



Dr. rer. nat. Stephan Rust  
Allgem. Pädiatrie, Klin. Kinder- u. Jug.-med.,  
Stoffwechsellabor Prof. Marquardt  
48149 Münster  
Tel.: 0251 83-55182  
rusts@uni-muenster.de  
stephan.rust@ukmuenster.de

Wintersemester 2022/23



uvula bifida

„Identifikation neuer Gene als Krankheitsursachen“  
**Neue Gene - Warum?**

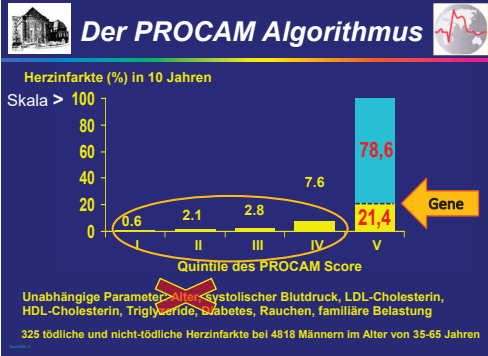
Das menschliche Genom ist doch komplett bekannt?



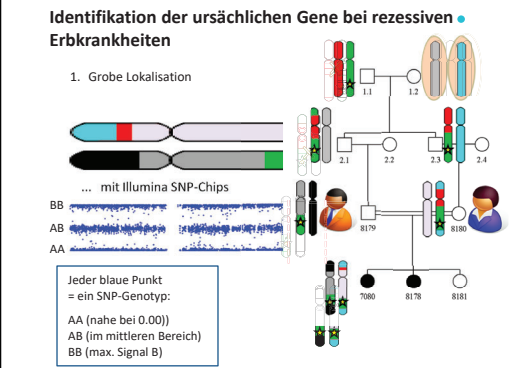
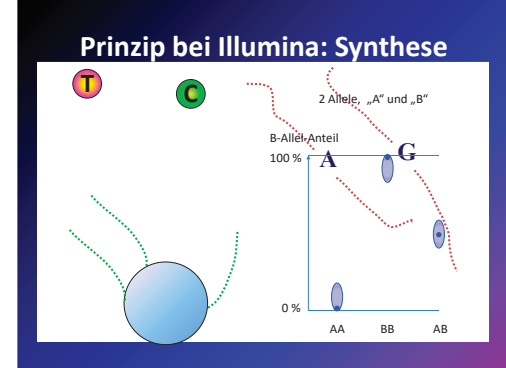
- Fast – aber seine Funktion noch lange nicht.
- Identifikation neuer Gene als Krankheitsursachen

**Volkskrankheiten**  
Differenzierung von Ursachen und damit bessere Vorhersage und gezieltere Therapie  
**WER**  
soll überhaupt therapiert werden und  
**WIE**  
Stoffwechsel verstehen, alle Gene im Pathway kennen, um Angriffspunkte für Therapie zu definieren.

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



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



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

**HDL / LDL -Cholesterin**

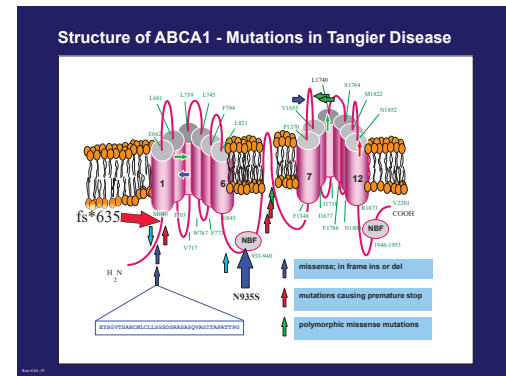
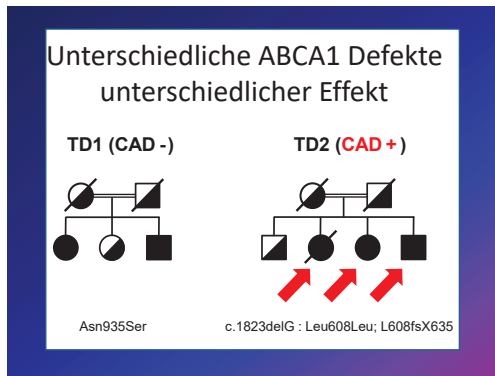
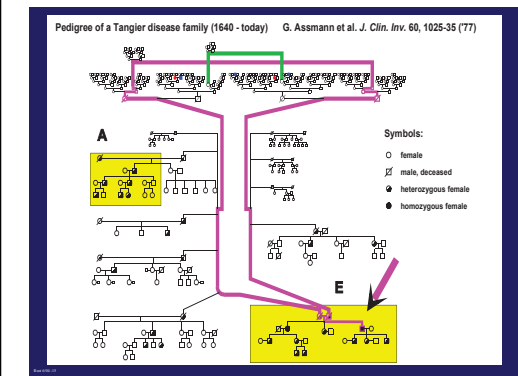
Der HDL-Cholesterinspiegel ist teils

