additional susceptibility to develop psoriatic arthritis, and is independent of the association of Cw\*0602 in psoriasis. *Arthritis Rheum* **42**: 1010-1016.
- Gonzalez, S., Martinez-Borra, J., Sanchez del Rio, J., Santos-Juanes, J., Lopez-Vazques, A., Blanco-Gelaz, M., López-Larrea, C. (2000) The OTF3 gene polymorphism confers susceptibility to psoriasis independent of the association of HLA-Cw\*0602. *J Invest Dermatol* **115**: 824-828.
- Griffiths, C.E., Powles, A.V., Leonard, J.N., Fry, L., Baker, B.S., Valdimarsson, H. (1986) Clearance of psoriasis with low dose cyclosporin. *Br Med J* **293**: 731-732.
- Groh, V., Braham, S., Bauer, S., Hermann, A., Beauchamp, M., Spies, T. (1996) Cell stress regulated human MHC class I gene expressed in gastrointestinal epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**: 12445-12450.
- Groh, V., Steinle, A., Bauer, S. and Spies, T. (1998) Recognition of stress-induced MHC molecules by intestinal epithelial  $\gamma\delta$  T Cells. *Science* **279**: 1737-1740.
- Hacia, J.G., Sun, B., Hunt, N., Edgemon, K., Mosbrook, D., Robbins, C., Fodor, S.P., Tagle, D.A., Collins, F.S. (1998) Strategies for mutational analysis of the large multiexon ATM gene using high density oligonucleotide arrays. *Genome Res* **8**: 1245-1258.
- Hamamoto, Y., Tateno, H., Ishida, T., Muto, M. (2000) Lack of association between promoter polymorphism of the tumor necrosis factor- $\alpha$  gene and psoriatic arthritis in Japanese patients. *J Invest Dermatol* **115**: 1162-1164.
- Hampe, J. Shaw, S.H., Saiz, R., Leysens, N., Lantermann, A., Mascheretti, S., Lynch, N.J., MacPherson, A.J., Bridger, S., van Deventer, S., Stokkers, P., Morin, P., Mirza, M.M., Forbes, A., Lennard-Jones, J.E., Mathew, C.G., Curran, M.E. & Schreiber, S. (1999) Linkage of Inflammatory Bowel Disease to human chromosome 6p. *Am J Hum Genet* **65**: 1647-1655.

- Hampe, J., Lynch, N.J., Daniels, S., Bridger, S., Macpherson, A., Stokkers, P., Forbes, A., Lennard-Jones, J.E., Mathew, C.G., Curran, M.E., Schreiber, S. (2001) Fine mapping of the chromosome 3p susceptibility locus in Inflammatory Bowel Disease. *Gut* **48**: 191-197.
- Henseler, T. Christophers, E. (1985) Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* **13**: 450-456.
- Höhler, T., Kruger, A., Schneider, P.M., Schopf, R.E., Knop, J., Rittner, C., Meyer zum Büschenfelde, K.H., Märker-Hermann, E. (1997) A TNF- $\alpha$  Promoter polymorphism is associated with juvenile onset psoriasis and psoriatic arthritis. *J Invest Dermatol* **109**: 562-565.
- Holm, S.J., Carlen, L.M., Mallbris, L., Stahle-Bäckdahl, M, O'Brien, K.P. (2003) Polymorphisms in the SEEK1 and SPR1 genes on 6p21.3 associate with psoriasis in the Swedish population. *Experimental Dermatology* **12**: 435-444.
- Ishihara, M., Yamagata, N, Ohno, S., Naruse, T., Ando, A., Kawata, H., Ozawa, A., Ohkido, M., Mizuki, N., Shiina, T., Ando, H., Inoko, H. (1996) Genetic polymorphisms in the keratin-like S gene within the human major histocompatibility complex and association analysis on the susceptibility to psoriasis vulgaris. *Tissue Antigens* **48**: 182-186.
- Janeway, C.A., Travers, P. (1997) Immunologie. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg · Berlin · Oxford, 2. Auflage.
- Jenisch, S., Henseler, T., Westphal, E., Kühn, B., Nair, R.P., Elder, J.T., Voorhees, J.J., Christophers, E., Müller-Rucholtz, W. (1995) Analysis of HLA-Class-II Extended Haplotypes in Type I Psoriasis: Association with HLA-DRB1\*0101-DQA1\*0201-DQB1\*0303. *Skin Pharmacology* **8**: 79-79.
- Jenisch, S., Henseler, T., Nair, R.P., Guo, S., Westphal, E., Stuart, P., Kronke, M., Voorhees, J.J., Christophers, E., Elder, J.T. (1998) Linkage Analysis of Human leukocyte antigen (HLA) Markers in familial psoriasis: Strong disequilibrium effects provide evidence for a major determinant in the HLA-B/-C region. *Am J Hum Genet* **63**: 191-199.
- Jenisch, S., Westphal, E., Nair, R.P., Stuart, P., Voorhees, J.J., Christophers, E., Krönke, M., Elder, J.T., Henseler, T. (1999) Linkage disequilibrium analysis of familial psoriasis: identification of multiple disease-associated MHC haplotypes. *Tissue Antigens* **53**:135-146.
- Jenisch, S., Koch, S., Henseler, T., Nair, R.P., Elder, J.T., Watts, C.E., Westphal, E., Voorhees, J.J., Christophers E., Krönke, M. (1999) Corneodesmosin gene polymorphism demonstrates strong linkage disequilibrium with HLA and association with psoriasis vulgaris. *Tissue Antigens* **54**: 439-449.
- Jorde, L.B. (1995) Linkage disequilibrium as a gene-mapping tool. *Am J Hum Genet* **56**: 11-14.
- Kaluza, W., Reuss, E., Grossmann, S., Hug, R., Schopf, R.E., Galle, P.R., Märker-Hermann, E., Höhler, T. (2000) Different transcriptional activity and in vitro TNF-alpha production in psoriasis patients carrying the TNF-alpha 238A promoter polymorphism. *J Invest Dermatol* **114**: 1180-1183.

- 
- Klein, J., Figueroa, F. (1986) Evolution of the major histocompatibility complex. *Crit Rev Immunol* **6**: 295 – 386.
- Ku, D., Chang, C., Koniecki, J., Cannizzaro, L.A., Boghosian-Sell, L. Alder, H., Baserga, R. (1991) A new growth-regulated complementary DNA with the sequence of a putative trans-activating factor. *Cell Growth Differ* **2**: 179-186.
- Kulski, J.K., Dawkins, R.L. (1999) The P5 multicopy gene family in the MHC is related in sequence to human endogenous retroviruses HERV-L und HERV-16. *Immunogenetics* **49**: 404-412.
- Lander, E.S., Schork, N.J. (1994) Genetic dissection of complex traits. *Science* **265**: 2037-2048.
- Lee, Y.-A., Rüschenhoff, F., Windemuth, C., Schmitt-Egenolf, M., Stadelmann, A., Nürnberg, G., Ständer, M., Wienker, T.F., Reis, A. & Traupe, H. (2000) Genomewide scan in german families reveals evidence for a novel psoriasis-susceptibility locus on chromosome 19p13. *Am J Hum Genet* **67**: 1020-1024.
- Lewontin, R.C. (1964) The interaction of selection and linkage. I. General considerations; heterotic models. *Genetic* **49**: 49-67.
- Li, P., Willie, S.T., Bauer, S., Morris, D.L., Spies, T., Strong, R.K. (1999) Crystal structure of the MHC class I homolog MIC-A, a  $\gamma\delta$  cell ligand. *Immunity* **10**: 577-584.
- Livak, K.J., Flood, S.A., Marmaro, J., Giusti, W., Deetz, K. (1995) Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR products and nucleic acid hybridisation. *PCR Meth Appl* **4**: 357-362.
- Lomholt, G. (1963) Psoriasis: prevalence, spontaneous course and genetics: A census Study on the Prevalence of Skin Diseases on Faroe Islands. Copenhagen: G. E. C. Gad (pub.)
- MHC Sequencing consortium (1999) Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. The MHC sequencing consortium. *Nature* **401**: 921-923.
- Marshall, B., Leelayuwat, C., Degli-Esposti, M.A., Pinelli, M., Abraham, L.J., Dawkins, R.L., (1993) New major histocompatibility complex genes. *Hum Immunol* **38**: 24-29.
- Marth, G., Yeh, R., Minton, M., Donaldson, R., Li, Q., Duan, S., Davenport, R., Miller, R.D., Kwok, P.Y. (2001) Single-nucleotide polymorphisms in the public domain: how useful are they? *Nature Genetics* **27**: 371-372.
- Matthews, D., Fry, L., Powles, A., Weber, J., McCarthy, M., Fisher, E., Davies, K., Williamson, R. (1996) Evidence that a locus for familial psoriasis maps to chromosome 4q. *Nature Genet* **14**: 231-233.
- Nair, R.P., Henseler, T., Jenisch, S., Stuart, P., Bichakjian, C.K., Lenk, W., Westphal, E., Guo, S.W., Christophers, E., Voorhees, J.J., Elder, J.T. (1997) Evidence for two psoriasis susceptibility loci (HLA and 17q) and two novel candidate regions (16q and 20p) by genome-wide scan. *Hum Mol Genet* **6**: 1349-1356.

- 
- Nair, R.P., Stuart, P., Henseler, T., Jenisch, S., Chia, N.V.C, Westphal, E., Schork, N.J., Kim, J., Lim, H.W., Christophers, E., Voorhees, J.J., Elder, J.T. (2000) Localization of psoriasis-susceptibility locus PSORS1 to a 60-kb Interval telomeric to HLA-C. *Am J Hum Genet* **66**:1833-1844.
- Nakagawa, H., Asahina, A., Akazaki, S., Tokunaga, K., Matsuki, K., Ishibashi, Y., Juji (1990) Association of Cw11 in Japanese patients with psoriasis vulgaris. *Tissue Antigens* **36**: 241-242.
- Naldi, L. (1995) Psoriasis. *Dermatol Clin* **13**: 635-647.
- Naldi, L., Peli, L., Parazzini, F., Carrel, C.F. (2001) Family history of psoriasis, stressful life events, and recent infectious disease are risk factors for a first episode of acute guttate psoriasis: results of a case-control study. *J Am Acad Dermatol* **44**: 433-438.
- Nickoloff, B.J., Wrone-Smith, T. (1999) Injection of pre-psoriatic skin with CD4+ T cells induces psoriasis. *Am J Pathol* **155**: 145-158.
- Nickoloff, B.J., Bonish, B., Huang, B.B. & Porcelli, S.A. (2000) Characterization of a T cell line bearing natural killer receptors and capable of creating psoriasis in a SCID mouse model system. *J Dermatol Sci* **24**:212-225.
- Nichols, J., Zevnik, B., Anastassiadis, K., Niwa, H., Klewe-Nebenius, D., Chambers, I., Schöler, H., Smith, A. (1998) Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor oct4. *Cell* **95**: 379-391.
- Nishibu, A., Oyama, N., Nakamura, K., Kaneko, F. (2002) Lack of association of TNF-238A und -308A in japanase patient with psoriasis vulgaris, psoriatic arthritis and generalized pustular psoriasis. *J Dermatol Sci* **29**: 181-184.
- Niwa, H., Miyazaki, J., Smith, A. (2000) Quantitative expression of OCT3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nature Genetics* **24**: 372-376.
- O'Brien, K.P., Holm, S.J., Nilsson, S., Carlen, L., Rosenmuller, T., Enerback, C., Inerot, A., Stahle-Backdahl, M. (2001) The HCR gene on 6p21 is unlikely to be a psoriasis susceptibility gene. *J Invest Dermatol.* **116**: 750-754.
- Oka, A., Tamiya, G., Tomizawa, M, Ota, M., Katsuyama, Y., Makino, S., Shiina, T., Yoshitome, M., Iizuka, M., Sasao, Y., Iwashita, K., Kawakubo, Y., Sugai, J., Ozawa, A., Ohkido, M., Kimura, M., Braham, S., Inoko, H. (1999) Association analysis using refined microsatellite markers localizes a susceptibility locus for psoriasis vulgaris within a 111 kb segment telomeric to the HLA-C gene. *Hum Molec Genet* **8**: 2165-2170.
- Okamoto, K., Okazawa, H., Okuda, A., Sakai, M., Muramatsu, M., Hamada, H. (1990) A novel octamer binding transcription factor is differentially expressed in mouse embryonic cells. *Cell* **60**: 461-472.

- Okamoto, K., Makino, S., Yoshikawa, Y., Takaki, A., Nagatsuka, Y., Ota, M., Tamiya, G., Kimura, A., Bahram, S., Inoko, H. (2003) Identification of IkBL as the second major histokompatibility complex-linked susceptibility locus for rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* **73**: 303-312.
- Olavesen, M.G., Hampe, J., Mirza, M.M., Saiz, R., Lewis, C.M., Bridger, S., Teare, D., Easton D.F., Hermann, T., Scott, G., Hirst, J., Sanderson, J., Hodgson, S.V., Lee, J., MacPherson, A., Schreiber, S., Lennard-Jones, J.E., Curran, M.E., Mathew, C.G. (2000) Analysis of single nucleotide polymorphisms in the interleukin 4 receptor gene for association with Inflammatory Bowel Disease. *Immunogenetics* **1**: 1-7.
- Ott, J. (1991) Analysis of human genetic linkage. Johns Hopkins Univ. Press (Baltimore, MD): pp. 5 – 7.
- Ott, J. (1991) Analysis of human genetic linkage. Johns Hopkins Univ. Press (Baltimore, MD): pp. 61 – 65.
- Ott, J. (1991) Analysis of human genetic linkage. Johns Hopkins Univ. Press (Baltimore, MD): pp. 240 – 241.
- Ott, J. (1991) Analysis of human genetic linkage. Johns Hopkins Univ. Press (Baltimore, MD): pp.242 – 246.
- Patil, N., Berno, A.J., Hinds, D.A., Barrett, W.A., Doshi, J.M., Hacker, C.R., Kautzer, C.R., Lee, D.H., Marjoribanks, C., McDonough, D.P., Nguyen, B.T., Norris, M.C., Sheehan, J.B., Shen, N., Stern, D., Stokowski, R.P., Thomas, D.J., Trulson, M.O., Vyas, K.R., Frager, K.A., Fodor, S.P.A., Cox, D.R. (2001) Blocks of limited haplotype diversity revealed by high-resolution scanning of human chromosome 21. *Science* **294**: 1719-23.
- Reich, D.E., Cargill, M., Bolk, S., Ireland, J., Sabeti, P.C., Richter, D.J., Lavery, T., Kouyoumjian, R., Farhadian, S.F., Ward, R., Lander, E.S. (2001) Linkage Disequilibrium in the human genome. *Nature* **411**: 199-204.
- Rosner, M.H., Vigano, M.A., Ozato, K., Timmons, P.M., Poirier, F., Rigby, P.W.J., Staudt, L.M. (1990) A POU-domain transcription factor in early stem cells and germ cells of the mammalian embryo. *Nature* **345**: 686-692.
- Russell, T.J., Schultes, L.M., Kuban, D.J. (1972) Histocompatibility(HLA-) antigens associated with psoriasis. *New Eng J Med* **287**: 738-740.
- Schmitt-Egenolf, M., Boehncke, W.H., Eiermann, T.H., Ständer, M., Sterry, W. (1993) Oligonucleotide typing reveals association of type 1 psoriasis with the DRB1\*0701/2,-DQA1\*0201,-DQB1\*0303 extended haplotype. *J Invest Dermatol* **100**: 749-752.
- Schmitt-Egenolf, M., Eiermann, T.H., Boehncke, W.H., Ständer, M., Sterry, W. (1996) Familial juvenile onset psoriasis is associated with the human leukocyte antigen (HLA) class I side of the extended haplotype Cw6-B57-DRB1\*0701-DQA1\*0201-DQB1\*0303. *J Invest Dermatol* **106**: 711-714.

- Schöler, H.R., Ruppert, S., Suzuki, N., Chowdhury, K., Gruss, P. (1990) New type of POU domain in germ line-specific protein Oct-4. *Nature* **344**: 435-439.
- Shi, M.M., Myrand, S.P., Bleavins, M.R., de la Iglesia, F.A. (1999) High-throughput genotyping method for glutathione S-transferase T1 and M1 gene deletions using TaqMan probes. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* **103**: 3-15.
- Shi, M.M. (2001) Enabling large-scale pharmacogenetic studies by high-throughput mutation detection and genotyping technologies. *Clinical Chemistry* **47**: 164-172.
- Shiina, T., Tamiya, G., Oka, A., Tahishima, N., Yamagata, T., Kikkawa, E., Iwata, K., Tomizawa, M., Okuaki, N., Kuwano, Y., Watanabe, K., Fukuzumi, Y., Itakura, S., Sugawara, C., Ono, A., Yamazaki, M., Tashiro, H., Ando, A., Ikemura, T., Soeda, E., Kimura, M., Bahram, S., Inoko, H. (1999) Molecular dynamics of MHC genesis unraveled by sequence analysis of the 1,796,938-bp HLA class I region. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* **96**:13282-13287.
- Simon, M., Le Mignon, L., Fauchet, R., Yaouanq, J., David, V., Edan, G., Bourel, M. (1987) A study of 609 haplotypes marking for the hemochromatosis gene : (1) mapping of the gene near the HLA-A locus and characters required to define a heterozygous state and (2) hypothesis concerning the underlying cause of hemochromatosis HLA association. *Am J Hum Genet* **41**: 89-105.
- Spielmann, R.S., McGinnis, R.E., Ewens, W.J. (1993) Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hum Genet* **52**: 506-516.
- Spielmann, R.S., Ewens, W.J. (1996) The TDT and other family-based tests for linkage disequilibrium and association. *Am J Hum Genet* **59**: 983-989.
- Stern, R.S. (1997) Psoriasis. *Lancet* **350**: 349-353.
- Tagami, H. (1997) Triggering factors. *Clin. Dermatol* **15**: 677-685.
- Tay, G.K., Hui, J., Gaudieri, S., Schmitt-Egenolf, M., Martinez, O.P., Leelayuwat, C., Williamson, J.F., Eiermann, T.H., Dawkins, R.L. (2000) PERB11(MIC): a polymorphic MHC gene is expressed in skin and single nucleotide polymorphisms are associated with psoriasis. *Clin Exp Immunol* **119**: 553-558.
- Tazi-Ahnini, R., Camp, N.J., Cork, M.J., Mee, J.B., Keohane, S.G., Duff, G.W., di Giovine, F.S. (1999) Novel genetic association between the corneodesmosin (MHC S) gene and susceptibility to psoriasis. *Hum Mol Genet* **8**:1135-1140.
- Telfer, N.R., Chalmers, R.J., Whale, K., Colman, G (1992) The role of streptococcal infection in the initiation of guttate psoriasis. *Arch Dermatol* **128**: 39-42.
- Teraoka, Y., Naruse, T.K., Oka, A., Matsuzawa, Y., Shiina, T., Iizuka, M., Iwashita, K., Ozawa, A., Inoko, H. (2000) Genetic polymorphisms in the cell growth regulated gene, SC1 telomeric of the HLA-C gene and lack of association of psoriasis vulgaris. *Tissue Antigens* **55**: 206-211.



---

Tiilikainen, A., Lassus, A., Karvonen, J., Vartiainen, P., Julin, M. (1980) Psoriasis und HLA-Cw6. *Br J Dermatol* **102**: 179-184.

Tobe, V.O., Taylor, S.L., Nickerson, D.A. (1996) Single-well genotyping of diallelic sequence variations by a two-color ELISA-based oligonucleotide ligation assay. *Nucleic Acids Res* **24**: 3728-3732.

Tomfohrde, J., Silverman, A., Barnes, R., Fernandez-Vina, M.A., Young, M., Lory, D., Morris, L., Wuepper, K.D., Stastny, P., Menter, A., Bowcock, A. (1994) Gene for familial psoriasis susceptibility mapped to the distal end of chromosome 17q. *Science* **264**: 1141-1145.

Trembath, R.C., Clough, R.L., Rosbotham, J.L., Jones, A.B., Camp, R.D., Frodsham, A., Browne, J., Barber, R., Terwilliger, J., Lathrop, G.M., Barker, J.N. (1997) Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum Mol Genet* **6**: 813-820.

Van Heel, D.A., Udalova, I.A., De Silva, A.P., McGovern, D.P., Kinouchi, Y., Hull, J., Lench, N.J., Cardon, L.R., Carey, A.H., Jewell, D.P., Kwiatkowski, D. (2002) Inflammatory bowel disease is associated with a TNF polymorphism that affects an interaction between the OCT1 and NF-kappa-B transcription factors. *Hum Mol Genet* **11**: 1281-1289.

