

Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Vorlesung: Identifikation neuer Gene als Krankheitsursache



Dr. rer. nat. Stephan Rust
 Allgemeine Pädiatrie
 Klinische Kinder- und
 Jugendmedizin
 Universitätsklinikum Münster
 Albert-Schweitzer-Campus 1
 48149 Münster
 Tel. 0251 83-55192
 Fax 0251 83-56985
 Stephan.Rust@ukmuenster.de
 www.klchi.uni-muenster.de

QR Code / Link dieser Vorlesung:
www.klchi.uni-muenster.de/fohlen

Wintersemester 2017/18



- 1 -

Neue Gene - Warum?

Das menschliche Genom ist doch komplett bekannt?



- Fast – aber seine Funktion noch lange nicht.
- Identifikation neuer Gene als Krankheitsursachen

- 2 -

Volkskrankheiten:

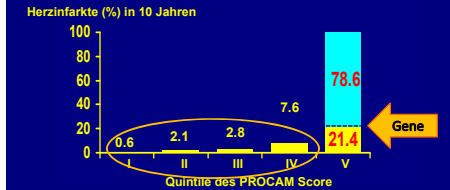
Differenzierung von Ursachen und damit bessere Vorhersage und gezieltere Therapie
 WER soll überhaupt therapiert werden und WIE

seltene Krankheiten:

pränatale Diagnose, und evtl. auch Ideen für Therapie (klassisches Beispiel PKU)

- 3 -

Der PROCAM Algorithmus



Unabhängige Parameter: Alter, systolischer Blutdruck, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, Triglyzeride, Diabotes, Rauchen, familiäre Belastung
 325 tödliche und nicht-tödliche Herzinfarkte bei 4818 Männern im Alter von 35-65 Jahren

- 4 -

HDL / LDL -Cholesterin

Der HDL-Cholesterinspiegel ist teils

- **genetisch** bedingt (Geschlecht, Zwillingsstudien),
- durch Verhalten (Rauchen ↓, Sport ↑) beeinflusst

Mittelwerte Deutschland

Frauen: 55 mg/dl
 Männer: 45 mg/dl

Niedriges HDL

→ höheres Infarktisiko

LDL im Überschuss wird von Makrophagen aufgenommen, ... => Arteriosklerose
 HDL kann Cholesterin zur Leber zurückführen.

- 5 -



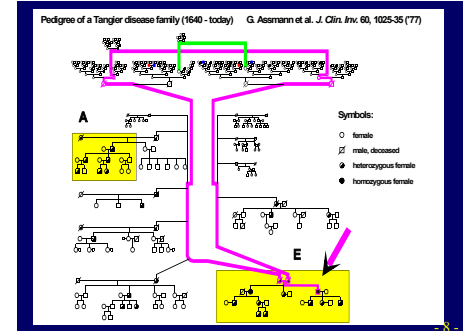
vergrößerte Tonsillen
Tangier Krankheit

- 6 -

Tangier Krankheit

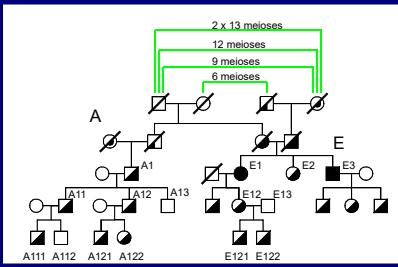
- Tonsillen
- Schaumzellen auch bei Heterozygoten in Mukosa des Intestinums und Dickdarms
- Hepatosplenomegalie
- Periphere Neuropathie
- Thrombozytopenie
- Erhöhte Wahrscheinlichkeit für **koronare Herzkrankheit**
- **HDL-Defizienz**