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

Mittelwerte Deutschland  
Frauen: 55 mg/dl  
Männer: 45 mg/dl

Niedriges HDL  
↓  
höheres Infarktrisiko

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

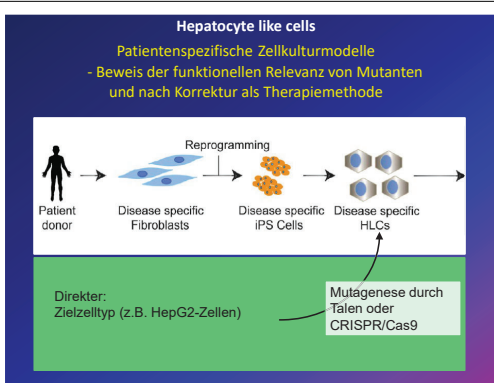


**Effekt der Mutationen im ABCA1:**

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

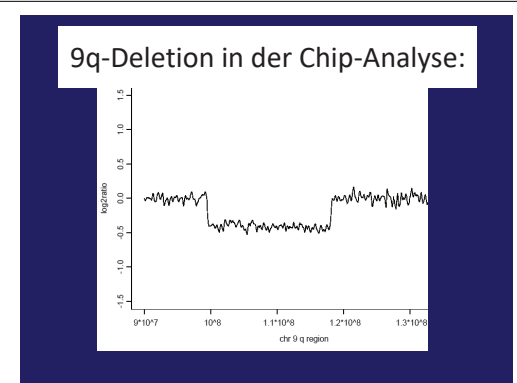
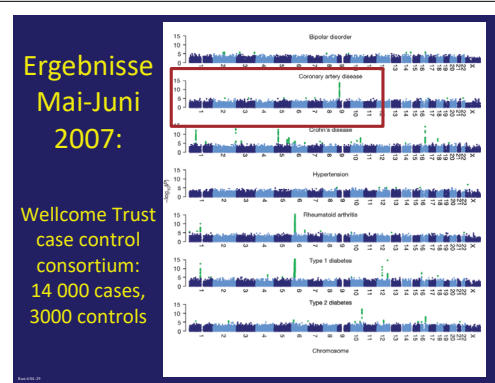
Asn935Ser: ABCA1 - NBF1 ist defekt  
HDL-Defizienz  
ABER: Oxysterol-Transport noch möglich  
**KEINE Arteriosklerose**