Veal, C. D., Clough, R. L., Barber, R. C., Mason, S., Tillman, D., Ferry, B., Jones, A.B., Ameen, M., Balendran, N., Powis, S.H., Burden, A.D., Barker, J.N., Trembath, R.C. (2001) Identification of a novel psoriasis susceptibility locus at 1p and evidence of epistasis between PSORS1 and candidate loci. *J Med Genet* **38**: 7-13.

Veal, C.D., Capon, F., Allen, M.H., Heath, E.K., Evans, J.C., Jones, A., Patel, S., Burden, D., Tillman, D., Barker, J.N., Trembath, R.C. (2002) Family-based analysis using a dense single-nucleotide polymorphism-based map defines genetic variation at PSORS1, the major psoriasis-susceptibility locus. *Am J Hum Genet* **71**: 554-564.

Vernet, C., Ribouchon, M.T., Chimini, G., Jouanolle, A.M., Sidibe, I., Pontarotti, P. (1993) A novel coding sequence belonging to a new multicopy gene family mapping within the human MHC class I region. *Immunogenetics* **38**: 47-53.

Walsh, E.C., Mather, K.A., Schaffner, S.F., Farwell, L., Daly, M.J., Patterson, N., Cullen, M., Carington, M., Bugawan, T.L., Erlich, H., Campbell, J., Barrett, J., Miller, K., Thomson, G., Lander, E.S., & Rioux, J.D. (2003) An integrated haplotype map of the human major histocompatibility complex. *Am J Hum Genet* **73**: 580-590.

White, S.H., Newcomer, V.D., Mickey, M.R., Terasaki, P.I. (1972) Disturbance of HLA-Antigen frequency in psoriasis. *New Engl J Med* **287**: 740-743.

Wrone-Smith, T., Nickoloff, B.J. (1996) Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. *J Clin Invest* **98**: 1878-1887.

Yawalkar, N., Karlen, S., Hunger, R., Brand, C.U., Braathen, L.R. (1998) Expression of Interleukin-12 is increased in psoriatic skin. *J Invest Dermatol* **111**: 1053-1057.

Yui Yip, S. (1984) The prevalence of psoriasis in the mongoloid race. *J Am Acad Dermatol* **10**: 965-968.

Zhou, Y., Chaplin, D.D. (1993) Identification in the HLA class I region of a gene expressed late in keratinocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* **90**: 9470-9474.

## **Elektronische Datenbanken**

### **NCBI**

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): [www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim.html)

SNP Database: [www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/index.html)

Blast: [www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/Blast.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/Blast.html)

### **Sanger Institut**

MHC-Gen-Liste: [www.sanger.ac.uk/HGP/Chr6/published\\_MCHgene\\_list.shtml](http://www.sanger.ac.uk/HGP/Chr6/published_MCHgene_list.shtml)

MHC-Konsensussequenz: [www.sanger.ac.uk/HGP/Chr6/published\\_consensus.fasta](http://www.sanger.ac.uk/HGP/Chr6/published_consensus.fasta)

### **Genome-Net**

ClustalW: <http://clustalw.genome.ad.jp./sit-bin/nph-clustalw>

Blast: <http://blast.genome.ad.jp./sit-bin/nph-blast>

### **GENSCAN**

<http://ccr-081.mit.edu/GENSCAN.html>

### **SoftBerry**

FGENESH: [www.softberry.com](http://www.softberry.com)

### **Applied Biosystem (ABI)**

SNP-Assay-on-Demand: [www.allsnps.de](http://www.allsnps.de)

### **Institut for Systems Biology**

[www.repeatmasker.org/cgi-bin/WEBRepeatMasker](http://www.repeatmasker.org/cgi-bin/WEBRepeatMasker)

### **Primer3 Version 0.6**

[www.genome.wi.mit.edu/genome\\_software/other/primer3.html](http://www.genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html)

## Anhang:

### Anhang I: Material und Methoden

#### I.1 Beschreibung des zur Erstellung einer hochauflösenden SNP-Karte sequenzierten Bereiches im MHC, Chromosom 6p21.31

Richtung: Telomer → Zentromer

**Gen** : TCF19  
**Status** : Gen  
**Homology / vermutete Funktion** : DNA-bindendes Protein, wird in G<sub>1</sub>-S-Phase des Zellzyklus exprimiert, möglicher Transaktivierungsfaktor  
**Orientierung** : positiv  
**Konsensussequenz** : 1446851 bis 1451505  
**Länge (bp)** : 4654

**Gen** : Pou5F1  
**Status** : Gen  
**Homology / vermutete Funktion** : POU-type homeodomain-enthaltene, DNA bindendes Protein  
**Orientierung** : negativ  
**Konsensussequenz** : 1452065 bis 1458406  
**Länge (bp)** : 6341

**Gen** : NOB4  
**Status** : Pseudogen  
**Homology / vermutete Funktion** : unbekannt  
**Orientierung** : unbekannt  
**Konsensussequenz** : 1520774 bis 1524055  
**Länge (bp)** : 3281

**Gen** : HCGII-2  
**Status** : Pseudogen  
**Homology / vermutete Funktion** : Hemochromatosis Candidate Gene - Family  
**Orientierung** : negativ  
**Konsensussequenz** : 1539450 bis 1540364  
**Länge (bp)** : 914

**Gen** : HCGIV-2  
**Status** : Pseudogen  
**Homology / vermutete Funktion** : Hemochromatosis Candidate Gene - Family  
**Orientierung** : positiv  
**Konsensussequenz** : 1559474 bis 1559708  
**Länge (bp)** : 234

\*Alle Daten stammen aus der von der Chromosom 6 Kartierungsgruppe des Sanger Instituts veröffentlichten Gen-Liste.

## Anhang I: Material und Methoden

### I.2 Primer-Design

Richtung: Telomer → Zentromer

#### TCF19

Größe : 4654 bp  
Sequenzierter Bereich : 4701 bp

PCR-Primer	Richtung	Sequenz: 5' – 3'	Annealing-Temperatur
A1*	For	TGCCATAGGACGTGTTCC	60°C
B1*	Rev	TCTGATGATATCCCAGGTCC	
A2	For	GACCACAGCAGCCAAGGTGA	61°C
B2	Rev	GGCAAATATGGAGGACAAAA	
A3	For	AGGGATCCTTTGTAGGAAAG	60°C
B3	Rev	CTTAGGTCTGAATGCCAGCC	
A4	For	TTCTCCTACAGGTTTCCGGT	60°C
B4	Rev	TGGGCTCATTAAATCTAGGT	

#### POU5F1

Größe : 6341 bp  
Sequenzierter Bereich : 4500 bp

PCR-Primer	Richtung	Sequenz: 5' – 3'	Annealing-Temperatur
A1	For	ACTTGGGTATGAGCATTGGA	60°C
B1	Rev	TGGATCTCAGGGTCACAAGG	
A2	For	CCTGAAGATTTTCATTGTTG	58°C
B2	Rev	GGCTTATAGAAGGTGCTCGA	
A3	For	TTCAAGGCTCAGCAGTGACC	64°C
B3	Rev	CCTCCACCCATCCAGGGGGC	

#### NOB4

Größe : 3281 bp  
Sequenzierter Bereich : 3295 bp

PCR-Primer	Richtung	Sequenz: 5' – 3'	Annealing-Temperatur
A1	For	GGAGGAATTCCAAGGGGAAAG	63°C
B1	Rev	CCTGGAGCTTGTTTTAACTG	
A2	For	TTAGCCCAATGTTTTCCTTT	62°C
B2	Rev	TAAGCAATCCTCGTAGTGAG	
A3	For	TTACCCGATGCTTCCAAGCT	63°C
B3	Rev	CAGCATTTTCTATACCCAG	

Seite 2 zum Anhang I.2; Primer-Design

**HCGII-2**

Größe : 914 bp  
 Sequenzierter Bereich : ~ 900 bp

PCR-Primer		Richtung	Sequenz: 5' – 3'	Annealing-Temperatur
A1	For		TCAGCAACATAAGGCTGCAC	58°C
B1	Rev		TGCAAATGCTCAGAGTGCTA	

**HCGIV-2**

Größe : 234 bp  
 Sequenzierter Bereich : ~370 bp

PCR-Primer		Richtung	Sequenz: 5' – 3'	Annealing-Temperatur
A2	For		GGAGCCCATTAGTTTTAAGG	60°C
B2	Rev		TAAGAAAGTAGCAAAGGAGG	

**KIAA0055.hom\*\***

Größe : 3866 bp  
 Sequenzierter Bereich : 4000 bp

PCR-Primer		Richtung	Sequenz: 5' – 3'	Annealing-Temperatur
A	For		AAGTGGGCAAAGGATATAAACAG	58°C
B	Rev		CCCTTGCTGTCTTTCCTGAAG	
A1	For		AAAAGGCTCATATTCATGCAG	58°C
B1	Rev		TACATGAAGGCCTCAAGTGTC	
A2	For		CACTTTTTCAGGGTCAATTC	58°C
B2	Rev		ATTCCTTGGGTAGATACCC	

**P5-1**

Größe : 2618 bp  
 Sequenzierter Bereich : 1200 bp

PCR-Primer		Richtung	Sequenz: 5' – 3'	Annealing-Temperatur
A1	For		TAGATCAGCCAATCAGTGTC	58°C
B1	Rev		TTCCTGTCCTGCTCTCAGAC	

\* PCR-Primerpaar TCF19 A1/B1 wurden von Dr. Stefan Jenisch designed.

\*\* Primer-Konstruktion (PCR / Sequenzierung) und Durchführung der Sequenzierung durch Dr. Stefan Jenisch.

---

## Anhang I: Material und Methoden

### I.3 Sequenzier-Primer-Design

Richtung: Telomer → Zentromer

---

#### Sequenzier-Primer: Sequenz: 5' – 3'

---

TCF19	S1	GACGTGTTCCCTGAGTTTGC
	S2	TCTACACCTTCCACCCCC
	S3	TTAAGCAGGGCAGCTTTG
	R1	CCCAGGTCCTGTATGAGC
	S5a	AGCCAAGGTGAGCATTAAAGC
	S5b	GGGCAGTTCTATGTTGAATAATGT
	S6	TCACTTGAGCTCAGGAGTTC
	S7	ACTCCAGCTTGGGCGACAGAGCG
	S8	GGTTCAAGCTTGGGCAATAG
	R2	GGCAAATATGGAGGACAAAA
	S9	TGTAGGAAAGCACAAGAAAC
	S10	TGTTCCAACAAGTACGAGTC
	S11	GTTGGCGGAACTGGATGATG
	S12	AACCGGAGTGAGCATGTCCTGC
	R3	CTTAGGTCTGAATGCCAGCC
	S13	CAGGTTTCCGGTGACCCTTG
S14	ATAGGTCTGATAAATACCCC	
S15	TTCCTACTCTGTGGCTAGT	
S16	GTTCACAAAGATAGCAGAAG	
R3	TGGGCTCATTAATCTAGGT	
R3	ACCTTAGGTCTGAATGCCAG	
POU5F1	S1	TGAGCATTGGATATTCCCAT
	S2	AGTGCAGTGAAGTGAGGGCT
	S3	ACAGGGGAAAGAGATGGAGC
	S4	ACGGAGAGCTACGAGCCAGT
	RB1	TGGATCTCAGGGTCACAAGG
	S5	TTCATTGTTGTCAGCTTCCT
	S6	GGTGATCCTCTTCTGCTTCA
	S7	AGTTCTTTGCTGGGCGCGGT
	S8	GCTAAGTTCTGGGTTAATTA
	RB2	GGCTTATAGAAGGTGCTCGA
	S9	CAGTGACCTCCTGCGAAGAG
	S10	ATAATCCTGGAATGAGCACT
	S11	TCATGACCACCTCCCCACAC
	S12	AAATCTGAAGCCAGGTGTCCCGCC
	RB3	CCTCCACCCATCCAGGGGGC
	R2	GAGGCAACCTGGAGAATT
R5	CTCACCTGGGGGTTCTATT	
R6	CTCGTGATCTGCCACCT	
R7	GTGGGACCCTCAAAGCAA	
R9	GTGAGCTGGGTTTACCTCCA	
R10	CAGGGAGGGGTGTGTATCAA	

**Sequenzier-Primer: Sequenz: 5' – 3'**

NOB4	S1	AATTCCAAGGGGAAAGTGTT
	S2	TGTGTTGAACTGGCCACGCA
	S3	GTGGCGGGGACAGATATTG
	R1	CCTGGAGCTTGTTTTAACTG
	S4	CCTTTTTTGCATTTTGGACA
	S5	TCTACGGCATCATCCTGTAT
	S6	AGAAAAGAAAGATCTGGAGG
	R2	TAAGCAATCCTCGTAGTGAG
	S7	GCTTCCAAGCTCCCCATCTT
S8	GTGGTTTTCCACTCTGGGTG	
R3	CAGCATTTTTCTATACCCAG	
HCGII-2	S1	TCAGCAACATAAGGCTGCAC
	R1	GCAAATAAAAGTCCAGAAACAGG
	R2	TGCAAATGCTCAGAGTGCTA
KIAA0055.hom	S1	GGCAAAGGATATAAACAGAC
	S2	GGCTAAAGGTTCTTTGGAG
	S3	CTGGTTTAGTTCTGCAAAG
	S4	CAAATGAGAGGACAGGAC
	R1	TCCTGAAGTTCTTTTTCTTG
	S6	CATATTCATGCAGAACTGC
	S7	GCCGAGAAGTCTGTAGAG
	S8	CTGTTTCATATGTACCCACTG
	S9	ACATTTGGCTGATTATTTTC
	R2	GCCTCAAGTGTCTTAGAC
	S11	TTCAGGGTCAATTCAAATC
	S12	CTTGCCTTGTCACAGTATG
	S13	GGCCATTTAGAGGAATTC
	S14	TTAACATGTGGTCCTTTC
	S15	CTGTGGAGAAATAGGAACAC
	S16	AAGGGGTCAAATAGTATTTTC
HCGIV-02	S1	GGAGCCCATTAGTTTTAAGG
	R	TAAGAAAGTAGCAAAGGAGG
P5-1	S1	AATCAGTGTCGCCGCGGTTTC
	S2	GCATTCTAGAACACAGGTAA
	S3	CACACGAACTCCTCCTACCC
	S4	GAACTGTAGAGATGTCTTTGAT
	R	TTCCTGTCCTGCTCTCAGAC

## Anhang I: Material und Methoden

### I.4 Analysierte Assay-on-Demand der Firma Applied Biosystem;

Richtung: Telomer ► Zentromer

Bereich MHC	Lokus	ABI Assay-Identifikation	NCBI SNP-Datenbank
<b>Klasse I</b>	LOC352121	hCV8942168	rs1264513
	....	hCV3273734	rs2021719
	NRM	hCV2436936	rs1075496
	DDR1	hCV2436997	rs1264318
	DKFZP	hCV2436975	rs1264299
	....	hCV2436905	rs3131785
	....	hCV2436735	rs2517489
	....	hCV11197333	rs6457327
	C6orf15, STG	hCV2436650	
	C6orf15, STG	hCV8941548	rs1265052
	C6orf16, SEEK	hCV2438369	
	C6orf16, SEEK	hCV2438368	
	C6orf16, SEEK	hCV2438347	
	C6orf17, SPR	hCV2438331	rs1265099
	C6orf17, SPR	hCV2438324	rs1265092
	C6orf17, SPR	hCV2438322	rs1966
	HCR	hCV2438318	rs1265078
	HCR	hCV2438314	rs1265071
	HCR	hCV2452236	rs1265112
	HCR	hCV2452235	rs130078
	HCR		rs1265109
	HCR	hCV2452223	rs2073716
	TCF19	hCV2452211	rs2073723
	TCF19	hCV11197516	rs1841
	POU5F1	hCV2452203	rs1265158
	POU5F1	hCV8941350	rs887465
	POU5F1	hCV2452192	
	MICA	hCV2995710	rs2853971
	MICA	hCV16030740	rs2524276
	P5-1	hCV2995657	rs3094228
	P5-1	hCV8693871	rs1055569
	P5-1	hCV2995611	rs2516513
	<b>Klasse III</b>	BAT1	hCV3273613
BAT1		hCV16175106	rs2239526
IkBL		hCV3273586	rs2071592
LTA		hCV7514865	rs1800683
LTA		hCV2451908	
LTB		hCV7514890	rs769178



Seite 2 zum Anhang I.4 Assay-on-Demand

<b>Bereich MHC</b>	<b>Lokus</b>	<b>ABI Assay-Identifikation</b>	<b>NCBI SNP-Datenbank</b>
<b>Klasse III</b>	BAT2	hCV3273977	rs1046089
	BAT2	hCV3273976	rs2261033
	DDAH2	hCV3233672	
	C6orf29	hCV790108	rs660594
	SKIV2L	hCV940306	rs444921
	TNXB	hCV3293900	rs169496
	TNXB	hCV11409075	rs2071293
	TNXB	hCV3293884	rs429150
	CREBL1	hCV3293878	rs204888
	AGER/PBX2	hCV3293837	rs1800624
	NOTCH4	hCV2412441	rs384247
	NOTCH4	hCV3293767	
	C6orf10	hCV2495657	rs560505
	C6orf10	hCV2495574	rs552339
<b>Klasse II</b>	BTNL2	hCV2488453	rs2076524

## Anhang I: Material und Methoden

### I.5 Analysierte Assays-by-Design; Richtung: Telomer ► Zentromer

Bereich MHC Lokus / Marker	PCR-Primer-Sequenzen 5' – 3'	Marker-Sequenzen / Fluoreszenzfarbstoff 5' – 3'	
		Allel 1 Allel 2	VIC® FAM™
<b>Klasse I</b>			
<b>CDSN</b>			
CDSN001215	FP: cctgetctccctccagttctc RP: ccgcagggatgtaggg	ccagcgggttctag ccagcagttctagc	
CDSN001243	FP: ccagttctcagtcctccagc RP: agcactccgcaggg	tgtaggggtaaccg tgtagggtaaccg	
<b>HCR</b>			
HCG0000269	FP: gggcctctagcctcatcttctg RP: cgttcggcagctgcaaga	aggtcggctcct aggtctggctcctg	
HCG0001667	FP: agactggcagcctcctctg RP: gggctgcagctggaggta	ctgctggcctgg ctggcactggcgtg	
HCG0002122	FP: tggcactgctgctgcta RP: gccccaggcctccaga	ttagcactctgcacct tgttcagcttctgcac	
HCG0002271	FP: ctccaactgtcagctgcttagc RP: aaagaggaagctgtttgtcaagga	ccagctcaatcc tccagctgcaatc	
<b>TCF19</b>			
TCF19-694	FP: ccaggctggaatgagtaaggt RP: tgatgggagtatggaggca	cagcagggtcttctg cagcagggtcttctg	
TCF19-2407	FP: ggagacctcctgaccttgg RP: ttgactcgtacttgttgaacatga	cctgaagggtccccag cctgaagggtccccag	
TCF19-2804	FP: ggcggaaactggatgatgaga RP: gtttctcctgggctccataagg	tctcaggaggctcac ttctcaggaggctcac	
06TCF-3116	FP: aacaaccggagtgagcatgt RP: ccccatccttaggcactagaagaat	cctgcttttacatcatat ctgcttttacatcatat	
<b>POU5F1</b>			
06Pou5F1_362	FP: aggcacctcagtttgaatgca RP: tgtactcctcggcctcttcc	ccctgtctctgtcacca cctgtctcgtcacca	
06Pou5F1_597	FP: tggcgccggttacagaac RP: ggatagaatgtccaagcagagtea	ccacctgcagtgaa ccacctgcagtgaa	
06Pou5F1_1577	FP: cctctccctactccttctcat RP: gtccctctgcagattctga	cagactctaccctcaccc caga_ctaccctcaccc	
06Pou5F1_1901	FP: cgtgtggccccaaggaaatag RP: gttaggtgggcagcttgaa	tctgtagaagtgcactctg ctgtagaagtgcactctg	
06Pou5F1_6075	FP: gccccatcggagttgct RP: cggcttgagacctctca	cctgcttcacctcag ctgcttcacctcag	

