

**Klarheit, Genauigkeit und  
Unkompliziertheit  
bei Gentests**



IHG Pharmaco Ltd ist ein von der University of Bristol ausgegliedertes, aber weiterhin mit ihr verbundenes Unternehmen, das über 10-jährige Forschungserfahrung verfügt und mit zwei SMART-Preisen ausgezeichnet wurde (1999 und 2002). Das Unternehmen wurde 1999 gegründet, und bisher wurden weit über 60 diagnostische Kits entwickelt, von denen viele sich in den Laboratorien des britischen Gesundheitsdienstes (National Health Service) bewährt haben. Die Abteilung Forschung und Entwicklung befindet sich in der University of Bristol School of Medical Sciences, die Produktion findet in einem nahegelegenen Zentrum statt.



# Genmedizin und die Anwendung von raschen Diagnoseverfahren

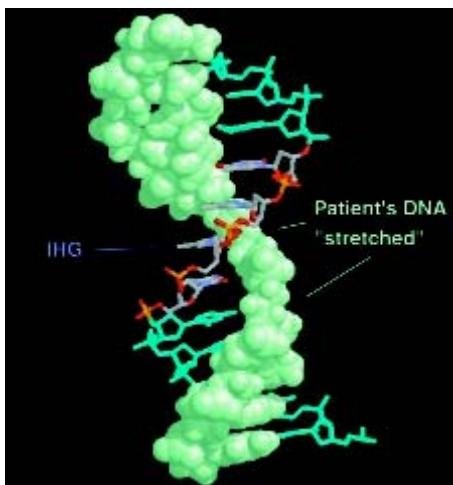
Die Genmedizin umfasst Kerndisziplinen wie:

- Diagnose von genetischen Erkrankungen
- Bestimmung von genetischen Risikofaktoren
- Forensische Medizin (Gerichtsmedizin)
- Pharmakogenetik – wo die genetische Konfiguration einer Person bestimmt, wie diese auf eine bestimmte Verbindung anspricht. Von besonderer Bedeutung ist dies bei der Krebstherapie, bei der die genetische Konfiguration eines Patienten den Erfolg einer bestimmten Behandlung oder eines Therapieschemas grundlegend beeinflusst.

Um den in diesen Disziplinen erreichten Fortschritt nutzen zu können, wird eine genaue, rasche und leicht zu verwendende diagnostische Methodologie benötigt.

IHG Pharmaco hat eine patentierte Technologie entwickelt, die Induced Heteroduplex Generators (IHG, induzierte Heteroduplex-Generatoren) zum SNP-Screening verwendet. Das Grundprinzip dieser Technologie ist der Abbildung rechts zu entnehmen, die ein Modell eines Gens mit einer Mutation zeigt, die spezifisch für eine angeborene genetische Erkrankung ist.

Einer der zwei Stränge der DNA des Patienten (in grün dargestellt) wurde durch einen „nachgeahmten“ DNA-Strang ersetzt – einen Induced Heteroduplex Generator (IHG). Dieser streckt die Struktur der DNA des Patienten in dem Bereich, in dem sich der Gendefekt befindet. Die 4 Basen, die zum Induzieren der Heteroduplexe in der Helix verwendet werden, sind in der Mitte gezeigt; die einzelnen Atome erscheinen mehrfarbig.

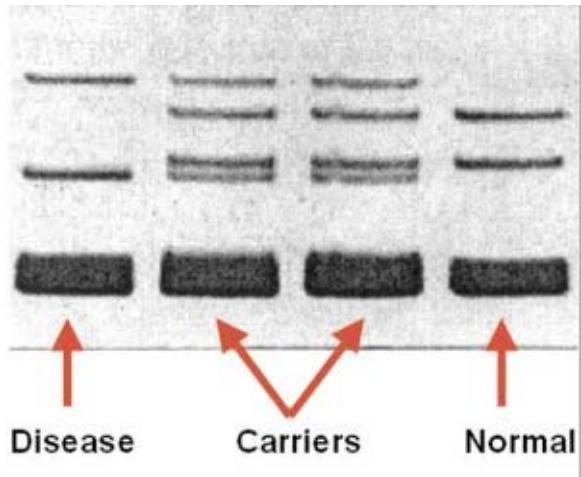


# Einsatz von IHGs für die genetische Diagnostik

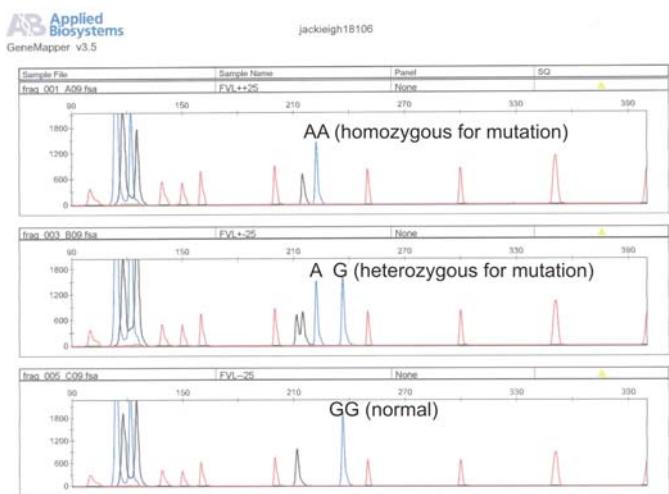
Die Streckung der DNA des Patienten bewirkt eine Änderung der DNA-Struktur, die eine genaue Identifizierung folgender Personen zulässt:

- Normale, nicht von der Erkrankung betroffene Personen
- Krankheitsträger, die aber selbst nicht von der Erkrankung betroffen sind
- Personen, die die genetische Erkrankung geerbt haben und an dieser erkranken werden.

Die Abbildung zeigt die Ergebnisse der IHG-Diagnose einer häufig vorkommenden Gerinnungsstörung (Faktor V Leiden) anhand PAGE-Minigel (Polyacrylamidgelektrophorese) und darunter mittels CE (Kapillarelektrophorese).



## Ergebnisse mittels PAGE-Minigel



## Ergebnisse mittels Kapillarelektrophorese (CE)

## Einelnucleotidpolymorphismen (SNPs) und Mutationen

- Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs oder Einelnucleotidmorphismen) sind der am häufigsten vorkommende genetische Variationstyp im menschlichen Genom. Sie sind für mehr als 90% aller Unterschiede zwischen Menschen verantwortlich. Wahrscheinlich werden diese variablen SNP-Muster für viele der komplexen phänotypischen Eigenschaften beim Menschen verantwortlich sein. Die SNP-Analyse besitzt das Potenzial, die Anfälligkeit (Empfindlichkeit) gegenüber einer Vielzahl verschiedener klinischer Erkrankungen oder Störungen vorherzusagen, u.a. Krebs, kardiovaskuläre Erkrankungen und psychische Erkrankungen, und könnte potenziell dazu führen, dass eine gezielte Arzneimitteltherapie Wirklichkeit wird. Millionen SNPs im menschlichen Genom sind bereits identifiziert. SNPs gelten als wichtige genetische Marker. Dies ist auf ihre große Fülle innerhalb des menschlichen Genoms und auf die Assoziation zurückzuführen, die sie mit vielen genetischen Zügen und mit der Anfälligkeit gegenüber Erkrankungen haben könnten. SNPs können in einer DNA-Region eng nebeneinander liegen und in verschiedenen Kombinationen oder Haplotypen vererbt werden.
- Mutationen sind eine SNP-Klasse, die abweichende Proteine oder Unterschiede bei der Proteinexpression auslösen, die in Zusammenhang mit den klassischen angeborenen Stoffwechsel- oder anderen Erbkrankheiten stehen, wie z.B.: Cystische Fibrose (Mukoviszidose), Phenylketonurie, Sichelzellenkrankheit und Von-Willebrand-Krankheit.

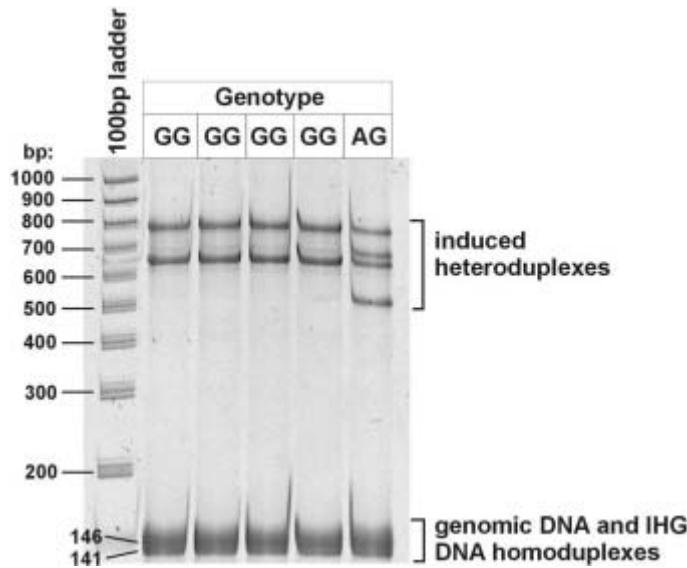
## Welche Relevanz besitzt die IHG-Technologie für den SNP- und Mutationsnachweis?

Im Gegensatz zu vielen anderen derzeit verwendeten DNA-Diagnostika kann ein einzelner IHG einzelne oder mehrere SNPs und Haplotypen identifizieren. Möglich wird dies aufgrund des einzigartigen Designs des IHG. Für viele Anwendungen erlaubt dies eine wesentliche Verringerung der Anzahl benötigter Tests. Die Haplotypisierung ist ein großer Vorteil, da immer deutlicher wird, dass nicht die Genotypen, sondern Haplotypen höhere Relevanz für Krankheits- und Proteinexpressionsstudien besitzen. Die Ergebnisse der IHG-basierten Haplotypisierung bieten einen klaren Hinweis auf die physikalische Kopplung der SNPs.