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



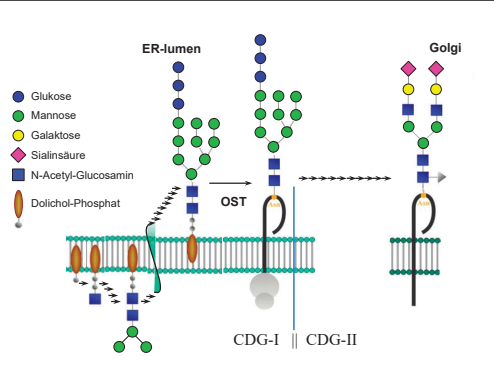
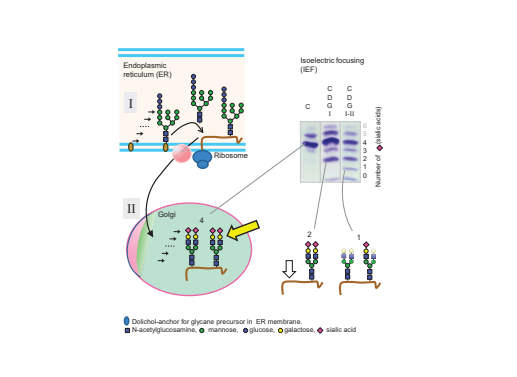
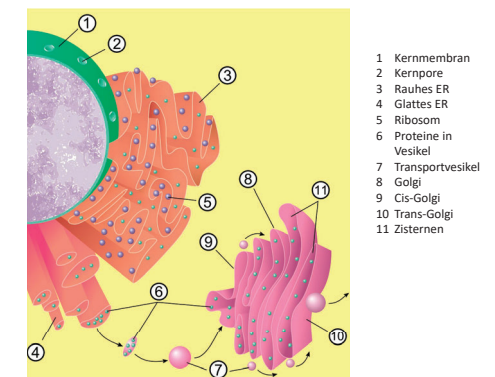
### SNPs – auch geeignet für große Case-Control Studien „GWAS“ (genome wide association study)

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



Conrad DF et al. Nat Genet. 2006 Jan;38(1):75-81

... we estimate that typical individuals are hemizygous for roughly 30-50 deletions larger than 5 kb, totaling around 550-750 kb of euchromatic sequence across their genomes. The detected deletions span a total of 267 known and predicted genes.



### Glykoproteine, N-Glykosylierung:

Serum Transferrin: 679 Aminosäuren, 2 Glykosylierungsstellen:

N-Glykosylierung am 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 ...

„Glykan“

### Isoelektrische Fokussierung (IEF)

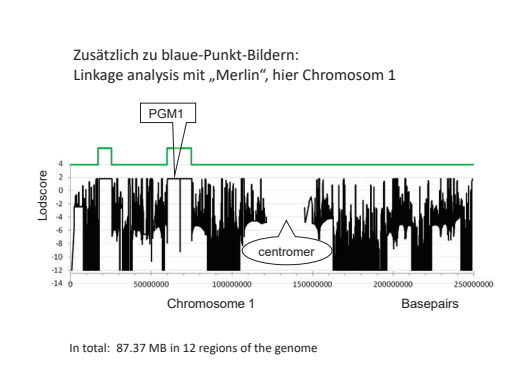
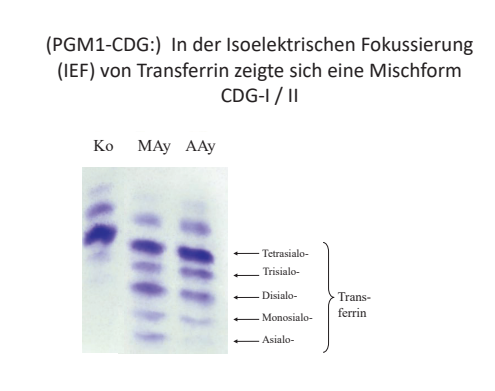
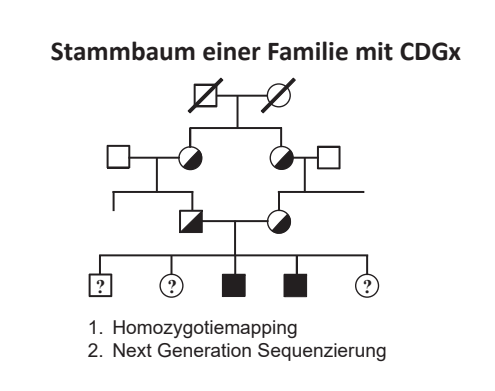
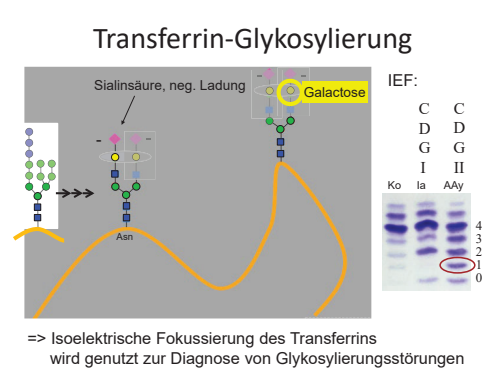
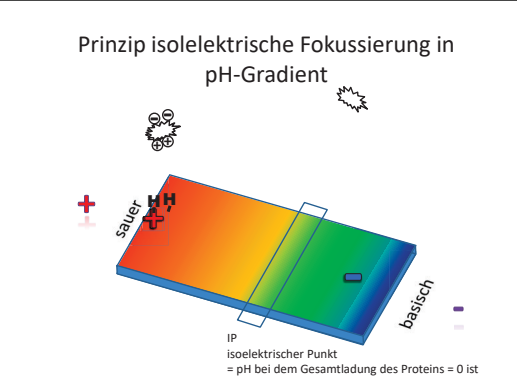
Die Ladung eines Proteins in Lösung wird durch den pH bestimmt