Bereich MHC Lokus / Marker	PCR-Primer-Sequenzen 5' – 3'	Marker-Sequenzen / Fluoreszenzfarbstoff	
		Allel 1 Allel 2	VIC® FAM™
<b>NOB4</b>			
06NOB4-001	FP: tgttactaactttggaagatcccattca RP: gggttcagatattttattagctgctgagt	agcttcttcagtagatgatt cttcttcagtgtagatt	
<b>HCGII-2</b>			
06HCGII201	FP: ttctccttcttctcattataccaaaca RP: ggaatggatgatgcaagacaatt	acatgaagtctctgctgc acatgaggtctctgctg	
06HCGII203	FP: gcaatacagctgcattcagtggt RP: caagaaactgtaaatatattttgtgctcat	aaccccaacttg aacccagcttg	
HCGII2002	FP: gtgatctatatacaatcctccaagg RP: catcaggtatgagaaaacaagtg	acagtcattcattccag acagtcattcca	
<b>KIAA0055.hom</b>			
06KIAA_587	FP: cctgtattttacattctctcagtggtcct RP: cattccccctcttctccatgt	cagtccaggagtcact atcagtccagtagtcact	
06KIAA_788	FP: aaagatgcactttcaagtgggaaag RP: tggagtgcacttagcatttggta	ccttgggccttggtt ccttgggc_tttggtt	
06KIAA_823	FP : gtgcaatgggccttggg RP : tggagtgcacttagcatttggta	tataaaaactggttccttgct aaaactggtctttgct	
06KIAA_001	FP: gaggtctggaccagctcttactg RP: ggttgaaataatcagccaaatgtg	aggaaactggttatatgaa aggaaatgctgttatat	
06KIAA_002	FP: cccgtggacaggacagtatagatat RP: tctgcaactggtaattgatctc	caatggtgatttaag tggtagcttaaggctc	
06KIAA_003	FP: gcaggatacagtcaagattcacaag RP: tttctctttatgtcttccgattatcag	tggctcccgaagat atggtctccggaaga	
<b>MICA</b>			
MICA0001*	FP: acatctggatggcagccctt RP: gctttgccctgcatttctg	ctgcgctatgacagg tgcgctgtgacagg	
MICA0005*	FP: cccagagccccacagtctt RP: agaaacctgactgcacagatc	catcccaggacagca atcccggacagca	
MICA0007*	FP: tgcaggaactacggcgatatcta RP: agaattggaggagaggagagc	aggagaaagggtaccg aggagaaagggtaccg	
MICAE4_A8561G**	FP: ctttgagccacgacacca RP: ggctcaccagaggcaca	accaggattgccaggagaggagc accaggattgccaggagaggagca	
<b>P5-1</b>			
P5-1_824	FP: acacgaactcctcctaccctca RP: gacagtatgtgccagagaccagc	atgcctcctcctgtgga atgcctcctcctggg	
P5-1_913	FP: aggatctattacctgtgctggag RP: gccattgaactacacattacagc	ccaattcccctgtggc caattcccctggggc	

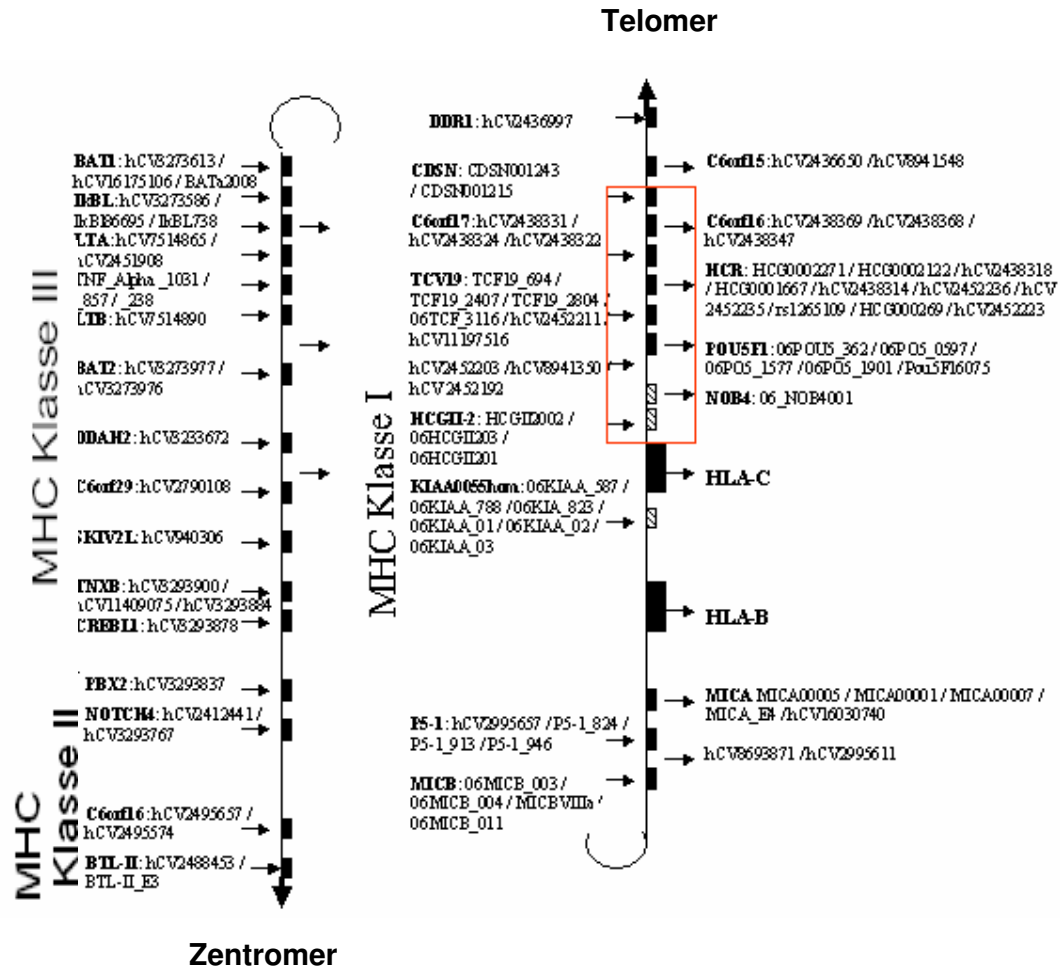
Bereich MHC Lokus / Marker	PCR-Primer-Sequenzen 5' – 3'	Marker-Sequenzen / Fluoreszenzfarbstoff 5' – 3'	
		Allel 1	VIC® FAM™
<b>P5-1</b>			
P5-1_946	FP: gctggtctctggacacatactgtc RP: cagggtagaaggctcctggattcta	ttcaatgggcactc <u>gt</u> ttcaatgggcactc <u>at</u>	
<b>MICB</b>			
MICB0VIIIa*	FP: gcattccctccaggagattagg RP: cgggagcctctggtgct	tcttcattg <u>g</u> atctcac tgtcttcattg <u>c</u> atctc	
06MICB_003*	FP: gcagaaacgcagggcaaa RP: tgtcaagtctcggctctctgtgt	caggacatt <u>tt</u> tctg aggacatt <u>ct</u> tctgcc	
06MICB_004*	FP: ccagggacagtgggcagaa RP: tgtcaagtctcggctctctgtgt	ccaggctct <u>t</u> agctc caggctc <u>c</u> agctcc	
06MICB_01*	FP: ctggctctgccctttctctc RP: cggtgatgtgccctctga	tgcagg <u>t</u> gacattc tgcag <u>a</u> tgacattca	
<b>Klasse III</b>			
<b>TNF-Alpha</b>			
06_TNF_238	FP: cagtcagtgccccagaagac RP: agcatcaaggatacccctcaca	ctccctgctct <u>g</u> atcc ccctgctc <u>c</u> gattc	
TNF-Alpha-1031**	FP: gatgggactcaccaggtgagg RP: ccagaggtctcctgtaacca	agcaaaggagaagctgagaagac <u>c</u> gaaggaaaag agcaaaggagaagctgagaagatgaaggaaaagtc	
TNF-Alpha-857**	FP: tccagggtctgaaagtcga RP: tgctggtttcagcttggt	agtatggggacccccctta <u>a</u> tgaaga tatggggacccccctta <u>a</u> cgaaaga	
<b>BAT1</b>			
BAT1a2008	FP: agtagaggggaagcctgcaacc RP: acggattgtagcgaaggcc	aagtgaaggca <u>c</u> attt aagtgaaggca <u>g</u> attt	
<b>IkBL</b>			
IkBL86695	FP: ccacatgcatggtaagtgtggtag RP: gatgggatttcaccatgttagcc	caggagatca <u>c</u> gaccat tcaggagatca <u>a</u> gacc	
IkBL738**	FP: cgggaacatgccagaagt RP: ggctggagccctcagca	tcgac <u>a</u> ggatccctctg tcgac <u>g</u> ggatccctctgctctc	
<b>BTNL2</b>			
BTL-II_E3**	FP: ccagagccccaggtgtattg RP: tggaccaagcaggacacaga	catcgcatccaagat <u>g</u> aagatggcct catcgcatccaagat <u>a</u> aagatggcctgtt	

\* Marker-Design durch ABI entsprechend Angaben von Dr. Stefan Jenisch.

\*\* Von der I. Medizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, zur Verfügung gestellte Marker

## Anhang I: Material und Methoden

## I.6 Markerverteilung (Chromosom 6p21.31)



## Anhang II: Ergebnisse

### II.I.1 Überprüfung der Exon-Strukturen analysierter Sequenzen

Richtung: Telomer → Zentromer

#### Anhang II.I.1: Exonstrukturen

Gen	Programm	G	Str	Feature	Start	Ende	Länge	Protein
TCF19	FGENESH	1	pos.	1 CDSF	378	615	237	345 AA
	GENSCAN			2 CDSi	2320	2878	558	
				3 CDSi	3350	3590	240	
POU5F1	FGENESH	1	neg.	1 CDSi	261	527	266	321 / 249 AA
	GENSCAN			2 CDSi	790	948	158	
				3 CDSi	1233	1363	130	
	FGENESH			4 CDSf	5892	6300	408	
				GENSCAN	4 CDSf	5892	6084	
	NOB4			FGENESH	1	neg.	1 CDSo	
GENSCAN								
HCGII-2	FGENESH	/						
	GENSCAN							
HCGIV-02	FGENESH	/						
	GENSCAN							

G = vorhergesagte Anzahl von Genen, beginnend mit Sequenzstart; Str = DNA-Strang(+ für direkt / - für komplementär); Feature = Art der codierenden Sequenz: CDSf: 1. Exon (beginnend mit Start-Codon; CDSi: Internes Exon; CDSl: letztes, codierendes Segment (endet mit Stop-Codon); Start und Ende = Position der Feature; ORF = Beginn des ersten, kompletten Codons bis Ende des letzten Codons; AA = Aminosäure

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.1 Übersicht über die Gesamtergebnisse der über ein Hausprogramm der I. Medizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, automatisiert berechneten Chiquadrat-Werte. Grundlage waren die vom Institut für Dermatologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, rekrutierten, an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen, sowie gesunde Kontrollen (Kohorte I).

**Anhang II.II.1: Berechnung Chiquadrat-Werte mittels automatisierten Tests anhand Allel-Frequenzen, Kohorte I + II (Deutschland)**

Bereich	Marker	Allel-Frequenz Kontrollen		Allel-Frequenz Psoriatischer		Chiquadrat	P-Wert
		1	2	1	2		
...	HCV8942168	0,4024	0,5976	0,4010	0,5990	0.0027	0.9625
...	HCV3273734	0,4590	0,5410	0,4197	0,5803	1.9836	0.1627
<b>NRM</b>	HCV2436936	0,4069	0,5931	0,4919	0,5081	9.3240	0.0023
<b>DDR1</b>	hCV2436997	0,8146	0,1854	0,8247	0,1753	0.2188	0.6497
<b>DKFZP</b>	HCV2436975	0,6446	0,3554	0,6786	0,3214	1.6477	0.2037
...	HCV2436905	0,4727	0,5273	0,3974	0,6026	7.3393	0.0068
...	HCV2436735	0,3946	0,6054	0,3236	0,6764	6.9910	0.0082
...	HCV11197333	0,3652	0,6348	0,2795	0,7205	10.4716	0.0012
<b>C6orf15</b>	HCV2436650	0,0828	0,9172	0,0684	0,9316	0.9467	0.3326
	HCV8941548	0,5438	0,4562	0,4560	0,5440	9.8183	0.0017
<b>CDSN</b>	CDSN001243	0,5360	0,4640	0,6078	0,3922	6.7110	0.0096
	CDSN001215	0,0597	0,9403	0,0831	0,9169	2.6551	0.1037
<b>C6orf16</b>	HCV2438369	0,1841	0,8159	0,3252	0,6748	33.7404	0.0001
	HCV2438368	0,2515	0,7485	0,1940	0,8060	5.9853	0.0145
	HCV2438347	0,8144	0,1856	0,6759	0,3241	32.5504	0.0001
<b>C6orf17</b>	HCV2438331	0,5448	0,4552	0,6003	0,3997	3.9567	0.0467
	HCV2438324	0,6596	0,3404	0,5137	0,4863	27.3852	0.0001
	hCV2438322	0,8208	0,1792	0,8560	0,1440	2.9185	0.0880
<b>HCR</b>	HCG0002271	0,6701	0,3299	0,5343	0,4657	24.7018	0.0001
	HCG0002122	0,8258	0,1742	0,8807	0,1193	7.6261	0.0058
	hCV2438318	0,3333	0,6667	0,4672	0,5328	23.7222	0.0001
	HCG0001667	0,7560	0,2440	0,6000	0,4000	35.7443	0.0001
	hCV2438314	0,7508	0,2492	0,5911	0,4089	36.6910	0.0001
	hCV2452236	0,3303	0,6697	0,4704	0,5296	26.0430	0.0001
	hCV2452235	0,2530	0,7470	0,1974	0,8026	5.5993	0.0180
	rs1265109	0,2440	0,7560	0,2199	0,7801	1.0511	0.3048
	HCG0000269	0,7522	0,2478	0,6148	0,3852	28.0540	0.0001
	hCV2452223	0,9805	0,0195	0,9838	0,0162	0.2031	0.6608
<b>TCF19</b>	TCF19_694	0,7492	0,25076	0,5958	0,4042	34.0409	0.0001
	TCF19_2407	0.8923	0.1077	0.8918	0.1082	0.0008	0.9827
	TCF19_2804	0,9199	0,0801	0,9369	0,0631	1.3771	0.2442
	06TCF_3116	0,8379	0,1621	0,8893	0,1107	7.0843	0.0078
	hCV2452211	0,7561	0,2439	0,8105	0,1895	5.5160	0.0189
	hCV11197516	0,9350	0,0650	0,9385	0,0615	0.0648	0.8213

**Anhang II.II.1: Berechnung Chiquadrat-Werte mittels automatisierten Tests anhand Allel-Frequenzen, Kohorte I + II (Deutschland)**

Bereich	Marker	Allel-Frequenz		Allel-Frequenz		Chiquadrat	P-Wert	
		Kontrollen	Psoriatiker	1	2			
<b>Pou5F1</b>	06Pou5_362	0,6641	0,3359	0,7394	0,2606	8.5490	0.0035	
	06Pou5_597	0,3380	0,6620	0,2639	0,7361	8.1678	0.0043	
	06Pou5_1577	0,6615	0,3385	0,7370	0,2630	8.5509	0.0035	
	06Pou5_1901	0,6657	0,3343	0,7370	0,2630	7.7170	0.0055	
	06Pou5_16075	0,2515	0,7485	0,3997	0,6003	31.5724	0.0001	
	hCV2452203	0,6867	0,3133	0,5410	0,4590	28.5839	0.0001	
	hCV8941350	0,7615	0,2385	0,6073	0,3927	34.7199	0.0001	
	hCV2452192	0,4141	0,5859	0,3388	0,6612	7.6391	0.0058	
	<b>NOB4</b>	NOB4-001	0,1491	0,8509	0,1181	0,8819	2.6039	0.1074
	<b>HCGII-2</b>	HCGII20002	0,9065	0,0935	0,9330	0,0670	3.0254	0.0824
<b>KIAA0055.hom</b>	06HCGII203	0,8470	0,1530	0,8734	0,1266	1.8258	0.1808	
	06HCGII201	0,2805	0,7195	0,4577	0,5423	42.8936	0.0001	
	06KIAA_587	0,8328	0,1672	0,8571	0,1429	1.4277	0.2361	
	06KIAA_788	0,7087	0,2913	0,7702	0,2298	6.1738	0.0130	
	06KIAA_823	0,8338	0,1662	0,6590	0,3410	51.4694	0.0001	
	06KIA_01	0,8354	0,1646	0,6532	0,3468	54.9965	0.0001	
	06KIA_02	0,3064	0,6936	0,2256	0,7744	10.5778	0.0011	
	06KIA_03	0,8318	0,1682	0,8562	0,1438	1.4358	0.2348	
	<b>MICA</b>	MICA000005	0,8608	0,1392	0,7262	0,2738	35.6186	0.0001
	MICA000001	0,7334	0,2666	0,6401	0,3599	12.9689	0.0003	
MICA000007	0,9323	0,0677	0,9614	0,0386	5.1752	0.0229		
MICA_E4_A8561G	0,5808	0,4191	0,5293	0,4707	3.4405	0.0639		
hCV16030740	0,0459	0,9541	0,0341	0,9659	1.1422	0.2859		
hCV2995657	0,2003	0,7997	0,1699	0,8301	1.9291	0.1687		
<b>P5-1</b>	P5-1_824	0,0545	0,9455	0,0425	0,9575	0.9804	0.3234	
	P5-1_913	0,9738	0,0262	0,8676	0,1324	49.4135	0.0001	
	P5-1_946	0,1058	0,8942	0,1095	0,8905	0.0438	0.8543	
	hCV8693871	0,6511	0,3490	0,6672	0,3328	0.3634	0.5553	
hCV2995611	0,7763	0,2237	0,6656	0,3344	19.4130	0.0001		
<b>MICB</b>	06MICB_003	0,2152	0,7848	0,1737	0,8263	3.4855	0.0621	
	06MICB_004	0,6896	0,3104	0,6990	0,3010	0.1314	0.7248	
	MICB0VIIIa	0,8899	0,1101	0,8867	0,1133	0.0322	0.8731	
	06MICB_011	0,9685	0,0315	0,8635	0,1365	46.7256	0.0001	
<b>BAT1</b>	hCV3273613	0,2703	0,7297	0,2134	0,7866	5.5354	0.0187	
	hCV16175106	0,7331	0,2669	0,7829	0,2171	42376	0.0396	
	BAT1a2008	0,3209	0,6791	0,2899	0,7101	1.4182	0.2376	
<b>IkBL</b>	hCV3273586	0,2929	0,7071	0,2646	0,7354	1.2636	0.2635	
	IkBL86695	0,2121	0,7879	0,2304	0,7696	0.6126	0.440	
	IkBL_T738C	0,0547	0,9453	0,0378	0,9622	2.0535	0.1552	
<b>LTA</b>	hCV7514865	0,3187	0,6813	0,2951	0,7049	0.8340	0.3656	
	hCV2451908	0,2638	0,7362	0,3029	0,6971	2.3870	0.1242	



**Anhang II.II.1: Berechnung Chiquadrat-Werte mittels automatisierten Tests anhand Allel-Frequenzen, Kohorte I + II (Deutschland)**

Bereich	Marker	Allel-Frequenz		Allel-Frequenz		Chiquadrat	P-Wert
		Kontrollen		Psoriatischer			
		1	2	1	2		
<b>TNF-Alpha</b>	TNF_alpha_-238	0,0386	0,9614	0,1445	0,8555	43.1613	0.0001
	TNF_alpha_-857	0,0938	0,9062	0,1107	0,8893	0.9844	0.3223
	TNF_alpha_-1031	0,2122	0,7878	0,2542	0,7458	3.1464	0.0765
<b>LTB</b>	hCV7514890_	0,9056	0,0944	0,8938	0,1062	0.4840	0.4900
<b>BAT2</b>	hCV3273977	0,3776	0,6224	0,3464	0,6536	1.3426	0.2499
	hCV3273976	0,5419	0,4581	0,5831	0,4169	2.1999	0.1407
<b>DDAH2</b>	hCV3233672	0,3921	0,6079	0,3607	0,6393	1.3324	0.2516
<b>C6orf29</b>	hCV790108	0,5616	0,4384	0,5489	0,4511	0.2087	0.6568
<b>SKIV2L</b>	hCV940306	0,9162	0,0838	0,9039	0,0961	0.5888	0.4489
<b>TNXB</b>	hCV3293900	0,9174	0,0826	0,9104	0,0896	0.1989	0.6638
	hCV11409075	0,3112	0,6888	0,3003	0,6997	0.1770	0.6798
	hCV3293884	0,5105	0,4895	0,6120	0,3880	13.4031	0.0002
<b>CREBL1</b>	hCV3293878	0,9348	0,0652	0,9283	0,0717	0.2119	0.6545
<b>AGER/PBX2</b>	hCV3293837	0,7229	0,2771	0,7443	0,2557	0.7474	0.3931
<b>NOTCH4</b>	hCV2412441	0,1205	0,8795	0,1173	0,8827	0.0315	0.8742
	hCV3293767	0,6422	0,3578	0,5844	0,4156	4.5196	0.0335
<b>C6orf10</b>	hCV2495657	0,5657	0,4343	0,5847	0,4153	0.4742	0.4941
	hCV2495574	0,4416	0,5584	0,4172	0,5828	0.7791	0.3828
<b>BTNL2</b>	hCV2488453	0,7425	0,2575	0,7264	0,2736	0.4235	0.5202
	BTL-II_E3	0,3442	0,6558	0,3555	0,6445	0.1809	0.6769

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.2 Gesamtübersicht über die Ergebnisse der mittels des Programms Haplo\_ccmap ermittelten globalen Chiquadrat-Werte, sowie die für die Likelihood Ratio (LR) durch Chiquadrat -Test ermittelten P-Werte. Diese sind Grundlage für die graphische Darstellung der Analyseergebnisse. Grundlage waren die vom Institut für Dermatologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, rekrutierten, an Psoriasis vulgaris erkrankten Personen, sowie gesunde Kontrollen (Kohorte I).

