



Pressemitteilung

15. April 2008

Einsatz neuer Sequenziertechnologien für klinische Fragestellungen

Wissenschaftler des Max-Planck-Instituts für molekulare Genetik in Berlin identifizieren neue Gene für geistige Behinderung

Bislang angewandte Methoden zur Untersuchung chromosomaler Bruchpunkte sind relativ umständlich, zeitaufwändig und teilweise auch zu ungenau, um eventuell unterbrochene Gene zu identifizieren. Wissenschaftler des Berliner Max-Planck-Instituts für molekulare Genetik haben jetzt eine Methode vorgestellt, die diese Probleme überwindet. Mit Hilfe neuester Sequenziertechnologien (Solexa-Sequenzierung) haben die Forscher unter der Leitung von Dr. Wei Chen chromosomale Bruchstellen von drei Patienten mit unterschiedlichen Formen von geistiger Behinderung untersucht. Es gelang ihnen, bei allen drei Patienten Gene zu identifizieren, die durch ein Chromosomen-Rearrangement unterbrochen worden waren. Es handelt sich um drei verschiedene Gene mit völlig unterschiedlicher Funktion; alle drei sind aus Sicht der Wissenschaftler jedoch für die jeweilige Form der geistigen Behinderung der betroffenen Patienten verantwortlich. Der in der Zeitschrift „Genome Research“ erschienene Artikel beschreibt erstmalig den Einsatz der Solexa-Sequenzierung für klinische Untersuchungen [*Chen et. al., Genome Research 2008, DOI: 10.1101/gr.076166.108*].

Zahlreiche Patienten mit genetisch bedingten Erkrankungen zeigen eine Umorganisation von Chromosomenabschnitten. Diese Umorganisation wird durch den Austausch von Chromosomen-Abschnitten untereinander, sogenannte balancierte Chromosomen-Rearrangements, bedingt. Die betroffenen Chromosomen brechen in zwei oder mehr Stücke, welche untereinander vertauscht und zu „neuen“ Chromosomen zusammengesetzt werden. Je nachdem, an welcher Stelle ein Chromosom bricht, ist der Austausch folgenlos oder kann zu Unterbrechungen bzw. Inaktivierung von Genen führen. Die systematische Erfassung und molekulargenetische Analyse von Chromosomenbruchpunkten ist daher ein bewährter Weg zur Identifikation von Krankheitsgenen.

Bislang werden bekannte Chromosomenbruchstellen vor allem mittels Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH) untersucht. Dabei werden kurze DNA-Abschnitte mit bekannter Sequenz, die mit einem fluoreszierenden Farbstoff markiert sind, als Sonden zu dem zu untersuchenden Chromosom gegeben. Die Sonde bindet an die jeweils homologe Region im Chromosom und kann mit Hilfe eines Fluoreszenz-



Mikroskops nachgewiesen werden. Da der Abschnitt der DNA, in welchem der Bruchpunkt liegt, im Vorfeld der Untersuchung nicht bekannt ist, versuchen die Wissenschaftler bei dieser Methode, sich mit Hilfe zahlreicher unterschiedlicher Sonden immer näher an den Bruchpunkt „heranzutasten“ – ein aufwändiges Verfahren, das mehrere Monate dauern kann.

Bei der Solexa-Sequenzierung wird dagegen die gesamte DNA der zu untersuchenden Chromosomen mechanisch in kurze Stücke gebrochen, die über Adaptermoleküle alle gleichzeitig an einer Trägerplatte fixiert werden. Nach einer Vermehrung (Amplifikation) der Stücke werden in vielen einzelnen Runden die komplementären DNA-Stränge zu den DNA-Bruchstücken aufgebaut (sequencing-by-synthesis). Dabei misst ein Laser nach jeder Runde, an welcher Stelle jeweils welche Base eingebaut wurde. Durch dieses hochparallele und fast vollständig automatisierte Verfahren kann mit einem einzigen Experiment die gesamte zu untersuchende DNA auf einmal sequenziert werden. Das Ergebnis liegt entsprechend bereits nach einer Woche vor.

„Mit Hilfe der Solexa-Sequenzierung können wir die Bruchstelle innerhalb eines Chromosoms bis auf 1.000 Basenpaare genau bestimmen,“ erläutert Chen die neue Methode. „Die in Frage kommende Region wird anschliessend mittels konventioneller Sequenzierung genau bestimmt. Aufgrund des kurzen Abschnittes genügt hierfür jedoch ein einziger Arbeitsschritt.“ In einer Pilot-Studie haben Chen und seine Kollegen die Bruchstellen der Chromosomen von drei Patienten mit unterschiedlichen Formen von geistiger Behinderung untersucht. Bei allen dreien fanden sie Gene, die durch das Chromosomen-Rearrangement unterbrochen worden waren. Die Wissenschaftler gehen davon aus, dass die drei Gene für unterschiedliche Formen der geistigen Behinderung verantwortlich sein können. Neben der medizinischen Erkenntnis demonstriert ihre Arbeit jedoch auch die Wirksamkeit der neuen Technologie für die Aufklärung von genetischen Veränderungen. Die Forscher hoffen, dass ihre Methode die systematische Identifizierung und Charakterisierung von Krankheitsgenen bei Patienten mit krankheits-assoziierten balancierten Translokationen enorm erleichtern und beschleunigen wird.

[pm]

Originalveröffentlichung:

Chen, W., Kalscheuer, V., Tzschach, A., Menzel, C., Ullmann, R., Schulz, M., Erdogan, F., Li, N., Kijas, Z., Arkesteijn, G., Lopez Pajares, I., Goetz-Sothmann, M., Heinrich, U., Rost, I., Dufke, A., Grasshoff, U., Glaeser, B., Vingron, M., Ropers, HH. *Mapping translocation breakpoints by next-generation sequencing*. Genome Research, published online before print March 7, 2008 as doi: doi:10.1101/gr.076166.108

Kontakt:

Dr. Patricia Marquardt
Max-Planck-Institut
für molekulare Genetik
Ihnestr. 63-73
14195 Berlin

Tel.: +49 30 8413-1716
Fax: +49 30 8413-1671
Email: patricia.marquardt@molgen.mpg.de