- im sauren Bereich: R-COOH, R-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>

- im basischen Bereich: R-COO<sup>-</sup>, R-NH<sub>2</sub>

Aminosäuren mit potentiell geladene Seitenketten:  
Asparaginsäure, Glutaminsäure,  
Lysin, Arginin, Histidin  
Cystein, Tyrosin (geben bei basischen pH Proton ab)

Außerdem: Sialinsäuren am Ende der Glykane



Anreicherung und Sequenzierung von interessanter Region oder Kompletzsequenzierung von Patientengenom

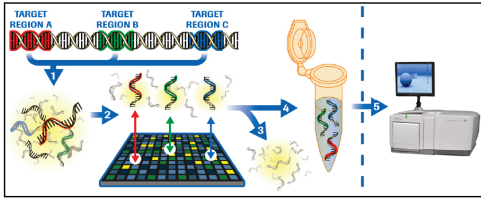
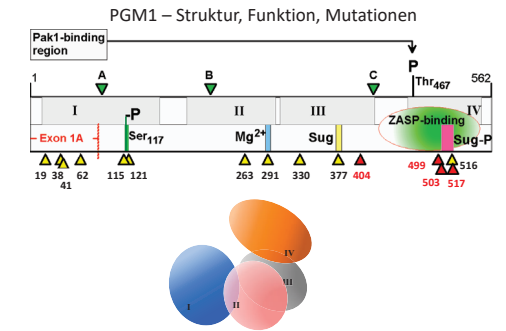
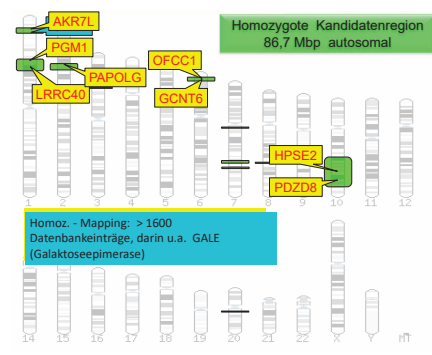
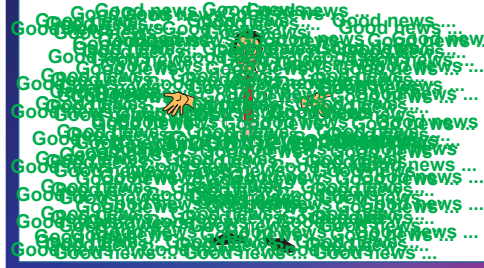
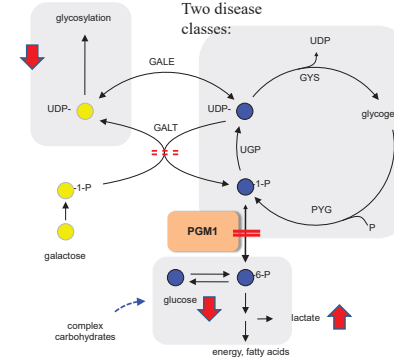
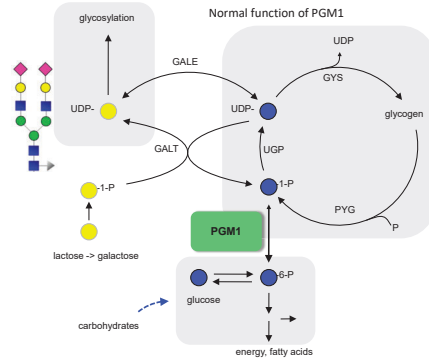
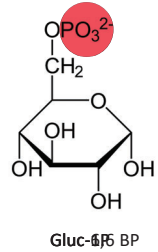


