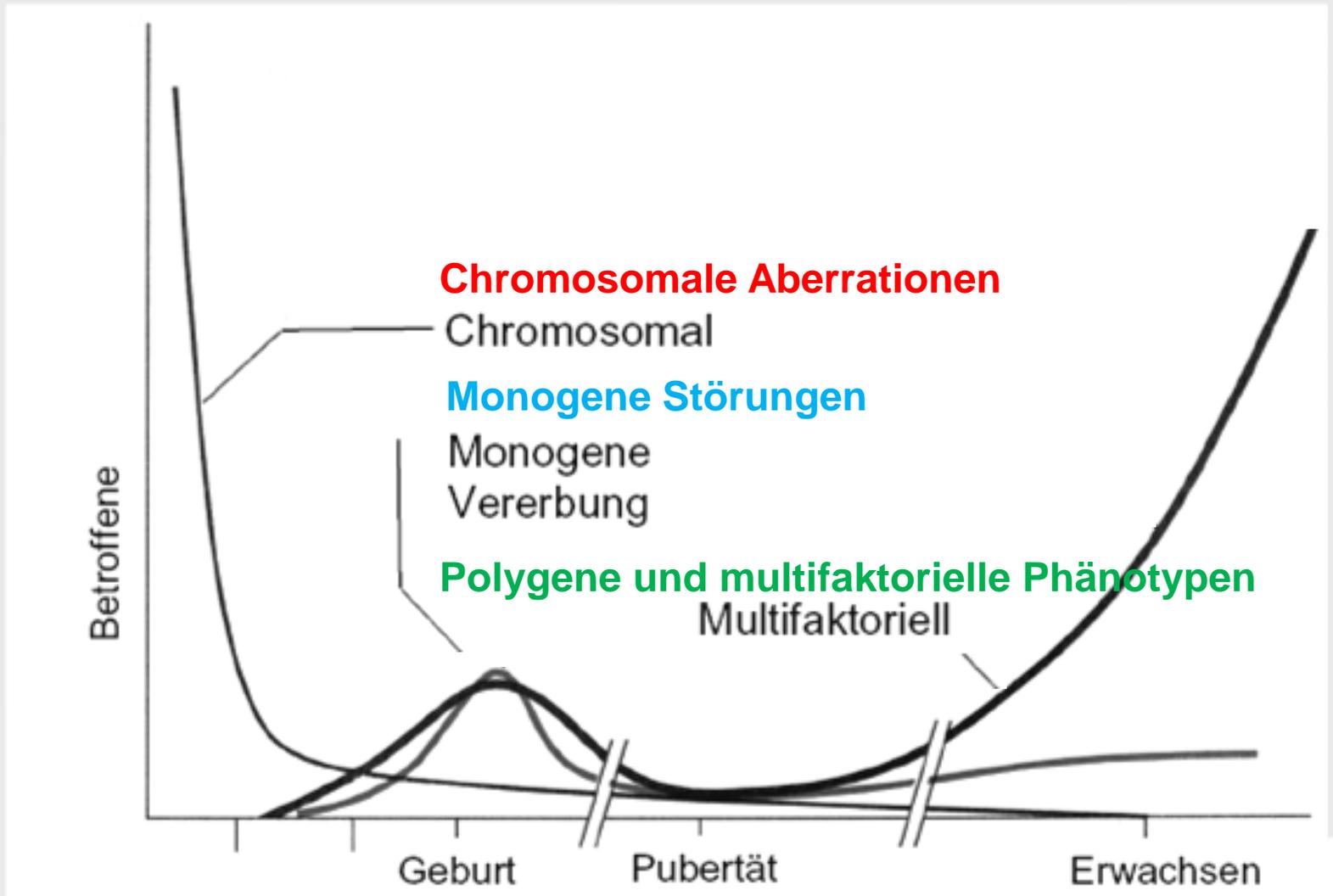


## Methoden in der Humangenetik

# Altersverteilung genetischer Erkrankungen



# Seltene Erkrankungen

- Nicht mehr als 5 von 10.000 Menschen betroffen
- Geschätzt bis zu 8.000 seltene Erkrankungen
- Geschätzt etwa 4 Mio. Betroffene in D, 30 Mio. in der EU
- Viele hämatologische Erkrankungen des Kindes sind SE

# Humangenetik Uniklinik Ulm



Universitätsklinikum Ulm



Universitätsklinikum Ulm  
Institut für Humangenetik  
DNA-Labor, N25/4303  
Albert-Einstein-Allee 11  
89081 Ulm  
Tel.: 0731/50065430  
Fax: 0731/50065471  
[walter.just@uni-ulm.de](mailto:walter.just@uni-ulm.de)  
<http://www.uni-ulm/humangenetik>

Patient/in:

Name:

Vorname:

GebDat.

Institut für Humangenetik  
Institutsdirektor: Prof. Dr. med. Reiner  
Siebert

## Auftrag zur molekulargenetischen Diagnostik

### Imprintingstörungen

- Angelman Syndrom AS, (MLPA),  *UBE3A*
- Beckwith-Wiedemann-Syndrom (MLPA)
- Exomphalos-Makroglossie-Gigantismus-Syndrom (EMG/Beckwith-Wiedemann-Syndrom) (MLPA)
- Kagami-Ogata Syndrom (UPD(14)pat)
- Prader-Willi Syndrom PWS, *SNRPN*
- Silver-Russell-Syndrom (MLPA), UPD(11)mat; UPD(7)mat
- Temple Syndrom (MPLA) UPD(14)mat
- Transienter neonataler Diabetes mellitus 1, TNDM (UPD(6)pat; (MLPA))
- UPD(7)mat (MLPA)
- UPD(14)mat (MLPA)
- MLID (multilocus imprinting disturbances)
  - DNMT1*                       *DNMT3L*
  - DPPA3*                       *KHDC3L*
  - MBD3*                       *NLRP2*
  - NLRP5*                       *NLRP7*
  - TRIM28*                     *ZFP57*

- Simpson-Golabi-Behmel Syndrom, *GPC3* (MLPA, Sequenz)
- Turner Syndrom, *SHOX* (MLPA, Sequenz)
- Weaver Syndrom, *EZH2*

### Erbliche Tumorerkrankungen

#### Adenomatöse Polyposis

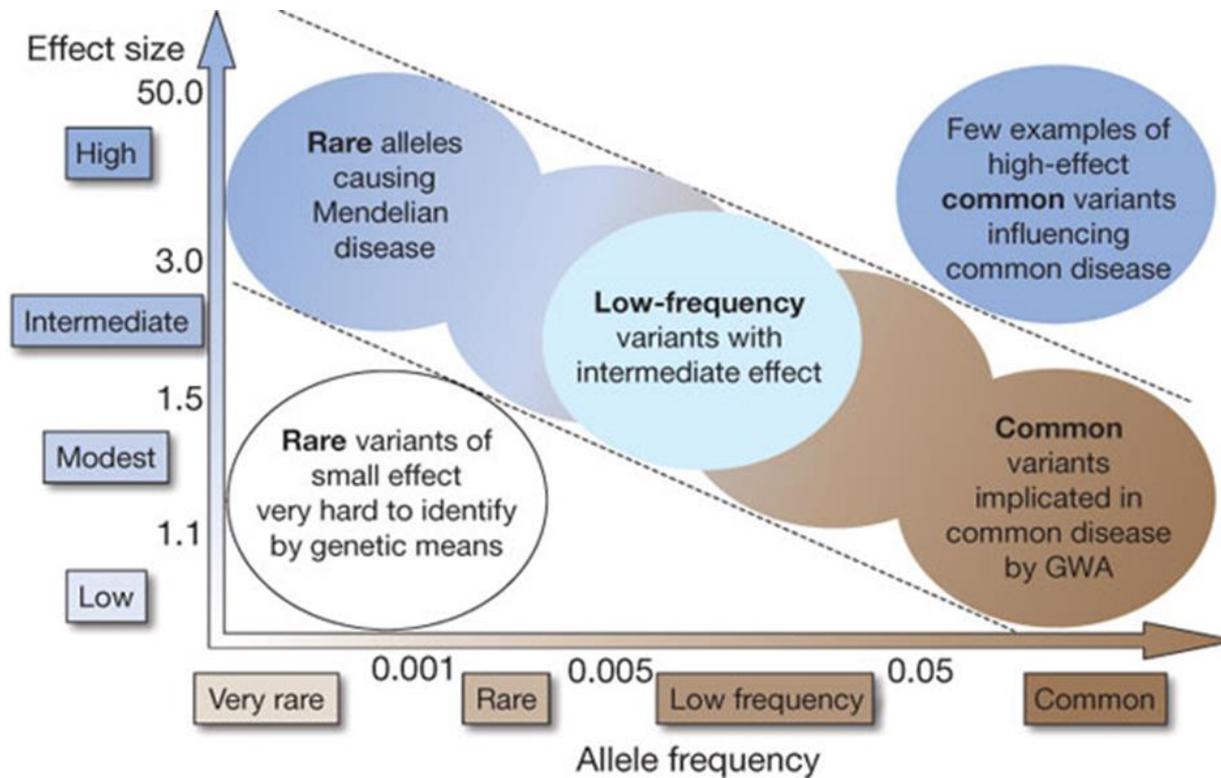
- Familiäre (attenuierte) adenomatöse Polyposis FAP (aFAP), *APC* (MLPA, Sequenz)
- Colorectale adenomatöse Polyposis, autosomal rezessiv, *MUTYH* (MLPA, Sequenz)

