

Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Vorlesung: Molekulare Diagnostik



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

Wintersemester 2022/23

Dr. rer. nat. Hartmut Schmidt
Centrum für Laboratoriumsmedizin
– Zentrallaboratorium –
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Campus 1
D-48149 Münster
Tel.: 0251 83-47226
Fax: 0251 83-47225
zlab-lehre.uni-muenster.de
Hartmut.Schmidt-ZL@ukmuenster.de

Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Vorlesung: Molekulare Diagnostik



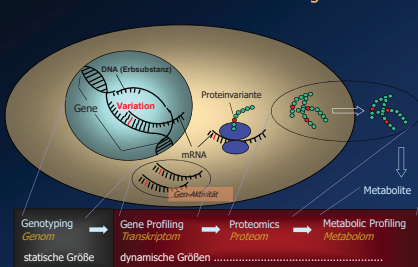
QR Code / Link dieser Vorlesung:
www.klchi.uni-muenster.de/fohlen

Sommersemester 2021

Dr. rer. nat. Hartmut Schmidt
Centrum für Laboratoriumsmedizin
– Zentrallaboratorium –
Universitätsklinikum Münster
Albert-Schweitzer-Campus 1
D-48149 Münster
Tel.: 0251 83-47226
Fax: 0251 83-47225
zlab-lehre.uni-muenster.de
Hartmut.Schmidt-ZL@ukmuenster.de



"Omics"-Ansatz: die molekulare Biologie der Zelle



Aufklärung der DNA-Doppelhelix Struktur 1953



Nobelpreis 1962



Die Röntgenbeugungsdiagramme der DNA durch Franklin und Wilkins und deren mathematische Analyse trugen wesentlich zur Aufklärung der DNA-Doppelhelixstruktur bei und bestätigten das theoretische Modell von James Watson und Francis Crick.

Der humane genetische Code ist endlich entschlüsselt!

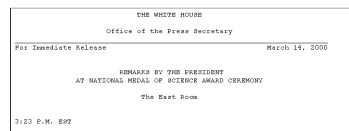
2000
Die postgenomische Zeit



Venter/Collins
Celera Diagnostics

Über 99,9% der 3,2 Milliarden Bp sind nun bekannt!

Die Rohdaten aus dem Humangenomprojekt sind frei verfügbar



"Today, we [pledge] to lead a global effort to make the raw data from DNA sequencing available to scientists everywhere, to benefit people everywhere."

„Paradise lost“: nicht so unterschiedlich wie wir es gerne hätten



Caenorhabditis elegans
46% Homologie
des Proteoms



Drosophila melanogaster
61% Homologie
des Proteoms



Gleichheit zum Schimpansen auf
DNA-Ebene: etwa 99%

Probenmaterial für die Molekular Diagnostik

Geeignet

- Vollblut
- Plasma
- Serum
- buffy coat
- Knochenmark
- Punktaten
- Lymphozyten
- Zellkulturen
- Gewebe
- forensische Proben
- Cerebrospinalflüssigkeit

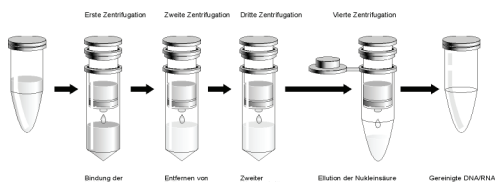
Bedingt geeignet

Getrocknetes Material
(Auflösung in PBS)

Nicht geeignet

Heparin-Blut

DNA-Isolation Säulensystem



Ausbeute: 200 µl Blut: 4-12 µg DNA
= ~ 20 ng/µl

DNA-Isolation magnetic-beads Verfahren

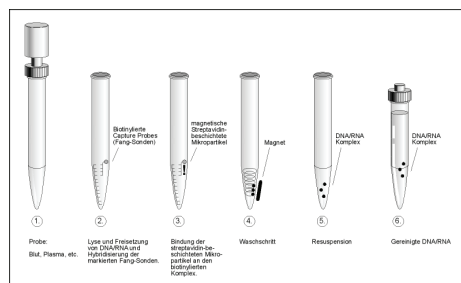


Abb. 1.3b: Beispiel für eine automatisierte Probenaufbereitung

Automatisierte DNA-Isolierung



Das PCR-Labor

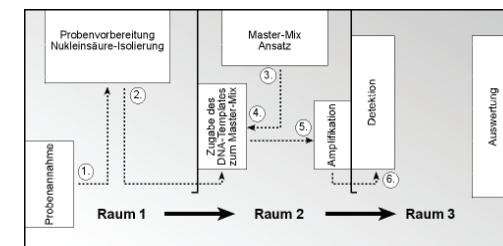
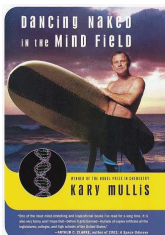