**Anhang II.II.2: Gesamtübersicht: mit Haplo-ccmap anhand der Allel-Frequenzen ermittelte Chiquadrat-Werte, Kohorte I + II (Deutschland)**

Bereich	Marker	Allel-Frequenz Kontrollen		Allel-Frequenz Psoriatiker		Chiquadrat	P-Wert	Odds Ratio		LR
		1	2	1	2			Allel 1	Allel 2	P-Wert
...	hCV8942168	0,4072	0,5928	0,4010	0,5990	0,0530	0,8179	0,97	1,03	0,8179
...	hCV3273734	0,4565	0,5435	0,4197	0,5803	1,8047	0,1791	0,89	1,16	0,1791
<b>NRM</b>	hCV2436936	0,4127	0,5873	0,4919	0,5081	8,4064	0,0037	1,38	0,73	0,0037
<b>DDR1</b>	hCV2436997	0,8137	0,1863	0,8247	0,1753	0,2695	0,6037	1,08	0,93	0,6037
<b>DKFZP</b>	hCV2436975	0,6431	0,3569	0,6786	0,3214	1,8616	0,1724	1,17	0,85	0,1724
...	hCV2436905	0,4735	0,5265	0,3974	0,6026	7,7692	0,0053	0,73	1,36	0,0053
...	hCV2436735	0,3931	0,6069	0,3236	0,6764	6,9583	0,0083	0,74	1,35	0,0083
...	hCV11197333	0,3683	0,6317	0,2795	0,7205	11,5917	0,0007	0,67	1,5	0,0007
<b>C6orf15</b>	hCV2436650	0,0819	0,9181	0,0684	0,9316	0,8627	0,353	0,82	1,21	0,353
	hCV8941548	0,5418	0,4582	0,456	0,544	9,7388	0,0018	0,71	1,41	0,0018
<b>CDSN</b>	CDSN001243	0,5346	0,4654	0,6078	0,3922	7,2283	0,0072	1,35	0,74	0,0072
	CDSN001215	0,0579	0,9421	0,0831	0,9169	3,2665	0,0707	1,47	0,68	0,0707
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	0,1809	0,8191	0,3252	0,6748	37,102	1,12E-09	2,18	0,46	1,12E-09
	hCV2438368	0,25	0,75	0,194	0,806	5,8781	0,0153	0,72	1,38	0,0153
	hCV2438347	0,8186	0,1814	0,6759	0,3241	36,3037	1,69E-09	0,46	2,16	1,69E-09
<b>C6orf17</b>	hCV2438331	0,5442	0,4558	0,6003	0,3997	4,181	0,0409	1,26	0,79	0,0409
	hCV2438324	0,6625	0,3375	0,5137	0,4863	29,6254	5,24E-08	0,54	1,86	5,24E-08
	hCV2438322	0,825	0,175	0,856	0,144	2,3679	0,1239	1,26	0,79	0,1239
<b>HCR</b>	HCG0002271	0,6722	0,3278	0,5343	0,4657	26,5028	2,63E-07	0,56	1,79	2,61E-07
	HCG0002122	0,8255	0,1745	0,8807	0,1193	7,946	0,0048	1,56	0,64	0,0048
	hCV2438318	0,3305	0,6695	0,4672	0,5328	25,7384	3,90E-07	1,78	0,56	3,90E-07
	HCG0001667	0,7541	0,2459	0,6	0,4	36,3228	1,67E-09	0,49	2,04	1,63E-09
	hCV2438314	0,7493	0,2507	0,5911	0,4089	37,5178	9,05E-10	0,48	2,07	9,05E-10
	hCV2452236	0,3283	0,6717	0,4704	0,5296	27,9105	1,27E-07	1,82	0,55	1,27E-07
	hCV2452235	0,2542	0,7458	0,1974	0,8026	6,0199	1,41E-02	0,72	1,39	1,41E-02
	rs1265109	0,2424	0,7576	0,2199	0,7801	0,9442	3,31E-01	0,88	1,14	3,31E-01
	HCG0000269	0,7534	0,2466	0,6148	0,3852	29,7537	4,91E-08	0,52	1,91	4,82E-09
	hCV2452223	0,9778	0,0222	0,9838	0,0162	0,6286	4,28E-01	1,38	0,73	4,28E-01
<b>TCF19</b>	TCF19_694	0,7486	0,2514	0,5958	0,4042	35,1732	3,02E-09	0,5	2,02	2,90E-09
	TCF19_2407	0,8906	0,1094	0,8918	0,1082	0,0048	9,44E-01	1,01	0,99	9,50E-01
	TCF19_2804	0,9232	0,0768	0,9369	0,0631	0,9499	3,30E-01	1,24	0,81	3,28E-01
	06TCF_3116	0,8366	0,1634	0,8893	0,1107	7,6616	5,64E-03	1,57	0,64	5,34E-03
	hCV2452211	0,7549	0,2451	0,8105	0,1895	5,943	1,48E-02	1,39	0,72	1,48E-02
	hCV11197516	0,9399	0,0601	0,9385	0,0615	0,0114	9,15E-01	0,98	1,02	9,15E-01

**Anhang II.II.2: Gesamtübersicht: mit Haplo-cmap anhand der Allel-Frequenzen  
ermittelte Chiquadrat-Werte, Kohorte I + II (Deutschland)**

Bereich	Marker	Allel-Frequenz Kontrollen		Allel-Frequenz Psoriatiker		Chiquadrat	P-Wert	Odds Ratio		LR P-Wert
		1	2	1	2			Allel 1	Allel 2	
<b>Pou5F1</b>	06Pou5_362	0,6671	0,3329	0,7394	0,2606	8,1796	4,20E-03	1,42	0,71	4,20E-03
	06Pou5_597	0,3343	0,6657	0,2639	0,7361	7,6648	5,60E-03	0,71	1,4	5,60E-03
	06Pou5_1577	0,6648	0,3352	0,737	0,263	8,1258	4,40E-03	1,41	0,71	4,40E-03
	06Pou5_1901	0,6685	0,3315	0,737	0,263	7,3778	6,60E-03	1,39	0,72	6,60E-03
	06Pou5_16075	0,2521	0,7479	0,3997	0,6003	32,6597	1,10E-08	1,98	0,51	1,09E-08
	hCV2452203	0,6833	0,3167	0,541	0,459	28,3046	1,03E-07	0,55	1,83	1,03E-07
	hCV8941350	0,7599	0,2401	0,6073	0,3927	35,3841	2,71E-09	0,49	2,05	2,58E-09
	hCV2452192	0,4122	0,5878	0,3388	0,6612	7,5189	6,10E-03	0,73	1,37	6,10E-03
	<b>NOB4</b>	NOB4-001	0,1504	0,8496	0,1181	0,8819	2,922	8,74E-02	0,76	1,32
<b>HCGII-2</b>	HCGII20002	0,9041	0,0959	0,933	0,067	3,6617	5,57E-02	1,48	0,68	5,57E-02
	06HCGII203	0,8445	0,1555	0,8734	0,1266	2,2466	1,34E-01	1,27	0,79	1,34E-01
	06HCGII201	0,2831	0,7169	0,4577	0,5423	43,3216	4,64E-11	2,14	0,47	4,64E-11
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_587	0,8314	0,1686	0,8571	0,1429	1,6437	2,00E-01	1,22	0,82	2,00E-01
	06KIAA_788	0,7055	0,2945	0,7702	0,2298	7,0457	7,90E-03	1,4	0,71	7,90E-03
	06KIAA_823	0,8352	0,1648	0,659	0,341	54,8431	1,31E-13	0,38	2,62	1,31E-13
	06KIA_01	0,8366	0,1634	0,6532	0,3468	58,4532	2,08E-14	0,37	2,72	2,08E-14
	06KIA_02	0,3028	0,6972	0,2256	0,7744	10,0381	1,50E-03	0,67	1,49	1,50E-03
	06KIA_03	0,831	0,169	0,8562	0,1438	1,5845	2,08E-01	1,21	0,83	2,08E-01
	<b>MICA</b>	MICA000005	0,8577	0,1423	0,7262	0,2738	35,4318	2,64E-09	0,44	2,27
	MICA000001	0,7278	0,2722	0,6401	0,3599	11,8535	6,00E-04	0,67	1,5	6,00E-04
	MICA000007	0,932	0,068	0,9614	0,0386	5,4129	2,00E-02	1,82	0,55	2,00E-02
	MICA_E4_A8561G	0,5817	0,4183	0,5293	0,4707	3,6906	5,47E-02	0,81	1,24	5,47E-02
	hCV16030740	0,0452	0,9548	0,0341	0,9659	1,0552	3,04E-01	0,75	1,34	3,04E-01
	hCV2995657	0,2062	0,7938	0,1699	0,8301	2,8155	9,34E-02	0,79	1,27	9,34E-02
<b>P5-1</b>	P5-1_824	0,056	0,944	0,0425	0,9575	1,2561	2,62E-01	0,75	1,34	2,62E-01
	P5-1_913	0,9729	0,0271	0,8676	0,1324	51,4968	7,17E-13	0,18	5,48	7,17E-13
	P5-1_946	0,1076	0,8924	0,1095	0,8905	0,0122	9,12E-01	1,02	0,98	9,12E-01
	hCV8693871	0,6537	0,3463	0,6672	0,3328	0,2652	6,07E-01	1,06	0,94	6,07E-01
	hCV2995611	0,777	0,223	0,6656	0,3344	20,5135	5,92E-06	0,57	1,75	5,92E-06
<b>MICB</b>	06MICB_003	0,2087	0,7913	0,1737	0,8263	2,6042	1,07E-01	0,8	1,25	1,07E-01
	06MICB_004	0,6831	0,3169	0,699	0,301	0,3871	5,34E-01	1,08	0,93	5,34E-01
	MICB0VIIIa	0,8898	0,1102	0,8867	0,1133	0,0323	8,57E-01	0,97	1,03	8,57E-01
	06MICB_011	0,9667	0,0333	0,8635	0,1365	47,368	5,88E-12	0,22	4,59	5,88E-12
<b>BAT1</b>	hCV3273613	0,2616	0,7384	0,2134	0,7866	4,1532	4,16E-02	0,77	1,31	4,16E-02
	hCV16175106	0,7408	0,2592	0,7829	0,2171	3,1745	7,48E-02	1,26	0,79	7,48E-02
	BAT1a2008	0,3218	0,6782	0,2899	0,7101	1,5596	2,12E-01	0,86	1,16	2,12E-01
<b>IKBL</b>	hCV3273586	0,2946	0,7054	0,2646	0,7354	1,4655	2,26E-01	0,86	1,16	2,26E-01
	IKBL86695	0,2163	0,7837	0,2304	0,7696	0,374	5,41E-01	0,86	1,16	5,41E-01
	IKBL_T738C	0,2163	0,7837	0,2304	0,7696	0,374	5,41E-01	1,08	0,92	5,41E-01
<b>LTA</b>	hCV7514865	0,3221	0,6779	0,2951	0,7049	1,121	2,90E-01	0,88	1,13	2,90E-01
	hCV2451908	0,262	0,738	0,3029	0,6971	2,7168	9,93E-02	1,22	0,82	9,93E-02

**Anhang II.II.2: Gesamtübersicht: mit Haplo-cmap anhand der Allel-Frequenzen  
ermittelte Chiquadrat-Werte, Kohorte I + II (Deutschland)**

Bereich	Marker	Allel-Frequenz Kontrollen		Allel-Frequenz Psoriatiker		Chiquadrat	P-Wert	Odds Ratio		LR
		1	2	1	2			Allel 1	Allel 2	P-Wert
<b>TNF-Alpha</b>	TNF_alpha_-238	0,0399	0,9601	0,1445	0,8555	44,3369	2,76E-11	4,06	0,25	2,76E-11
	TNF_alpha_-857	0,1009	0,8991	0,1107	0,8893	0,3336	5,64E-01	1,11	0,9	5,64E-01
	TNF_alpha_-1031	0,2115	0,7885	0,2542	0,7458	3,3814	6,59E-02	1,27	0,79	6,59E-02
<b>LTB</b>	hCV7514890	0,8986	0,1014	0,8938	0,1062	0,0809	7,76E-01	0,95	1,05	7,76E-01
<b>BAT2</b>	hCV3273977	0,3816	0,6184	0,3464	0,6536	1,7641	1,84E-01	0,86	1,16	1,84E-01
	hCV3273976	0,5414	0,4586	0,5831	0,4169	2,3435	1,26E-01	1,18	0,84	1,26E-01
<b>DDAH2</b>	hCV3233672	0,3975	0,6025	0,3607	0,6393	1,886	1,70E-01	0,86	1,17	1,70E-01
<b>C6orf29</b>	hCV790108	0,5637	0,4363	0,5489	0,4511	0,2943	5,88E-01	0,94	1,06	5,88E-01
<b>SKIV2L</b>	hCV940306	0,9171	0,0829	0,9039	0,0961	0,7138	3,98E-01	0,85	1,18	3,98E-01
<b>TNXB</b>	hCV3293900	0,9169	0,0831	0,9104	0,0896	0,1781	6,73E-01	0,92	1,09	6,73E-01
	hCV11409075	0,3106	0,6894	0,3003	0,6997	0,1656	6,84E-01	0,95	1,05	6,84E-01
	hCV3293884	0,5152	0,4848	0,612	0,388	12,6455	4,00E-04	1,48	0,67	4,00E-04
<b>CREBL1</b>	hCV3293878	0,9328	0,0672	0,9283	0,0717	0,1036	7,48E-01	0,93	1,07	7,48E-01
<b>AGER/PBX2</b>	hCV3293837	0,7208	0,2792	0,7443	0,2557	0,9314	3,35E-01	1,13	0,89	3,35E-01
<b>NOTCH4</b>	hCV2412441	0,1212	0,8788	0,1173	0,8827	0,0478	8,27E-01	0,96	1,04	8,27E-01
	hCV3293767	0,6381	0,3619	0,5844	0,4156	4,0443	4,43E-02	0,8	1,25	4,43E-02
<b>C6orf10</b>	hCV2495657	0,5649	0,4351	0,5847	0,4153	0,5323	4,66E-01	1,08	0,92	4,66E-01
	hCV2495574	0,442	0,558	0,4172	0,5828	0,8342	3,61E-01	0,9	1,11	3,61E-01
<b>BTNL2</b>	hCV2488453	0,7472	0,2528	0,7264	0,2736	0,7403	3,90E-01	0,9	1,11	3,90E-01
	BTL-II E3	0,3448	0,6552	0,3555	0,6445	0,1679	0,682	1,05	0,95	0,682

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.3. Gesamtübersicht der 46, für die Kohorten aus den USA genotypisierten Marker. Diese wurden aufgrund ihrer Lage im Bereich PSORS1 und den Ergebnissen der mit der deutschen Kohorte durchgeführten Analysen „Erkrankte Personen versus gesunde Personen“ und TDT ausgewählt.

**Anhang II.II.3: Typisierte Marker in US-Kohorten**

Bereich	Marker	Fortsetzung: Bereich	Marker
	hCV11197333	MICA	MICA000005
C6orf15 (STG)	hCV8941548	MICA	MICA000001
C6orf16 (SEEK)	hCV2438369	MICA	hCV16030740
C6orf16 (SEEK)	hCV2438368	MICA	hCV2995657
C6orf16 (SEEK)	hCV2438347	P5-1	P5-1_824
C6orf17 (SPR)	hCV2438331	P5-1	P5-1_913
C6orf17 (SPR)	hCV2438322	P5-1	P5-1_948
CDSN	CDSN001215	P5-1	hCV2995611
CDSN	CDSN001243	MICB	06MICB_003
HCR	HCG0002271	MICB	06MICB_004
HCR	HCG0002122	MICB	MICB0VIIIa
HCR	hCV2438318	MICB	06MICB_011
HCR	HCG0001667	TNF-Alpha	TNF-Alpha_-238
HCR	hCV2452236		
HCR	HCG0000269		
TCF19	06TCF_3116		
TCF19	hCV2452211		
POU5F1	06PO5_0597		
POU5F1	06PO5_1577		
POU5F1	06PO5_1901		
POU5F1	hCV24552203		
POU5F1	hCV8941350		
POU5F1	hCV2452192		
NOB4	06_NOB4001		
HCGII-2	HCGII20002		
HCGII-2	06HCGII201		
HCGII-2	06HCGII203		
KIAA0055.hom	06KIAA_587		
KIAA0055.hom	06KIAA_788		
KIAA0055.hom	06KIAA_823		
KIAA0055.hom	06KIA_01		
KIAA0055.hom	06KIA_02		
KIAA0055.hom	06KIA_03		

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.4 Übersicht der Gesamtergebnisse der über ein Hausprogramm der I. Medizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel automatisiert berechneten Chiquadrat-Werte. Grundlage waren vom Institut für Dermatologie, Universität von Michigan, Ann Arbor (USA), rekrutierte gesunde und an Psoriasis vulgaris erkrankte Personen (Kohorten IV + V).

