

Laborhandbuch

Molekulargenetische Diagnostik

Im Fokus der molekulargenetischen Analyse steht das Gen. Der zu untersuchende Genabschnitt wird mit einer spezifischen Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert. Das PCR-Produkt wird anschliessend auf Mutationen hin untersucht. Die dazu verwendeten Methoden sind abhängig von der Fragestellung. Für bekannte Mutationen von häufig untersuchten Genen stehen Mutations-spezifische Kits zur Verfügung, z. B. *HFE*-Gen bei Hämochromatose, Gerinnungsfaktoren wie zum Beispiel bei Thrombophilien und das *beta-Globin* bei Thalassämien. Falls mit diesen Abklärungen keine bekannten Mutationen identifiziert werden können oder es sich um Gene handelt, die mit seltenen Erbkrankheiten, sogenannten Orphan-Disease-Erkrankungen, assoziiert sind, werden die Gene mit aufwändigeren Methoden sequenziert. Beim familiären Brust- und Eierstockkrebs oder sog. Gen-Panels (z. B. für > 80 Schwerhörigkeitsgene) werden die entsprechenden Gene mit der Next-generation-sequencing-Methode gescreent (NGS). Im Einzelfall sind das Vorgehen und die verwendeten Methoden von der klinischen Indikation und der vermuteten Mutation abhängig.

Anmerkung: Bei Orphan-Disease-Aufträgen muss vom zuweisenden Arzt ein Antrag zur Kostenübernahme an die Krankenkasse gestellt werden. Diese leitet den Antrag an den Orphan-Rat weiter. Das entsprechende Formular findet man unter www.sgm.g.ch.

Die Untersuchung häufiger Mutationen wird in der Regel einmal pro Woche durchgeführt (z. B. Thalassämien, Hämochromatose, Gerinnungsfaktoren, Cystische Fibrose, EGFR) und nimmt je nach Probeneingang ein bis zwei Wochen in Anspruch. Aufwändigere Aufträge wie z. B. Orphan-Disease-Genanalysen dauern bis zu vier Monate, Mutationsscreenings bei familiärem Brust- und Eierstockkrebs maximal einen Monat.

Im Folgenden sind verschiedene bei uns untersuchte Mutationstypen aufgeführt, wobei Details zu den einzelnen Analyse-Verfahren der Auflistung der Analysen entnommen werden können.

- Deletionen (z. B. in den alpha-Globinogenen) und Insertionen (z. B. Triplet-Repeat-Expansionen bei Huntington Krankheit) werden durch spezifische PCR-Amplifikation und anschliessende Längenbestimmung der Produkte im Vergleich zur Wildtypsequenz identifiziert.
- Deletionen oder Duplikationen von Teilen eines Chromosoms werden mittels Array CGH (comparative genomic hybridization) im Vergleich zu einem Referenzgenom bestimmt. Genaue Bruchpunkte von Deletionen können mit der sog. GAP-PCR-Methode bestimmt werden.
- Punktmutationen sowie kleine Deletionen resp. Insertionen werden nach PCR und Sequenzierung mit unterschiedlicher Methodik durch den Vergleich mit der Wildtypsequenz identifiziert. Dies gilt sowohl für konstitutionelle Mutationen als auch für somatische Mutationen (z. B. aus Tumorgewebe).
- Fusionsgene, die aus Translokationen entstehen (z. B. BCR-ABL bei CML), werden nach RNA-Isolierung und cDNA-Synthese identifiziert und quantifiziert.