#### Brust- und Ovarialkrebs familiär

Bitte beachten Sie die Kriterien für diese Untersuchung auf unserer Homepage unter:

<http://www.uniklinik-ulm.de/struktur/institute/humangenetik/home/genetische-diagnostik/leistungsverzeichnis.html>

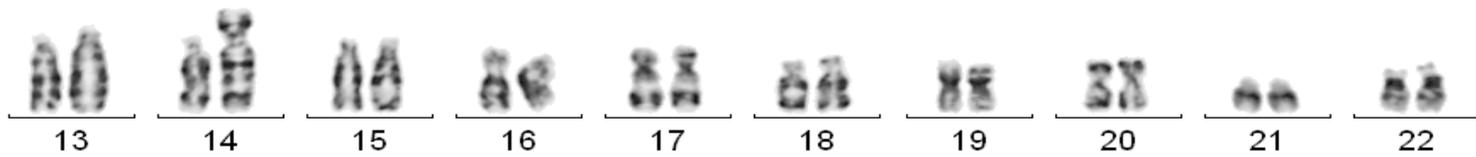
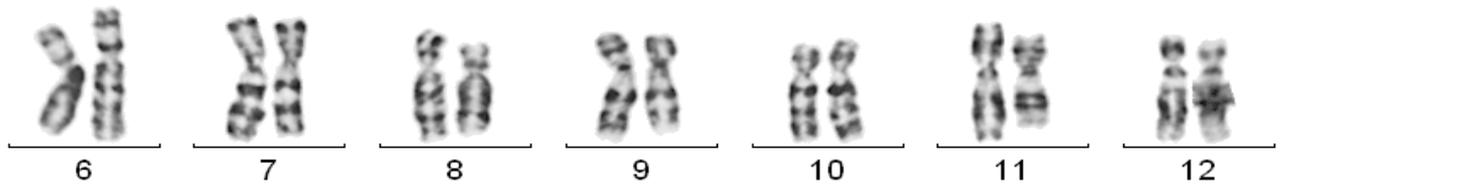
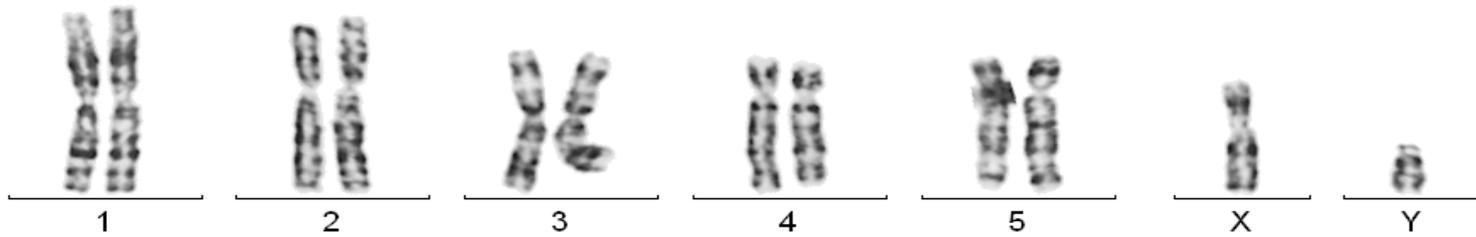
- ATM*                                       *BRCA1*
- BRCA2*                                   *CDH1*
- CHEK2*                                   *NBN*
- PALB2*                                   *RAD51C*
- RAD51D*                                 *TP53*



