

Next Generation Sequencing in der Humangenetik

Zentrales Anliegen der humangenetischen Forschung und Diagnostik ist es, die molekularen Ursachen genetisch bedingter Erkrankungen aufzuspüren. Dabei steht seit vielen Jahren die Sequenzierung menschlicher Gene an der Spitze der Techniken, die für diesen Zweck eingesetzt werden. Auf diesem Gebiet haben in den letzten Jahren enorme technologische Fortschritte stattgefunden. Diese haben eine Reihe von unterschiedlichen Methoden hervorgebracht, die es nunmehr ermöglichen, die Sequenz ganzer menschlicher Genome oder großer Untereinheiten davon, wie beispielsweise des Exoms, auszulesen. Diese Techniken zur Hochdurchsatzsequenzierung werden landläufig unter dem Begriff „Next Generation Sequencing“ (NGS) zusammengefasst. Dabei gibt es eine ganze Reihe an verschiedenen Geräteplattformen, die entweder schon kommerziell zur Verfügung stehen oder sich in verschiedenen Stadien der technischen Entwicklung befinden.

Die große Besonderheit dieser neuen Technologien liegt darin, dass es durch sie möglich ist, gesamtexomische, -transkriptomische bzw. -genomische Analysen mit vergleichsweise überschaubarem und immer noch sinkendem zeitlichen und finanziellen Aufwand für individuelle Probanden bzw. Patienten durchzuführen. Dies brachte bereits im Bereich der humangenetischen Forschung enorme Fortschritte für die Mutationsanalytik mit sich und die entsprechende Nutzung der neuen Technologien in der humangenetischen Diagnostik wird andernorts wie etwa bei unseren niederländischen Nachbarn oder in den USA bereits umfänglich praktiziert (siehe z.B. [4] bzw. [5]).

Auch in Deutschland vollzieht sich derzeit der flächendeckende Einzug dieser Technologien in die humangenetische Routinediagnostik. Es ist daher das Anliegen dieses Themenhefts, die neuen Techniken vorzustellen und die Leser auf spezifische Besonderheiten im Umgang mit NGS-Daten aufmerksam zu machen.

Dabei soll der erste Beitrag dazu dienen, zunächst einen Einblick in die, den derzeit gebräuchlichsten NGS-Plattformen zugrundeliegenden, methodischen Prinzipien zu geben und verschiedene Anwendungsbereiche vorzustellen (Neveling und Hoischen). Da es allen NGS-Technologien gemeinsam ist, dass bei ihrem Einsatz eine große Menge an Sequenzdaten erzeugt wird, beschreibt ein weiterer Beitrag die grundlegenden Charakteristika der anfallenden Daten sowie der einzelnen Analyseschritte und zeigt die Herausforderungen auf, die sich für die Qualitätskontrolle von NGS-Daten ergeben (Weißmann und Gilissen).

Jedes Individuum trägt eine Vielzahl auch privater Sequenzvarianten, daher ist die Auswahl geeigneter bioinformatischer Filterungs- und Priorisierungsansätze von besonderer Bedeutung für die erfolgreiche Suche nach neuen potenziell pathogenen Mutationen (siehe auch [2]). In diesem Zusammenhang stellen F. Kortüm et al. in ihrem Beitrag „Exom-Sequenzierung zur Identifizierung von Krankheitsgenen für seltene Syndrome: Erfahrungen aus Hamburg“ vier Beispiele für verschiedene fallspezifische Strategien im Umgang mit den großen NGS-Datenmengen vor.

Für die humangenetische Patientenversorgung ist vor allem die Möglichkeit

der Sequenzanalyse von erkrankungsspezifischen Gengruppen ein besonders interessantes Anwendungsfeld der NGS-Technologie [5]. Dadurch wird es möglich bei vergleichsweise günstigen Kosten von einem deutlich gesteigertem Probandendurchsatz bei gleichzeitig reduzierten Bearbeitungszeiten zu profitieren. Auber et al. präsentieren hierzu eine Bewertung von zwei verschiedenen Geräteplattformen für den Einsatz in der Mutationsanalytik bei erblichen Brust- und Ovarialkrebskrankungen und schildern die dabei an mehr als 600 Proben gesammelten Erfahrungen mit NGS.

Neben der Möglichkeit zur Identifizierung krankheitsassoziierter genetischer Marker oder pathogener Mutationen birgt NGS zu guter Letzt aber auch ein vielfältiges Potenzial für die Untersuchung funktioneller Aspekte potenziell krankheitsrelevanter Sequenzveränderungen. Die methodischen Prinzipien dieser speziellen NGS-Anwendungen und Beispiele für ihren Einsatz in der humangenetischen Forschung sind Thema des Beitrags „Das methodische Potenzial der neuen Sequenzieretechnologien jenseits der Mutationssuche“.