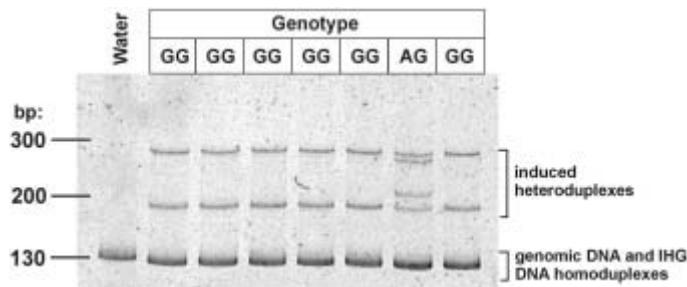
## Wie funktioniert das IHG-Reagens?

Ein IHG-Reagens ahmt DNA-Regionen innerhalb der Gene nach, unterscheidet sich aber von diesen dadurch, dass es einen oder mehr „Identifier“ (Erkennungsmarker) besitzt. Diese Identifier liegen an die SNPs angrenzend innerhalb der DNA. Wird menschliche DNA (die die betreffenden SNPs enthält) unter bestimmten experimentellen Bedingungen mit dem IHG-Reagens (das die Identifier enthält) gemischt, kommt es zu einer Strukturänderung (die DNA biegt sich und wird starrer), und zwar auf eine für den SNP oder die krankheitsauslösende Mutation spezifische Weise. Ein einzelnes IHG-Reagens, das eine Kombination von Identifiern besitzt, kann einzigartige Strukturänderungen für einzelne oder Cluster-SNPs und Haplotypen auslösen. Diese Änderungen werden mittels Heteroduplexbildung ausgelöst (induziert) und sind auf Geräten verschiedener Typen nachweisbar.

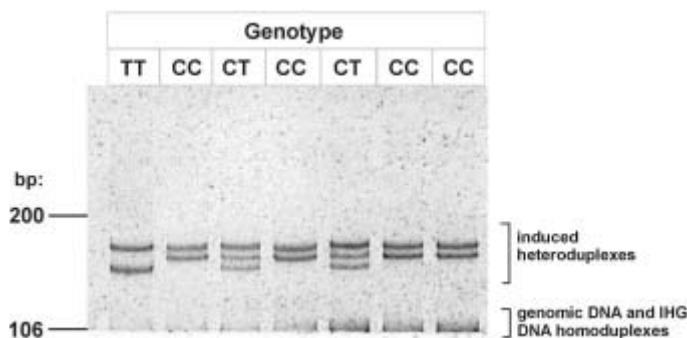
## Klinische Minigels



Faktor V Leiden PAGE-Minigel, das induzierte Heteroduplexe zeigt



Prothrombin-PAGE-Minigel, das induzierte Heteroduplexe zeigt



MTHFR-PAGE-Minigel, das induzierte Heteroduplexe zeigt

## Welche Vorteile bietet die IHG-Technologie?

### **Ein hohes Maß an Genauigkeit**

Testwiederholungen sind also überflüssig

### **Unkompliziertheit**

Kein hochgradig geschultes Personal oder langwierige Schulung erforderlich

Einzel-Reagenzröhren-PCR für sowohl Genom- als auch IHG-DNAs, gefolgt von kurzem Misch-Wärm-Kühl-Schritt. Restriktionsenzyme, Sonden, Hybrisierungs- oder Waschschrifte, mehrere Primer-Paare werden überflüssig.

### **Flexible Plattformen**

Von Low-Tech-Gel bis zu High-Tech-Mikrokapillaren und WAVE

Man muss nicht mehr an einen Gerätetyp gebunden sein

Geeignet für Labore mit unterschiedlichem Grad an Differenzierung und Finanzierung

### **Flexibler Durchsatz**

Analysieren von großen Chargen ist nicht mehr notwendig

Testergebnisse für den Patienten sind rascher verfügbar

### **Kopplung**

Einzigartig ist hier, dass ein einzelner IHG einzelne, multiple SNPs UND Haplotypen identifizieren kann. Kann multiplexen.

Arbeits- und zeitsparend bei gleichbleibender Genauigkeit.

