

Mit Familienbuch und Tiermodellen: Die **SUCHE NACH GENETISCHEN KRANKHEITSURSACHEN**

» Davon haben Mediziner schon immer geträumt: eine Krankheit an der eigentlichen Wurzel packen und nicht bloß die Symptome bekämpfen. Wer sich auf die Suche nach den Ursachen einer Krankheit macht, steht früher oder später vor der entscheidenden Frage: Sind es die Erbanlagen, die Umwelt oder – in einem mehr oder weniger komplizierten Zusammenhang – beide zusammen?

Ob und wie stark Gene an der Entstehung einer Krankheit beteiligt sind, sieht man nicht auf den ersten Blick. Hinweise können hier Familienstudien geben. Wer in der Chronik betroffener Familien lesen kann, erkennt die Natur einer Krankheit und kann sich Gedanken machen, wie er sie verhindern, heilen oder lindern kann. Die Untersuchung sehr großer Familien mit einer genetisch bedingten Krankheit liefert Wissenschaftlern Hinweise, monogene von komplexen Krankheiten zu unterscheiden. Entscheidend dafür ist die Verteilung der kranken und gesunden Familienmitglieder im Stammbaum. Monogene Krankheiten werden nach den Mendelschen Regeln vererbt. Bei komplexen Krankheiten ist das Vererbungsmuster komplizierter, schließlich spielen mehrere Gene oder auch Umwelteinflüsse eine Rolle bei der Ausprägung der Erkrankung.

Aber wie findet man heraus, ob zusätzliche Genveränderungen oder äußere Einflüsse zum Ausbruch einer Krankheit führen? Hier haben sich Zwillingsstudien als besonders hilfreich erwiesen. Eineiige Zwillinge haben ein identisches Erbgut. Wenn trotzdem nur einer von beiden eine Krankheit entwickelt, müssen auch äußere Faktoren eine Rolle spielen. Zweieiige Zwillinge haben, wie normale Geschwister, nur einen Teil ihrer genetischen Information gemeinsam. Sie wachsen aber zu genau der gleichen Zeit in der gleichen Umgebung auf. Der Einfluss von Umweltfaktoren kann so sehr gut untersucht werden. Sind bei



GENi a l: Sie sind die **Bojen im Genom-See** und für Forscher die **idealen genetischen Marker: SNPs (engl.: Single Nucleotide Polymorphisms**, ausgesprochen: Snips) sind sehr häufig, sehr variabel, und sie sind mit relativ einfachen Mitteln zu finden. Beim Menschen sind ungefähr 1,4 Millionen SNPs bekannt. Sie verteilen sich wahllos über das gesamte Genom. Rund jedes 500. bis 1000. Nukleotid wurde ausgetauscht. Streng genommen handelt es sich bei SNPs um **Punktmutationen – allerdings um sehr erfolgreiche**, weil sie sich im Genpool einer Population durchgesetzt haben. Sie kommen häufiger vor als es die natürliche Mutationsrate vermuten lassen würde. Und wie das Humangenomprojekt gezeigt hat, sind zwar 99,9 Prozent des Erbguts bei allen Menschen gleich, doch der variable Bereich von 0,1 Prozent besteht bei einem insgesamt rund 3 Milliarden Basenpaaren großen Genom aus immer noch 3 Millionen Sequenzunterschieden.

SNPs sind damit für die kleinen Unterschiede verantwortlich, die aus uns unverwechselbare Individuen machen. Denn abgesehen vom Sonderfall eineiiger Zwillinge gleicht kein Erbgut dem anderen. SNPs sind der Grund, dass wir verschiedene Augen- und Haarfarben haben, unterschiedlich groß sind und sie bestimmen auch zum Teil unsere Persönlichkeit. Diese Genvariationen machen uns aber auch anfällig für Krankheiten und beeinflussen die Wirksamkeit von Medikamenten. Sie bestimmen, ob der eine leichter Übergewicht bekommt oder eher zu Asthma neigt als der andere; sie legen fest, wie gut depressive Patienten auf Medikamente ansprechen; und sie sind auch der Grund dafür, warum bestimmte Drogen und Arzneimittel von den Leberzellen des einen schneller abgebaut werden als in der Leber eines anderen Menschen.

