

Optical Genome Mapping (OGM)

Zytogenetische Analysemöglichkeiten des MVZ

Zytogenetische Analysen haben eine lange Tradition in der Humangenetik des MVZ Dr. Eberhard & Partner. Bereits in den frühen 90er Jahren wurde die konventionelle Chromosomenanalyse etabliert, gefolgt von der Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH). Die spätere Einführung der DNA-Array-Analyse ermöglichte die Identifikation von Kopienzahlveränderungen mit deutlich verbesserter Auflösung. Dieses Jahr konnte das MVZ nun als eines der ersten Labore in Deutschland die neueste zytogenetische Methode, Optical-Genome-Mapping (OGM), etablieren.

Medizinischer Hintergrund

In Anlehnung an die molekulargenetische Methode Next Generation Sequencing (NGS) wird die OGM-Analyse auch *Next Generation Cytogenetics* oder *Chromosomenanalyse 2.0* genannt. OGM erlaubt - ähnlich wie die DNA-Array-Analyse - für chromosomale Zugewinne und Verluste ein deutlich höheres Auflösungsvermögen als eine herkömmliche Chromosomenanalyse. Im Gegensatz zur DNA-Array-Analyse kann die OGM-Analyse nebenbefundlich zusätzlich noch strukturelle Chromosomenstörungen detektieren, die nicht zu einer quantitativen Veränderung genetischen Materials führen, so z.B. Insertionen, Inversionen oder auch balancierte Translokationen. Während bei der konventionellen Chromosomenanalyse die Veränderung i.d.R. mind. 5 Mio. Basenpaare groß sein müssen, um erkannt zu werden, können bei der OGM-Analyse Aberrationen von weniger als 50.000 Basenpaaren detektiert werden.

Technischer Hintergrund

Die OGM-Analyse besteht aus zwei Analysen desselben Rohdatensatzes. Es erfolgt sowohl eine Kopienzahlanalyse, vergleichbar mit der DNA-Array-Analyse, als auch eine Analyse auf Strukturvarianten. Strukturvarianten können detektiert werden, wenn an deren Enden ein Fusionsfragment bestehend aus dem betroffenen Sequenzbereich und angrenzenden Normalbereichen entsteht. So lassen sich z.B. Lokalisation und genomische Orientierung eines duplizierten, invertierten oder translozierten Bereiches bestimmen.

Die neue Technik ähnelt einer klassischen Chromosomenanalyse, basiert jedoch auf Fluoreszenzmikroskopie¹ und enzymatischer Markierung der DNA. Dabei wird zuerst die DNA schonend aus dem Zellkern isoliert, damit bis zu ca. 2 Mio. Basenpaare große DNA-Doppelstränge erhalten bleiben. Daraufhin werden im Abstand von ca. 6.000 Basen im Genom vorkommende Erkennungssequenzen mit Fluoreszenzfarbstoff markiert, so dass eine Art Barcode entsteht. Die Analyse der markierten, ultrahochmolekularen DNA-Stränge erfolgt sodann im laser-basierten Saphyr® Fluoreszenzmikroskop. Dessen Chip beinhaltet Nanokanäle, wodurch i.d.R. jeweils genau ein DNA-Strang linearisiert vom Fluoreszenzmikroskop-Detektor pro Kanal abgebildet wird.

Aufgrund der unterschiedlichen Barcode-Muster auf dem DNA-Strang lassen sich chromosomale Bereiche erkennen, die im Abgleich mit dem Referenzgenom ggf. chromosomale Veränderungen zeigen.²

Somit vereint die OGM-Analyse die Vorteile von konventioneller Chromosomenanalyse, nämlich die Detektion sowohl balancierter als auch unbalancierter Chromosomenstörungen, mit dem sehr hohen Auflösungsvermögen der DNA-Array-Analyse. Dabei kann die OGM-Analyse auch bestimmte Veränderungen detektieren, die von molekulargenetischen Verfahren (inkl. NGS) bisher nicht entdeckt werden.

In Kombination mit der in unserem Labor bereits etablierten molekulargenetischen Diagnostik, z.B. NGS-Exom-Analysen, steht somit ein umfassendes, qualitätsgesichertes Methoden-Portfolio zur Verfügung, um ein weitergehendes Bild von der Gesamtheit der vorliegenden genetischen Veränderungen bei Patienten zu gewinnen.

Indikation postnatal: z.B. Patienten mit syndromalem Phänotyp und unauffälliger Chromosomenanalyse; Patienten mit unklarer Strukturveränderung in der Chromosomenanalyse (Bruchpunktbestimmung, Ausschluss von Imbalancen oder komplexen Rearrangements); Patienten mit bekannter Imbalance, welche genauer charakterisiert werden soll; Patienten mit Markerchromosom

Indikation pränatal: Auffälliger Ultraschall bei unauffälligem Chromosomensatz; genetische Erkrankung unklarer Genese in der Familie.

Material: 4-6 ml frisches EDTA- oder LiHep- Blut (gekühlt max. 5 Tage; nicht einfrieren), oder ca. 2,4 Mio. Zellen (konfluente Zellkultur). Einverständniserklärung gem. GenDG erforderlich.

Abrechnung: EBM-Abrechnung nach vorheriger konventioneller Chromosomenanalyse möglich, sofern Indikation zur Array-Analyse gegeben (nur 1 x pro Krankheitsfall). Andere Indikationen ggf. nur GOÄ, Kosten auf Anfrage.

Ansprechpartner:

Dr. med. St. Wiczorek, Tel.: 0231-9572-6650, wiczorek@labmed.de

Dr. rer. nat. A. Beckmann, Tel.: 0231-9572-6602, abeckmann@labmed.de

Literatur:

1 Teague et al. 2010, PNAS, 107: 10848-10853

2 Jeffet et al. 2021, Essays in Biochemistry, 65: 51-66

Ausblick: Die Anwendung der OGM-Analyse in der Diagnostik hämatologischer Neoplasien befindet sich derzeit in der Validierungsphase. Sofern Sie PatientInnen (z.B. mit unklarem zytogenetischen Befund) einbringen möchten, stehen wir gerne zur Verfügung: Dr. Schreiber/Dr. Graf Tel. 0231 9572-6554/6659.