**Anhang II.II.4: Übersicht Case / Control - Analyse, Kohorte IV + V (USA)**

Bereich	Marker	Kontrollen		Psoriatiker		CHI-Quadrat	P-Wert
		Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2		
<b>C6orf15</b>	hCV11197333	0.3947	0.6053	0.2355	0.7645	17.0035	0.0001
	hCV8941548	0.5530	0.4469	0.4677	0.5323	4.1493	0.0417
<b>CDSN</b>	CDSN001243	0.4724	0.5276	0.6579	0.3421	19.4575	0.0001
	CDSN001215	0.0152	0.9848	0.0812	0.919	12.8727	0.0003
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	0.1357	0.8643	0.3636	0.6364	40.0953	0.0001
	hCV2438368	0.3233	0.6767	0.1871	0.8129	14.1660	0.0002
<b>C6orf17</b>	hCV2438347	0.8679	0.1321	0.6364	0.3636	41.5444	0.0001
	hCV2438331	0.5795	0.4205	0.6429	0.3571	2.4034	0.1228
<b>HCR</b>	hCV2438322	0.8271	0.1729	0.8831	0.1169	3.6619	0.0558
	HCG0002271	0.6970	0.3030	0.5097	0.4903	20.6982	0.0001
<b>HCR</b>	HCG0002122	0.8617	0.1383	0.9033	0.0967	2.4415	0.1197
	hCV2438318	0.3	0.7	0.5130	0.4870	27.4727	0.0001
<b>HCR</b>	HCG0001667	0.8014	0.1986	0.5921	0.4079	30.1172	0.0001
	hCV2452236	0.2979	0.7021	0.5129	0.4871	28.2165	0.0001
<b>TCF19</b>	HCG0000269	0.8346	0.1654	0.6151	0.3849	32.7263	0.0001
	06TCF_3116	0.8694	0.1306	0.8824	0.1176	0.2210	0.6481
<b>POU5F1</b>	hCV2452211	0.7083	0.2917	0.8344	0.1656	13.0097	0.0003
	06PO5_0597	0.3906	0.6094	0.2589	0.7412	10.6782	0.0011
<b>POU5F1</b>	06PO5_1577	0.6045	0.3955	0.7355	0.2645	11.2405	0.0008
	06PO5_1901	0.6045	0.3955	0.7372	0.2628	11.5885	0.0007
<b>POU5F1</b>	hCV2452203	0.6450	0.3550	0.5325	0.4675	7.3856	0.0066
	hCV8941350	0.7955	0.2045	0.6097	0.3903	23.2194	0.0001
<b>NOB4</b>	hCV2452192	0.3864	0.6136	0.3045	0.6955	4.2598	0.0391
	06_NOB4001	0.1477	0.8523	0.0942	0.9058	3.8947	0.0484
<b>HCGII-2</b>	HCGII20002	0.8855	0.1145	0.9314	0.0686	3.6349	0.0567
	06HCGII203	0.8473	0.1528	0.9058	0.0942	4.5560	0.0328
<b>HCGII-2</b>	06HCGII201	0.2231	0.7769	0.4477	0.5523	31.4094	0.0001
	<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_587	0.8508	0.1492	0.8896	0.1104	1.9332
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_788	0.6679	0.3321	0.8019	0.1981	13.2258	0.0003
	06KIA_823	0.8817	0.1183	0.6346	0.3654	46.0428	0.0001
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIA_01	0.8779	0.1221	0.6373	0.3627	43.3776	0.0001
	06KIA_02	0.3485	0.6515	0.2452	0.7548	7.3526	0.0068
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIA_03	0.8571	0.1429	0.9079	0.0921	3.6491	0.0562

**Anhang II.II.4: Übersicht Case / Control - Analyse, Kohorte IV + V (USA)**

Bereich	Marker	Kontrollen		Psoriatiker		CHI- Quadrat	P-Wert
		Allel 1	Allel 2	Allel 1	Allel 2		
<b>MICA</b>	MICA000005	0.8409	0.1591	0.6875	0.3125	18.1690	0.0001
	MICA000001	0.7023	0.2977	0.5710	0.4290	10.5183	0.0012
	hCV16030740	0.0414	0.9586	0.0385	0.9615	0.0314	0.8743
	hCV2995657	0.2045	0.7955	0.1635	0.8365	1.6193	0.2076
<b>P5-1</b>	P5-1_824	0.0649	0.9351	0.0537	0.9463	0.3150	0.5852
	P5-1_913	0.9695	0.0305	0.8627	0.1373	20.0248	0.0001
	P5-1_946	0.1098	0.8902	0.0795	0.9205	1.5317	0.2202
	hCV2995611	0.7727	0.2273	0.6355	0.3645	12.7547	0.0004
<b>MICB</b>	06MICB_003	0.2311	0.7689	0.1786	0.8214	2.4225	0.1212
	06MICB_004	0.6964	0.3036	0.7806	0.2194	5.4324	0.0198
	MICB0VIIIa	0.9060	0.0940	0.9194	0.0806	0.3214	0.5812
	06MICB_011	0.9612	0.0379	0.8669	0.1331	15.8768	0.0001
<b>TNF-Alpha</b>	06_TNF_238	0.0341	0.9659	0.1474	0.8526	21.2709	0.0001

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.5 Gesamtübersicht über die Ergebnisse der mittels des Programms Haplo\_ccmap ermittelten Werte. Der Untersuchung lagen vom Institut für Dermatologie, Universität von Michigan, Ann Arbor (USA), rekrutierte gesunde und an Psoriasis vulgaris erkrankte Personen zu Grunde.

Anhang II.II.5: Übersicht Case / Control – Analyse, Kohorte IV+V; Haplo\_ccmap

Bereich	Marker	Allel-Frequenz		Allel-Frequenz		Chiquadrat	P-Wert	Odds Ratio		Haplo_CC
		Kontrollen		Psoriatischer				Allel 1	Allel 2	P-Wert (LR)
		1	2	1	2					
...	hCV11197333	0,3464	0,6536	0,2420	0,7580	10,7970	1,017E-03	0,60	1,66	8,68E-04
<b>C6orf15</b>	hCV8941548	0,5676	0,4324	0,4650	0,5350	9,0196	2,67E-03	0,66	1,51	2,67E-03
<b>CDSN</b>	CDSN001243	0,5016	0,4984	0,6558	0,3442	19,8908	8,20E-06	1,89	0,53	6,98E-06
	CDSN001215	0,0258	0,9742	0,0737	0,9263	12,2782	4,58E-04	3,00	0,33	7,62E-04
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	0,1566	0,8434	0,3376	0,6624	41,3795	1,25E-10	2,74	0,36	3,35E-10
<b>C6orf16</b>	hCV2438368	0,2763	0,7237	0,1827	0,8173	10,0131	1,55E-03	0,59	1,71	1,26E-03
	hCV2438347	0,8449	0,1551	0,6624	0,3376	42,2140	8,18E-11	0,36	2,78	2,25E-10
<b>C6orf17</b>	hCV2438331	0,5841	0,4159	0,6186	0,3814	1,0485	3,06E-01	1,15	0,87	3,05E-01
	hCV2438322	0,8313	0,1687	0,8854	0,1146	4,8646	2,74E-02	0,87	0,48	2,45E-02
<b>HCR</b>	HCG0002271	0,6601	0,3399	0,4808	0,5192	28,3485	1,01E-07	0,48	2,1	1,15E-07
	HCG0002122	0,8628	0,1372	0,9020	0,0980	2,9340	8,67E-02	1,46	0,68	8,10E-02
	hCV2438318	0,3423	0,6577	0,5159	0,4841	26,8153	2,24E-07	2,05	0,49	2,53E-07
	HCG0001667	0,7477	0,2523	0,5719	0,4281	30,2496	3,80E-08	0,45	2,22	5,60E-08
	hCV2452236	0,3403	0,6597	0,5159	0,4841	27,527	1,55E-07	2,07	0,48	1,76E-07
	HCG0000269	0,7946	0,2054	0,5752	0,4248	49,3689	2,12E-12	0,35	2,86	4,81E-12
<b>TCF19</b>	06TCF_3116	0,8625	0,1375	0,9058	0,0942	3,6307	5,67E-02	1,53	0,65	5,14E-02
	hCV2452211	0,747	0,253	0,8185	0,1815	6,1468	1,32E-02	1,53	0,65	5,14E-02
<b>Pou5F1</b>	06Pou5_597	0,3375	0,6625	0,2603	0,7397	5,5336	1,87E-02	0,69	1,45	1,74E-02
	06Pou5_1577	0,6572	0,3428	0,734	0,266	5,7746	1,62E-02	1,44	0,69	1,53E-02
	06Pou5_1901	0,6562	0,3437	0,734	0,266	5,9197	1,49E-02	1,45	0,69	1,40E-02
	hCV2452203	0,5991	0,4009	0,5128	0,4872	6,4553	1,11E-02	0,7	1,42	1,12E-02
	hCV8941350	0,7462	0,2538	0,5801	0,4199	27,5347	1,54E-07	0,47	2,13	2,17E-07
	hCV2452192	0,3668	0,6332	0,3248	0,6752	1,6473	1,99E-01	0,83	1,2	1,98E-01
<b>NOB4</b>	NOB4-001	0,1303	0,8697	0,1065	0,8935	1,1088	2,92E-01	0,8	1,26	2,86E-01
<b>HCGII-2</b>	HCGII20002	0,8826	0,1174	0,9387	0,0613	7,3936	6,54E-03	2,04	0,49	4,68E-03
	06HCGII203	0,8643	0,1357	0,8935	0,1065	1,6246	2,02E-01	1,32	0,76	1,95E-01
	06HCGII201	0,2693	0,7307	0,4675	0,5325	36,8322	1,29E-09	2,38	0,42	1,92E-09
KIAA0055.hom	06KIAA_587	0,8308	0,1692	0,859	0,141	1,2524	2,63E-01	1,24	0,81	2,59E-01
	06KIAA_788	0,6748	0,3252	0,7853	0,2147	12,5468	3,97E-04	1,76	0,57	3,14E-04
	06KIAA_823	0,8532	0,1468	0,6346	0,3654	59,2654	1,38E-14	0,3	3,35	5,98E-14
	06KIA_01	0,8506	0,1494	0,6378	0,3622	56,1088	6,86E-14	0,31	3,23	2,72E-13
	06KIA_02	0,3172	0,6828	0,2436	0,7564	5,5327	1,87E-02	0,69	1,44	1,74E-02
	06KIA_03	0,8293	0,1707	0,8613	0,1387	1,5988	2,06E-01	1,28	0,78	2,00E-01
<b>MICA</b>	MICA0000005	0,7864	0,2136	0,6786	0,3214	12,680	3,00E-04	0,57	1,74	4,00E-04
	MICA0000001	0,6764	0,3236	0,5513	0,4487	14,2490	1,00E-04	0,59	1,7	1,00E-04
	hCV16030740	0,0522	0,9478	0,0382	0,9618	0,9210	3,37E-01	0,72	1,39	3,27E-01
	hCV2995657	0,2147	0,7853	0,1943	0,8057	0,5382	4,63E-01	0,88	1,13	4,60E-01



Seite 2 zum Anhang II.II.5

## Anhang II.II.5: Übersicht Case / Control – Analyse, Kohorte IV+V; Haplo\_cmap

Bereich	Marker	Allel-Frequenz Kontrollen		Allel-Frequenz Psoriatischer		Chiquadrat	P-Wert	Odds Ratio		Haplo_CC P-Wert (LR)
		1	2	1	2			Allel 1	Allel 2	
<b>P5-1</b>	P5-1_824	0,0787	0,9213	0,0588	0,9412	1,2256	2,68E-01	0,73	1,37	2,60E-01
	P5-1_913	0,9679	0,0321	0,8442	0,1558	48,0848	4,08E-12	0,18	5,56	2,88E-11
	P5-1_946	0,1250	0,8750	0,1071	0,8929	0,6386	4,24E-01	0,84	1,19	4,21E-01
	hCV2995611	0,7946	0,2054	0,6210	0,3790	33,2229	8,22E-09	0,42	2,36	1,48E-08
<b>MICB</b>	06MICB_003	0,2280	0,7720	0,1603	0,8397	5,9197	1,49E-02	0,65	1,55	1,33E-02
	06MICB_004	0,6752	0,3248	0,7179	0,2821	1,8024	1,79E-01	1,22	0,82	1,77E-01
	MICB0VIIIa	0,8840	0,1160	0,9071	0,0929	1,1687	2,80E-01	1,28	0,78	2,76E-01
	06MICB_011	0,9664	0,0336	0,8484	0,1516	44,0382	3,22E-11	0,19	5,14	1,93E-10
<b>TNF-Alpha</b>	TNF_alpha_-238	0,0420	0,9580	0,1603	0,8397	40,4789	1,99E-10	4,35	0,23	1,06E-10

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.6 Gesamtübersicht der assoziierten Allele, ermittelt mit dem Programm Multi Transmit, Version 2.5, anhand durchgeführter Einzel-Marker-Analysen. (Kohorte III, Deutschland).

Anhang II.II.6: Übersicht Einzel-Marker-Analyse, TDT, Kohorte III (Deutschland); Allel 1

Bereich	Marker-Nr.	Marker	Allel-frequenz	TM/eTM*	Chiquadrat	P-Wert
...	1	hCV8942168	0.5953	133/129.43	0.8859	0.3466
...	2	hCV3273734	0.6007	131/130.5	0.0163	0.8985
<b>NRM</b>	3	hCV2436936	0.5469	119/122.61	0.9085	0.3405
<b>DDR1</b>	4	hCV2436997	0.7199	168/169.26	0.1111	0.7389
<b>DKFZP</b>	5	hCV2436975	0.6838	167/153.97	10.183	0.0014
...	6	hCV2436905	0.5937	139/128.53	6.7737	0.0093
...	7	hCV2436735	0.6920	161/155.5	2.0258	0.1546
...	8	hCV11197333	0.6667	157/148.29	5.5334	0.0187
<b>C6orf15</b>	9	hCV2436650	0.8519	199/200.22	0.2972	0.5856
	10	hCV8941548	0.5539	124/116.04	4.6026	0.0319
<b>CDSN</b>	11	CDSN001243	0.4977	116/106.96	5.2423	0.0220
	12	CDSN001215	0.1640	26/20.19	5.2728	0.0217
<b>C6orf16</b>	13	hCV2438369	0.3341	74/61.16	13.051	0.0003
	14	hCV2438368	0.6808	164/155.35	5.1779	0.0229
	15	hCV2438347	0.3430	72/60.38	10.663	0.0011
<b>C6orf17</b>	16	hCV2438331	0.5663	121/117.92	0.5955	0.4403
	17	hCV2438324	0.5135	120/108.84	7.3397	0.0067
	18	hCV2438322	0.8074	194/187.35	5.3163	0.0211
<b>HCR</b>	19	HCG0002271	0.4988	120/109.95	5.4167	0.0199
	20	HCG0002122	0.8171	198/200.3	0.9593	0.3274
	21	hCV2438318	0.5036	118/108.83	4.4532	0.0348
	22	HCG0001667	0.4350	104/89.918	10.438	0.0012
	23	hCV2438314	0.4604	105/90.69	10,561	0.0012
	24	hCV2452236	0.5047	120/110.68	4.7301	0.0296
	25	hCV2452235	0.7207	163/158.28	1.8088	0.1787
	26	rs1265109	0.7627	184/176.87	3.8974	0.0484
	27	HCG0000269	0.4363	112/96.33	11.143	0.0008
	28	hCV2452223	0.8884	209/210.2	0.8843	0.3470
<b>TCF19</b>	29	TCF19_694	0.4436	98/ 84.26	10.306	0.0013
	30	TCF19_2804	0.8373	201/195.2	5.6607	0.0173
	31	06TCF_3116	0.8210	187/187.88	0.1635	0.6859
	32	hCV2452211	0.7258	164/159.54	1.5997	0.2059
	33	hCV11197516	0.8632	208/205.02	2.2126	0.1369
<b>POU5F1</b>	34	06Pou5_362	0.6613	151/141.96	5.6029	0.0179
	35	06Pou5_597	0.6663	152/143.33	4.6754	0.0306
	36	06Pou5_1577	0.6642	152/142.86	5.0698	0.0243
	37	06Pou5_1901	0.6507	157/146.13	7.2271	0.0072
	38	Pou5F16075	0.4423	111/96.04	11.068	0.0009

\* beobachtete Transmission / erwartete Transmission

Seite 2 zum Anhang II.II.6

**Anhang II.II.6: Übersicht Einzel-Marker-Analyse, TDT, Kohorte III (Deutschland); Allel 1**

Bereich	Marker-Nr.	Marker	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
POU5F1	39	hCV2452203	0.4607	99/92.63	3.1374	0.0765
	40	hCV8941350	0.4476	105/90.51	11.361	0.0008
	41	hCV2452192	0.6884	154/142.38	7.9899	0.0047
NOB4	42	06NOB4-001	0.7953	183/176.82	3.9863	0.0459
HCGII-02	43	HCGII20002	0.8600	205/205.87	0.2395	0.6245
	44	06HCGII203	0.7839	189/183.39	2.8793	0.0897
	45	06HCGII201	0.4677	118/104.3	9.7847	0.0018
KIAA0055.hom	46	06KIAA_587	0.7439	167/167.41	0.0153	0.9016
	47	06KIAA_788	0.6470	141/139.97	0.0681	0.7941
	48	06KIAA_823	0.3357	77/64.56	11.039	0.0009
	49	06KIA_01	0.3501	82/70.55	8.7869	0.0030
	50	06KIA_02	0.6818	168/159.47	5.4889	0.0191
	51	06KIA_03	0.7512	173/175.15	0.4530	0.5009
MICA	52	MICA000005	0.3159	61/58.70	0.3216	0.5706
	53	MICA000001	0.6459	145/144.97	4.67E-05	0.9945
	54	MICA000007	0.8683	210/210.71	0.2550	0.6136
	55	MICA_E4_A8561G	0.4391	125/116.03	3.1861	0.0743
	56	hCV16030740	0.8653	201/201.73	0.3526	0.5526
	57	hCV2995657	0.7300	161/165.44	1.6209	0.2030
P5-1	58	P5-1_824	0.8802	204/204.39	0.1133	0.7365
	59	P5-1_913	0.2060	33/25.81	8.4707	0.0036
	60	P5-1_946	0.7618	174/177.11	0.9342	0.3338
	61	hCV8693871	0.6595	136/135.96	7.99E-05	0.9929
MICB	62	hCV2995611	0.3287	66/56.95	7.0412	0.0080
	63	06MICB_003	0.7171	162/160.02	0.2645	0.6071
	64	06MICB_004	0.6335	144/136.62	3.1048	0.0781
	65	MICB0VIIIa	0.7802	180/181.95	0.3775	0.5389
BAT1	66	06MICB_011	0.2103	36/27.52	10.652	0.0011
	67	hCV3273613	0.7028	160/157.39	0.4394	0.5074
	68	hCV16175106	0.7030	163/158.58	1.1509	0.2834
IKBL	69	BAT1a2008	0.6439	150/146.01	0.8708	0.3507
	70	hCV3273586	0.6560	141/137.84	0.6168	0.4323
	71	IkBL86695	0.7483	174/176.45	0.5661	0.4518
LTA	72	IkBL_T738C	0.8868	282/278.59	2.3352	0.1265
	73	hCV7514865	0.6368	137/131.85	1.6087	0.2047
	74	hCV2451908	0.6595	143/143.73	0.0336	0.8545

\* beobachtete Transmission / erwartete Transmission

**Anhang II.II.6: Übersicht Einzel-Marker-Analyse, TDT, Kohorte III (Deutschland), Allel 1**

Bereich	Marker-Nr.	Marker	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
TNF-Alpha	75	TNF_alpha_-238	0.2126	33/25.62	8.5546	0.0034
	76	TNF_alpha_-857	0.8353	206/202.89	1.5462	0.2137
	77	TNF_alpha_-1031	0.2850	77/70.90	1.6984	0.1925
LTB	78	hCV7514890	0.7874	167/174.39	8.5546	0.0034
BAT2	79	hCV3273977	0.8366	192/189.04	1.6616	0.1973
	80	hCV3273976	0.5955	130/127.99	0.2563	0.6127
DDAH2	81	hCV3233672	0.6099	132/125.64	2.5057	0.1134
C6orf29	82	hCV790108	0.5947	129/130.09	0.0746	0.7847
SKIV2L	83	hCV940306	0.5325	121/123.27	0.2661	0.6060
TNXB	84	hCV3293900	0.8287	196/197.37	0.3218	0.5706
	85	hCV11409075	0.6881	163/156.5	2.5332	0.1115
	86	hCV3293884	0.5609	123/117.15	2.2113	0.1370
CREBL1	88	hCV3293878	0.8383	196/197.37	0.2745	0.6003
AGER/PBX2	89	hCV3293837	0.7275	166/161.02	1.864	0.1722
NOTCH4	90	hCV2412441	0.8152	196/195.73	0.0102	0.9195
	91	hCV3293767	0.6194	146/141.97	0.8966	0.3437
C6orf10	92	hCV2495657	0.5709	124/123.03	0.0551	0.8144
	93	hCV2495574	0.5654	121/119.86	0.0768	0.7817
BTNL2	94	hCV2488453	0.6728	143/146.25	0.8048	0.3697
	95	BTL-II_E3	0.6183	190/183.28	2.2676	0.1321

\* beobachtete Transmission / erwartete Transmission

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.7 Gesamtübersicht der durch das Programm Multi\_Transmit, Version 2.5, ermittelten assoziierten Allele, Kohorte V, USA.