### **Kontroll-DNAs für alle bekannten Allele**

Ermöglicht Identifikation neuer Allele und bietet somit neue Einsichten in der Krankheitsdiagnostik

### **Neue Tests können innerhalb von Wochen entwickelt werden**

Ermöglicht ein rasches Reagieren auf Kundenbedarf und neue Märkte

## Die IHG-Technologie im Vergleich

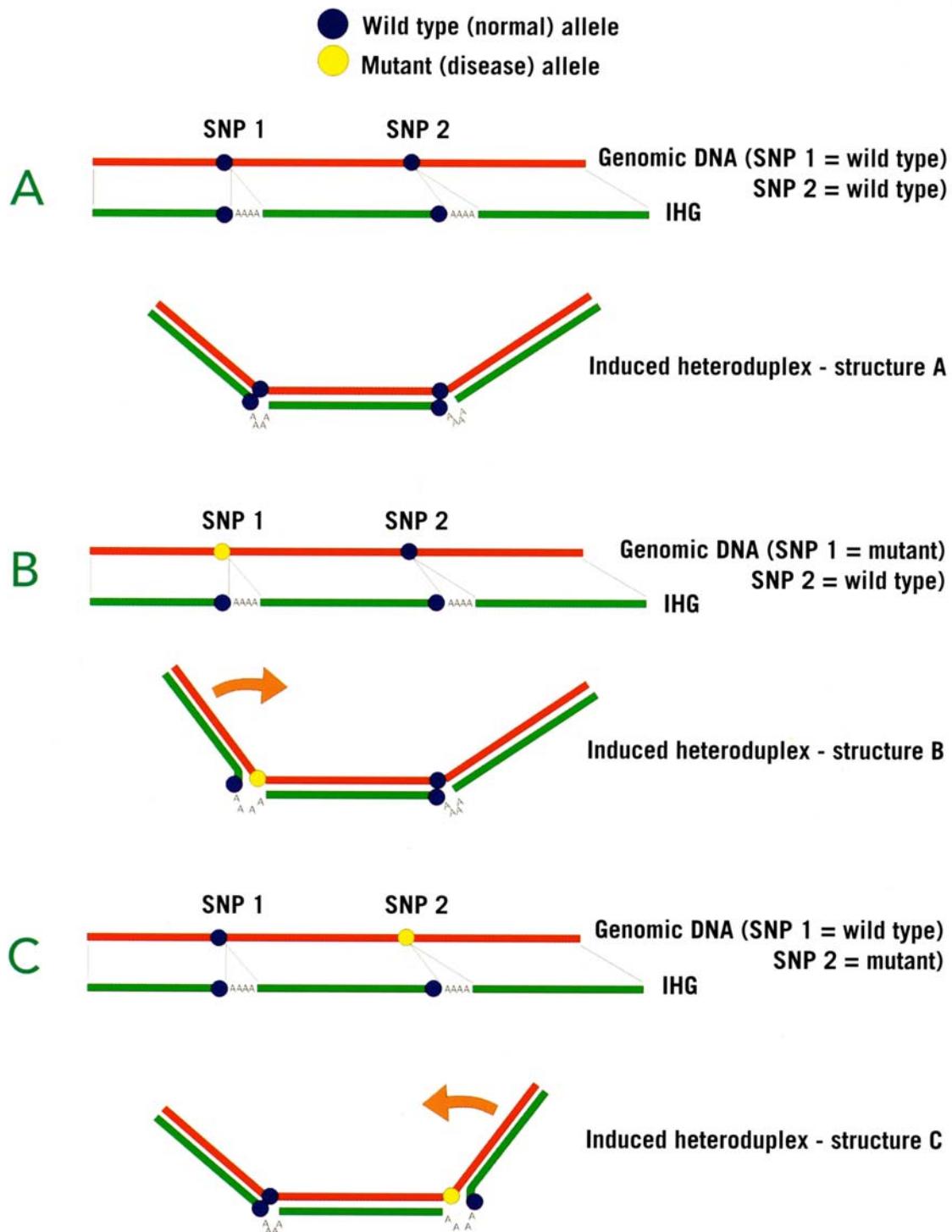
Method:	IHG	SSO dot	SSO reverse dot	SSP (ARMS)	RFLP	SSCP	Sequencing	RSCA	Gene Chip microarray
Identifies haplotypes without cloning?	✓	✗	✗	✗	some	some	✗	some	✗
All heterozygotes unequivocal?	✓	✗	✗	✗	✗	some	✗	some	✗
Single reagent for multiple SNPs?	✓	✗	✗	✗	✗	n/a	n/a	n/a	✗
Multiple probes/enzymes not required?	✓	✗	✗	✗	✗	✓	✓	✗	✗
Simple post-PCR manipulation?	✓	✗	✗	✓	✗	✓	✗	✓	✗
Flexible instrument/gel platform?	✓	✓	n/a	✓	✓	✗	✗	✗	✗
Identifies new mutations?	✓	✗	✗	✗	✗	<80%	✓	some	✗
Rapid?	✓	✗	✓	✓	✗	✓	✗	✗	✗
All allelic controls provided?	✓	✗	✗	✗	✗	✗	n/a	✗	✗