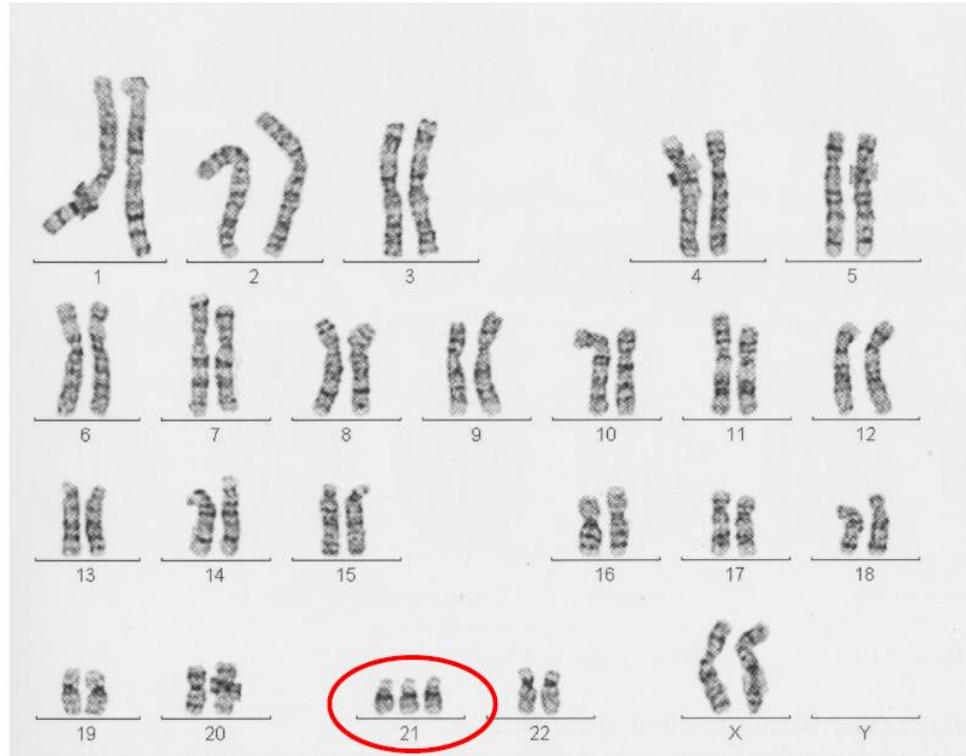
Manolio et al. Nature, 2009

# Wozu genetische Diagnostik?

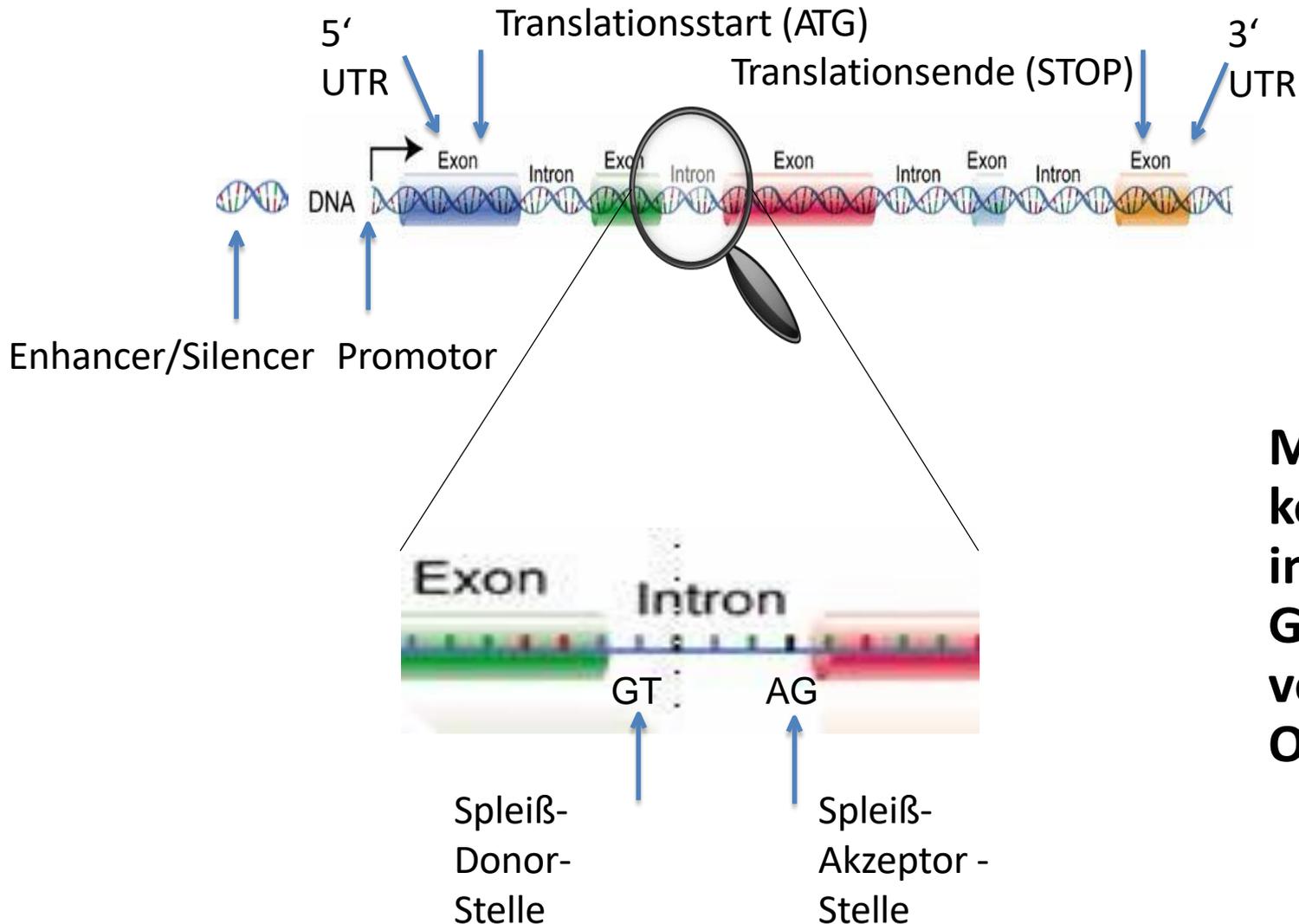
- Bestätigung der Diagnose
- Einschätzung der Wiederholungswahrscheinlichkeit
- Pränatale Diagnostik/PID, prädiktive Diagnostik
- Therapie



# Karyogramm Trisomie 21: 47,XX,+21



# Aufbau eines Gens



**Mutationen können innerhalb eines Gens an verschiedenen Orten vorliegen**

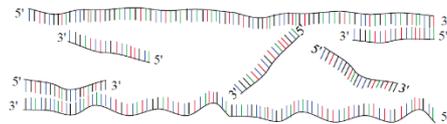
UTR: untranslatierte Region

# Sanger-Sequenzierung

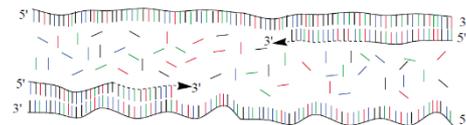
30 - 40 cycles of 3 steps :



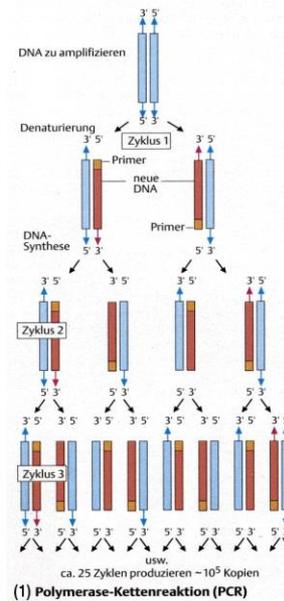
Step 1 : denaturation



Step 2 : annealing

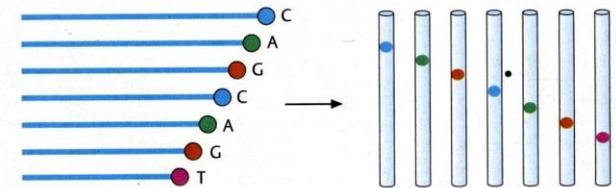


Step 3 : extension



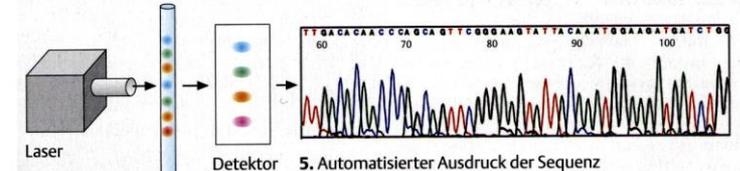
● ddATP      ● ddCTP      ● ddGTP      ● ddTTP

1. ddNTPs markiert mit verschiedenen fluoreszierenden Farbstoffen



2. Sequenzier-Reaktionen

3. Kapillaren, die Sequenziergel mit NTPs enthalten

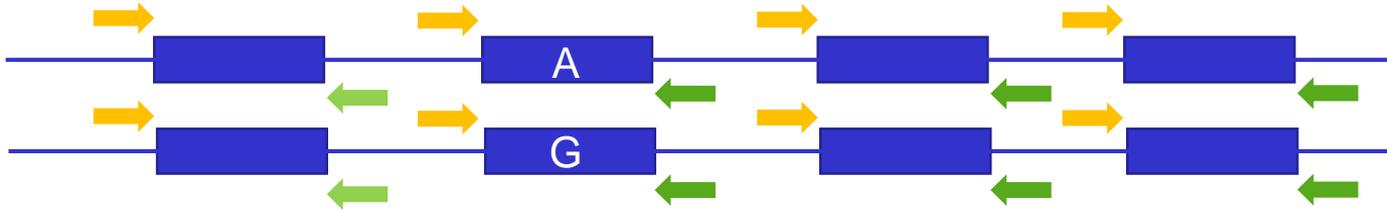


4. Detektionssystem

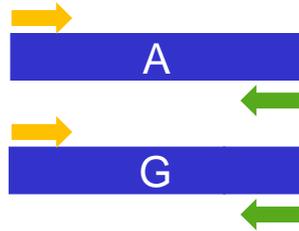
(2) Automatisierte DNA-Sequenzierung (Prinzip)



