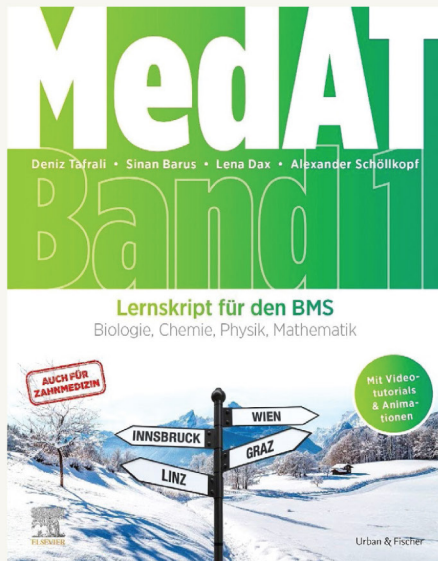


MedAT Lernskript für den BMS (Band 1): Biologie, Chemie, Physik, Mathematik

1. Auflage

Tafrali, Barus, Dax, Schöllkopf

ISBN: 978-3-437-41259-2



Liebe Leserinnen und Leser,

im Frühjahr 2026 wurden offiziell neue Stichwörter bekanntgegeben. Diese Themen sind zwar noch nicht im gedruckten Buch enthalten, aber dank unseres Online-Services können wir dir auch diese Inhalte zur Verfügung stellen. Dr. Deniz Tafrali hat die entsprechenden Kapitel für dich im Folgenden zusammengestellt.

Wir wünschen allen Lernenden viel Erfolg!

Kennst du schon unseren Lernplan?

https://shop.elsevier.de/media/wysiwyg/PDF/DE/April_Mai_June.pdf

Neue Stichwörter zu 5 Humangenetik

Erbgänge

Das neue Stichwort Erbgänge haben wir bereits seit längerer Zeit als eigenes Kapitel im Lernskript für den BMS. In der neuesten Auflage des **Band 1** entspricht es > **Kapitel 5.3** Erbgänge ab **Seite 269**.

5.11.4 Präimplantationsdiagnostik

Die Präimplantationsdiagnostik (PID) ist ein Verfahren der genetischen Diagnostik, das **vor dem Eintritt einer Schwangerschaft** ansetzt. Während bei der pränatalen Diagnostik genetische Fragestellungen **während** einer bestehenden Schwangerschaft abgeklärt werden, wird bei der PID genetisches Material untersucht, **bevor** ein Embryo in die Gebärmutter übertragen wird. Das funktioniert nur im Kontext der assistierten Reproduktion, also vor allem bei in-vitro Fertilisation (IVF) oder der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI), weil der frühe Embryo dabei zunächst im Labor entsteht und kultiviert wird. In der Humangenetik ist die PID deshalb ein klassisches Beispiel dafür, wie zytogenetische und molekular-genetische Methoden in ein konkretes medizinisches Vorgehen eingebettet werden (**Band 1, > Kap. 5.11.3**).

DEFINITION Die Präimplantationsdiagnostik (PID) ist die genetische Untersuchung eines sehr frühen Embryos (oder von mit ihm in Zusammenhang stehenden Strukturen) mit dem Ziel, **genetische Veränderungen festzustellen**, bevor es zum Embryotransfer kommt. In aktuellen Kontexten wird dafür häufig auch der Begriff **präimplantationsgenetische Testung (PGT)** verwendet.

Warum macht man PID überhaupt?