Figure 1: The NimbleGen Sequence Capture Protocol  
Agilent SureSelect

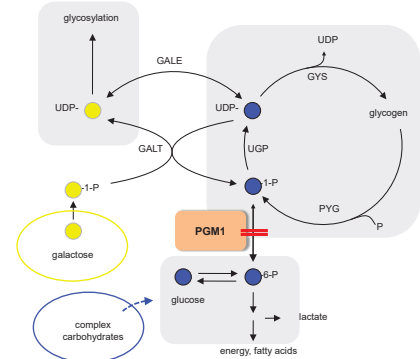
Was können wir erwarten vom „whole EXOME sequencing“ ?



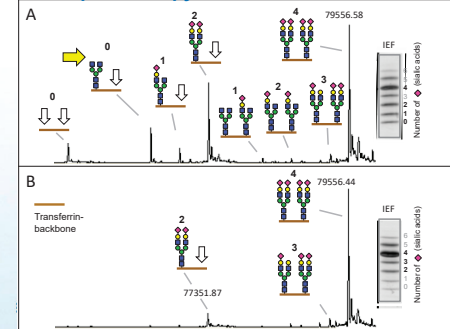
Phosphoglucomutase 1



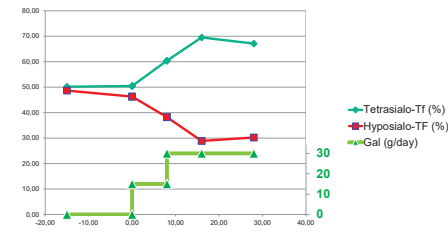
Nahrungsergänzung auf beiden Seiten der PGM1-Reaktion



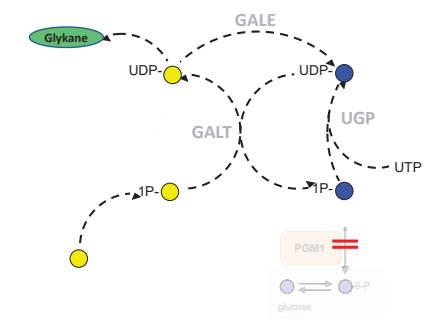
Mass Spectroscopy



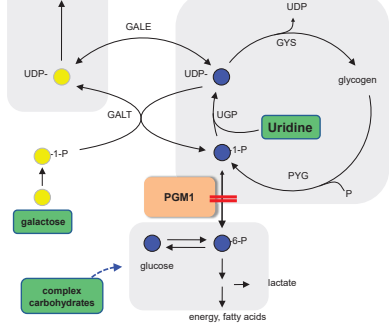
Galactose treatment of PGM1-deficiency tends to correct CDG:



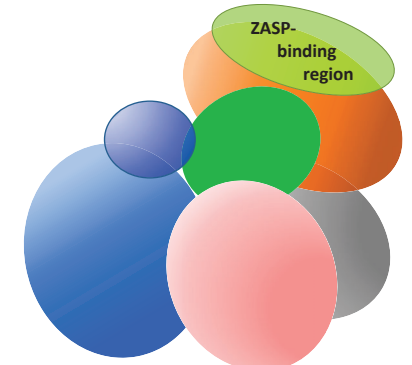
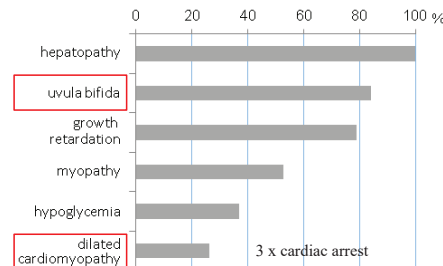
PGM1-Defect