- 7 -



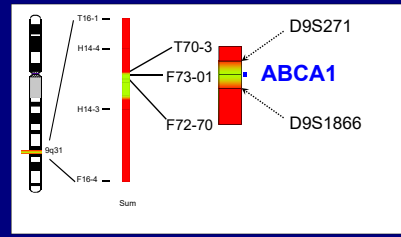
- 8 -

Tangier-Krankheit: Stammbaum



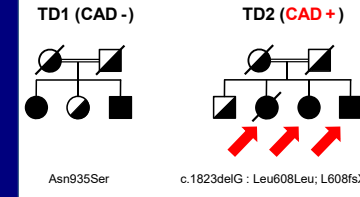
- 9 -

Identifikation des Tangiergens ABCA1



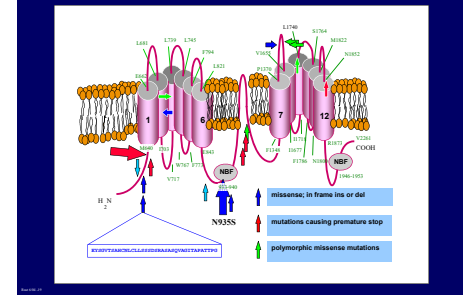
- 10 -

Verschiedene ABCA1 Defekte unterschiedlicher Phänotyp?



- 11 -

Structure of ABCA1 - Mutations in Tangier Disease



Effekt der Mutationen im ABCA1:

..fs*635: vorzeitiger Abbruch, RNA wird weitgehend abgebaut (-> nonsense mediated decay), keinerlei Funktion mehr, HDL-Defizienz, Oxysterole im Blut, Arteriosklerose, Herzinfarkt

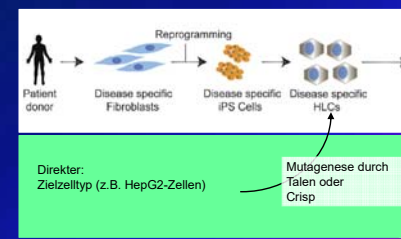
Asn935Ser: ABCA1 - NBF1 ist defekt
 HDL-Defizienz
 ABER: Oxysterol-Transport noch möglich
KEINE Arteriosklerose

⇒ **das Wissen über die konkrete Mutation ist beim ABCA1 wichtiger als der Effekt auf das HDL-Cholesterin**

- 12 -

Hepatocyte like cells

Patientenspezifische Zellkulturmodelle
 - Beweis der funktionellen Relevanz von Mutanten

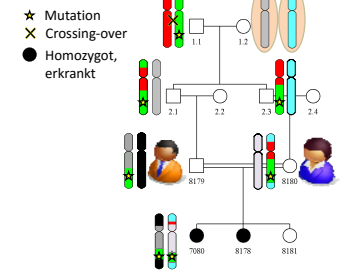


- 13 -

Technik:
 Vererbung in Familien und in großen Case-Control Studien mit **SNPs** (single nucleotide polymorphisms)

- 14 -

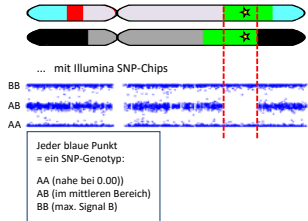
Identifikation der ursächlichen Gene bei rezessiven Erbkrankheiten



- 15 -

Identifikation der ursächlichen Gene bei rezessiven Erbkrankheiten

1. Grobe Lokalisation



- 17 -

SNPs – auch geeignet für große Case-Control Studien „GWAS“ (genome wide association study)

- auch geeignet, wenn kein meßbarer Phänotyp außer Endpunktereignis; geeignet besonders für häufige Variante mit schwachem Effekt

- 18 -

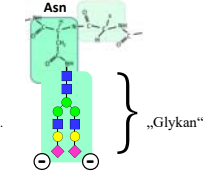
Schwerpunkt Glykoproteine, N-Glykosylierung:

Serum Transferrin: 679 Aminosäuren, 2 Glykosylierungsstellen:

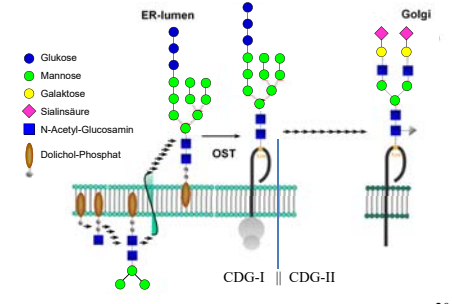
N-Glykosylierung am Asparagin (Asn) in ... - Asn - X - Ser - ... oder ... - Asn - X - Thr - ... X: nicht Pro

im Transferrin:

... Asn Tyr Asn Lys Ser Asp Asn ...
... Gly Ser Asn Val Thr Asp Cys ...



- 19 -



- 20 -

Isoelektrische Fokussierung (IEF)

Die Ladung eines Proteins in Lösung wird durch den pH bestimmt

- im sauren Bereich: R-COOH, R-NH₃⁺

- im basischen Bereich: R-COO⁻, R-NH₂

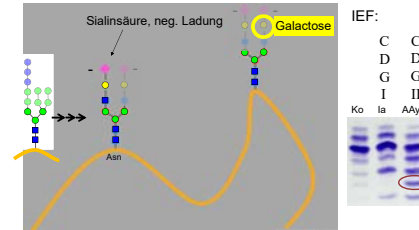
Aminosäuren mit potentiell geladene Seitenketten:

Asparaginsäure, Glutaminsäure,
Lysin, Arginin, Histidin
Cystein, Tyrosin (geben bei basischen pH Proton ab)

Außerdem: Sialinsäuren am Ende der Glykane

- 21 -

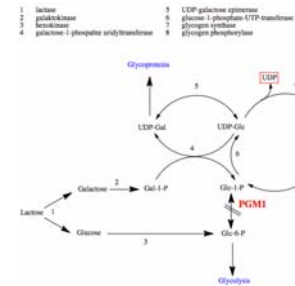
Transferrin-Glykosylierung



=> Isoelektrische Fokussierung des Transferrins wird genutzt zur Diagnose von Glykosylierungsstörungen

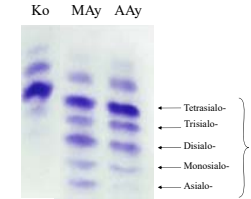
- 22 -

Beispiel: Entdeckung der PGM1-CDG



- 23 -

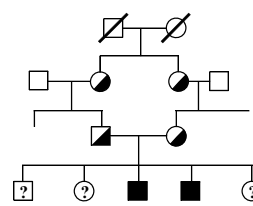
(PGM1-CDG:) In der Isoelektrischen Fokussierung (IEF) von Transferrin zeigte sich eine Mischform CDG-I / II



- 24 -

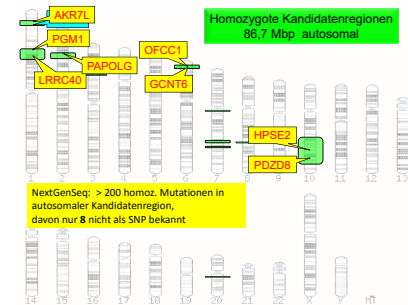
Stammbaum einer Familie mit CDGx

(später PGM1-CDG)



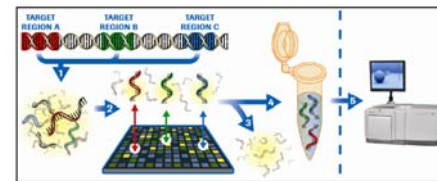
1. Homozygotiemapping
2. Next Generation Sequenzierung

- 25 -



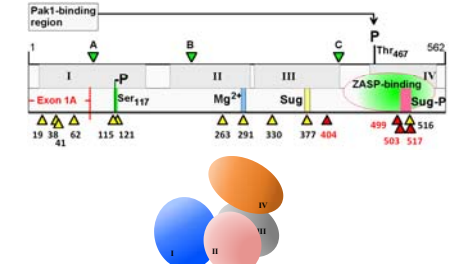
- 26 -

Anreicherung und Sequenzierung von interessanter Region oder Kompletzsequenzierung von Patientengenom