SNPs kommen sowohl in Bereichen mit Genen als auch in stillen DNA-Abschnitten ohne Gene vor. Hat der Basentausch in einem DNA Bereich ohne Gene stattgefunden, bleibt der Austausch ohne Auswirkung. Betrifft der Basenaustausch ein Gen, beeinflusst er direkt das Genprodukt – also das Protein oder RNA-Molekül – und kann so die Entstehung einer Krankheit fördern. Liegt ein SNP in der Nähe eines Gens, wird er zumindest häufig mit diesem zusammen vererbt. **Wie eine Fahne an der Antenne eines Wagens markiert ein SNP so das benachbarte Gen.** Wenn ein bekannter SNP also immer im Zusammenhang mit einer bestimmten Krankheit auftaucht, ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass der betroffene DNA-Abschnitt Gene enthält, die etwas mit der Krankheit zu tun haben

eineiigen Zwillingen häufiger beide von einer Krankheit betroffen als bei zweieiigen, deutet das auf eine genetische Ursache hin.

Steht die Rolle des Erbguts bei der Entstehung einer Erkrankung fest, beginnt die eigentliche Suche nach den Krankheitsgenen. Dabei helfen Kopplungsanalysen, die im Prinzip heute noch so ablaufen wie im Fliegenlabor des Genetikpioniers Thomas Hunt Morgan vor rund 100 Jahren (s. Modul 2). Liegen zwei Gene nahe beieinander auf dem gleichen Chromosom, werden sie mit hoher Wahrscheinlichkeit häufig gemeinsam vererbt. Sie sind aneinander gekoppelt. Je weiter Gene voneinander entfernt sind, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Kopplung aufgehoben wird, weil es in dem DNA-Abschnitt dazwischen zu einem Crossing-over gekommen ist.

Dieses Prinzip macht man sich zunutze, indem man Mikrosatelliten-Marker sucht, die bei erkrankten Personen besonders häufig vorkommen. Der Mikrosatelliten-Marker, dessen Position im Genom genau bekannt ist, wird also häufig gemeinsam mit der Krankheit vererbt. Marker und „Krankheit“ bilden somit eine Kopplungsgruppe. Das ist ein deutlicher Hinweis, dass das gesuchte Krankheitsgen – man spricht dann von einem Kandidatengen – in der Nähe des Markers liegen muss. Noch weiter eingrenzen kann man die Kandidatenregion durch eine sogenannte Haplotyp-Analyse, der Untersuchung eines Sets von SNPs, die auf einem gemeinsamen DNA-Abschnitt (Haplotyp) liegen und zusammen vererbt werden. Sowohl die Kopplungsanalyse als auch die Haplotyp-Analyse müssen an Familienverbänden durchgeführt werden. Das Problem dieser Verfahren ist es daher, eine genügend große Anzahl von Probanden zu bekommen. Je seltener eine Krankheit ist, desto schwieriger ist die Suche nach geeigneten Personen.

Ohne einen solch hohen Rekrutierungsaufwand kommen Wissenschaftler aus, die mit Tieren arbeiten. Bei Genetikern beliebte Tiermodelle sind zum Beispiel die Maus oder der Zebrafisch. Bei diesen Tieren werden gezielt Gene ausgeschaltet und beobachtet, welche Folgen dieser Eingriff für den Phänotypen hat. Gleichen die zu beobachtenden Folgen den Symptomen einer menschlichen Krankheit, kann das veränderte Gen sozusagen als Phantombild für die Suche nach einem ähnlichen Gen beim Menschen dienen.



