

SPECULUM

Geburtshilfe / Frauen-Heilkunde / Strahlen-Heilkunde / Forschung / Konsequenzen

Streubel B

Das personalisierte Genom

*Speculum - Zeitschrift für Gynäkologie und Geburtshilfe 2012; 30 (4)
(Ausgabe für Österreich), 11-13*

*Speculum - Zeitschrift für Gynäkologie und Geburtshilfe 2012; 30 (4)
(Ausgabe für Schweiz), 13-15*

Homepage:

www.kup.at/speculum

Online-Datenbank
mit Autoren-
und Stichwortsuche

Krause & Pachernegg GmbH • Verlag für Medizin und Wirtschaft • A-3003 Gablitz

P.b.b. 02Z031112 M, Verlagsort: 3003 Gablitz, Linzerstraße 177A/21

Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



Das personalisierte Genom

B. Streubel

Im Jahr 2001 gelang nach langjährigen, multinationalen Bemühungen die erfolgreiche Entschlüsselung des menschlichen Genoms. Das Jahr 2008 gilt als Startpunkt der personalisierten Genomanalysen, da hier erstmals das Genom einer Person, nämlich des Entdeckers der chemischen DNA-Struktur, James Watson, vollständig sequenziert wurde. Ein wesentlicher Unterschied zur Genomsequenzierung im Jahr 2001 war hierbei, dass im Gegensatz zu der konventionellen Sangersequenzierung eine neue Sequenzierungstechnologie, die so genannte massive Parallelsequenzierung, zur Verfügung stand, die diese personalisierte Genomanalyse erst ermöglichte. Während die Entschlüsselung des menschlichen Genoms in den Jahren 1990–2001 mehrere Milliarden Dollar kostete, sind die Kosten für Genomuntersuchungen mittlerweile dermaßen gefallen, dass die neuen Technologien bereits in die Routinelabordiagnostik Einzug gehalten und dabei neue Möglichkeiten, z. B. bei der non-invasiven Pränataltestung, eröffnet haben.

Grundlagen

Das humane Genom stellt die Grundlage für den Bauplan des Menschen dar und definiert alle Körperfunktionen. Kein Bauplan gleicht exakt dem anderen, die Übereinstimmung ist jedoch sehr hoch und liegt bei ungefähr 99,5 %. Die interindividuellen Abweichungen beinhalten sowohl kleine Zugewinne/Verluste chromosomalen Materials als auch Änderungen in der Sequenzabfolge des genetischen Codes (Polymorphismen und Mutationen). Neben den „normalen“ Schwankungen des genetischen Codes, die uns alle einzigartig machen, kann es auch zu krankmachenden Veränderungen kommen. Krankmachende Mutationen in einem Gen können unter anderem zu monogenen Erbkrankheiten führen, wie z. B. der zystischen Fibrose. Bei den so genannten chromosomalen Erkrankungen können Zugewinn/Verluste ganzer Chromosomen (z. B. Trisomie 21) bzw. Teile von Chromosomen (z. B. Mikrodeletionssyndrome) vorliegen.

Alt versus Neu

Konventionelle Untersuchungstechniken verlangten bisher zumeist eine gezielte Fragestellung. Insbesondere war es im Routinealltag hinsichtlich des Verdachts auf eine

genetische Erkrankung unrealistisch, eine Vielzahl von Genen zu untersuchen, weil es zu ressourcenintensiv war. Durch die zwangsläufige Fokussierung auf eine klar umrissene klinische Fragestellung war auch die Beratungssituation überschaubar.

Mittlerweile haben sich die Spielregeln insofern geändert, als es nunmehr möglich ist, Ratsuchende genomweit in hoher Auflösung zu untersuchen. DNA-Microarrays können mittlerweile als State of the Art bei postnatalen zytogenetischen Fragestellungen angesehen werden und halten auch als „second-tier test“ in der Pränataldiagnostik Einzug. Die Sequenzanalyse aller Gene (Exomanalyse) kann inzwischen als labortechnisch ähnlich aufwendig angesehen werden wie die Analyse eines einzigen größeren Gens mittels konventioneller Techniken. Schon aus Kostengründen werden die neuen Sequenzierungstechniken zwangsläufig die alten Techniken verdrängen und somit ist eine Auseinandersetzung mit dem Technologiefortschritt notwendig.

Wie funktioniert es?

Mehrere Hochdurchsatzsequenzierungstechnologien (Massenparallelsequenzierungen) ste-

hen bereits zur Verfügung, die mehrere gemeinsame Arbeitsschritte aufweisen:

1. Die DNA wird in kleine Bruchstücke geschnitten und die freien Enden mit Adaptern versehen.
2. Die Fragmente werden über Adapter an einer festen Oberfläche verankert.
3. Die verankerten Fragmente müssen vervielfacht werden, um genügend Signalstärke für die Auslesung zu erzielen.
4. Die eigentliche Sequenzierreaktion findet statt, wobei unterschiedliche Plattformen unterschiedliche Systeme verwenden. Der Sequenzstrang wird komplementär nachgebaut und hierbei die eingebauten Bausteine abgelesen. Die Auslesung kann optisch erfolgen (Fluoreszenzsignale) oder auch über andere Technologien bei neueren Generationen, z. B. über pH-Schwankungen. Dabei können die Sequenzen von beiden Richtungen gelesen werden.
5. Die einzelnen Sequenzen werden wie bei einem Puzzle im Computer zum Gesamtgenom zusammengesetzt und mit einem Standardgenom verglichen.