Wie bereits eingangs erwähnt, handelt es sich bei NGS um ein sehr dynamisches Technologiefeld, dessen Potenzial noch längst nicht ausgeschöpft scheint. Neben der Komplexität der Analyseergebnisse stellt dabei nicht zuletzt die Geschwindigkeit der quasi parallel zur Methodenentwicklung stattfindenden Etablierung dieser neuen Verfahren in der Diagnostik alle Beteiligten vor erhebliche Herausforderungen. So fällt z.B. regelmäßig bei NGS-Untersuchungen des Exoms aber

oft auch schon bei großen Gengruppen eine nicht zu vernachlässigende Menge an bisher nicht interpretierbaren Überschussinformationen an, wodurch sich sowohl die Ersteller von Befunden als auch die genetischen Berater im täglichen Umgang mit Ratsuchenden bisher unbekannt Problemen gegenüber sehen. Darüber hinaus werden neue Fragen mit Blick auf den Datenschutz, den Umgang mit NGS im Zusammenhang mit vorgeburtlichen Screenings, die Entkopplung von Methodenkompetenz und Interpretationshöhe über die generierten Daten, bis hin zu Fragen der informationellen Selbstbestimmung aufgeworfen. Diese und weitere Aspekte der NGS Technologien und ihrer Anwendung werden von W. Henn in seinem Beitrag „Multiparameter-Genomanalyse und informationelle Selbstbestimmung“ diskutiert.

Beim Blick in die Zukunft erscheint die Kombination aus relativ hohen Investitionskosten und gleichzeitig starker Fluktuation der Technologien bedenklich. Die größte Herausforderung liegt aber wohl immer noch darin, dass wir für die meisten genetischen Veränderungen noch nicht in der Lage sind, mit letzter Sicherheit zu bestimmen, ob und in welcher Form diese tatsächlich für die Entstehung einer Erkrankung verantwortlich sind. Hierfür wird man neben funktionellen Untersuchungen nicht ohne das Studium großer Mengen an phänotypischen und genomischen Daten auskommen [1]. Die dazu notwendigen Datenbanken entstehen bereits (z.B. ClinVar [3]). Es stellt sich daher auch an dieser Stelle die Frage danach, in welcher Form ein verantwortungsvoller Umgang mit genetischen und klinischen Daten im Spannungsfeld zwischen dem allgemeinen Interesse an wissenschaftlichem und medizinischem Fortschritt einerseits und den Persönlichkeitsrechten des Einzelnen (z.B. Datenschutz) andererseits gewährleistet werden kann. Leider scheint jedoch die technologische Entwicklung im Bereich des NGS auch für die eigentlich dringend notwendige gesellschaftliche Diskussion zu diesen Fragen viel zu rasant von statten zu gehen. Es wird daher in den nächsten Jahren auch und besonders für die Humangenetik weiterhin eine wichtige Aufgabe sein, die Wissensbasis für ein besseres

Verständnis von Chancen und Risiken bei der Nutzung genetischer Informationen im Rahmen der medizinischen Versorgung bei allen Beteiligten zu verbreitern.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Andreas W. Kuß

Institut für Humangenetik, Universitätsmedizin Greifswald,
Fleischmannstr. 42-44, 17475 Greifswald
andreas.kuss@uni-greifswald.de

Danksagung. Der Autor dankt Prof. Dr. U. Felbor und Dr. E. Gilberg für konstruktive Kommentare.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. A. Kuß gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

Literatur

1. Bettecken T, Pfeufer A, Sudbrack R, et al. (2014) Next Generation Sequencing in der diagnostischen Praxis. Von der Variante zum Befund. *Medizinische Genetik* 26:21-27.
2. Gilissen C, Hoischen A, Brunner HG, et al. (2012) Disease gene identification strategies for exome sequencing. *Eur J Hum Genet* 20:490-7.
3. Landrum MJ, Lee JM, Riley GR, et al. (2014) ClinVar: public archive of relationships among sequence variation and human phenotype. *Nucleic Acids Res* 42:D980-5.
4. Neveling K, Feenstra I, Gilissen C, et al. (2013) A post-hoc comparison of the utility of sanger sequencing and exome sequencing for the diagnosis of heterogeneous diseases. *Hum Mutat* 34:1721-6.
5. Rehm HL (2013) Disease-targeted sequencing: a cornerstone in the clinic. *Nat Rev Genet* 14:295-300.