Foto: MPI für Entwicklungsbiologie, Tübingen

GENial: Einen **Katalog der genetischen Unterschiede** haben die Wissenschaftler des **weltweiten HapMap-Projekts** in den Jahren 2002 bis 2005 erstellt. Die Suche nach genetischen Krankheitsursachen wurde dadurch sehr viel leichter, weil sich Kandidatenregionen mit möglichen **Krankheitsgenen schneller finden** lassen. So schrieben zwei amerikanische Forscher, David Goldstein und Gianpiero Cavalleri, im Oktober 2005 im Wissenschaftsmagazin „Nature“, dass sie zwei Jahre gebraucht haben, um Genvarianten zu finden, welche die Entstehung der Epilepsie beeinflussen. Dank des HapMap-Projekts könnten sie nun **„das Ganze in Minuten erledigen“**.

Den HapMap-Forschern kam zupass, dass das Genom des Menschen – wie man nach Ende des Humangenomprojekts wusste – **aus Blöcken besteht**, deren Gene gemeinsam vererbt werden: den Haplotypen. Das liegt daran, dass es im Erbgut Regionen gibt, in denen häufig Brüche vorkommen, sodass sich nahezu alle Rekombinationsereignisse während der Jahrtausende der Menschheitsgeschichte in diesen bestimmten Bereichen ereigneten, während nahezu keine Rekombinationen in den dazwischen liegenden Blöcken stattgefunden haben.

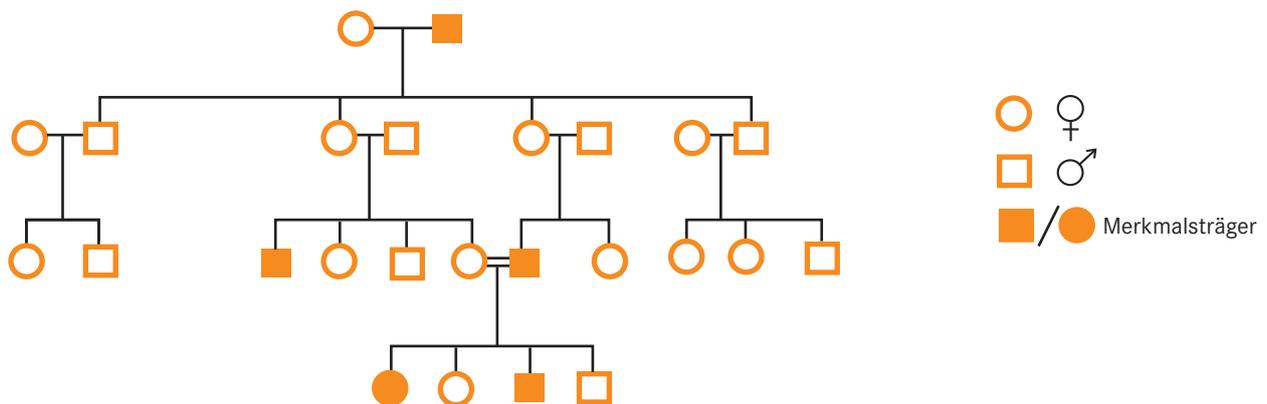
Und weil jeder Haplotyp einen für ihn typischen Satz an charakteristischen SNPs besitzt, müssen die Forscher bei der Fahndung nach Krankheitsgenen nicht alle SNPs untersuchen, sondern es reichen drei oder vier **charakteristische „Signal“-SNPs pro Haplotyp**. Jeder „Signal“-SNP hat in seiner Nachbarschaft zwischen drei und zehn weitere SNPs, die während der Evolution des Menschen an dieser Stelle im Erbgut mit dem „Signal“-SNP immer zusammen vererbt wurden und die man deshalb ohne weitere Analyse vorhersagen kann. Die **Genomforscher** sind also **in einer vergleichbaren Situation wie die Polizei, die einen flüchtigen Verbrecher sucht** und nicht wahllos alle Autos anhalten muss, weil sie genau weiß, dass der „Täter“ den Bus genommen hat. Wie die Polizei zunächst den richtigen Bus finden muss, so müssen die Mediziner denjenigen Haplotyp-Abschnitt im Erbgut finden, der besonders häufig bei ihren Patienten vorkommt und so mit einer bestimmten Krankheit zusammenhängt. Und ähnlich wie die Polizei als nächstes herausfinden muss, welcher der Fahrgäste im Bus der Täter ist, so müssen die Forscher in einem weiteren Schritt herausfinden, welches der vielen Gene in dem gefundenen Haplotyp-Block für die Entstehung einer Krankheit verantwortlich ist.