Mittlerweile gibt es schon technische Weiterentwicklungen – insbesondere solche, die eine komplette Durchsequenzierung einzelner Zellen möglich machen sollen. Prinzipiell wurde auch schon gezeigt, dass das fetale Genom non-invasiv aus dem Blut der Mutter analysiert werden kann. Auch wenn die Genomsequenzierung (Sequenzierung des gesamten Erbmateri als, also auch der nicht für Proteine kodierenden Abschnitte) derzeit noch zu teuer ist, kann eine Exomsequenzierung (Sequenzierung aller Exone aller Gene) mit einer möglichen Verarbeitungszeit von einer Woche bei (stark fallenden) Preisen von ca. € 2000 realistisch angesehen werden. Eine Firma erwartet, die Reagenzienkosten für ein Genom im zweiten Halbjahr 2013 auf unter € 1000 zu senken.

Wonach können wir fragen?

Natürlich können unterschiedlichste Fragestellungen mit den neuen Technologien bearbeitet werden. Prinzipiell bleibt jedoch die Fragestellung nach monogenen Erkrankungen als wesentlich für die genetische Beratungssituation bestehen und soll hier näher betrachtet werden. Für eine gezielte Fragestellung, wie zum Beispiel die Frage nach einem Überträgerstatus bei bekannter familiärer Mutation einer monogenen Erkrankung, bleibt die Situation im Sinne einer zweistufigen genetischen Diagnostik gleich. Zuerst

kommt es zu einer Eingrenzung auf ein Kandidatengen, gefolgt von der eigentlichen Laboruntersuchung mit Ergebnismitteilung. Hierbei ist es irrelevant, welche Technik angewandt wird, solange die Qualität den vorgegebenen Standards entspricht.

Allerdings ist in der genetischen Beratungssituation die Eingrenzung auf ein Gen häufig nicht möglich, wie zum Beispiel bei einem kranken Kind mit unklarer genetischer Erkrankung, einem Fetus mit multiplen Fehlbildungen fraglicher genetischer Ursache, multiplen Aborten, Konsanguinität des Paares usw. In all diesen Fällen kann man oftmals keine Priorisierung eines Kandidatengens vornehmen. Durch die neuen Technologien ist dies allerdings nicht notwendig, weil die zweistufige Labordiagnostik auf eine Stufe reduziert werden kann. Dies bedeutet, dass – momentan aus Kostengründen – das Exom (zukünftig vermutlich das Genom) ohne erforderliche Kandidatengenpriorisierung vorab durchsequenziert wird. Somit verschiebt sich die Herausforderung von einer vorgeschalteten klinischen Diagnose vor der Laboruntersuchung zu einer nachgeschalteten Dateninterpretation nach der Laboruntersuchung.

Die Nadel im Heuhaufen

Die Herausforderungen an die Bioinformatik und Dateninterpretation sind sehr hoch. Man muss davon ausgehen, dass jeder Mensch 3–4 Millionen Varianten im Genom aufweist und für eine monogene Erkrankung nur eine Variante relevant ist. Weiters schätzt man die Zahl an monogenen Erkrankungen auf über 5000, wobei die Hälfte noch ungeklärt ist. Somit muss in der Datenanalyse zwangsläufig eine Kandidatenpriorisierung erfolgen, die einerseits automatisiert, andererseits auf die individuelle Fragestellung angepasst ist. Eine grobe Schätzung, dass zumindest 85 % der monogenen Erkrankungen auf eine Veränderung im kodierenden Bereich (d. h. Genabschnitte, die für ein Genprodukt die notwendige Information liefern) zurückzuführen sind, reduziert die Suche vom Gesamtgenom auf 2 % und somit folglich die Variantenanzahl von mehreren Millionen auf unter 50.000. Weitere technische Reduktionen sowie der Ausschluss aller Varianten, die voraussichtlich keinen Effekt auf das Genprodukt haben (stille Mutationen), reduzierten die Anzahl auf ungefähr 5000 Varianten. Ein weiterer wesentlicher Schritt ist der Vergleich mit der In-house-Variantendatenbank sowie öffentlichen Variantendatenbanken, der die Anzahl typischerwei-

se um über 95 % reduziert. Somit bleiben üblicherweise 150–500 Varianten übrig, die potenziell pathogen sind. Ab diesem Schritt wird die individuelle Kandidateneinschränkung wesentlich; das bedeutet, dass für die weitere Analyse die klinischen Informationen aus der Beratung einfließen müssen. Hierbei kommen mehrere Strategien zur Anwendung (u. a. kopplungsbasiert, Homozygotie, *de novo*, doppelter Treffer, Kandidatenselektion). Exemplarisch sei hier die Arbeitshypothese einer Neumutation bei autosomal-dominantem Erbgang angeführt. Die Neumutationsrate beträgt üblicherweise 0–3 Mutationen in der nachfolgenden Generation (bei ansteigender Neumutationsrate ab einem elterlichen Alter von über 30 Jahren); somit ist durch die Sequenzierung eines Betroffenen und beider Elternteile üblicherweise eine sehr rasche Eingrenzung möglich, aber natürlich auch teurer.