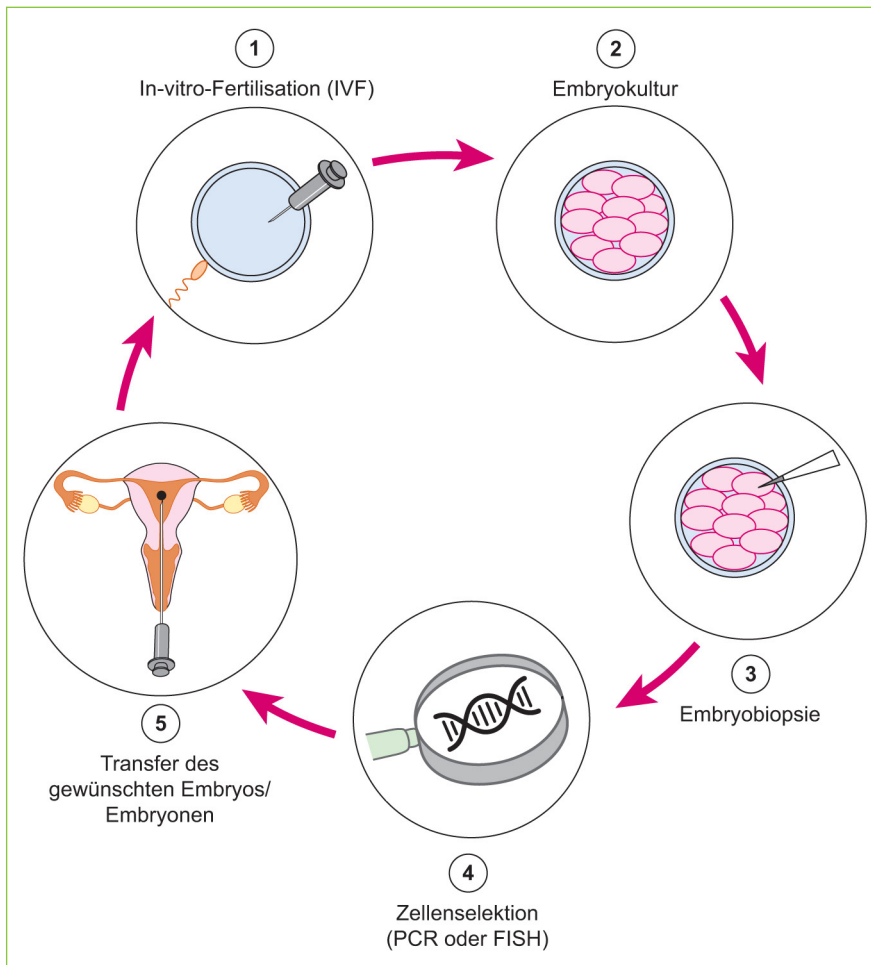
PID wird dann relevant, wenn für ein Paar ein **klar erhöhtes Risiko** besteht, eine schwere genetische Erkrankung oder eine relevante Chromosomenstörung weiterzugeben. Ein typisches Szenario sind bekannte monogene Erkrankungen in der Familie, etwa wenn beide Eltern Träger einer autosomal-rezessiven Mutation sind oder wenn bei einem Elternteil eine autosomal-dominante Mutation vorliegt, die mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Erkrankung führt. Ein zweites klassisches Szenario sind **Chromosomenumlagerungen**, zum Beispiel balancierte Translokationen bei einem Elternteil, die zwar bei der betroffenen Person selbst oft keine Symptome machen, aber bei der Bildung von Keimzellen zu **unbalancierten** Chromosomenausstattungen im Embryo führen können (**vgl. Band 1, > Kap. 5.8.3** Chromosomenmutationen im **Band 1, Seite 296-297**). In solchen Fällen kommt es nicht selten zu wiederholten Fehlgeburten oder ausbleibender Einnistung, weil viele Embryonen biologisch nicht entwicklungsfähig sind. Genau hier wird verständlich, warum in der genetischen Diagnostik explizit auch ein **präimplantationsgenetisches Screening** als Anwendung genannt wird: Man versucht, chromosomale Auffälligkeiten bereits sehr früh zu erkennen.

Wie läuft PID grundsätzlich ab?

Der Ablauf lässt sich gut verstehen, wenn man ihn in drei große Schritte denkt:

1. Embryonen erzeugen
2. Material gewinnen
3. genetisch analysieren und entscheiden.

Zunächst werden im Rahmen einer IVF/ICSI mehrere Eizellen befruchtet. Die entstandenen Embryonen werden im Labor kultiviert, weil sie nur so zu einem Zeitpunkt untersucht werden können, an dem eine Biopsie möglich ist. Danach wird eine sehr kleine Zellprobe entnommen. In der Praxis existieren dafür unterschiedliche Ansätze, die jeweils ihre eigenen Vor- und Nachteile haben: Man kann genetisches Material aus den **Polkörpern** gewinnen (das betrifft in erster Linie die mütterliche Genetik), man kann im frühen Teilungsstadium einzelne Zellen entnehmen oder – was heute häufig bevorzugt wird – im Blastozystenstadium mehrere Zellen aus dem **Trophektoderm** (**Band 1, > Kap. 2.2.2** und **> 2.2.3**) biopsieren. Der Vorteil der späteren Biopsie ist, dass man oft mehr Material erhält und die Analyse dadurch stabiler wird; gleichzeitig muss man im Hinterkopf behalten, dass Trophektodermzellen nicht identisch mit der inneren Zellmasse sind, aus der der Embryo selbst entsteht.



0.1 Schematische Darstellung der PID. [L143]

Im Anschluss erfolgt die eigentliche genetische Analyse. Das genetische Material wird zunächst vervielfältigt, bevor konkrete Tests durchgeführt werden. Dann wird – abhängig von der Fragestellung – gezielt nach einer Mutation gesucht oder es wird die Chromosomenausstattung auf Auffälligkeiten geprüft. Das Ergebnis mündet schließlich in eine Entscheidung darüber, ob ein Embryo transferiert wird oder ob Embryonen kryokonserviert werden und der Transfer zu einem späteren Zeitpunkt stattfindet.

Welche Fragestellungen werden typischerweise getestet?

Inhaltlich kann man die PID danach einteilen, **was** man eigentlich untersuchen möchte. Für unsere Zwecke ist diese Unterscheidung wichtig, weil sie erklärt, warum unterschiedliche Methoden eingesetzt werden und warum manche Fehlerquellen bei einer Fragestellung gravierender sind als bei einer anderen.