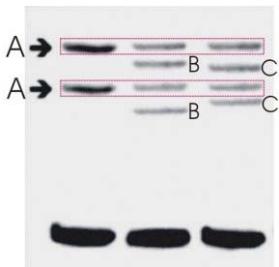
Derzeitige Methoden zum SNP-Nachweis sind u.a.:

1. SSO (Sequence Specific Oligonucleotide) Dot
2. SSO (Sequence Specific Oligonucleotide) Reverse Dot
3. SSP (ARMS): Sequence-Specific Primers (Amplifikation)
4. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)
5. SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism)
6. Direkte Sequenzierung
7. Reference Strand Conformational Analysis
8. Gene Chip Microarray/Microarray-Sequenzierung

Die obigen Methoden sind oftmals intensiv, teuer, zeitraubend und unpräzise. Ihre Verwendung hängt außerdem häufig von der Verfügbarkeit der bestehenden Geräteplattformtypen ab. Von grundlegenderer Bedeutung ist allerdings, dass die heute existierenden Tests nicht in der Lage sind zu bestimmen, welche Haplotypen eine Person besitzt (siehe oben).

Wie kann ein einzelnes IHG-Reagens 2 oder mehr individuelle SNPs und Haplotypen identifizieren?





In dem auf der vorigen Seite gezeigten Beispiel kann ein einzelner IHG 2 SNPs nachweisen, die in der gleichen amplifizierten DNA-Region vorhanden sind (in rot dargestellt).

Die Wildtyp- (normale) Sequenz an jedem der SNPs ist in blau dargestellt, die mutierte (kranke) Sequenz ist in gelb dargestellt (siehe Panel B und C). Die dreidimensionale Struktur der mit dem IHG gebildeten Heteroduplexe unterscheiden sich voneinander (gezeigt durch unterschiedliche Winkel der „Arme“), je nachdem ob eine Wildtyp- oder mutierte Sequenz an einer oder anderen SNP-Stellen vorhanden ist. Diese Strukturunterschiede können beispielsweise mittels Polyacrylamidgel- oder Minigel-Elektrophorese nachgewiesen werden (siehe obiges Panel).

Die Person in der linken Spalte besitzt zwei normale Chromosomen (Konformation A), was wie gezeigt zu den zwei charakteristischen (mit Pfeil markierten) Banden führt.

Die Person in der mittleren Spalte besitzt ein normales Chromosom und ein mutiertes Chromosom an SNP 1 (Muster A bzw. B). Die Person in der rechten Spalte hat ein normales Chromosom und ein mutiertes Chromosom an SNP 2 (Muster A bzw. C).

In der Praxis können bis zu 6 oder mehr Mutationen in einer einzigen DNA-Region mit einem einzelnen IHG-Reagens nachgewiesen werden, und zwar durch Erweiterung des Prinzips, wie zum Beispiel durch Aufnahme von mehr Poly-(A)-Einschlüssen an geeigneten Stellen innerhalb des IHG.

IHGs können außerdem verschiedene Kombinationen (Haplotypen) von SNPs nachweisen (keine Abbildung). So wäre beispielsweise ein unterschiedliches Bandenmuster zu beobachten, wenn die Person Mutationen sowohl an SNP-1- als auch an SNP-2-Stellen hätte.

# Zur Zeit verfügbare IHG-Reagenzienkits

## Gerinnungsstörungen

### Faktor V Leiden (FVL)

FVL ist die häufigste angeborene Gerinnungsstörung. Zwischen 3 und 8 Prozent der weißen Bevölkerung in den USA und in Europa sind Träger einer Kopie der FVL-Mutation, und etwa 1 von 5000 Menschen besitzen zwei Kopien der Mutation. In anderen Bevölkerungsgruppen ist die Mutation weniger häufig anzutreffen. FVL erhöht das Risiko einer Venenthrombose für heterozygote Individuen (die ein schlechtes Gen geerbt haben) 3- bis 8-fach, für homozygote Individuen (die zwei schlechte Gene geerbt haben) aber noch wesentlich mehr, nämlich 30- bis 140-fach.

### Prothrombin (PTR)

Die Prothrombin-G20210A-Mutation ist die zweithäufigste angeborene Gerinnungsanomalie; Heterozygote sind mit einem 3- bis 6-fach erhöhten Thromboserisiko behaftet. PTR ist lediglich ein leichter Risikofaktor für die Bildung von Blutgerinnseln, aber in Kombination mit anderen Risikofaktoren oder mit anderen Gerinnungsstörungen erhöht sich das Risiko von Blutgerinnseln dramatisch.

### Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR)

5,10-Methylentetrahydrofolatreduktase ist das bei der Umwandlung von Homocystein zu Methionin beteiligte Stoffwechselenzym. Bei einer verringerten MTHFR-Aktivität (wie sie bei der C677T-Mutation vorliegt) kommt es zu erhöhten Homocysteinkonzentrationen. Dies wird als Hyperhomocystämie bezeichnet, die ein Risikofaktor sowohl für arterielle als auch venöse Thrombosen ist. Individuen, die die MTHFR-Mutation besitzen, können mit einem bis zu 5 Mal höheren Risiko von Blutgerinnseln behaftet sein.

