

Informationsblatt für Patienten mit GPI Ankerdefekt

Berlin, Juni 2012

Hochdurchsatz Gen Sequenzierung

Sehr geehrte Untersuchungsteilnehmerin, sehr geehrter Untersuchungsteilnehmer,

Die Identifikation einer krankheitsverursachenden genetischen Mutation ist wichtig für das tiefere Verständnis einer Erkrankung und ermöglicht es, in einer genetischen Beratung über Krankheitsrisiken und Vererbungswahrscheinlichkeiten Auskunft zu geben.

Bei der herkömmlichen molekulargenetischen Diagnostik werden *nacheinander* die protein-kodierenden Abschnitte (Exons) aller Gene sequenziert, die ursächlich in Frage kommen.

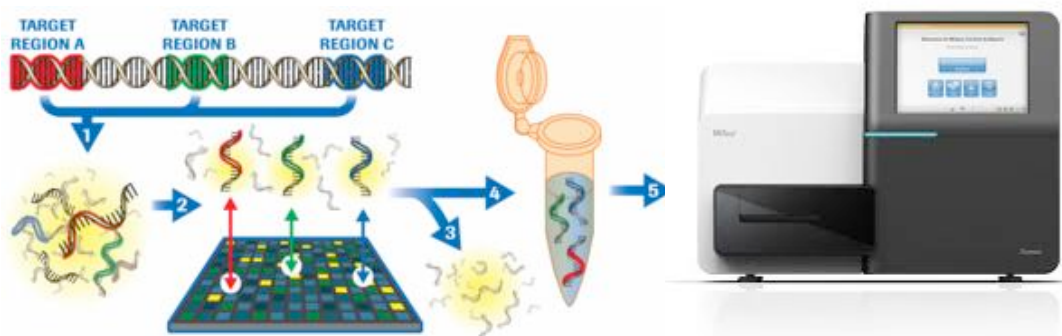
Bei Patienten, die einen Defekt in der Synthese des Glykosylinositoltriphosphatankers (GPI-Anker) aufweisen, wurden bislang Mutationen in den Genen *PIGA*, *PIGL*, *PIGM*, *PIGN*, *PIGO* und *PIGV* identifiziert und funktionell untersucht. Das gleiche Krankheitsbild kann also durch Mutationen in unterschiedlichen Genen verursacht werden (In der Genetik wird dies auch als Heterogenität bezeichnet).

Da die herkömmlichen Techniken der Sequenzierung zu zeitaufwändig und teuer sind, um *alle* im Zusammenhang mit dieser Erkrankung relevanten Gene zu untersuchen, konnte bisher *keine* umfassende molekulargenetische Diagnostik angeboten werden.

Bei Sequenzieretechniken der zweiten Generation, die sich nun in der Erprobungsphase für die Diagnostik befinden, läuft die Sequenzierung *hoch-parallelisiert* und damit kostengünstiger und schneller ab. Voraussetzung für den Einsatz dieser Sequenzieretechniken ist die *Anreicherung* der interessierenden genetischen Bereiche (target region).

Wir haben hierfür Sonden entwickelt die gezielt die proteinkodierenden Abschnitte von über **30** Genen anreichern, die eine Rolle bei der Synthese des GPI Ankers spielen.

Die Menge der erzeugten Sequenzdaten befindet sich dabei in einer Größenordnung, die eine komplexe, bioinformatische Analyse erforderlich macht. Wir gehen davon aus, auch viele genetische Varianten zu detektieren, die nicht in ursächlichem Zusammenhang mit der Erkrankung stehen. Bei der Identifikation der relevanten genetischen Veränderungen sind daher auch Sequenzdaten *nicht betroffener Verwandter*, zum Beispiel der Eltern, von großer Bedeutung.



Die DNA wird zuerst fragmentiert (1) und dann mit Genanreicherungssonden inkubiert (2). DNA, die nicht an die Sonden gebunden hat, wird in einem Waschschrift entfernt (3). Die angereicherte DNA (4) wird dann auf einem Sequenziergerät der zweiten Generation analysiert (5).