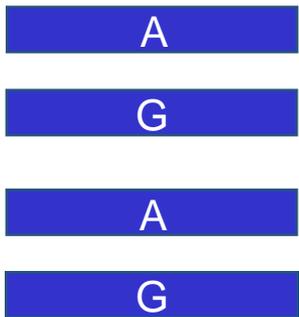
# PCR



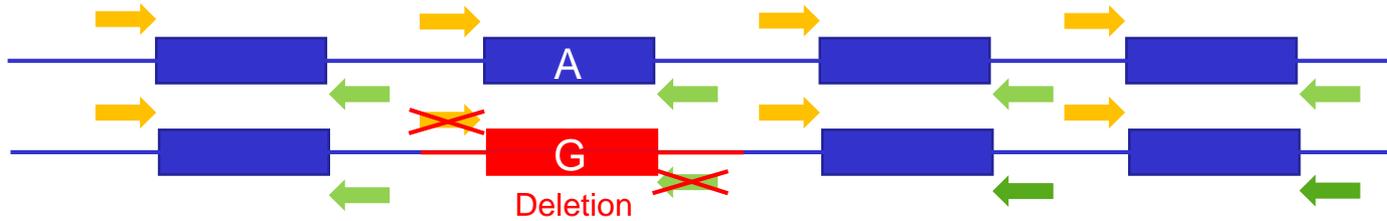
1st PCR cycle



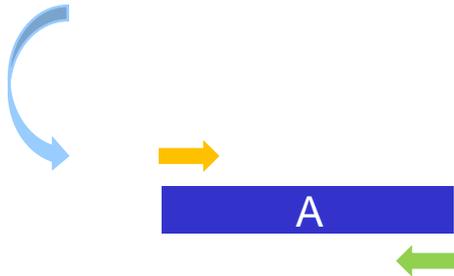
2nd PCR cycle



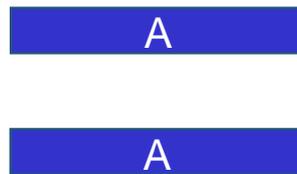
# Allele drop out I



1st PCR cycle

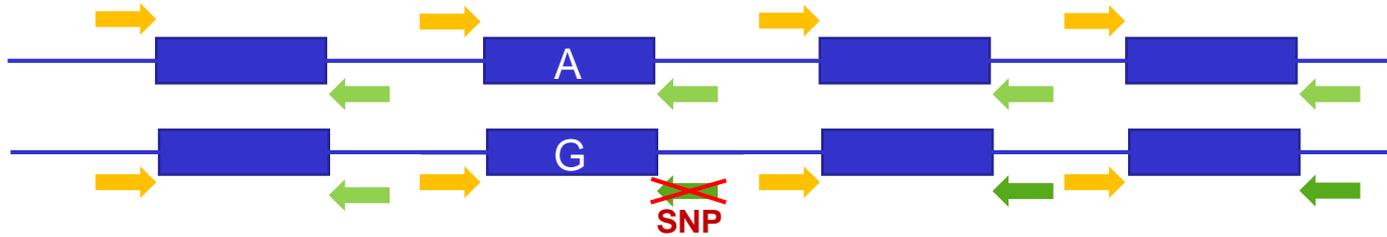


2nd PCR cycle

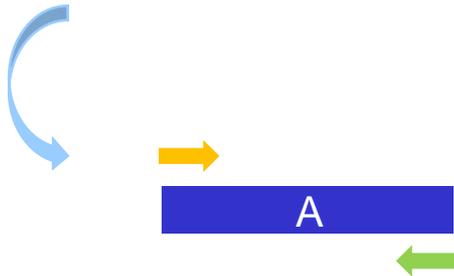


Größere heterozygote Deletionen können Mittels Sanger-Seq. nicht detektiert werden

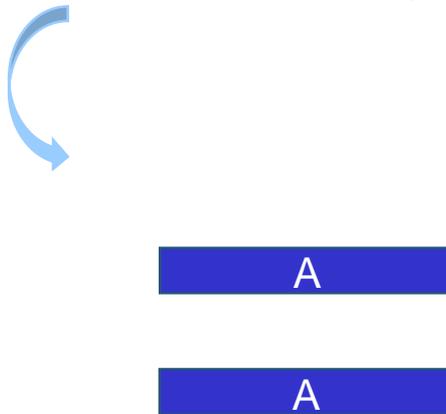
# Allele drop out I



1st PCR cycle



2nd PCR cycle



SNPs in der Primerbindungsstelle  
→ Ausfall eines Allels

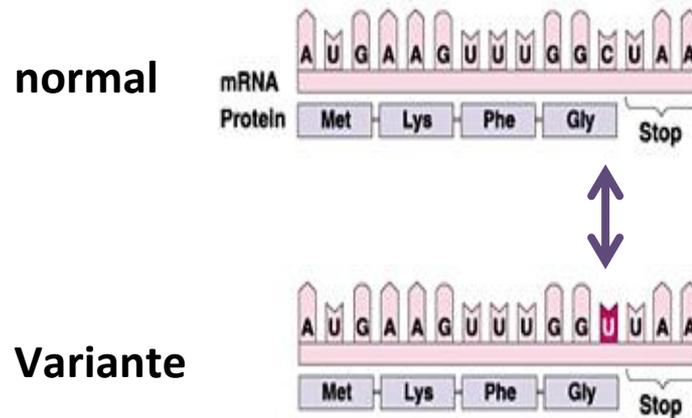
# Limitationen von Sanger-Sequenzierung

---

- Meist nur Exon und Exon-Intron-Übergänge sequenziert (5'UTR, 3'UTR, Promotor, tief intronische Varianten)
- Größere het. Deletionen und Duplikationen → MLPA
- Allel-spezifische Amplifikation (Allel-Dropout)

# Mutations/Variantenarten - synonym

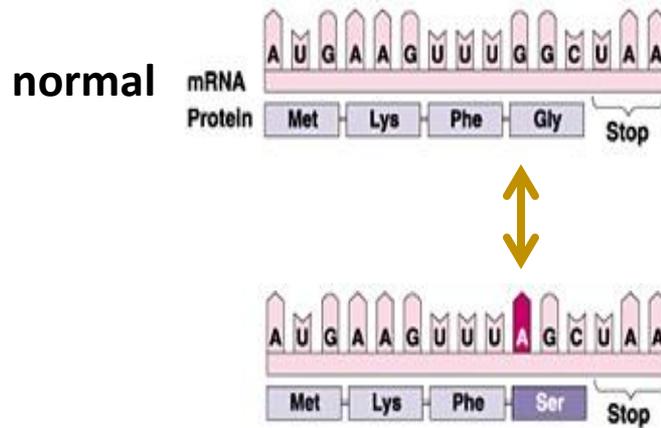
1. Austausch eines Nukleotids, der nicht zum Austausch einer Aminosäure führt:



**synonyme (stille) Variante**

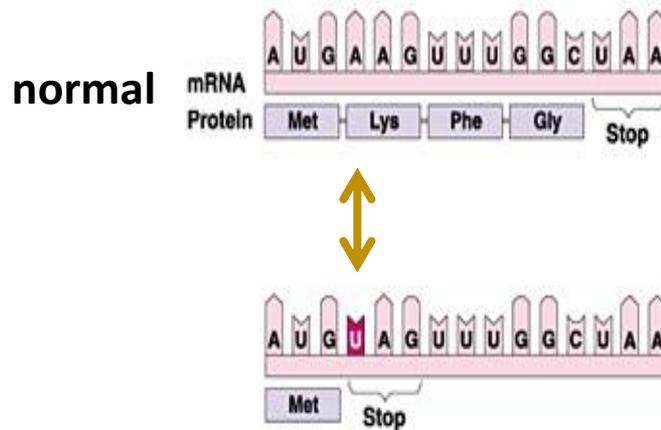
# Mutationsarten - Missense

1. Austausch eines Nukleotids, der nicht zum Austausch einer Aminosäure führt: *syn.*
2. Mutation, die zum Austausch einer Aminosäure führt: **Missense-Mutation**



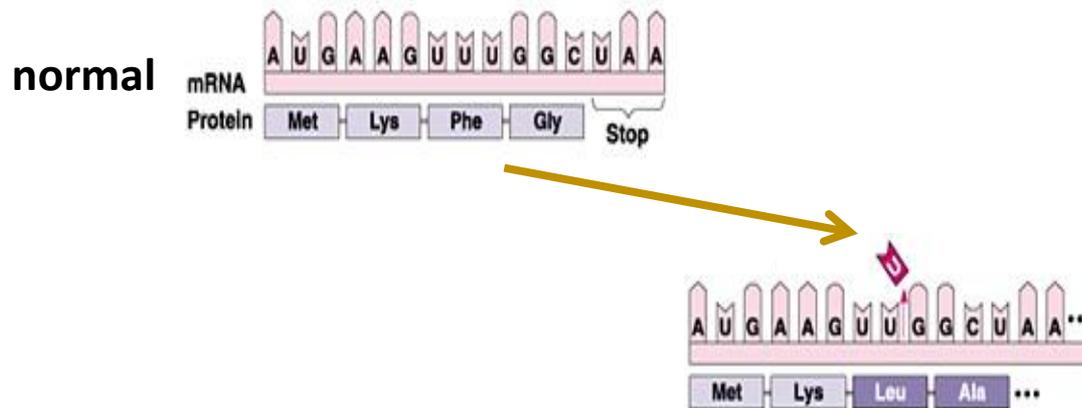
# Mutationsarten - Nonsense

1. Austausch eines Nukleotids, der nicht zum Austausch einer Aminosäure führt: *syn.*
2. Mutation, die zum Austausch einer Aminosäure führt: *Missense-Mutation*
3. Mutation, die zu einem direkten Stoppcodon führt: *Nonsense-Mutation*