Die drei oben beschriebenen Gerinnungsstörungen und damit assoziierten Mutationen können einen signifikanten Risikofaktor darstellen, der unter den folgenden Umständen von besonderer Relevanz ist:

#### *Pille (hormonale Kontrazeptionspräparate)*

Bei allen Frauen besteht während der Einnahme der kontrazeptiven Pille ein (etwa 4-fach erhöhtes) Risiko von Blutgerinnseln. Bei einer Frau mit einer FVL-Mutation ist dieses Risiko 30- bis 35-fach erhöht. Bei Frauen, die eine PTR-Mutation geerbt haben, ist das Risiko 3 Mal höher. Bei Frauen mit mehr als einer Mutation ist das Risiko 100 Mal höher.

#### *Hormonersatztherapie (HT)*

Bei allen Frauen besteht unter HT ein (etwa 2- bis 4-fach erhöhtes) Risiko von Blutgerinnseln. Bei einer Frau mit einer FVL-Mutation ist das Risiko 13- bis 15-fach erhöht. Bei Frauen mit zwei Mutationen ist das Risiko sogar noch höher.

#### *Schwangerschaft*

Blutgerinnsel sind die häufigste mütterliche Todesursache während der Schwangerschaft. Alle schwangeren Frauen sind mit einem (ca. 5- bis 6-fach erhöhten) Risiko von Blutgerinnseln behaftet. Bei Frauen mit einer FVL-Mutation ist dieses Risiko 7- bis 16-fach erhöht. Bei Frauen mit zwei Mutationen ist das Risiko 40 Mal höher.

#### *Chirurgische Eingriffe*

Während eines chirurgischen Eingriffs oder der anschließenden Erholungsphase besteht stets das Risiko von Blutgerinnseln. Bei Individuen mit einer FVL-Mutation ist das Risiko etwa 20 Mal höher.

### **Langstreckenflüge oder andere lange Reisen**

Bei Menschen mit einer angeborenen Gerinnungstörung besteht ein höheres Risiko, dass sich während Langstreckenflügen (3 Stunden oder länger) ein Blutgerinnsel bildet; möglicherweise kann dieses Risiko 100 Mal höher sein.

	Relatives Risiko mit 1 Mutation	Relatives Risiko mit >1 Mutation
Kontrazeptive Pille	30-35	100
HT	13-15	Höher
Schwangerschaft	7-16	40
Chirurgischer Eingriff	20	Höher
Lange Reisen	10	Höher

Bei Vorliegen von zwei Mutation ist das Risiko 3 Mal höher als das Risiko bei nur einer Mutation. Unter Einsatz von Prophylaxemaßnahmen, dem entsprechenden Bewusstsein und richtiger Behandlung können diese Risiken wesentlich verringert und in einigen Fällen sogar vollständig ausgeschaltet werden.

### **Krebs**

Bei Krebspatienten besteht ein 7 Mal höheres Venenthromboserisiko als beim Gesunden. Bei Patienten mit Leukämie besteht ein 28-fach erhöhtes Thromboserisiko. Träger der FVL- und der PTR-Mutation sind mit einem 12 Mal höheren Thromboserisiko behaftet als Individuen mit dieser Mutation, aber nicht an Krebs leiden. Es liegen Empfehlungen vor, bei Krebspatienten mit einem erhöhten Venenthromboserisiko eine prophylaktische gerinnungshemmende Therapie in Erwägung zu ziehen.

Blom, J. W., Doggen, C. J., Osanto, S., Rosendaal, F. R. (2005). Old and new risk factors for upper extremity deep venous thrombosis. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 3 (11): 2471-8.

## **Künftig erhältliche IHG-Reagenzienkits**

- **Phenylketonurie: PAH-Gen**
- **Sichelzellenkrankheit: b-Globin-Gen**
- **Hämochromatose C282Y und H63D**
- **β-Thalassämie: HBB-Gen**
- **Cystische Fibrose: CFTR-Gen**
- **Von-Willebrand-Krankheit: vWF-Gene, 2A, 2B und 2N Varianten**
- **Mannan-bindendes Protein-Defizienz: MBL-Gen**
- **TPMT\* (IHG-RT-PCR)**
- **ApoE 2/3/4\***
- **ApoA IV**
- **Stromelysin-1 5T/6T**
- **BChE**
- **Faktor XIII**
- **HLA-A, B, C, DRB\***
- **N-Ras**
- **Cytokin-Gen-Promoter-Polymorphismen: IL10\*, TNFSF2\*, IL6, TGFB\*, IL1B**

\* = haplotypisierende IHGs

| Kontakt: [info@ihgpharmaco.com](mailto:info@ihgpharmaco.com)