Abb. 1.2: PCR-Labor

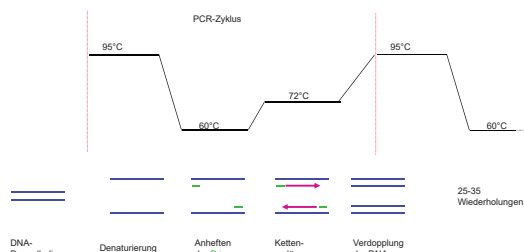
Die Polymerase-Ketten-Reaktion: Zugpferd der Molekularbiologie



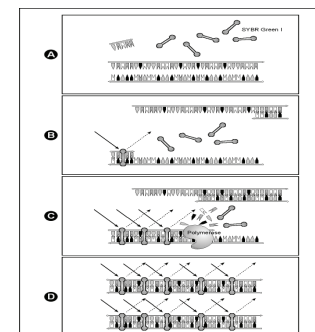
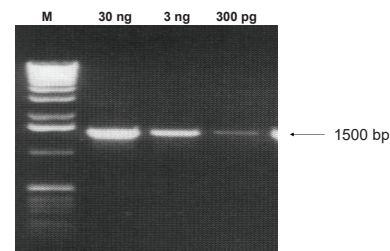
Nobelpreis
für Chemie
1993



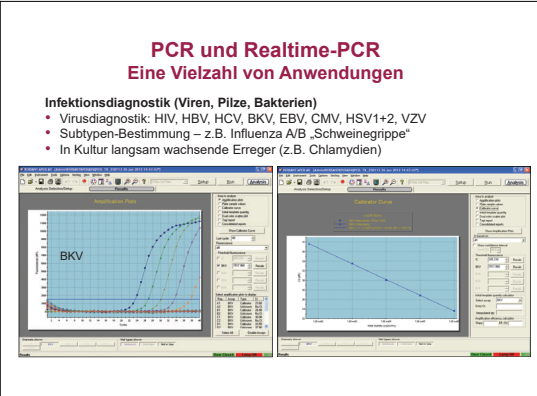
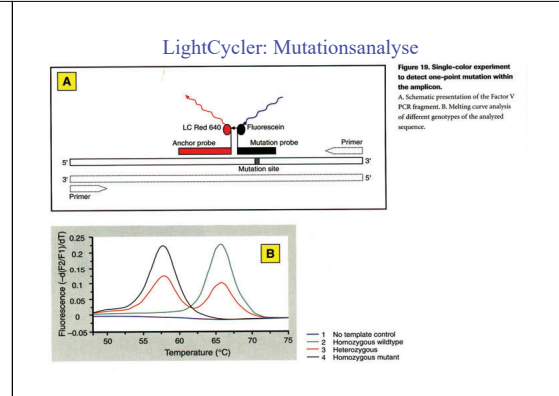
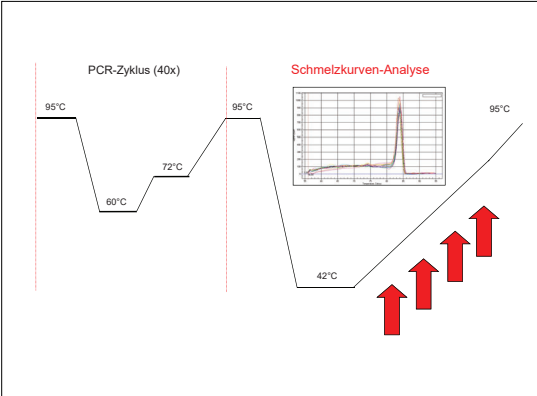
Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)