Die modernste der genetischen Untersuchungsmethoden ist die genomweite Assoziationsstudie. Hierbei wird mithilfe von DNA-Chips das Vorkommen spezieller genetischer Marker – SNPs – bei Patienten und gesunden Menschen verglichen. Mit einem einzelnen DNA-Chip können mittlerweile mehr als 500.000 SNPs pro Testperson untersucht werden. Haben erkrankte Personen im Vergleich zu den gesunden Menschen der Kontrollgruppe bestimmte SNPs auffallend häufig, ist dies ein deutlicher Hinweis darauf, dass diese SNPs mit der Krankheit assoziiert sind. Sie liegen also mit hoher Wahrscheinlichkeit in der Nähe von Genen, die das Krankheitsrisiko beeinflussen. Ein großer Vorteil solcher Assoziationsstudien ist es, dass die untersuchten Personen nicht verwandt sein müssen, die Suche nach geeigneten Familienverbänden also entfällt. Allerdings kann es bei diesem Verfahren aufgrund der natürlichen Wahrscheinlichkeitsverteilung zu zufälligen Ergebnissen kommen, die ohne wissenschaftliche Bedeutung sind. Man spricht dann von sogenannten falsch positiven Ergebnissen. Es ist daher notwendig, die Ergebnisse einer Assoziationsstudie mit einer unabhängigen Kontrollstudie zu wiederholen.

Ist die Region auf einem Chromosom bekannt, in welcher der für die Krankheit verantwortliche Gendefekt liegen muss, wird dieser DNA-Abschnitt – man spricht auch von Kandidatenregion – mit feineren Kartierungsmethoden untersucht. Diejenigen DNA-Abschnitte, in denen die Wissenschaftler das Gen – oder Teile davon – vermuten, werden schließlich sequenziert. Ein Vergleich mit der (sehr wahrscheinlich) nicht mutierten Sequenz gesunder Menschen hilft schließlich, die betreffende Mutation ausfindig zu machen. Damit sind Genomforscher und Mediziner bei der Suche nach neuen Therapien zwar noch nicht am Ziel ihrer Träume, sie wissen aber zumindest, mit wem sie es zu tun haben: mit Genen, die für einen bestimmten Defekt im komplizierten Bauplan des Menschen verantwortlich sind und nicht mehr namenlos sind, sondern Bezeichnungen tragen wie rs7566605, CRH1, Per2, PARK8 oder ORMDL3.

AUFGABEN:

- Bei Familie Schorn-Steinfeger sind mehrere Fälle der fiktiven Krankheit Morbus Caminus aufgetreten. Unten dargestellt ist der Stammbaum der Familie. Untersuchen Sie, um was für einen Erbgang es sich handeln könnte und ob diese Vererbung auf eine monogene oder komplexe Erkrankung hindeutet.



- Erklären Sie die Unterschiede zwischen Zwillingsstudien, Kopplungsanalysen und genomweiten Assoziationsstudien!
- Erarbeiten Sie anhand der ausgeteilten Materialien das Vorgehen der NGFN-Wissenschaftler. Stellen Sie Ihre Ergebnisse in Form eines Referats vor. Benutzen Sie hierfür Folien oder eine Präsentationssoftware. Erstellen Sie ein Handout. Beantworten Sie dabei die folgenden Fragen:
 - Was wurde untersucht?
 - Wie wurde dabei vorgegangen?
 - Welcher Ansatz wurde gewählt (Tiermodell, Kopplungsanalyse, genomweite Assoziationsstudie)?
 - Was sind die Ergebnisse?
 - Was bedeuten die Ergebnisse für den Patienten?
 - Was wäre der nächste Schritt in der Forschung?