<http://www.ihgpharmaco.com/test/web-content/index.html>

IHG Pharmaco Ltd  
Dept.of Cellular & Molecular Medicine  
School of Medical Sciences (F59), University Walk, Bristol BS8 1TD, Großbritannien  
Tel+44 1285 750 264



## Glossar

**Allele** : die spezifische Variante (Nucleotid) eines **Polymorphismus** an einem einzelnen Locus auf einem Chromosom; z. B. A, C, G oder T

**Amplicon** : eine mittels **PCR** generierte amplifizierte DNA-Sequenz

**Cystische Fibrose** : eine genetisch vererbte Krankheit, die von Mutationen im CFTR-Gen verursacht wird und durch Defekte im Ionentransport gekennzeichnet ist, die sich auf die Lungen- und Darmschleimhäute auswirken

**DTI** : Department of Trade and Industry (britisches Ministerium für Handel und Industrie)

**Faktor V Leiden** : die Faktor V Leiden Thrombophilie ist von einer mangelhaften gerinnungshemmenden Reaktion auf aktiviertes Protein C (APC) und von einem erhöhten Risiko venöser Thromboembolien gekennzeichnet. Der Begriff „Faktor V Leiden“ bezieht sich auf die spezifische G-zu-A-Substitution am Nucleotid 1691 im Gen für Faktor V, die einen einzelnen Aminosäureaustausch (Arg506Gln) an einem von drei APC-Spaltstellen im Faktor-Va-Molekül vorhersagt. Faktor V Leiden wird mit einer zehnmal langsameren Geschwindigkeit deaktiviert als der normale Faktor V und bleibt länger im Blutkreislauf, was zu einer erhöhten Thrombinproduktion und einem leicht hyperkoagulablen Status führt, was an den erhöhten Konzentrationen von Prothrombin-Fragment F1+2 und anderen aktivierten Gerinnungsmarkern abzulesen ist. Individuen, die **heterozygot** für die Faktor V Leiden Mutation sind, haben ein leicht erhöhtes Venenthromboserisiko; **homozygote** Individuen haben ein sehr viel höheres Thromboserisiko.

**Gene Chip Microarray** : dies ist eine Ansammlung von mikroskopischen Punkten, die Oligonucleotidsonden auf einer festen Oberfläche, wie z. B. Glas, Kunststoff oder Siliziumchip, enthalten und ein Array (eine Anordnung) bilden. Kann zur **Genotypisierung** oder Sequenzierung mehrerer Regionen eines **Genoms** unter Verwendung von **Amplicons** von der DNA des Patienten dienen

**Genom** : das gesamte genetische Komplement eines Individuums, das alle 46 Chromosomen repräsentiert

**Genotyp** : die Kombination von zwei **Allelen**, vertreten durch einen **polymorphen Locus** auf homologen Chromosomen; z.B. wären bei einem A-zu-G-**Polymorphismus** mögliche **Genotypen** AA, AG oder GG

**Haplotyp** : die Kombination von zwei oder mehr **Allelen** an physikalisch gekoppelten benachbarten Positionen innerhalb des **Genoms**

**Heteroduplex** : eine nicht übereinstimmende Hybride, gebildet aus einem **IHG-Amplicon** und einem aus Patienten-DNA erzeugten **Amplicon**

**Heterozygot** : besitzt unterschiedliche **Allele** auf jedem Chromosomenhomolog

**Homozygot** : besitzt identische **Allele** auf jedem Chromosomenhomolog

**Identifier** : eine Reihe von an einer Position neben einer **polymorphen** Stelle in ein **IHG** eingeführten Nucleotiden, mit dem Ziel, die Bildung einer nicht übereinstimmenden DNA-Schleife in **Heteroduplexen** auszulösen (gebildet mit **Amplicons** aus Patienten-DNA)

**IHG** : Induced **Heteroduplex** Generator (induzierter Heteroduplex-Generator)

**MTHFR** : Hyperhomocysteinämie ist ein weithin anerkannter Risikofaktor für die koronare Herzkrankheit, Venenthrombose und Apoplexie (Hirnschlag). Außerdem spielt sie eine Rolle bei der Pathogenese von Neuralrohrdefekten, Todgeburten und anderen wiederholten Fehlgeburten. Eine Ursache für die Hyperhomocysteinämie sind Mutationen im MTHFR-Gen.

**Mutation** : eine Änderung der Nucleotidsequenz, die entweder bei Keimlinienzellen oder anderen Körperzellen auftreten kann. Mutationen in Keimlinienzellen können vererbt werden. In der Regel treten Mutationen in der Bevölkerung mit einer Häufigkeit von unter 1% auf.