Agarose-Gelelektrophorese



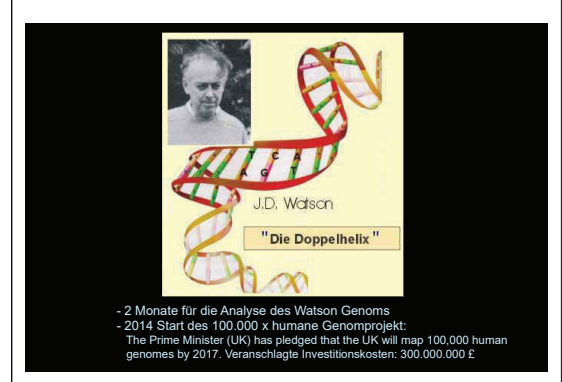
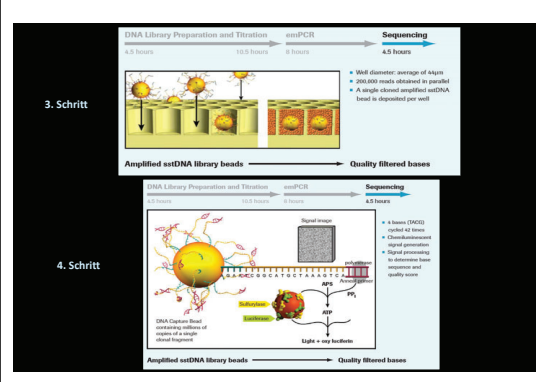
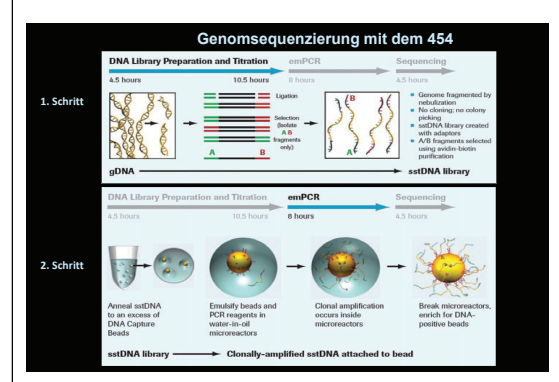
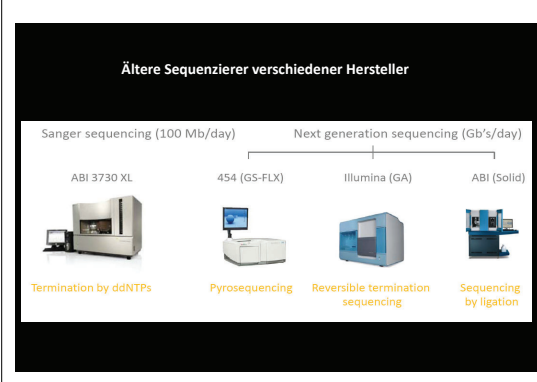
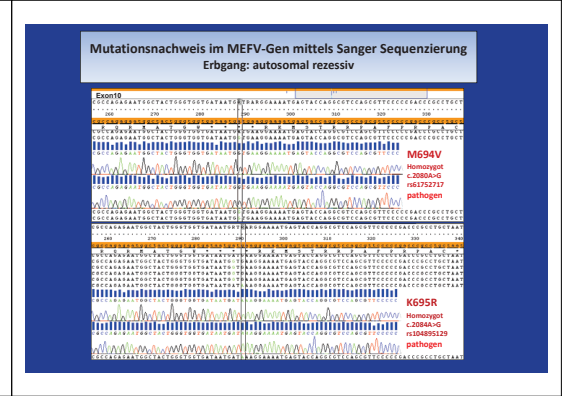
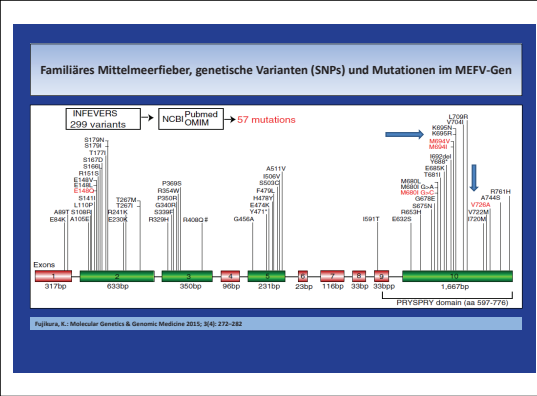
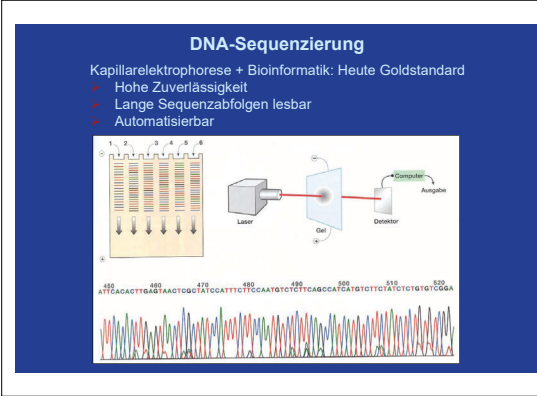
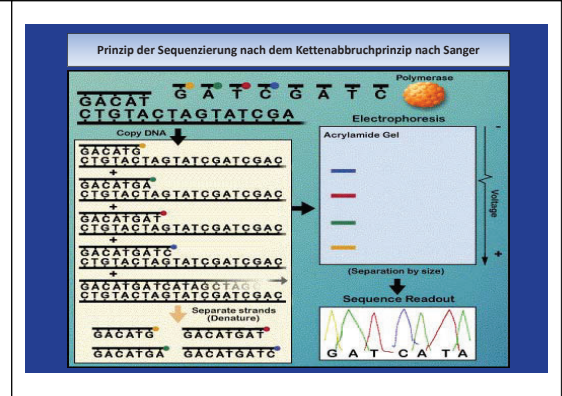
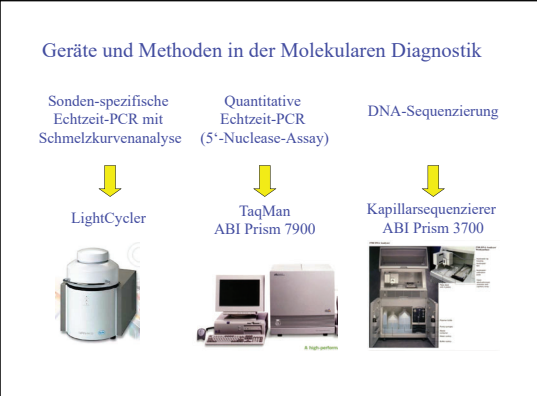
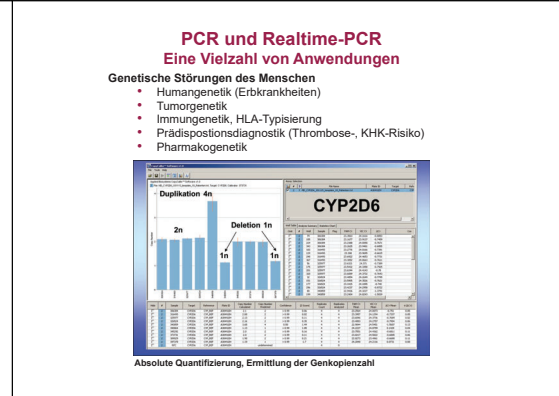
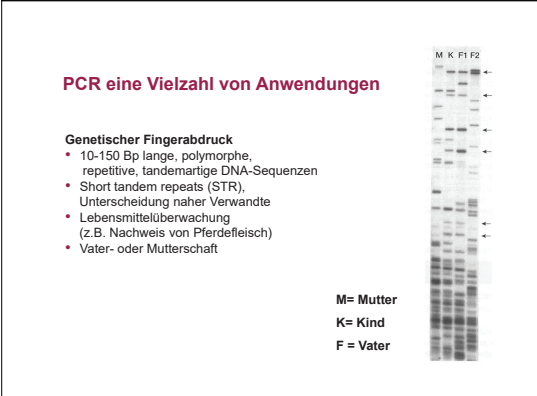
Realtime-PCR mit
SYBR Green



Vorgefertigte Kits

Gram (-) Bakterien	Gram (+) Bakterien	Pilze
- Escherichia coli - Klebsiella (pneumoniae/ oxytoca) - Serratia marcescens - Enterobacter (cloacae/ aerogenes) - Proteus mirabilis - Pseudomonas aeruginosa - Acinetobacter baumannii - Stenotrophomonas maltophilia	- Staphylococcus aureus - CoNS (Coagulase negative Staphylococci) - Streptococcus pneumoniae - Streptococcus spp - Enterococcus faecium - Enterococcus faecalis	- Candida albicans - Candida tropicalis - Candida parapsilosis - Candida krusei - Candida glabrata - Aspergillus fumigatus

90 Keime in 6h aus 1,5 ml Blut



From the power of the HiSeq X to the speed of MiSeq, Illumina has the sequencer that's just right for you.

Beschluss vom 11. März 2016:
Im Einheitlichen Bewertungsmaßstab (EBM) der Gebührenordnung wird zum 01. Juli 2016 die Abrechnungsberechtigung von NGS ermöglicht