Anhang II.II.7: TDT-Test, Kohorte V (USA)

Bereich	Marker	Allel- frequenz	Verhältnis Tm/eTm*	Chiquadrat	P-Wert
<b>C6orf15</b>	hCV11197333	0.6965	547/510.8	21.368	0.000004
	hCV8941548	0.5153	363/359.75	0.151	0.697658
<b>CDSN</b>	CDSN001243	0.5982	434/418.4	3.902	0.048232
	CDSN001215	0.8613	647/653.69	2.667	0.102468
<b>C6orf16</b>	hCV2438369	0.3398	241/198.91	30.654	0.000000
	hCV2438368	0.7541	572/561.11	2.593	0.107323
<b>C6orf17</b>	hCV2438347	0.3398	239/197.72	29.753	0.000000
	hCV2438331	0.5862	434/414.82	5.210	0.022463
	hCV2438322	0.8015	621/602.64	9.526	0.002026
<b>HCR</b>	HCG0002271	0.4943	364/327.38	17.456	0.000029
	HCG0002122	0.82356	605/602.72	0.18798	0.664603
	hCV2438318	0.4944	371/333.68	18.059	0.000021
	HCG0001667	0.4178	301/260.79	23.833	0.000001
	hCV2452236	0.4939	373/335.7	17.832	0.000024
<b>TCF19</b>	HCG0000269	0.3956	272/236.5	20.375	0.000006
	06TCF_3116	0.8259	615/611.05	0.5446	0.460528
	hCV2452211	0.7682	594/579.27	4.724	0.029738
<b>POU5F1</b>	06PO5_0597	0.6821	488/465.25	9.759	0.001785
	06PO5_1577	0.6895	529/510.46	5.917	0.014996
	06PO5_1901	0.6913	532/513.54	5.714	0.016827
	hCV2452203	0.4784	355/327.29	11.722	0.000618
	hCV8941350	0.4142	306/268.46	20.797	0.000005
<b>NOB4</b>	hCV2452192	0.6631	507/485.71	7.019	0.008064
	06_NOB4001	0.8187	628/610.34	11.31	0.000771
<b>HCGII-2</b>	HCGII20002	0.8474	627/620.62	1.806	0.179001
	06HCGII203	0.8169	626/607.35	11.950	0.000546
	06HCGII201	0.4357	323/280.51	25.588	0.0000001
<b>KIAA0055.hom</b>	06KIAA_587	0.7893	588/588.37	0.0043	0.947945
	06KIAA_788	0.7153	545/534.19	2.2746	0.131509
	06KIA_823	0.3408	253/204.1	41.367	0.0000001
	06KIA_01	0.3378	241/195.61	36.408	0.0000001
	06KIA_02	0.7082	537/517.87	6.3146	0.011975
	06KIA_03	0.788363	587/586.57	0.0056665	0.939995

Seite 2 zum Anhang II.II.7

## Anhang II.II.7: Fortsetzung TDT-Test, Kohorte V (USA)

Bereich	Marker	Allel- frequenz	Verhältnis Tm/eTm*	Chiquadrat	P-Wert
<b>MICA</b>	MICA000005	0.3262	216/191.12	10.589	0.001138
	MICA000001	0.4251	304/275.52	11.157	0.000837
	hCV16030740	0.8756	682/675.94	2.6744	0.101974
	hCV2995657	0.7554	567/567.29	0.002	0.963516
<b>P5-1</b>	P5-1_824	0.8549	628/622.36	1.696	0.192786
	P5-1_913	0.1902	108/78.26	32.468	0.000001
	P5-1_946	0.8190	611/608.92	0.155	0.693840
	hCV2995611	0.3587	246/220.04	11.828	0.000583
<b>MICB</b>	06MICB_003	0.7582	566/560.8	0.672	0.412453
	06MICB_004	0.684883	514/502.13	2.531	0.111629
	MICB0VIIIa	0.8309	627/625.84	0.046	0.830265
	06MICB_011	0.1902	110/79.341	34.574	0.000001
<b>TNF-Alpha</b>	06_TNF_238	0.2016	122/90.81	31.055	0.000001

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.8. Gesamtübersicht der anhand der Allele ermittelten Odds Ratio für Marker, die in beiden Analysen (Erkrankt vs. Gesund; TDT) und sowohl in der deutschen (I+II), als auch in der amerikanischen (IV+V) Kohorte, signifikante Werte zeigten. Der Berechnung liegen die beobachteten Allele zugrunde.

**Anhang II.II.8: Gesamtübersicht Odds-Ratio; Kohorte I+II (Deutschland) / Kohorte IV+V (USA)**

Bereich	Marker	*Ass. Allel	Kohorte		Odds Ratio (95%CI)	Kohorte		Odds Ratio (95%CI)	
			I+II Allel 1	Allel 2		IV+ V Allel 1	Allel 2		
CDSN	hCV11197333	2	Kontrollen	241	419	1,48 (1,17 - 1,88)	105	161	2,12 (1,48 - 3,03)
			Psoriatischer	166	428		73	237	
CDSN	CDSN001243	1	Kontrollen	357	309	1,34 (1,07-1,68)	120	134	2,15 (1,53 - 3,02)
			Psoriatischer	372	240		200	104	
CDSN	CDSN001215	1	Kontrollen	40	630	1,43 (0,93 - 2,19)	4	260	5,72 (1,97 - 16,72)
			Psoriatischer	51	563		25	283	
C6orf16	hCV2438369	1	Kontrollen	123	545	2,13 (1,65 - 2,77)	38	242	3,64 (2,41 - 5,50)
			Psoriatischer	199	413		112	196	
C6orf16	hCV2438368	2	Kontrollen	167	497	0,98 (0,76 - 1,25)	86	180	2,08 (1,41 - 3,05)
			Psoriatischer	116	482		58	252	
C6orf16	hCV2438347	2	Kontrollen	544	124	2,10 (1,63 - 2,72)	243	37	3,75 (2,47 - 5,69)
			Psoriatischer	415	199		196	112	
C6orf17	hCV2438324	2	Kontrollen	438	226	1,83 (1,46 - 2,31)			*
			Psoriatischer	300	284				
HCR	HCG0002271	2	Kontrollen	449	221	1,77 (1,41 - 2,22)	184	80	2,21 (1,57 - 3,12)
			Psoriatischer	327	285		157	151	
HCR	HCG0001667	2	Kontrollen	505	163	2,07 (1,63 - 2,62)	226	56	2,78 (1,92 - 4,03)
			Psoriatischer	366	244		180	124	
HCR	HCG0000269	2	Kontrollen	504	166	1,90 (1,50 - 2,42)	212	42	3,15 (2,11 - 4,73)
			Psoriatischer	375	235		187	117	
HCR	hCV2438318	1	Kontrollen	220	440	1,75 (1,40 - 2,20)	84	196	2,46 (1,75 - 3,45)
			Psoriatischer	285	325		158	150	
HCR	hCV2452236	1	Kontrollen	220	446	1,8 (1,44 - 2,26)	84	198	2,48 (1,77 - 3,48)
			Psoriatischer	286	322		159	151	
TCF19	hCV2452211	1	Kontrollen	499	161	1,38 (1,05 - 1,81)	187	77	2,07 (1,39 - 3,10)
			Psoriatischer	496	116		257	51	
POU5F1	06PO5_1577	1	Kontrollen	430	220	1,43 (1,13 - 1,83)	162	106	1,82 (1,28 - 2,59)
			Psoriatischer	454	162		228	82	
POU5F1	06PO5_1901	1	Kontrollen	438	220	1,41 (1,11 - 1,79)	162	106	1,84 (1,29 - 2,61)
			Psoriatischer	454	162		230	82	
POU5F1	hCV8941350	2	Kontrollen	495	155	2,07 (1,62 - 2,63)	210	54	2,49 (1,71 - 3,63)
			Psoriatischer	368	238		189	121	
POU5F1	hCV2452203	2	Kontrollen	456	208	1,86 (1,48 - 2,34)	169	93	1,60 (1,14 - 2,24)
			Psoriatischer	330	280		164	144	
HCGII-2	06HCGII201	1	Kontrollen	184	472	2,16 (1,71 - 2,73)	58	202	2,82 (1,95 - 4,08)
			Psoriatischer	281	333		137	169	

\* Ass. Allel = Assoziiertes Allel

**Anhang II.II.8: Fortsetzung der Odds-Ratio - Gesamtübersicht**

Bereich	Marker	*Ass. Allel		Kohorte		Odds Ratio (95%CI)	Kohorte		Odds Ratio (95%CI)
				I+II Allel 1	Allel 2		IV+ V Allel 1	Allel 2	
KIAA0055.hom	06KIAA_788	1	Kontrollen	455	187	1,38 (1,07 - 1,77)	175	87	2,01 (1,38 - 2,94)
			Psoriatischer	476	142		247	61	
KIAA0055.hom	06KIAA_823	2	Kontrollen	547	109	2,6 (1,99 - 3,38)	231	31	4,29 (2,76 - 6,66)
			Psoriatischer	402	208		198	114	
KIAA0055.hom	06KIA_01	2	Kontrollen	548	108	2,69 (2,06 - 3,52)	230	32	4,09 (2,64 - 6,33)
			Psoriatischer	388	206		195	111	
MICA	MICA000005	2	Kontrollen	575	93	2,33 (1,76 - 3,09)	222	42	2,40 (1,60 - 3,62)
			Psoriatischer	443	167		209	95	
MICA	MICA000001	2	Kontrollen	487	177	1,55 (1,22 - 1,96)	184	78	1,77 (1,25 - 2,51)
			Psoriatischer	393	221		177	133	
P5-1	P5-1_913	2	Kontrollen	631	17	5,66 (3,31 - 9,67)	254	8	5,06 (2,33 - 10,97)
			Psoriatischer	531	81		264	42	
P5-1	hCV2995611	2	Kontrollen	517	149	1,74 (1,36 - 2,24)	204	60	1,95 (1,35 - 2,82)
			Psoriatischer	402	202		197	113	
MICB	06MICB_011	2	Kontrollen	645	21	4,86 (2,97 - 7,95)	254	10	3,90 (1,91 - 7,95)
			Psoriatischer	525	83		267	41	
TNF-Alpha	TNFalpha-238	1	Kontrollen	25	623	4,21 (2,66 - 6,66)	9	255	4,90 (2,35 - 10,22)
			Psoriatischer	89	527		46	266	

\* Ass. Allel = Assoziiertes Allel



## Anhang II: Ergebnisse

II.II.9 Gesamtübersicht über die Ergebnisse der mit Multi\_Transmit, Version 2.5, durchgeführten Zwei-Marker-Analyse für die Kohorte III, Deutschland.

Anhang II.II.9: Zwei-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)

Bereich	Marker-Nr.	MARKER	Allel	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
...	1	hCV8942168	2.2	0.1311	11.96/17.23	4.8768	0.0272
...	2	hCV3273734	1.2	0.3285	89.45/83.56	2.4333	0.1188
<b>NRM</b>	3	hCV2436936	1.1	0.4265	108.87/112.32	0.76822	0.3808
<b>DDR1</b>	4	hCV2436997	1.2	0.2401	45.97/58.52	9.3685	0.0022
<b>DKFZP</b>	5	hCV2436975	2.2	0.1856	46.07/59.41	10.825	0.0010
...	6	hCV2436905	1.1	0.4338	125.48/115.09	6.1364	0.0132
...	7	hCV2436735	1.1	0.4319	115.29/101.44	9.4781	0.0020
...	8	hCV11197333	2.1	0.2847	54.09/63.08	5.9089	0.0151
<b>C6orf15</b>	9	hCV2436650	keine Datenerhebung möglich				
	10	hCV8941548	1.1	0.3073	95.19/83.33	10.256	0.0014
<b>CDSN</b>	11	CDSN001243	2.1	0.4382	98.1/107.62	5.2783	0.0216
	12	CDSN001215	1.1	0.5924	141.12/154.65	13.144	0.0003
<b>C6orf16</b>	13	hCV2438369	keine Datenerhebung möglich				
	14	hCV2438368	keine Datenerhebung möglich				
	15	hCV2438347	2.1	0.2053	47.62/39.83	7.5281	0.0061
<b>C6orf17</b>	16	hCV2438331	1.2	0.2494	47.52/39.50	6.924	0.0085
	17	hCV2438324	2.1	0.4281	125.37/114.38	6.5218	0.0107
	18	hCV2438322	1.2	0.4197	120/109.14	6.1371	0.0132
<b>HCR</b>	19	HCG0002271	1.1	0.3932	78/88.62	6.9037	0.0086
	20	HCG0002122	1.1	0.3898	80.35/90.36	5.7657	0.0163
	21	hCV2438318	keine Datenerhebung möglich				
	22	HCG0001667	keine Datenerhebung möglich				
	23	hCV2452236	2.1	0.3964	122.96/112.51	5.6134	0.0178
	24	hCV2452235	1.1	0.5351	141.31/129.34	7.2632	0.0070
	25	rs1265109	keine Datenerhebung möglich				
	26	HCG0000269	1.1	0.5029	103.97/121.62	13.87	0.0002
	27	hCV2452223	1.1	0.4925	103.44/118.66	12.206	0.0005
<b>TCF19</b>	28	TCF19_694	keine Datenerhebung möglich				
	29	TCF19_2407	keine Datenerhebung möglich				
	30	TCF19_2804	2.1	0.1110	9.18/14.92	5.5265	0.0187
	31	06TCF_3116	1.2	0.2243	45.60/49.83	1.3909	0.2383
	32	hCV2452211	1.1	0.6259	169.17/161.26	4.1328	0.0421
	33	hCV11197516	1.1	0.5639	155/142.42	9.0665	0.0026
<b>POU5F1</b>	34	06POU5_362	2.2	0.1959	58.97/70.38	7.7468	0.0054
	35	06PO5_0597	1.1	0.5213	154/144.81	5.158	0.0231
	36	06PO5_1577	1.1	0.5052	161/149.51	7.799	0.0052
	37	06PO5_1901	1.2	0.3337	110.8/94.49	12.768	0.0004
	38	Pou5F16075	2.2	0.2523	83.39/71.34	9.2961	0.0023
	39	hCV2452203	2.2	0.2579	81.89/70.04	9.673	0.0019
	40	hCV8941350	keine Datenerhebung möglich				
	41	hCV2452192	1.1	0.5774	170.81/157.98	9.2754	0.0023

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

## Anhang II.II.9: Zwei-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)

Bereich	Marker-Nr.	MARKER	Allel	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
<b>NOB4</b>	42	NOB4001	2.1	0.1596	22.84/29.02	3.9987	0.0455
<b>HCGII-02</b>	43	HCGII20002	1.2	0.1639	25.62/31.14	2.7821	0.0953
	44	06HCGII203	keine Datenerhebung möglich				
	45	06HCGII201	2.1	0.3195	82.55/70.34	10.65	0.0011
<b>KIAA0055.hom</b>	46	06KIAA_587	1.2	0.2073	24.79/26.67	0.46579	0.4949
	47	06KIAA_788	1.2	0.2483	79.19/66.62	10.905	0.0009
	48	06KIA_823	2.2	0.1953	79.95/67.65	9.8582	0.0017
	49	06KIA_01	2.1	0.2609	82.85/71.24	9.1341	0.0025
	50	06KIA_02	2.1	0.2431	48.34/57.72	6.7501	0.0090
	51	06KIA_03	1.1	0.5092	119.09/121.98	0.46626	0.4947
<b>MICA</b>	52	MICA000005	2.2	0.1820	62.77/59.44	0.66118	0.4161
	53	MICA000001	1.2	0.0756	6.02/5.32	0.25029	0.6169
	54	MICA000007	1.1	0.4777	166.07/174.73	2.9553	0.0856
	55	MICA_E4_8561	1.1	0.4733	166.06/174.70	2.9423	0.0863
	56	hCV16030740	2.2	0.0548	2.00/1.0627	1.8352	0.1755
	57	hCV2995657	1.1	0.6572	160.70/165.41	1.8205	0.1773
<b>P5-1</b>	58	P5-1_824	1.2	0.1555	33.65/26.46	8.4515	0.0036
	59	P5-1_913	2.1	0.1449	33.52/26.48	8.1898	0.0042
	60	P5-1_946	2.1	0.1620	37.59/34.23	1.0412	0.3075
	61	hCV8693871	1.2	0.2106	43.71/38.62	2.8954	0.0888
	62	hCV2995611	2.1	0.2575	66.00/56.59	7.4752	0.0062
<b>MICB</b>	63	06MICB_003	1.1	0.4332	99.69/90.01	6.2381	0.0125
	64	06MICB_004	2.1	0.2419	33.65/43.24	6.7032	0.0096
	65	MICB0VIIIa	1.2	0.1491	36.00/27.76	10.164	0.0014
	66	06MICB_011	2.1	0.1456	36.08/27.30	10.998	0.0009
<b>BAT1</b>	67	hCV3273613	1.1	0.5787	163.00/158.6.00	1.1415	0.2853
	68	hCV16175106	1.1	0.4294	97.00/89.29	3.0996	0.0783
	69	BAT1a2008	2.1	0.1545	2.04/3.91	3.0081	0.0828
<b>IkBL</b>	70	hCV3273586	2.1	0.2755	62.61/66.40	0.86518	0.3523
	71	IkBL86695	1.2	0.0822	8.39/11.88	2.4365	0.1185
	72	IkBL_T738C	1.1	0.5551	190.84/183.77	2.9299	0.0870
<b>LTA</b>	73	hCV7514865	2.1	0.2665	65.64/69.69	0.95358	0.3288
	74	hCV2451908	2.1	0.1874	12.00/16.23	3.1844	0.0743
<b>TNF-Alpha</b>	75	TNF_alpha_1031	1.2	0.1318	18.68/21.89	1.6513	0.1988
	76	TNF_alpha_-857	1.2	0.1644	34.47/26.77	9.0955	0.0026
	77	06_TNF_238	2.1	0.1655	33.61/26.08	8.7892	0.0030

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

**Anhang II.II.9: Zwei-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)**

Bereich	Marker-Nr.	MARKER	Allel	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
LTB	78	hCV7514890	2.1	0.1125	12.89/15.78	1.5509	0.2130
BAT2	79	hCV3273977	2.2	0.1583	25.04/31.69	4.8957	0.0269
	80	hCV3273976	2.2	0.1530	25.93/30.45	2.2459	0.1340
DDAH2	81	hCV3233672	2.2	0.1705	30.18/25.91	2.5692	0.1090
C6orf29	82	hCV790108	1.1	0.4542	113.66/117.37	0.71081	0.3992
SKIV2L	83	hCV940306	1.2	0.2587	49.64/55.85	2.3087	0.1287
TNXB	84	hCV11409075	1.1	0.3580	83.85/71.87	11.213	0.0008
	85	hCV3293884	2.1	0.3839	84.22/89.55	1.7793	0.1822
CREBL1	86	hCV3293878	1.2	0.2263	40.45/45.09	1.5893	0.2074
AGER/PBX2	87	hCV3293837	2.1	0.2188	39.13/44.28	2.0356	0.1537
NOTCH4	88	hCV2412441	1.1	0.5206	141.48/138.56	0.44015	0.5071
	89	hCV3293767	2.2	0.1455	14.15/18.76	3.6104	0.0574
C6orf10	90	hCV2495657	1.1	0.4168	124.99/123.69	0.09978	0.7521
	91	hCV2495574	2.1	0.2379	31.28/36.54	2.4493	0.1176
BTNL2	92	hCV2488453	1.2	0.1805	17.98/21.24	2.3341	0.1266

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

## Anhang II: Ergebnisse

### II.II.10 Gesamtübersicht der Ergebnisse der mit Multi\_Transmit, Version 2.5, durchgeführten Drei-Marker-Analyse für die Kohorte III, Deutschland.