**PCR** : Polymerase-Kettenreaktion. Ein Prozess zur Amplifikation einer bestimmten DNA-Sequenz mittels zyklisch wiederholter Anlagerung von Primern, Verlängerung dieser Primer und Wärmedenaturierung

**Phenylketonurie** : eine genetisch vererbte Krankheit, die durch **Mutationen** im PA H-Gen verursacht wird und durch eine Unfähigkeit zur Nutzung von Phenylalanin, einer essentiellen Aminosäure, gekennzeichnet ist

**Polymorphismus** : eine Variation der Nucleotidsequenz an einer gegebenen Position im **Genom**; tritt in der Bevölkerung mit einer Häufigkeit von 1% oder mehr auf

**Prothrombin** : die Prothrombin-G20210A-**Mutation** ist ein häufiger Risikofaktor für Thrombosen und erhöht das Risiko für das Auftreten von tiefen Venenthrombosen, Apoplexien und Fehlgeburten

**Reference strand conformational analysis (RSCA)** : ein Verfahren zur **Genotypisierung**, bei dem **Amplicons** der Patienten-DNA Heteroduplexe mit **Amplicons** bekannter, natürlich vorkommender Allele (Bezugsallele) bilden: die sich ergebenden **Heteroduplexe** können mittels Elektrophorese gespalten und die Muster zur Ermittlung des **Genotyps** des Patienten herangezogen werden

**RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)** : ein Verfahren zur **Genotypisierung**, bei dem **Amplicons** der Patienten-DNA mit **allel**-spezifischen Restriktions-Endonukleasen verdaut werden

**Sichelzellenkrankheit** : eine genetisch vererbte Krankheit, die durch **Mutationen** im HBB-Gen verursacht wird und von Schmerzepisoden, Anämie (Mangel an roten Blutkörperchen), schweren Infektionen und Schädigung wichtiger Organe gekennzeichnet ist. Es gibt mehrere häufig anzutreffende Formen der Sichelzellenkrankheit, und zwar mit der Bezeichnung SS (das Kind erbt ein Sichelzellengen von jedem Elternteil); SC (das Kind erbt ein Sichelzellengen und ein anderes Gen für einen anderen abnormen Hämoglobintyp, nämlich HbC) und S-Beta Thalassämie (das Kind erbt ein Sichelzellengen und ein Gen für Beta-Thalassämie, eine andere angeborene Form von Anämie)

**SNP** (Single Nucleotide Polymorphism) : ein **Polymorphismus**, bei dem es zu einer Änderung einer einzelnen Nucleotidbase im **Genom** kommt

**SSCP** (Single-Stranded Conformational Polymorphism) : Einzelstrang-Konformationspolymorphismus-Analyse, ein Verfahren zur **Genotypisierung**, bei dem **Amplicons** der Patienten-DNA wärmedenaturiert und danach rasch abgekühlt werden, um die Bildung von Intra-Strang-DNA-Duplexen auszulösen. Diese Duplexe werden dann mittels Elektrophorese getrennt, um **genotypen**-spezifische Bandenmuster in nicht denaturierenden Gels zu erzeugen

**SSO** (Sequence-Specific Oligonucleotide) dot : ein Verfahren, bei dem immobilisierte, nicht markierte **Amplicons** mittels Hybridisierung mit einer Reihe von individuellen, markierten homologen Oligonucleotiden **genotypisiert** werden

**SSO** (Sequence-Specific Oligonucleotide) reverse dot : ein Verfahren, bei dem markierte **Amplicons** durch Hybridisierung mit einer Reihe von immobilisierten, nicht markierten homologen Oligonucleotiden **genotypisiert** werden

**SSP** (ARMS) : ein Verfahren zur **Genotypisierung**, bei der Patienten-DNA mit sequenzspezifischen Primern (SSP) mittels PCR amplifiziert wird. Zur Amplifikation kommt es nur dann, wenn die DNA des Patienten genau mit dem SSP übereinstimmt. Dieses Verfahren wird auch als ARMS (Amplification Refractory Mutation System) bezeichnet.

**Von-Willebrand-Krankheit** : eine genetisch vererbte Krankheit, die durch **Mutationen** im VWF-Gen ausgelöst wird. Dies ist die häufigste angeborene Gerinnungsstörung und betrifft beide Geschlechter in etwa gleichem Maße. Die meisten Fälle sind leicht; die Blutungen können nach einem chirurgischen Eingriff oder nach einer Zahnxtraktion auftreten. Die Krankheit wird durch Anwendung von Aspirin und anderen nichtsteroidalen Entzündungshemmern (NSAID) verschlammert. Die Blutungsneigung kann während der Schwangerschaft abnehmen. Diese Krankheit ist sehr häufig und betrifft mindestens 1% der Bevölkerung. Der primäre Risikofaktor ist die familiäre Belastung mit Gerinnungsstörungen. Bei Frauen mit schweren oder langdauernden Menstruationsblutungen ist die Von-Willebrand-Krankheit bei weißen Frauen häufiger zu beobachten als bei amerikanischen Frauen afrikanischer Herkunft

**Wildtyp** : das am häufigsten auftretende **Allel** einer **polymorphen DNA-Sequenz**