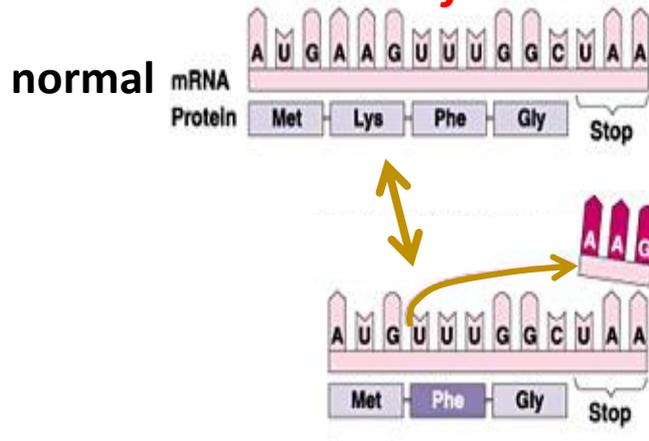
# Mutationsarten – Frameshift

1. Austausch eines Nukleotids, der nicht zum Austausch einer Aminosäure führt: *syn.*
2. Mutation, die zum Austausch einer Aminosäure führt: *Missense-Mutation*
3. Mutation, die zu einem direkten Stoppcodon führt: *Nonsense-Mutation*
4. Deletion/Insertion von einer Anzahl von Nukleotiden,  
die **nicht** durch 3 geteilt werden kann: *Frameshift-Mutation*



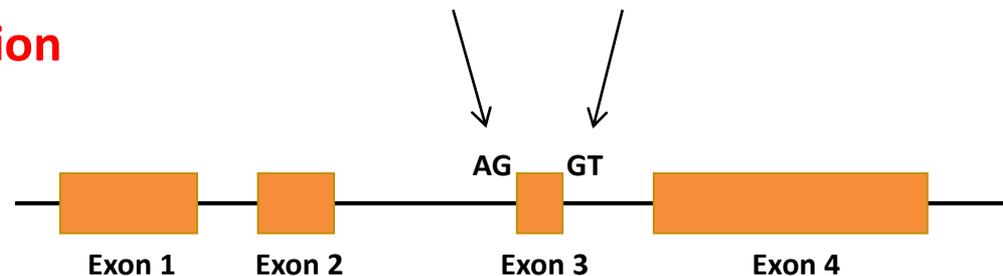
# Mutationsarten - in frame

1. Austausch eines Nukleotids, der nicht zum Austausch einer Aminosäure führt
2. Mutation, die zum Austausch einer Aminosäure führt: *Missense-Mutation*
3. Mutation, die zu einem direkten Stoppcodon führt: *Nonsense-Mutation*
4. Deletion/Insertion von einer Anzahl von Nukleotiden,  
die **nicht** durch 3 geteilt werden kann: *Frameshift-Mutation*
5. Deletion/Insertion von einer Anzahl von Nukleotiden, die  
durch 3 geteilt werden kann: *in frame-Mutation*



# Mutationsarten - Spleiß

1. Austausch eines Nukleotids, der nicht zum Austausch einer Aminosäure führt
2. Mutation, die zum Austausch einer Aminosäure führt: *Missense-Mutation*
3. Mutation, die zu einem direkten Stoppcodon führt: *Nonsense-Mutation*
4. Deletion/Insertion von einer Anzahl von Nukleotiden,  
die **nicht** durch 3 geteilt werden kann: *Frameshift-Mutation*
5. Deletion/Insertion von einer Anzahl von Nukleotiden, die  
durch 3 geteilt werden kann: *in frame-Mutation*
6. Mutation, die eine Spleißstelle betrifft (Spleiß-Akzeptor /  
Spleiß-Donor): *Spleiß-Mutation*



# Genetische Variabilität

AAATATCTATATTCCAATCTCATATTCTTATTTATTTAATGCTCTTGAACATCTCTAGAAA  
ATGTTTTTCCGTAACGCTTCGAATCAATGTGTCTCTGTAGTCCTAATATATTTTGATATTTA  
TATTTGATGCTATGTAGAT [C/G] CAACATTTCTGGGTGTAACCTTTCTAGCTATATCTTTG  
TTTTGCTATTCACCTCTAAATGACTCTTTTTGAGTCTCTTGAATTTTACTTTGCCGCCAAATA  
ATACTCTCCCACCTTTGAACTAATTGTTATATCTTCTTTCTTTGTACCAGAGTACACTTTAA  
TAGGGGAGTCAGCTTATATATTTTGTAAAGAGATATCTCTAAAGGGGTGGCATTATGTTGAC  
ATCCACCAAGCAGGCTACAATCAGTGCCTCTGTCTGGTTATTTTCCATATGTTTCCTCTCAT  
TTCAGTTAGAAATTGCATGGGCTGAATGGTAACATTTATGGCTCTATGACAAGTTCTTGCAA  
ATAGGTGTCCAGGTAACAGCTGTGGTCAGATATTTCTCTCATAACTTCTGATGCTTATGGAAA  
CAAACGTGGCTTCTTTATTAGATGTATGAGAGATGAATGAGAATATGTTTTCAAGTATTGG

ACATTAGCCCCTCGTTTC [C/T] GATCACTCTTTATATATTGT  
ATATTCTCAAACTATTCTCCAATGTCTTTTCCAAGCCTATAAT  
AAAAGATCCATCAACAAATGAAGCAATGAATAATATCCTCCAA  
ATGGGGATTGGAAACAGCCTAAGTATAGCATATTATTGATATTT  
GTGGATCCTTTGACACGATAACTGAGA



## Polymorphismus oder Mutation

CGAAGAATAAGGAAATAAGTGCGCAGGCATGCACACACACACA  
CACACACAGAATTATCAACAACCTCACTTCTATTATTATTGCC  
TGAAAAAGAAAAGAAAGTCAAACACTTTGCAGAAACCTACATTTTCCCAGAAACAGAATTA  
CCATGTAAAGATGAATTCCTTTTTAAGGGGCACTAAATGACATATTAGATAGTGACTTTAAA  
CTAATTGTATGTTCTCACATATTTGCAAACATACAGAAAACTGACCAAATGCATGCTTCT  
CAATTTTTTATTTTCATAGGCTGAGTGTCTTTTCCCATC

# Beispiel 1



# Beispiel 2

---

3-j. Mädchen

- Z.n. Mekonium-Ileus
- Chronischer Husten
- Bronchiektasen
- Besiedlung mit *Pseudomonas aeruginosa*
- Auffälliger Schweißtest