Anhang II.II.10: Drei-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)

Bereich	Marker-Nr.	MARKER	Allel	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
...	1	hCV8942168	1.1.2	0.1652	45.23/38.07	5.1704	0.0230
...	2	hCV3273734	2.2.1	0.0816	2.69/3.75	1.574	0.2096
<b>NRM</b>	3	hCV2436936	2.1.1	0.2110	49.91/41.26	8.1529	0.0043
<b>DDR1</b>	4	hCV2436997	1.2.2	0.1459	46.88/59.55	9.6898	0.0019
<b>DKFZP</b>	5	hCV2436975	1.1.1	0.3546	126.67/114.00	8.5381	0.0035
...	6	hCV2436905	1.1.1	0.3015	108.26/93.85	9.7034	0.0018
...	7	hCV2436735	keine Datenerhebung möglich				
...	8	hCV11197333	keine Datenerhebung möglich				
<b>C6orf15</b>	9	hCV2436650	1.1.1	0.2666	94.75/82.83	9.9708	0.0016
	10	hCV8941548	1.1.2	0.0674	26.19/20.44	5.1896	0.0227
<b>CDSN</b>	11	CDSN001243	1.1.2	0.1585	46.55/37.72	8.8968	0.0029
	12	CDSN001215	1.1.2	0.2062	52.85/62.69	6.6405	0.0099
<b>C6orf16</b>	13	hCV2438369	keine Datenerhebung möglich				
	14	hCV2438368	1.2.1	0.1516	49.93/41.71	8.3795	0.0038
	15	hCV2438347	keine Datenerhebung möglich				
<b>C6orf17</b>	16	hCV2438331	keine Datenerhebung möglich				
	17	hCV2438324	keine Datenerhebung möglich				
	18	hCV2438322	1.2.1	0.3692	120.00/110.36	4.8403	0.0278
<b>HCR</b>	19	HCG0002271	1.1.1	0.2594	82.32/92.79	6.3722	0.0116
	20	HCG0002122	keine Datenerhebung möglich				
	21	hCV2438318	keine Datenerhebung möglich				
	22	HCG0001667	keine Datenerhebung möglich				
	23	hCV2452236	2.1.1	0.3265	123.31/113.18	5.257	0.0219
	24	hCV2452235	keine Datenerhebung möglich				
	25	rs1265109	keine Datenerhebung möglich				
	26	HCG0000269	1.1.1	0.3547	101.88/119.46	13.834	0.0002
	27	hCV2452223	keine Datenerhebung möglich				
<b>TCF19</b>	28	TCF19_694	keine Datenerhebung möglich				
	29	TCF19_2407	keine Datenerhebung möglich				
	30	TCF19_2804	2.1.1	0.0779	10.44/16.23	5.6238	0.0177
	31	06TCF_3116	keine Datenerhebung möglich				
	32	hCV2452211	1.1.1	0.4656	157.24/144.76	7.8575	0.0051
	33	hCV11197516	1.1.1	0.4415	157.03/142.84	10.358	0.0013
<b>POU5F1</b>	34	06POU5_362	2.2.2	0.1221	58.97/70.38	7.7468	0.0054
	35	06PO5_0597	2.2.2	0.1270	59.00/70.45	7.7758	0.0053
	36	06PO5_1577	1.1.2	0.2773	111.52/95.24	12.722	0.0004
	37	06PO5_1901	1.2.2	0.2039	83.42/70.96	9.7254	0.0018
	38	Pou5F16075	2.2.2	0.1699	83.55/71.31	9.5527	0.0020
	39	hCV2452203	keine Datenerhebung möglich				
	40	hCV8941350	keine Datenerhebung möglich				
	41	hCV2452192	1.1.1	0.5176	162.61/150.62	7.2199	0.0072

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

## Anhang II.II.10: Drei-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)

Bereich	Marker-Nr.	MARKER	Allel	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
<b>NOB4</b>	42	NOB4001	keine Datenerhebung möglich				
<b>HCGII-02</b>	43	HCGII20002	keine Datenerhebung möglich				
	44	06HCGII203	1.2.1	0.26880	83.19/70.37	11.339	0.0008
	45	06HCGII201	2.1.1	0.2330	81.03/67.52	12.818	0.0003
<b>KIAA0055.hom</b>	46	06KIAA_587	1.1.2	0.2100	77.95/65.81	10.467	0.0012
	47	06KIAA_788	1.2.2	0.1500	79.97/66.97	10.743	0.0010
	48	06KIA_823	2.2.1	0.1516	80.38/67.49	10.507	0.0012
	49	06KIA_01	2.1.1	0.2082	81.09/69.73	9.1014	0.0026
	50	06KIA_02	1.1.2	0.1556	45.74/39.66	3.933	0.0473
	51	06KIA_03	2.1.2	0.0472	2.05/2.77	0.43249	0.5108
<b>MICA</b>	52	MICA000005	2.2.1	0.1530	62.77/59.53	0.62915	0.4277
	53	MICA000001	1.1.2	0.1736	23.07/20.69	1.2506	0.2634
	54	MICA000007	1.1.1	0.4326	166.08/174.77	2.9712	0.0848
	55	MICA_E4_A8561G	1.1.1	0.3353	109.46/118.92	5.5686	0.0183
	56	hCV16030740	keine Datenerhebung möglich				
	57	hCV2995657	1.1.1	0.5248	133.42/144.71	8.5128	0.0035
<b>P5-1</b>	58	P5-1_824	1.2.1	0.1181	33.65/26.63	8.1518	0.0043
	59	P5-1_913	2.1.1	0.1057	33.50/26.37	8.2602	0.0041
	60	P5-1_946	1.1.1	0.3241	65.21/73.25	4.039	0.0445
	61	hCV8693871	2.2.1	0.0880	21.39/17.53	3.1327	0.0767
	62	hCV2995611	2.1.1	0.1980	66.00/56.49	7.4123	0.0065
<b>MICB</b>	63	06MICB_003	1.2.1	0.1874	33.48/42.86	6.3006	0.0121
	64	06MICB_004	1.1.2	0.1096	36.00/27.46	10.808	0.0010
	65	MICB0VIIIa	1.2.1	0.1093	36.075/27.49	10.604	0.0011
	66	06MICB_011	2.1.1	0.1132	36.08/27.31	10.972	0.0009
<b>BAT1</b>	67	hCV3273613	1.1.1	0.3475	97/89.298	3.0914	0.0787
	68	hCV16175106	1.2.1	0.1123	2.04/3.89	2.9689	0.0849
	69	BAT1a2008	2.1.1	0.1163	2.04/3.92	3.0921	0.0787
<b>IkBL</b>	70	hCV3273586	1.1.2	0.0546	8.46/10.46	0.94517	0.3310
	71	IkBL86695	1.1.2	0.2568	94.49/98.64	0.98653	0.3206
	72	IkBL_T738C	1.1.1	0.3406	100.85/96.05	1.7293	0.1885
<b>LTA</b>	73	hCV7514865	1.2.1	0.1194	12.69/16.89	3.1335	0.0767
	74	hCV2451908	2.1.1	0.1435	12.61/16.88	3.2454	0.0716
<b>TNF-Alpha</b>	75	TNF_alpha_1031	2.1.2	0.0831	47.61/35.34	15.751	0.00007
	76	TNF_alpha_-857	1.2.1	0.1349	34.75/27.08	9.056	0.0026
	77	06_TNF_238	2.1.1	0.1129	32.489/25.58	7.7882	0.0053

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

Seite 3 zum Anhang II.II.10

**Anhang II.II.10: Drei-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)**

Bereich	Marker-Nr.	MARKER	Allel	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
LTB	78	hCV7514890	1.2.2	0.1241	25.20/31.74	4.6925	0.0303
BAT2	79	hCV3273977	2.2.2	0.0889	23.76/29.48	3.6924	0.0547
	80	hCV3273976	keine Datenerhebung möglich				
DDAH2	81	hCV3233672	keine Datenerhebung möglich				
C6orf29	82	hCV790108	2.1.1	0.2237	44.47/38.71	2.7587	0.0967
SKIV2L	83	hCV940306	1.1.1	0.2830	66.07/56.07	8.6183	0.0033
TNXB	84	hCV11409075	1.1.1	0.2846	64.16/54.55	8.3522	0.0039
	85	hCV3293884	1.1.1	0.3072	73.42/65.57	5.3847	0.0203
CREBL1	86	hCV3293878	keine Datenerhebung möglich				
AGER/PBX2	87	hCV3293837	2.1.2	0.0851	15.07/18.64	2.2508	0.1335
NOTCH4	88	hCV2412441	2.2.2	0.0450	6.31/8.53	2.1295	0.1445
	89	hCV3293767	2.2.2	0.0889	14.09/18.69	3.6221	0.0570
C6orf10	90	hCV2495657	2.2.1	0.1452	30.26/35.234	2.3005	0.1293
	91	hCV2495574	1.1.1	0.3103	146.34/135.97	4.6887	0.0304

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

## Anhang II: Ergebnisse

### II.II.11 Gesamtübersicht der Ergebnisse der mittels Transmissions-Ungleichgewichts-Test (TDT) durchgeführten Vier-Marker-Analyse, Kohorte III.

#### Anhang II.II.11: Vier-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)

Bereich	Marker-Nr.	MARKER	Allel	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
...	1	hCV8942168	1.1.2.1	0.1238	43.15/35.25	7.0275	0.0080
...	2	hCV3273734	1.2.1.1	0.1622	50.03/40.68	8.8999	0.0029
<b>NRM</b>	3	hCV2436936	keine Datenerhebung möglich				
<b>DDR1</b>	4	hCV2436997	1.1.1.1	0.2285	84.79/73.85	6.4488	0.0111
<b>DKFZP</b>	5	hCV2436975	1.1.1.1	0.2516	108.85/92.62	11.895	0.0006
...	6	hCV2436905	keine Datenerhebung möglich				
...	7	hCV2436735	keine Datenerhebung möglich				
...	8	hCV11197333	keine Datenerhebung möglich				
<b>C6orf15</b>	9	hCV2436650	1.1.1.2	0.0540	26.18/20.49	5.1054	0.0239
	10	hCV8941548	1.1.1.2	0.1062	45.70/35.74	11.662	0.0006
<b>CDSN</b>	11	CDSN001243	1.1.2.1	0.1323	47.18/38.77	8.1055	0.0044
	12	CDSN001215	1.1.2.1	0.1688	54.73/64.91	7.1386	0.0075
<b>C6orf16</b>	13	hCV2438369	2.1.2.1	0.0926	48.11/39.75	8.3998	0.0038
	14	hCV2438368	keine Datenerhebung möglich				
	15	hCV2438347	keine Datenerhebung möglich				
<b>C6orf17</b>	16	hCV2438331	keine Datenerhebung möglich				
	17	hCV2438324	keine Datenerhebung möglich				
	18	hCV2438322	2.1.1.1	0.0586	20.68/26.75	4.1696	0.0412
<b>HCR</b>	19	HCG0002271	keine Datenerhebung möglich				
	20	HCG0002122	keine Datenerhebung möglich				
	21	hCV2438318	keine Datenerhebung möglich				
	22	HCG0001667	keine Datenerhebung möglich				
	23	hCV2452236	keine Datenerhebung möglich				
	24	hCV2452235	keine Datenerhebung möglich				
	25	rs1265109	keine Datenerhebung möglich				
	26	HCG0000269	keine Datenerhebung möglich				
	27	hCV2452223	keine Datenerhebung möglich				
<b>TCF19</b>	28	TCF19_694	keine Datenerhebung möglich				
	29	TCF19_2407	keine Datenerhebung möglich				
	30	TCF19_2804	keine Datenerhebung möglich				
	31	06TCF_3116	1.1.1.1	0.3912	139.73/128.67	6.3715	0.0116
	32	hCV2452211	1.1.1.1	0.3922	158.13/144.60	9.1901	0.0024
	33	hCV11197516	1.1.1.1	0.3835	157.03/142.84	10.358	0.0013
<b>POU5F1</b>	34	06POU5_362	2.2.2.2	0.0870	57.00/68.71	8.1253	0.0044
	35	06PO5_0597	1.1.1.2	0.2487	113.02/96.74	12.722	0.0004
	36	06PO5_1577	1.1.2.2	0.1783	83.50/71.04	9.7177	0.0018
	37	06PO5_1901	1.2.2.2	0.1457	83.53/71.05	9.7103	0.0018
	38	Pou5F16075	keine Datenerhebung möglich				
	39	hCV2452203	keine Datenerhebung möglich				
	40	hCV8941350	keine Datenerhebung möglich				
	41	hCV2452192	keine Datenerhebung möglich				

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

## Anhang II.II.11: Vier-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)

Bereich	Marker-Nr.	MARKER	Allel	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
<b>NOB4</b>	42	NOB4001	keine Datenerhebung möglich				
<b>HCGII-02</b>	43	HCGII20002	1.1.2.1	0.2463	82.12/68.72	13.022	0.0003
	44	06HCGII203	1.2.1.1	0.1973	81.67/67.86	13.226	0.0003
	45	06HCGII201	2.1.1.2	0.1352	78.59/66.14	10.113	0.0015
<b>KIAA0055.hom</b>	46	06KIAA_587	1.1.2.2	0.1307	78.73/66.16	10.304	0.0013
	47	06KIAA_788	1.2.2.1	0.1236	78.00/65.62	9.9507	0.0016
	48	06KIA_823	2.2.1.1	0.1280	80.00/67.77	9.3536	0.0022
	49	06KIA_01	2.1.1.1	0.1234	38.87/31.88	5.2024	0.0226
	50	06KIA_02	1.1.2.2	0.0960	46.10/39.48	4.6627	0.0308
	51	06KIA_03	keine Datenerhebung möglich				
<b>MICA</b>	52	MICA000005	2.2.1.2	0.0997	82.39/77.26	1.3014	0.2540
	53	MICA000001	1.1.2.1	0.1473	22.53/20.135	1.2811	0.2577
	54	MICA000007	1.1.1.1	0.3136	108.46/117.86	5.5105	0.0189
	55	MICA_E4_8561	keine Datenerhebung möglich				
	56	hCV16030740	keine Datenerhebung möglich				
	57	hCV2995657	1.1.1.1	0.4565	133.05/144.54	8.4805	0.0036
<b>P5-1</b>	58	P5-1_824	1.2.1.1	0.0922	33.63/26.52	8.2296	0.0041
	59	P5-1_913	keine Datenerhebung möglich				
	60	P5-1_946	1.1.2.1	0.1391	43.21/37.43	3.6592	0.0558
	61	hCV8693871	1.2.1.1	0.1319	42.86/36.78	4.0131	0.0451
	62	hCV2995611	2.1.1.1	0.1758	66.68/57.47	6.7853	0.0092
<b>MICB</b>	63	06MICB_003	1.1.1.2	0.0832	36.00/27.35	11.031	0.0009
	64	06MICB_004	1.1.2.1	0.0827	36.00/26.992	11.525	0.0007
	65	MICB0VIIIa	1.2.1.1	0.0895	36.08/27.51	10.572	0.0011
	66	06MICB_011	2.1.1.1	0.0799	35.00/26.62	10.338	0.0013
<b>BAT1</b>	67	hCV3273613	1.1.2.1	0.0910	2.04/3.90	2.9688	0.0849
	68	hCV16175106	1.2.1.1	0.0868	2.04/3.95	3.1676	0.0751
	69	BAT1a2008	keine Datenerhebung möglich				
<b>IkBL</b>	70	hCV3273586	1.1.1.2	0.1106	3.69/6.13	4.2206	0.0399
	71	IkBL86695	2.1.1.1	0.1190	57.06/53.92	0.94458	0.3311
	72	IkBL_T738C	1.1.2.1	0.1041	12.86/17.10	3.2088	0.0732
<b>LTA</b>	73	hCV7514865	1.2.1.1	0.0947	12.68/16.94	3.2222	0.0726
	74	hCV2451908	2.2.1.2	0.0524	44.85/33.56	13.769	0.0002
<b>TNF-Alpha</b>	75	TNF_alpha_1031	2.1.2.1	0.0680	47.40/35.25	15.489	0.00008
	76	TNF_alpha_-857	1.2.1.1	0.0950	33.58/26.46	8.1952	0.0042
	77	06_TNF_238	keine Datenerhebung möglich				

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission



Seite 3 zum Anhang II.II.11

**Anhang II.II.11: Vier-Marker-Analyse, Kohorte III (Deutschland)**

Bereich	Marker-Nr.	MARKER	Allel	Allel-frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
LTB	78	hCV7514890	1.2.2.2	0.0712	23.89/29.49	3.5036	0.0612
BAT2	79	hCV3273977	keine Datenerhebung möglich				
	80	hCV3273976	keine Datenerhebung möglich				
DDAH2	81	hCV3233672	keine Datenerhebung möglich				
C6orf29	82	hCV790108	1.1.1.1	0.1521	37.16/31.30	4.4547	0.0348
SKIV2L	83	hCV940306	1.1.1.1	0.2503	63.13/53.09	9.374	0.0022
TNXB	84	hCV11409075	keine Datenerhebung möglich				
	85	hCV3293884	keine Datenerhebung möglich				
CREBL1	86	hCV3293878	keine Datenerhebung möglich				
AGER/PBX2	87	hCV3293837	2.1.2.2	0.0360	2.70/5.40	4.3228	0.0376
NOTCH4	88	hCV2412441	2.2.2.2	0.0271	5.49/7.98	2.6503	0.1035
	89	hCV3293767	2.2.2.2	0.0329	0.753/1.67	3.3691	0.0664
	C6orf10	90	hCV2495657	1.1.1.1	0.2487	147.46/136.6	5.1607

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.12 Übersicht ausgewählter Einzelmarker, welche für die gezielte Überprüfung der Transmission innerhalb der deutschen Kohorte III eingesetzt wurden.

**Anhang II.II.12: Markerübersicht**

Bereich	Marker-Nr.	Marker
...	1	hCV11197333
CDSN	2	CDSN001243
	3	CDSN001215
C6orf16	4	hCV2438369
	5	hCV2438347
HCR	6	HCG0002271
	7	hCV2438318
	8	HCG0001667
	9	hCV2452235
	10	HCG0000269
POU5F1	11	06PO5_1577
	12	06PO5_1901
	13	hCV2452203
	14	hCV8941350
HCGII-2	15	06HCGII203
	16	06HCGII201
KIAA0055.hom	17	06KIAA_788
	18	06KIA_823
	19	06KIA_0001
	20	06KIA_0002
MICA	21	MICA000005
	22	MICA000001
P5-1	23	P5-1_913
	24	hCV2995611
MICB	25	06MICB_003
	26	06MICB_004
	27	06MICB_011
BAT1	28	hCV3273613
	29	hCV16175106
LTA	30	hCV2451908
TNF_Alpha - Promoterregion	31	1031(C/T)
	32	-857(C/T)
	33	06_TNF_238
LTB	34	hCV7514890

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.13 Gesamtübersicht der Ergebnisse der mittels des Programms Multit\_Transmit, Version 2.5, durchgeführten Analyse ausgewählter Marker. Die Analyse bezieht sich auf die Transmission von Haplotypen, bestehend aus 2 bis 4 Markern, Kohorte III, Deutschland.

### Anhang II.II.13: Haplotypen-Transmission; 2 Marker, Kohorte III (Deutschland)

Bereich	Marker-Nr.	Marker	Allel-kombination	Frequenz	TM/eTM	Chiquadra t	P-Wert
...	1	hCV11197333	1.1	0.3399	99.82/88.72	8.7032	0.0032
CDSN	2	CDSN001243	2.1	0.4382	98.10/107.62	5.2783	0.0216
					141.12/154.6		
C6orf16	3	CDSN001215	1.1	0.5924	5	13.1440	0.0003
	4	hCV2438369	2.2	0.5128	75.00/62.00	12.8940	0.0003
HCR	5	hCV2438347	2.2	0.2087	72.28/60.99	9.4774	0.0021
	6	HCG0002271	1.1	0.3293	101.00/110.8	4.7781	0.0288
	7	hCV2438318	keine Datenerhebung möglich				
	8	HCG0001667	2.1	0.3380	109.84/94.37	11.8910	0.0006
	9	hCV2452235	1.2	0.33756	110.52/95.68	10.1670	0.0014
	10	HCG0000269	2.1	0.3246	110.36/94.87	11.0510	0.0009
					161.00/149.5		
POU5F1	11	06PO5_1577	1.1	0.5052	1	7.7990	0.0052
	12	06PO5_1901	2.1	0.2298	56.44/67.57	7.8100	0.0052
	13	hCV2452203	2.2	0.2579	81.89/70.04	9.6730	0.0019
	14	hCV8941350	keine Datenerhebung möglich				
HCGII-2	15	06HCGII203	keine Datenerhebung möglich				
	16	06HCGII201	2.1	0.2933	79.36/69.03	8.3215	0.0039
KIAA0055.ho m	17	06KIAA_788	1.2	0.2483	79.19/66.62	10.9050	0.0009
	18	06KIA_823	2.2	0.1953	79.95/67.65	9.8582	0.0017
	19	06KIA_0001	2.1	0.2609	82.85/71.24	9.1341	0.0025
	20	06KIA_0002	1.2	0.2031	45.97/40.14	3.5917	0.0581
MICA	21	MICA000005	2.2	0.1820	62.77/59.44	0.6612	0.4161
	22	MICA000001	2.2	0.1166	33.99/25.96	10.009	0.0016
			keine Datenerhebung möglich				
P5-1	23	P5-1_913	keine Datenerhebung möglich				
	24	hCV2995611	2.1	0.2575	66.00/56.59	7.4752	0.0063
MICB	25	06MICB_003	1.1	0.4333	99.69/90.01	6.2381	0.0125
	26	06MICB_004	1.2	0.14045	36.00/27.33	11.0830	0.0009
	27	06MICB_011	2.1	0.1456	36.08/27.30	10.9980	0.0009
					163.00/158.6		
BAT1	28	hCV3273613	1.1	0.5787	0	1.1415	0.2853
	29	hCV16175106	2.2	0.09664	6.02/9.74	4.3477	0.0371
LTA	30	hCV2451908	2.1	0.1874	12.00/16.23	3.1844	0.0743
TNF_Alpha - Promoterregion	31	1031(C/T)	1.2	0.1318	18.68/21.89	1.6513	0.1988
	32	-857(C/T)	1.2	0.1644	34.47/26.77	9.0955	0.0026
	33	06_TNF_238	2.1	0.1655	33.61/26.08	8.7892	0.0030