Therapeutic options: Circumvent the PGM1-block

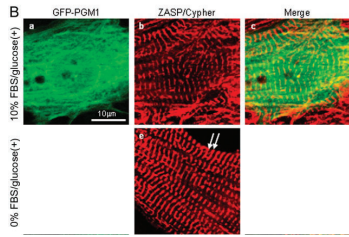


Symptoms of PGM1-deficiency



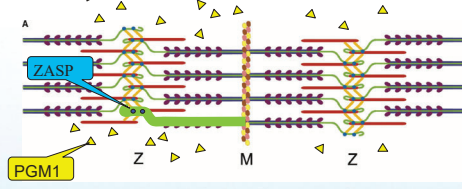


## Fluorescence images of transiently expressed GFP-tagged PGM1 (in rat cardiomyocytes)



Arimura T et al. Cardiovasc Res 2009;83:80-88  
Cardiovascular Research

## Dilatative Kardiomyopathie - ZASP Z band alternately spliced PDZ-containing protein



- ZASP Defekt → keine Bindung von PGM1 → DCM

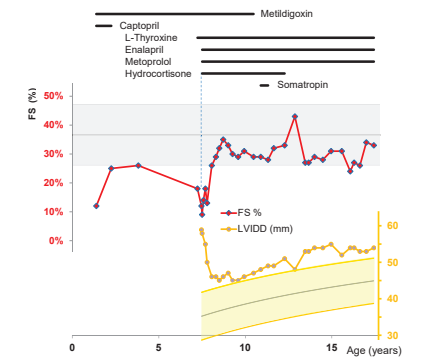
Arimura T, Cardiovasc Res (2009) 83, pp 80-8



## Effekt wird sichtbar bei Entzug von Serum in der Zellkultur

Sichtbar nach 3 Tagen, evtl. durch Verbrauch der Fettsäuren, Umschalten auf Energie aus Glucose

Mögliche Therapie: Stabilisierung der Glucose und Lipide, Vermeidung von Glucose Bolus Komplexe Kohlenhydrate

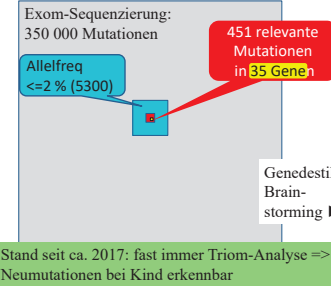


### Therapeutic options

- I: Circumvent the PGM1-block  
Normalization of glucose & glycosylation:  
galactose & uridine complex carbohydrates
- II: Myopathy, DCM  
improved fatty acid use:  
training below aerobic threshold to improve oxidative capacity  
**MCT, heptanoic acid, citrate**

=> Newborn screening

### Aufspüren des ursächlichen Gens – wenn keine Konsanguinität vorliegt



Effizientes SNP-Chip-basiertes Mapping und „next generation sequencing“, oft Triom beschleunigen die Aufklärung der „molecular basis of inherited disease“



Konsequenzen:  
Pränatale und prä-Implantations-Diagnostik möglich  
Gezielte Therapie oft möglich (Enzymersatztherapie, einfache Nahrungsergänzung oder ...)

Laura Tegtmeyer  
Janine Reunert  
Julien Park  
Thorsten Marquardt  
Volker Debus  
Anja Seehöfer  
Stephan Rust

Marianne Jansen-Rust  
Tanja Sechafer  
Anika Sietmann  
Melanie Bach  
Michaela Schreiner  
Michaela Tirre

Universitätsklinikum Münster  
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin

LIFA (geschlossen)

Stephan Rust, Tel. 83 - 5 5182  
rusts@uni-muenster.de