→ *CFTR*

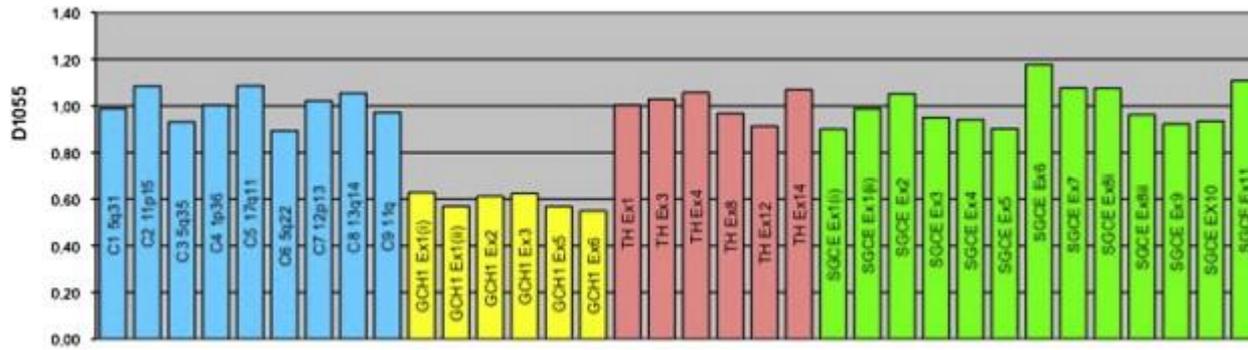
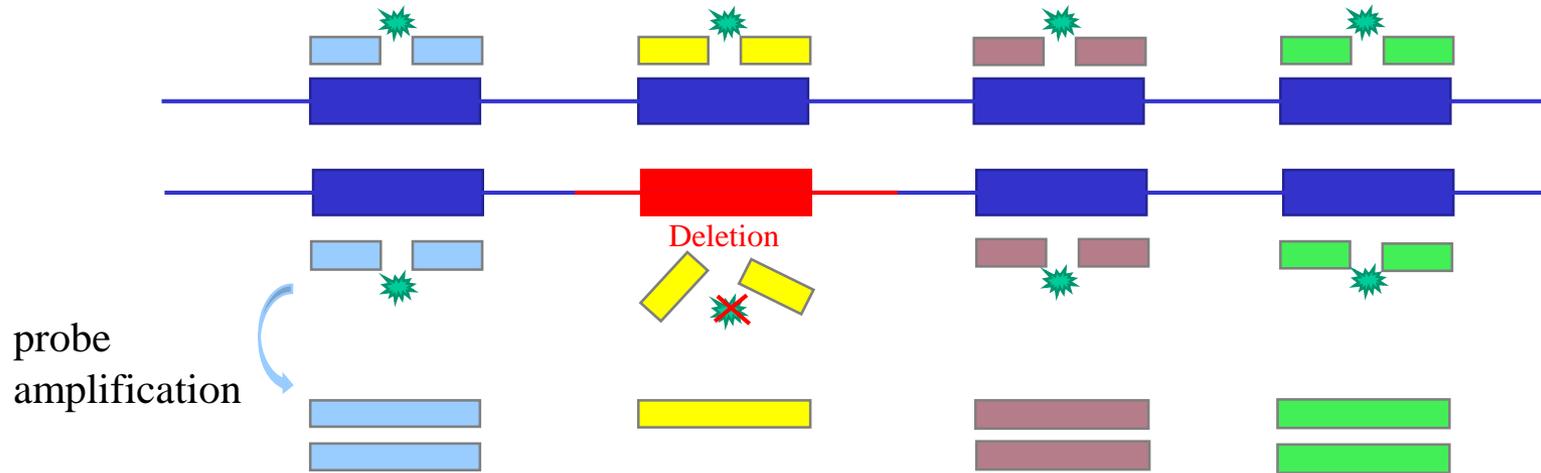
ORIGINAL ARTICLE

# Lumacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del *CFTR*

C.E. Wainwright, J.S. Elborn, B.W. Ramsey, G. Marigowda, X. Huang, M. Cipolli, C. Colombo, J.C. Davies, K. De Boeck, P.A. Flume, M.W. Konstan, S.A. McColley, K. McCoy, E.F. McKone, A. Munck, F. Ratjen, S.M. Rowe, D. Waltz, and M.P. Boyle, for the TRAFFIC and TRANSPORT Study Groups\*

therapierelevant

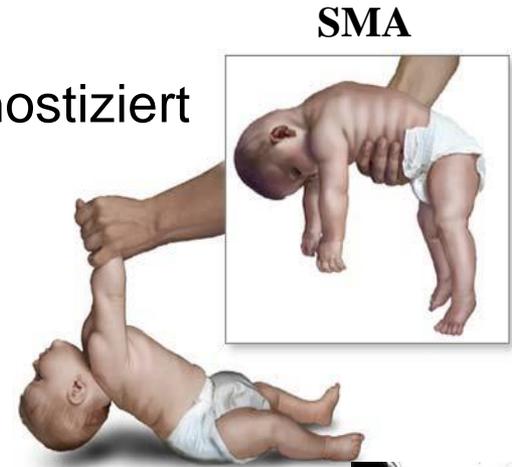
# Multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA)



# Beispiele

Erkrankungen, die mittels Sanger-Seq. nicht diagnostiziert werden können:

1. SMA (hom. Deletion *SMN1*) → MLPA



2. Fragiles X-Syndrom (Trinukleotidrepeat) → SB

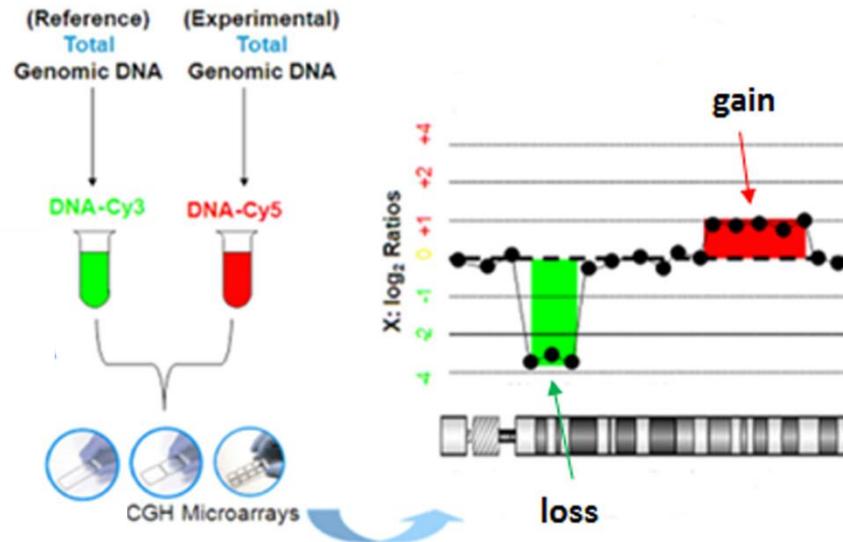


3. DiGeorge-Syndrom/Mikrodel. 22q11.2 → MLPA/FISH



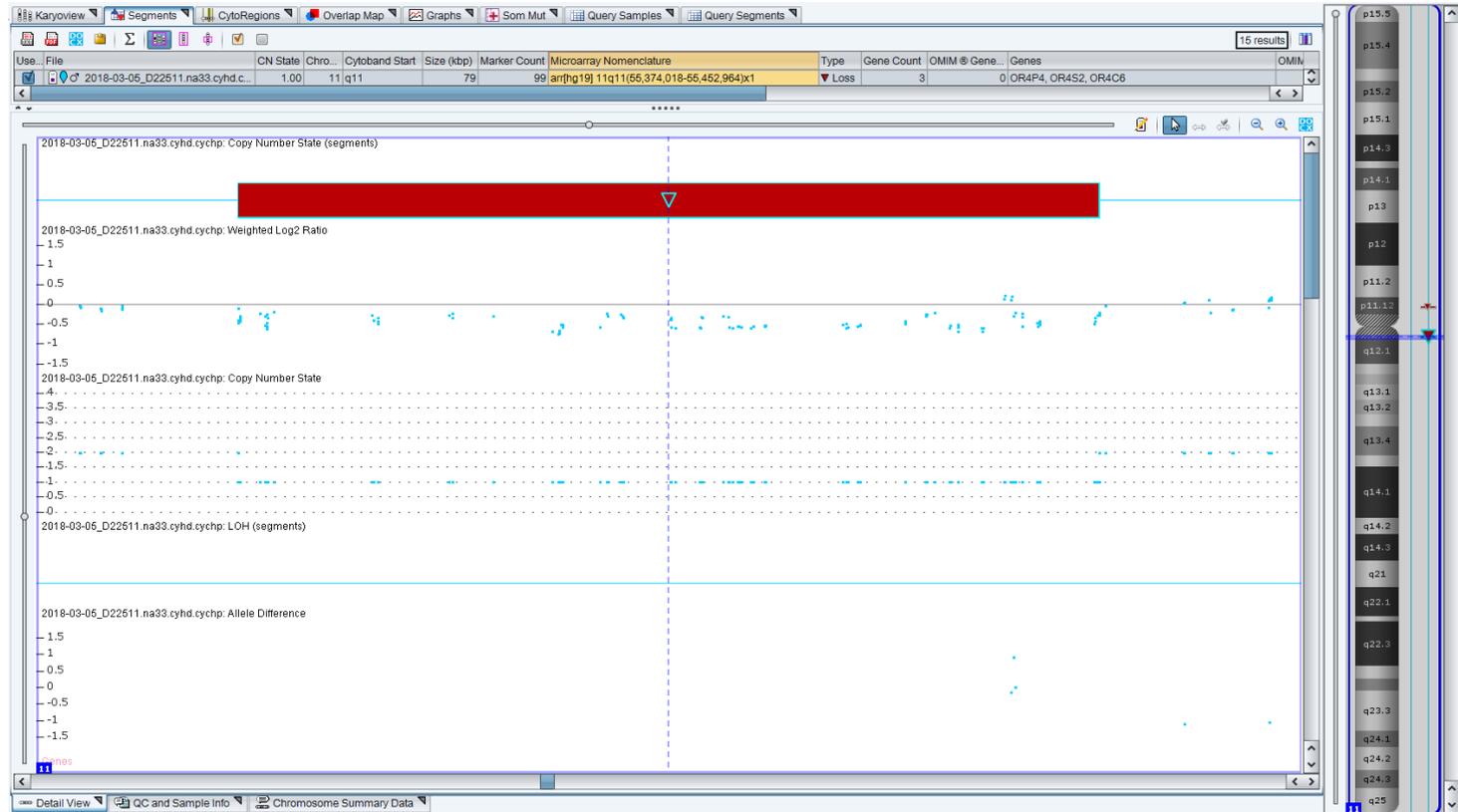
# Array-CGH

- Array comparative genomic hybridization
- Detektion von submikroskopische Deletionen/Duplikationen genomweit
- z.B. bei Auffälligkeiten verschiedener Organe/Systeme (Kleinwuchs, MR, Autismus, multiple Fehlbildungen, Epilepsie)



# Array-CGH II

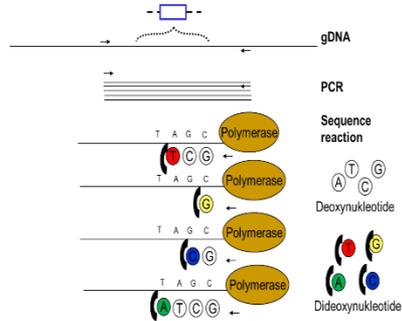
## 5-j. Junge m. Autismus, Intelligenzminderung und allg. Entwicklungsstörung



**Menschliches Erbgut  
komplett entschlüsselt**

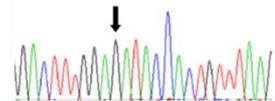
# Molekulargenetische Diagnostik

## Sanger-Sequenzierung



D F G D T T V \*

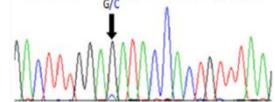
:G A C T T T G G A A T A C C A C T G T T T A A



control

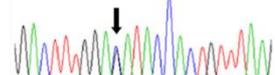
D F G D/H T T V \*

G A C T T T G G A A T A C C A C T G T T T A A



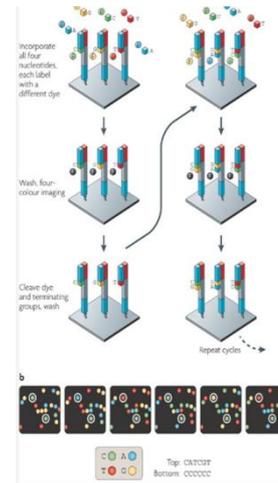
somatic  
mosaicism

:G A C T T T G G A A T A C C A C T G T T T A A

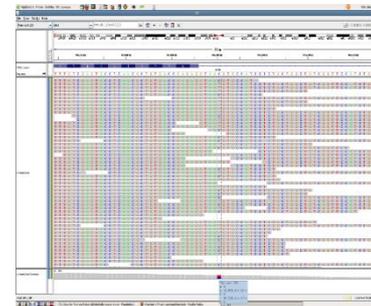


heterozygous  
mutation  
carrier

## Hochdurchsatzsequenzier- technologien



Metzker 2010, Nat Rev Genet.





Beijing Genomic Institute 😊



MiSeq™

illumina

# Next Generation Sequencing

- Next Generation Sequencing / massively parallel sequencing
- Produziert nicht eine Sequenz sondern Millionen
- kurze Sequenz-Fragmente (*reads*) von ca. 50-500 bp
- Sequenzen werden mit dem human Referenzgenom *align*t
- jede Stelle im Genom ist idealerweise von mehreren *reads* abgedeckt (*coverage*)

# NGS

- Nicht ein Gen wird untersucht, sondern mehrere/viele
- Mögliche Anwendungen
  - Panel
  - Exom
  - Genom

## Referenzzelle G

Home Dataset Selection/Filter Options Browse Exomes **Browse Reads** Gene Coverage Download Exon Coverage Query Documentation Admin

Browse Reads

Dataset PRID476:AID2738:GB21CY1 Region 1:1309519-1309519 Transcript ENST00000336370 Strand -1 Showreads

```
GTTCATCTTCCGCCGCGGATCTTCAGCACGTTTTTGCAC TGAATTTGAGGGCGCATCCGCGACGCCTTCATCCCCCTGCTCGGCCCTTCCCCTATCTGGCTGGGCGGACACTGGTAGGATf
309460 | 1309470 | 1309480 | 1309490 | 1309500 | 1309510 | 1309520 | 1309530 | 1309540 | 1309550 | 1309560 | 1309570 | 1309580
tcagcacgtttttgcactgaaat ttgaggcgca tcc a egagcgcttcatccccctgctcgggcccttccccctatctggctgggcgga c actggtaggatf
CAGCACGTTTTTGCAC TGAATTTGAGGGCGCATCCGCGACGCCTTCATCCCCCTGCTCGGCCCTTCCCCTATCTGGCTGGGCGGACACTGGTAGGATf
cagcacgtttttgcactgaaat ttgaggcgca tcc g gacgccttcatccccctgctcgggcccttccccctatctggctgggcgga c actggtaggatf
GCACGTTTTTGCAC TGAATTTGAGGGCGCATCCGCGACGCCTTCATCCCCCTGCTCGGCCCTTCCCCTATCTGGCTGGGCGGACACTGGTAGGATf
gca c g t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c g c g a g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
CAGC G T T T T T G C A C T G A A T T T G A G G G C G C A T C C G C G A C G C C T T C A T C C C C C T G C T C G G C C C T T C C C C T A T C T G G C T G G G C G G A C A C T G G T A G G A T f
ca c g t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c a e g a c g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
CAGC G T T T T T G C A C T G A A T T T G A G G G C G C A T C C G C G A C G C C T T C A T C C C C C T G C T C G G C C C T T C C C C T A T C T G G C T G G G C G G A C A C T G G T A G G A T f
CGTTTTTGCAC TGAATTTGAGGGCGCATCCGCGACGCCTTCATCCCCCTGCTCGGCCCTTCCCCTATCTGGCTGGGCGGACACTGGTAGGATf
cg t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c a e g a c g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
cg t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c a e g a c g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
cg t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c a e g a c g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
GTTTTTGCAC TGAATTTGAGGGCGCATCCGCGACGCCTTCATCCCCCTGCTCGGCCCTTCCCCTATCTGGCTGGGCGGACACTGGTAGGATf
TTTTTGCAC TGAATTTGAGGGCGCATCCGCGACGCCTTCATCCCCCTGCTCGGCCCTTCCCCTATCTGGCTGGGCGGACACTGGTAGGATf
t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c g c g a g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c g c g a g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c g c g a g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
T T T T T G C A C T G A A T T T G A G G G C G C A T C C G C G A C G C C T T C A T C C C C C T G C T C G G C C C T T C C C C T A T C T G G C T G G G C G G A C A C T G G T A G G A T f
t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c a e g a c g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c a e g a c g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
t t t t t g c a c t g a a t t t g a g g c g c a t c c a e g a c g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
TTGCACTGAAATTTGAGGGCGCATCCGCGACGCCTTCATCCCCCTGCTCGGCCCTTCCCCTATCTGGCTGGGCGGACACTGG
ttgca c t g a a t t t g a g g c g c a t c c g c g a g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
tgca c t g a a t t t g a g g c g c a t c c a e g a c g c c t t c a t c c c c c t g c t c g g c c c t t c c c c t a t c t g g c t g g g c g g a c a c t g g t a g g a t f
GCACTGAAATTTGAGGGCGCATCCGCGACGCCTTCATCCCCCTGCTCGGCCCTTCCCCTATCTGGCTGGGCGGACACTGGTAGGATf
CACTGAAATTTGAGGGCGCATCCGCGACGCCTTCATCCCCCTGCTCGGCCCTTCCCCTATCTGGCTGGGCGGACACTGGTAGGATf
ctqaaat t t t q a q q q c a t c c a e q a c g c c t t c a t c c c c c t g c t c q q c c c t t c c c c t a t c t q q c t q q q c q q a c a c t q q t a q q a t f
```