- 27 -

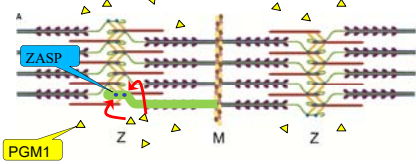
PGM1 – Struktur, Funktion, Mutationen



- 28 -

Dilatative Kardiomyopathie - ZASP

Z band alternately spliced PDZ-containing protein

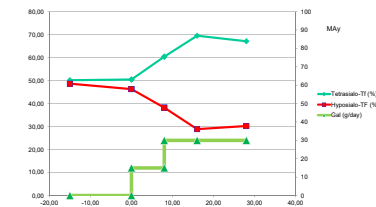


- ZASP Defekt -> keine Bindung von PGM1 -> DCM

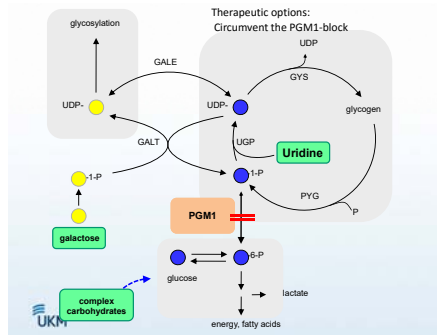
Armura T, Cardiovasc Res (2009) 83, pp 80-8

- 29 -

Galactose treatment of PGM1-deficiency tends to correct CDG:



- 30 -



Aufspüren des ursächlichen Gens wenn keine Konsanguinität vorliegt

Exom-Sequenzierung: 350 000 Mutationen

Allelfreq <= 2% (5300)

Relevante Mutationen: 451 in 85 Genen

gencode	#Mut
ADAMTS-1	2
ADAMTS-2	2
AGAP1	1
ATPA1A	1
BCAL1	2
CC2P	2
CTSD2	2
DKAM2	2
FAM53C	2
FACT2	2
FAT2	2
GGSL	1
GGSL1	1
HTFIB	1
KCNK13	2
KCNK15	2
KCNK16	2
KCNK17	2
KCNK18	2
KCNK19	2
KCNK20	2
KCNK21	2
KCNK22	2
KCNK23	2
KCNK24	2
KCNK25	2
KCNK26	2
KCNK27	2
KCNK28	2
KCNK29	2
KCNK30	2
KCNK31	2
KCNK32	2
KCNK33	2
KCNK34	2
KCNK35	2
KCNK36	2
KCNK37	2
KCNK38	2
KCNK39	2
KCNK40	2
KCNK41	2
KCNK42	2
KCNK43	2
KCNK44	2
KCNK45	2
KCNK46	2
KCNK47	2
KCNK48	2
KCNK49	2
KCNK50	2
KCNK51	2
KCNK52	2
KCNK53	2
KCNK54	2
KCNK55	2
KCNK56	2
KCNK57	2
KCNK58	2
KCNK59	2
KCNK60	2
KCNK61	2
KCNK62	2
KCNK63	2
KCNK64	2
KCNK65	2
KCNK66	2
KCNK67	2
KCNK68	2
KCNK69	2
KCNK70	2
KCNK71	2
KCNK72	2
KCNK73	2
KCNK74	2
KCNK75	2
KCNK76	2
KCNK77	2
KCNK78	2
KCNK79	2
KCNK80	2
KCNK81	2
KCNK82	2
KCNK83	2
KCNK84	2
KCNK85	2
KCNK86	2
KCNK87	2
KCNK88	2
KCNK89	2
KCNK90	2
KCNK91	2
KCNK92	2
KCNK93	2
KCNK94	2
KCNK95	2
KCNK96	2
KCNK97	2
KCNK98	2
KCNK99	2
KCNK100	2

Brain-storming >

- 31 -