Neue Möglichkeiten in der Tumorgenetik

Die neuen Hochdurchsatztechnologien sind nicht nur auf die Detektion von Keimbahnmutationen beschränkt, sondern können auch für die Analyse erworbener Mutationen bei Tumoren angewandt werden. Bei Brustkrebs wurde kürzlich gezeigt, dass das Tumorgenom interindividuell sehr heterogene Mutationsspektren aufweist. Diese Zusatzinformationen werden möglicherweise zukünftig therapie relevant werden, ergänzend zu bereits gut etablierten genetischen Markern wie dem HER2-neu-Status. Der Vorteil der neuen Technologien ist hierbei, dass rasch das individuelle Mutationsspektrum des Tumors ermittelt und somit auch eine Anhäufung weiterer Mutationen im Krankheitsverlauf monitiert werden kann. Eine weitere Option ist auch das „ultra-deep sequencing“, d. h. dass das Tumorgenom vielfach sequenziert wird und somit auch Mutationen in kleinen Subklonen erfasst werden können. Mutationsanalysen sind dabei nicht notwendigerweise auf eine Tumorbiopsie angewiesen, sondern auch an freier Tumor-DNA bestimmbar, die aus einer Blutabnahme der Patienten bestimmt werden kann.

NIPT

Eine in letzter Zeit medial breit diskutierte weitere Anwendung der DNA-Testung an frei im Blutserum vorkommender DNA ist die non-invasive Pränataltestung. Auch hier gibt

es mehrere unterschiedliche Techniken, wobei die meisten Anwendungen die Vorteile der Massensequenzierung ausnützen. Die im Serum vorhandene fragmentierte DNA (anteilig ungefähr 95 % Mutter, 5 % Kind) wird wie oben beschrieben mit einem Adapter verbunden und in weiterer Folge werden die Sequenzen ausgelesen. Die einzelnen Sequenzen werden den jeweiligen Chromosomen zugeordnet und z. B. bei einer Überrepräsentation des kindlichen Chromosoms 21 entsprechend mehr Sequenzen vom Chromosom 21 ausgelesen. Es ist zu erwarten, dass zukünftige non-invasive Tests zumindest ähnliche Parameter aufweisen werden wie ein FISH-Schnelltest und somit Informationen über mehrere Chromosomen in wenigen Tagen liefern können.

Ausblick

Die genetische Labordiagnostik ändert sich momentan grundlegend und wird einen wesentlichen Einfluss auf die klinische Genetik und somit Beratungssituation haben. Unabhängig von der Weiterentwicklung der Technologien wird man mit einem enormen Zugewinn an Informationen konfrontiert werden. Die für die jeweilige Fragestellung und persönliche Situation der Ratsuchenden angepasste Analyse, Interpretation der Daten und Vermittlung der Information wird eine wesentlich größere Herausforderung darstellen als die technische Machbarkeit. Nur durch eine verstärkte interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Frauenärzten, Kinderärzten und Humangenetikern wird sichergestellt werden können, dass die Flut an Informationen, die die neuen Technologien mit sich bringen, auch wirklich zum größtmöglichen Benefit der Patienten führt.

Anmerkung:
Ein Symposium zum Thema
„Next GENERation in der Genetik.
Quo vadis Pränataldiagnostik?“
findet am 12. April 2013 in Wien statt.

Korrespondenzadresse:

Univ.-Prof. Dr. Berthold Streubel
Universitätsklinik für Frauenheilkunde
Medizinische Universität Wien
A-1090 Wien, Währinger Gürtel 18–20
E-Mail:
berthold.streubel@meduniwien.ac.at

Mitteilungen aus der Redaktion

Abo-Aktion

Wenn Sie Arzt sind, in Ausbildung zu einem ärztlichen Beruf, oder im Gesundheitsbereich tätig, haben Sie die Möglichkeit, die elektronische Ausgabe dieser Zeitschrift kostenlos zu beziehen.

Die Lieferung umfasst 4–6 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Das e-Journal steht als PDF-Datei (ca. 5–10 MB) zur Verfügung und ist auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ **Bestellung kostenloses e-Journal-Abo**

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

☒ **Bilddatenbank**

☒ **Artikeldatenbank**

☒ **Fallberichte**

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum

Disclaimers & Copyright

Datenschutzerklärung