Reads  
Großbuchstaben  
„vorwärts“  
Kleinbuchstaben  
„rückwärts“

50% A/a, 50% G/g  
Sehr wahrscheinlich heterozygot

# Referenzallel T

Home Dataset Selection/Filter Options Browse Exomes **Browse Reads** Gene Coverage Download Exon Coverage Query Documentation Admin

## Browse Reads

Dataset PRID476:AID2738:G821CY1 Region 1:55167773-55167773 Transcript ENST00000421030 Strand 1 Show reads

tggcgtcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccagGCACGAGAGSTCGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTATGGGAAGGTGGTCCAGAAGC!

10 55167720 55167730 55167740 55167750 55167760 55167770 55167780 55167790 55167800 55167810 5!

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCT

tggcgtcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccaggcacgagaggacgtgcgctcctcctg

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGC

tggcgtcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccaggcacgagaggacgtgcgctc

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCA

tggcgtcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccaggcacgagaggacgtgcgctcctcctgcatc a

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCA

tggcgtcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccaggcacgagaggacgtgcgctcctcctgcatc aacc

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCT

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTG

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGT

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTA

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTAT

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTAT

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGCTCTCCTCCTGCATCAACCTGTATGGG

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTATGGGA

tggcgtcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccaggcacgagaggacgtgcgctcctcctgcatc aacc

tggcgtcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccaggcacgagaggacgtgcgctcctcctgcatc aacctgtatgggaa

tggcgtcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccaggcacgagaggacgtgcgctcctcctgcatc aacctgtatgggaaag

tggcgtcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccaggcacgagaggacgtgcgctcctcctgcatc aacctgtatggaaaggt

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTATGGGAAGGTG

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTATGGGAAGGTG

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTATGGGAAGGTGG

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTATGGGAAGGTGGTC

TGGCGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTATGGGAAGGTGGTCCA

gctcccagaggagggaccccctctgagcctttggctcttcccaggcacgagaggacgtgcgctcctcctgcatc aacctgtatgggaaaggtggccagaa

CGTCCCAGAGGAGGGACCCCCTCTGAGCCTTTGGTCTTCCCAGGCACGAGAGGACGTGGCGCTCCTCCTGCATCAACCTGTATGGGAAGGTGGTCCAGAAG

100% A/a  
Sehr wahrscheinlich homozygot

# Genpanel

- Sequenzierung von ca. 10-mehrere Hundert Krankheitsgenen
- z.B. wenn Erkrankung genetisch heterogen
- HumGen, z.B. Panels für monogene Adipositas, ALS

- Panel < 25 kb
- LEP* (MLPA, Sequenz)
- LEPR* (MLPA, Sequenz)
- MC4R* (MLPA, Sequenz)
- SIM1* (MLPA, Sequenz)
- KSR2*
- POMC* (MLPA, Sequenz)
- PCSK1*
- NTRK2*
- MRAP2*
- SH2B1* nur MLPA

# TruSightOne

- Auch Mendeliom oder klinisches Exom genannt
- ca. 4700 / ca. 6700 Krankheitsgene
- Bei unklarer Diagnose
- Unterpanels (Ulm)

Osteopetrose 21 Gene

[Hämatologie](#)

Anämien 58 Gene

Thrombopenien 28 Gene

Knochenmarkversagen 48 Gene

## Beispiel 4

Indexpatient M., geb. 2003:

- 2017 Synkope, stationäre Aufnahme
- Ausgeprägte mikrozytäre hypochrome Anämie
- V.a. Eisenmangel
- aber Serumtransferrin ↑, Transferrin-Sättigung ↑, Ende Eisensubstitution
- KM: geringgradige Vermehrung Siderozyten
- Blutausstrich und KM: V.a. grundlegende Störung Erythropoese
- Familienanamnese unauffällig
- V.a. sideroblastische Anämie

*ALAS2*

*GLRX5*

*HSPA9*

*LARS2*

*SLC25A38*

Anämien 58 Gene

*ALAS2*:c.1570C>G; p.His524Asp

## Beispiel 4

- Diagnose bestätigt
- TruSightOne-Subpanel: gut geeignet bei genetischer Heterogenität
- hier: therapeutisch relevant

## Beispiel 5

Indexpatientin F., geb. 2000:

- 2015 makrozytäre hyperchrome Anämie (Hb 5,3), Leukopenie
- KM 2017: MDS
- Regelmäßige Transfusionen
- KM 2017: KM-Erkrankung aller 3 Zellreihen, MDS RCC-Typ

Knochenmarkversagen 48 Gene

*RPS10:c.292\_293insA; p.Arg98Glnfs\*10*

## Beispiel 5

- Diagnose gefunden
- TruSightOne-Subpanel: kann helfen, eine Diagnose zu stellen
- Mutation heterozygot, nicht bei Eltern vorhanden (*de novo*)

# TruSightOne aber keine Mutation?

- Mutation in einem Exon/Gen, das nicht (ausreichend) gecouvert war.
- Mutation in einem neuen Krankheitsgen, das nicht mit im TruSightOne ist.
- Bei Einzelpat. ist natürlich auch möglich, dass keine genet. Form vorliegt.
- Mutation in einem Bereich, der nicht im TruSightOne abgedeckt ist;  
z.B. tief intronisch, intragenisch o.ä.
- Mutation, die mit Sequenzierungstechniken nicht einfach identifiziert werden kann, z.B. Repeatexpansion o.ä.
- Deletion/Duplikation (array-CGH)

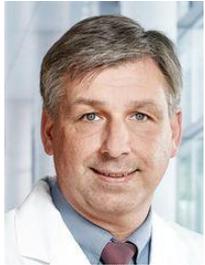
Mittels (Trio-)Exomseq. kann man bei <50% der Patienten eine Diagn. stellen

# Exom/Genom

- Exom: ca. 1,5% des Genoms, aber ca. 80% der pathogenen Mutationen
- Ca. 30.000 Varianten/Individuum
- → Bioinformatik
  
- Genom: große Menge an Daten, Mutationen auch intragenisch detektierbar,  
auch Deletionen/Duplikationen
- z. Zt. nicht in der Routinediagnostik

# Zusammenfassung

- Molekulargenetische Diagnostik kann sinnvoll sein
- Genetischer Test je nach Erkrankung/Gen (Sanger, MLPA, SB, aCGH, NGS)
- NGS ist schön, führt aber nicht immer zu einer molekularen Diagnose



Danke für Ihre Aufmerksamkeit