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

**Anhang II.II.13: Haplotypen-Transmission; 3 Marker, Kohorte III (Deutschland)**

Bereich	Marker-Nr.	Marker	Allel-kombination	Frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
...	1	hCV11197333	2.2.1	0.1578	32.53/39.74	6.0414	0.0140
CDSN	2	CDSN001243	1.1.2	0.1585	46.55/37.72	8.8968	0.0029
	3	CDSN001215	1.1.1	0.4725	146.11/159.54	12.664	0.0004
	4	hCV2438369	2.2.2	0.1244	72.28/59.50	12.292	0.0005
C6orf16	5	hCV2438347	2.2.2	0.1449	72.54/61.52	8.7262	0.0031
	6	HCG0002271	keine Datenerhebung möglich				
HCR	7	hCV2438318	keine Datenerhebung möglich				
	8	HCG0001667	2.1.2	0.2220	112.44/96.11	11.969	0.0005
POU5F1	9	hCV2452235	1.2.1	0.2744	110.59/95.29	10.735	0.0011
	10	HCG0000269	2.1.1	0.2693	110.37/95.07	10.813	0.0010
	11	06PO5_1577	2.2.1	0.1402	56.72/68.59	8.5158	0.0035
	12	06PO5_1901	1.2.2	0.2022	84.79/71.81	11.063	0.0009
	13	hCV2452203	2.2.1	0.2198	86.08/73.52	10.773	0.0010
	14	hCV8941350	keine Datenerhebung möglich				
HCGII-2	15	06HCGII203	1.2.1	0.2437	81.77/69.31	10.840	0.0009
	16	06HCGII201	2.1.2	0.1588	79.92/67.73	9.4119	0.0022
KIAA0055.hom	17	06KIAA_788	1.2.2	0.1501	79.97/66.97	10.743	0.0010
	18	06KIA_823	2.2.1	0.1516	80.38/67.49	10.507	0.0012
	19	06KIA_0001	2.1.1	0.1547	40.19/33.24	4.7435	0.0294
	20	06KIA_0002	1.2.2	0.1196	46.27/39.84	4.3525	0.0370
MICA	21	MICA000005	2.2.2	0.0712	35.95/27.17	11.463	0.0007
P5-1	22	MICA000001	keine Datenerhebung möglich				
	23	P5-1_913	keine Datenerhebung möglich				
MICB	24	hCV2995611	2.1.1	0.1980	66.00/56.49	7.4123	0.0065
	25	06MICB_003	1.1.2	0.1015	36.00/27.24	11.255	0.0008
	26	06MICB_004	1.2.1	0.1009	36.00/26.88	11.734	0.0006
	27	06MICB_011	2.1.1	0.1132	36.08/27.31	10.972	0.0009
BAT1	28	hCV3273613	2.2.2	0.0527	6.02/9.73	4.3145	0.0378
	29	hCV16175106	1.2.2	0.1270	81.45/72.58	3.5803	0.0585
LTA	30	hCV2451908	2.1.1	0.1435	12.61/16.88	3.2454	0.0716
TNF_Alpha - Promoterregion	31	1031(C/T)	2.1.2	0.0831	47.61/35.34	15.751	0.00007
	32	-857(C/T)	1.2.1	0.1349	34.75/27.08	9.0560	0.0026

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

## Anhang II.II.13: Haplotypen-Transmission; 4 Marker, Kohorte III (Deutschland)

Bereich	Marker-Nr.	Marker	Allel-kombination	Frequenz	TM/eTM	Chiquadrat	P-Wert
...	1	hCV11197333	keine Datenerhebung möglich				
CDSN	2	CDSN001243	1.1.2.2	0.0959	47.24/38.48	8.5388	0.0035
	3	CDSN001215	keine Datenerhebung möglich				
C6orf16	4	hCV2438369	2.2.2.2	0.0921	72.30/59.82	11.453	0.0007
	5	hCV2438347	keine Datenerhebung möglich				
HCR	6	HCG0002271	keine Datenerhebung möglich				
	7	hCV2438318	keine Datenerhebung möglich				
POU5F1	8	HCG0001667	2.1.2.1	0.1893	111.49/94.79	12.514	0.0004
	9	hCV2452235	1.2.1.1	0.2432	110.71/95.54	10.575	0.0011
	10	HCG0000269	1.2.2.1	0.1104	56.15/69.41	9.9900	0.0016
	11	06PO5_1577	1.1.2.2	0.1757	83.92/70.88	11.124	0.0009
	12	06PO5_1901	1.2.2.1	0.1793	85.97/72.54	11.841	0.0006
HCGII-2	13	hCV2452203	2.2.1.2	0.1572	82.75/71.09	8.684	0.0032
	14	hCV8941350	2.1.2.1	0.1476	71.10/58.46	11.663	0.0006
	15	06HCGII203	1.2.1.2	0.1362	80.60/68.26	9.5732	0.0020
	16	06HCGII201	2.1.2.2	0.1056	80.00/67.12	10.441	0.0012
KIAA0055.hom	17	06KIAA_788	1.2.2.1	0.1236	78.00/65.62	9.9507	0.0016
	18	06KIA_823	2.2.1.1	0.0845	37.71/30.53	5.0948	0.0240
	19	06KIA_0001	2.1.2.2	0.0679	45.66/38.12	5.4134	0.0199
MICA	20	06KIA_0002	1.2.2.2	0.0525	35.69/26.98	11.163	0.0008
	21	MICA000005	keine Datenerhebung möglich				
P5-1	22	MICA000001	keine Datenerhebung möglich				
	23	P5-1_913	keine Datenerhebung möglich				
MICB	24	hCV2995611	2.1.1.2	0.0644	35.00/26.72	10.371	0.0013
	25	06MICB_003	1.1.2.1	0.0811	33.00/24.69	11.173	0.0008
BAT1	26	06MICB_004	1.2.1.1	0.0814	35.00/26.24	11.084	0.0009
	27	06MICB_011	2.1.1.2	0.0707	35.00/26.70	10.043	0.0015
	28	hCV3273613	1.1.2.2	0.1068	79.82/71.05	3.5090	0.0610
LTA	29	hCV16175106	keine Datenerhebung möglich				
	30	hCV2451908	2.2.1.2	0.0524	44.85/33.56	13.769	0.0002
TNF_Alpha	31	1031(C/T)	2.1.2.1	0.0680	47.39/35.25	15.489	0.00008

\*TM/eTM = beobachtete Transmission / erwartete Transmission

## Anhang II: Ergebnisse

II.II.14 Zuordnung der genotypisierten Marker zu ihren Nummern innerhalb der Haplotyp-Konstruktion über 1,923 kb. Grundlage hierfür waren die Genotypisierungsdaten der Kohorte III, Deutschland.

### Anhang II.II.14: Markerzuordnung

Nr.	Markerbezeichnung
1	hCV8942168
2	hCV3273734
3	hCV2436936
4	hCV2436997
5	hCV2436975
6	hCV2436905
7	hCV2436735
8	hCV11197333
9	hCV2436650
10	hCV8941548
11	CDSN001243
12	hCV2438369
13	hCV2438368
14	hCV2438347
15	hCV2438331
16	hCV2438324
17	hCV2438322
18	HCG0002122
19	HCG0001667
20	hCV2452235
21	rs1265109
22	HCG0000269
23	hCV2452223
24	06TCF_3116
25	hCV2452211
26	hCV11197516
27	06POU5_362
28	06PO5_0597
29	06PO5_1577
30	06PO5_1901
31	Pou5F16075
32	hCV2452203
33	hCV8941350
34	hCV2452192
35	06_NOB4001
36	HCGII20002
37	06HCGII203
38	06HCGII201
39	06KIAA_587
40	06KIAA_788
41	06KIA_823
42	06KIA_01
43	06KIA_02
44	06KIA_03

Fortsetzung:	
Nr.	Markerbezeichnung
45	MICA000005
46	MICA000001
47	MICA000007
48	MICA E4_A8561G
49	hCV16030740
50	hCV2995657
51	P5-1_824
52	P5-1_913
53	P5-1_946
54	hCV8693871
55	hCV2995611
56	06MICB_003
57	06MICB_004
58	MICB0VIIIa
59	06MICB_011
60	hCV3273613
61	hCV16175106
62	BAT1a2008
63	hCV3273586
64	IkBL86695
65	IkBL_T738C
66	hCV7514865
67	hCV2451908
68	TNF-Alpha-1031
69	TNF-Alpha-857
70	06_TNF_238
71	hCV7514890
72	hCV3273977
73	hCV3273976
74	hCV3233672
75	hCV790108
76	hCV940306
77	hCV11409075
78	hCV3293884
79	hCV3293878
80	hCV3293837
81	hCV2412441
82	hCV3293767
83	hCV2495657
84	hCV2495574
85	hCV2488453
86	E3_A158G

## Abkürzungen

AH	Ancestrale Haplotype - Ancestraler Haplotyp
ASP	Affected Sibpairs – erkrankte Geschwister
bp	base pair - Basenpaare
BTNL	Butyrophiline-Gene
CEPH	Centre d'Etude du Polymorphisme Humain (Zell-Linie)
CDS	Coding Sequenz – codierende Sequenz
CDSN	Corneodesmosin
CLECSF6	Lectin, C-Type, Superfamily Member 6
df	degree of freedom - Freiheitsgrad
DNA	Desoxyribonucleoacid
dNTP	2'-deoxynucleoside-5'-triphosphate
E	Single- Person - Einzelperson
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eTM	expected transmission – erwartete Transmission
F	family - Familie
FAM	6-carbofluorescein
Freq	frequence - Frequenz
G	Gene - Gen
HCG	Hemochromatosis Candidate Gene
HCL	Hypochlorid
HCR	alpha-Helix Coiled-coil Rod homolog
HERV	Human Endogenous Retrovirus - humaner endogener Retrovirus
HFE	Hemochromatosis gene
HLA	Human Leucocyte Antigene - Humane Leukozyten-Antigene
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium - Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
IL	Interleucin
Indel	<u>I</u> n <u>s</u> ertion/ <u>D</u> eletion
mb	mega bases - Megabasen
kb	kilo bases - Kilobasen
KCL	kalium-chlorid
KIAA0055.hom	Ubiquitin-Specific Protease 8 homolog
LD	linkage disequilibrium - Kopplungsungleichgewicht
LDA	Linkage-Disequilibrium-Analysis - Kopplungsungleichgewichts-Analyse
LOD	logarithm of the odds – Logarithmus der Odds Ratio
LR	likelihood ratio - Wahrscheinlichkeitsverhältnis
LTB	Lymphotoxin-Beta
mb	mega bases - Megabasen
M	men - Männlich
$\mu$ l	microlitre - Mikroliter
$\mu$ M	micromolare - Mikromolar

---

MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
MHC	Major Histocompatibility Complex - Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex
MIC	MHC class I chain-related Gene
min	minute - Minute
mM	millimolare - Millimolar
nM	nanomolare - Nanomolar
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NK	natural-killer-cell - Natürliche Killerzelle
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
ORF	Open Reading Frame - Leseraster
OR	Odds Ratio - Chancenverhältnis
PCR	Polymerase Chain Reaction - Polymerase Kettenreaktion
PFB	Polymorphic Frozen Block - polymorphe Blockstruktur
PG	Pseudogene - Pseudogen
pMol	picomol - Picomol
PMB	polymorphic block - polymorpher Block
POU5F1	POU Domain, Class 5, Transcription Factor 1
POU5F1P1	POU Domain, Class 5, Transcription Factor 1, Pseudogen 1
PSORS	Psoriasis Susceptibility - Psoriasis Verdachtsbereich
PSORS1C1	Psoriasis Susceptibility 1 Candidate gene 1
PSORS1C2	Psoriasis Susceptibility 1 Candidate gene 2
®	registered mark - registrierte Marke
rpm	rotation per minute - Rotation pro Minute
RR	relativ risk - Relatives Risiko
RR	ready reaction - benutzerfertige Reaktion
SCID	severe combined immunodeficiency
sec	second - Sekunde
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SSP	sequence-specific primer - Sequenz-spezifischer Primer
SSO	sequence-specific nucleotide - Sequenz-spezifische Oligonukleotide
Taq-polymerase	<i>Thermophilus aquaticus</i> DNA Polymerase
TCF19	Transcription Factor 19
TBE	Tris-Borat-EDTA-Puffer
TDT	transmission-disequilibrium-test - Transmissions-Disequilibrium-Test
Th	T-helper-cell - T-Helfer-Zelle
™	trademark - Handelsmarke
T <sub>m</sub>	melting temperature - Schmelztemperatur
TM	transmission - Tansmission
TNF- $\alpha$	Tumor-Necrosis-Factor-Alpha
Tris	Tris-(hydroxymethyl)aminomethan
U	Unit - Einheit
USP8	Ubiquitin-Specific Protease 8 (KIAA0055)
UTR	Untranslated Region
UV	Ultraviolett
VIC	Handelsname des Fluoreszenzfarbstoff
W	women - Weiblich



---

**Nomenklatur DNA-Basen:**

A	Adenin
G	Guanin
C	Cytosin
T	Thymin

**Aminosäure-Symbole:**

Ala	/	A	Alanin
Arg	/	R	Arginin
Asn	/	N	Asparagin
Asp	/	D	Asparaginsäure
Cys	/	C	Cystein
Gln	/	Q	Glutamin
Glu	/	E	Glutaminsäure
Gly	/	G	Glycin
His	/	H	Histidin
Ile	/	I	Isoleucin
Leu	/	L	Leucin
Lys	/	K	Lysin
Met	/	M	Methionin
Phe	/	F	Phenylalanin
Pro	/	P	Prolin
Ser	/	S	Serin
Thr	/	T	Threonin
Trp	/	W	Tryptophan
Tyr	/	Y	Tyrosin
Val	/	V	Valin

## Herstellernachweis

<b>Material</b>	<b>Hersteller / Zulieferer</b>
10xPCR-Puffer	Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland
100bp-Ladder	Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland
ABI Prism BigDye Terminator-RR-Mix	Applied Biosystem, Weiterstadt, Deutschland
Agarose	Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland
Borsäure	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Bromphenol-Blau	Sigma, München, Deutschland
dNTPs	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland
DyeEx™ 2.0 Spin Kit	QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
EDTA Titriplex III	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Eppendorf Research Pipette (0,5-10µl/10-100µl/100-1000µl)	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Eppendorf Reaktionsgefäße (1,5ml)	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Ethidiumbromid-Lösung	Sigma, München, Deutschland
Exonuclease I	Amersham Biosciences, Freiburg, Deutschland
Filtertips (1000µl)	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
Filtertips (100µl)	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Filtertips (10µl)	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Lichrosolv®	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

<b>Material</b>	<b>Hersteller / Zulieferer</b>
MicroAmp™ Tray-Retainer-Set	Applied Biosystem, Weiterstadt, Deutschland
MicroAmp™ Base	Applied Biosystem, Weiterstadt, Deutschland
MicroAmp® Optical 96- Mikrotiter-Platte	Applied Biosystem, Weiterstadt, Deutschland
MgCl <sub>2</sub>	Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland
Mikrotiter 96 well plates	Costar Corning Incorporated; Cambridge MA, USA
Mikrotiter 384 well plates	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Multi-Screen Filterungssystem	Amersham Biosciences, Freiburg, Deutschland
Multi-Strip-Tubes (0,2ml)	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
Multi-Strip-Deckelketten	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
QIAquick® PCR Purification Kit (250)	QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
Sephadex-Platten; MAHVN 4550	Amersham Biosciences, Freiburg, Deutschland
Sephadex-Puder (G50 Superfine)	Amersham Biosciences, Freiburg, Deutschland
Shrimp Alkaline Phosphatase	Amersham Biosciences, Freiburg, Deutschland
<i>Taq</i> DNA polymerase	Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland
TaqMan®Universal PCR Master Mix	Applied Biosystem, Weiterstadt, Deutschland
Thermowell® 96 well Plate	Costar Corning Incorporated; Cambridge MA, USA
Trizma®Base	Sigma, München, Deutschland

## Lebenslauf

### Persönliche Angaben:

---

*Name:* Kerstin Bade  
*Geburtsdatum:* 13. Mai 1971  
*Geburtsort:* Paderborn, Deutschland  
*Staatsangehörigkeit:* Deutsch  
*Familienstand:* ledig

### Ausbildung:

---

1977 - 1981 Georg-Grundschule, Paderborn  
1981 - 1983 Georg-Hauptschule, Paderborn  
1983 - 1987 Von-Fürstenberg-Realschule, Paderborn  
1987 - 1988 Höhere Handelsschule der Ludwig-Erhard-Schule, Paderborn  
1993 - 1995 Abendgymnasium der Stadt Lippstadt, Paderborn  
1996 – 1998 Grundstudium der Biologie an der Universität Bielefeld  
Diplom-Vorprüfung in den Fächern:  
Biologie (Zoologie/Botanik)  
Physik  
Chemie  
1998 – 2001 Hauptstudium der Biologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
Hauptfach: Biologische Meereskunde  
1. Nebenfach: Zoologie  
2. Nebenfach: Physikalische Ozeanographie  
seit Dezember 2001 Doktorandin im Institut für Immunologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

**Berufl. Werdegang:**

---

1988 – 1991	Ausbildung zur Rechtsanwalts- und Notarsgehilfin; Kanzlei Rechtsanwälte und Notare Dr. Uhle und Partner, Paderborn
1991 – 1992	Angestellte in der oben genannten Kanzlei
1992 – 1994	Rechtsanwalts- und Notargehilfin; Fa. STUTE Nahrungsmittelwerke GmbH & Co. KG, Paderborn
1994 – 1996	Kfm. Angestellte; Firma Nötges & Partner GmbH, Paderborn

**Präsentationen:**

---

Bade, K., Wedler, M., Weichenthal, M., Nair, R.P., Elder, J.T., Kabelitz, D., Jenisch, S.:  
Construction of a High-Density Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Map of the HLA-C  
Region in the human MHC.

Vortragspräsentation im Rahmen des 17. Kongress der European Federation for  
Immunogenetics (2003)

Bade, K., Weichenthal, M., Hampe, J., Stenzel, A., Nair, R.P., Elder, J.T., Voorhees, J.J.,  
Schreiber, S., Christophers, E., Kabelitz, D., Jenisch, S.: High-Density SNP-Genotyping of  
the MHC in Patients with familial Psoriasis.

Posterpräsentation im Rahmen des 18. Kongress der European Federation for  
Immunogenetics (2004).

## Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass diese Dissertation – abgesehen von der Beratung durch meine akademischen Lehrer – nach Inhalt und Form meine eigene Arbeit ist. Sie hat weder im Ganzen, noch zum Teil, an anderen Stellen im Rahmen eines Promotionsverfahrens vorgelegen. Ein Teil der Ergebnisse dieser Arbeit wurde bereits veröffentlicht.

Kiel, \_\_\_\_\_

(Kerstin Bade)

## **Danksagung**

Folgenden Personen möchte ich Danken:

Prof. Dr. med. Dietrich Kabelitz danke ich für die Zurverfügungstellung des Arbeitsplatzes und die Unterstützung der Arbeitsgruppe.

Prof. Dr. rer.nat. Thomas Bosch möchte ich für seine Unterstützung danken.

Prof. Dr. rer. nat. Jens-Michael Schröder danke ich für die Anregungen und die Zeit, die er sich genommen hat.

Mein spezieller Dank gilt Dr. med. Stefan Jenisch, der mir die Möglichkeit zu dieser Arbeit gab, sowie die Möglichkeit Neues kennen zu lernen und sich auch durch seltsame Fragen nicht aus der Ruhe bringen ließ.

Dr. med. Michael Weichenthal möchte ich ebenfalls für seine Unterstützung danken.

Den Mitarbeitern des Institut für Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, danke ich für ihre Kollegialität und gute Zusammenarbeit.

Weiter möchte ich den Mitarbeiterinnen der Labore der I. Medizin des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, für die Durchführung der Genotypisierungen und Sequenzierungen danken.

Dr. Annette Stenzel stand mir für jede Frage bereitwillig zur Verfügung, ohne die Nerven zu verlieren.

Dr. med. Jochen Hampe möchte ich danken für die Nutzung und den Zugang zu Programmen, mit denen mir eine Durchführung der Analysen möglich war.

Ebenso danke ich dem Department of Dermatology, University of Michigan, Ann Arbor, USA, für die von ihnen erhaltenen Proben.

Auch möchte ich herzlich den Personen danken, die ihr Blut für diese Arbeit gegeben haben.

Dem HLA-Labor des Instituts für Immunologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, danke ich für die Durchführung der HLA-Typisierungen.

Martina Wedler danke ich für ihre Unterstützung, als die Sequenzierung und der ABI310 an sich ein geheimnisvolles Feld war und dafür, dass sie einen immer auf den Boden der Tatsachen zurückholt. Kathleen Glanden, Tatjana Reinsch, Ulla Sarb und Doreen Santopski für die schöne Zeit.

Ein weiterer besonderer Dank gilt meinen Eltern, Schwestern und Freunden für ihre Unterstützung und dafür, dass sie meine Launen vor und während der Entstehung der Arbeit ertragen mussten und das auch ganz tapfer haben.