Bei der Testung auf **monogene Erkrankungen** geht es um eine klar definierte Mutation in einem bestimmten Gen (**Band 1, > Kap. 5.8.4**). In solchen Fällen ist die Voraussetzung meist, dass die familiäre Mutation vorher eindeutig identifiziert wurde. Die Diagnostik zielt dann auf die Frage ab, ob diese Variante im untersuchten Material nachweisbar ist oder nicht. Hier sind PCR-basierte Ansätze und Sequenzierung besonders relevant, weil man gezielt definierte DNA-Abschnitte analysieren kann.

Bei der Testung auf **strukturelle Chromosomenveränderungen** (**Band 1, > Kap. 5.8.3**) steht nicht eine einzelne Base oder ein einzelnes Gen im Fokus, sondern die Frage, ob Chromosomenstücke fehlen, doppelt vorliegen oder falsch verteilt sind. Das ist die klassische Brücke zur Zytogenetik, weil strukturelle Aberrationen ein zentrales Diagnostikfeld darstellen (Karyogramm, FISH, moderne Kopienzahlverfahren).

Bei der Testung auf **Aneuploidien** (**Band 1, > Kap. 5.8.2**) geht es um die Chromosomenzahl, also darum, ob ein Chromosom zu viel oder zu wenig vorhanden ist. Diese Form wird häufig als Screening verstanden, weil sie nicht „die eine familiäre Mutation“ beantwortet, sondern eine allgemeine Risikofrage zur Chromosomenausstattung des Embryos.

Welche Methoden kommen dabei zum Einsatz?

Methodisch greift die PID auf genau jene Werkzeuge zurück, die man aus der molekularen und zytogenetischen Diagnostik kennt, nur eben unter den erschwerten Bedingungen „wenig Material“ und „hohe Anforderungen an Sicherheit“. Dass PCR, Sequenzierung und Microarrays zu den klassischen Techniken gehören, wird im Kontext der genetischen Diagnostik in unseren Texten ausdrücklich genannt (> **Kap. 6.8.1, Band 1, > Kap. 5.11.3**).

PCR-basierte Verfahren sind besonders dann sinnvoll, wenn man eine **gezielte Fragestellung** hat, also etwa eine konkrete Mutation oder einen klar begrenzten Abschnitt.

Für breitere Fragestellungen – etwa, wenn man viele Regionen gleichzeitig beurteilen will – spielt Sequenzierung eine große Rolle.

Gleichzeitig passt diese Idee gut zu dem, was ihr in der Molekulargenetik über Hochdurchsatzverfahren und deren Bedeutung für die moderne Diagnostik lernt (**Band 1 > Kap. 6.5**).

Array-basierte Verfahren können vor allem dort hilfreich sein, wo man Muster über viele Genorte hinwegsehen möchte, etwa bei Expressions- oder Kopienzahlfragestellungen.

VERSTÄNDNIS+ Die „beste Methode“ gibt es nicht. In der Praxis ist entscheidend, dass die Methode zur Fragestellung passt. Eine hochauflösende Sequenzierung bringt euch nichts, wenn ihr eigentlich nur wissen wollt, ob ein ganzes Chromosom fehlt. Umgekehrt kann ein reiner Chromosomentest eine monogene Erkrankung nicht sicher ausschließen.

5.11.5 Pränataldiagnostik

Die Pränataldiagnostik umfasst alle Untersuchungen, die **während einer bestehenden Schwangerschaft** durchgeführt werden, um Informationen über die Entwicklung des Fetus zu gewinnen. Ein zentraler Teil davon ist die **pränatale genetische Diagnostik**, also die Abklärung, ob beim Fetus **chromosomale oder genetische Auffälligkeiten** vorliegen. Damit ist die Pränataldiagnostik ein direktes Anwendungsfeld dessen, was wir im Rahmen der genetischen Diagnostik bereits kurz als „pränatales Screening“ kennengelernt haben (**Band 1 > Kap. 5.11.3**).

Im Gegensatz zur Präimplantationsdiagnostik (PID), die **vor** einer Schwangerschaft im Rahmen von IVF/ICSI ansetzt, findet die Pränataldiagnostik **in vivo** statt. Das verändert nicht nur die medizinische Situation, sondern auch die psychologische und ethische Dimension: Entscheidungen beziehen sich nicht mehr auf „welcher Embryo wird transferiert“, sondern auf den Umgang mit Befunden innerhalb einer bestehenden Schwangerschaft – weshalb genetische Beratung und eine saubere Kommunikation hier besonders wichtig sind (**Band 1 > Kap. 5.11.2**).

DEFINITION Pränataldiagnostik bezeichnet diagnostische und screeningbasierte Untersuchungen in der Schwangerschaft, die der Beurteilung von fetaler Entwicklung, Gesundheit und möglichen Fehlbildungen dienen.

Pränatales Screening sind Untersuchungen, die vor allem eine **Risikoeinschätzung** liefern (z. B. „erhöhtes Risiko für eine Aneuploidie“), ohne den Befund endgültig zu beweisen.

Pränatale Diagnostik im engeren Sinn meint Verfahren, die eine **möglichst eindeutige Abklärung** ermöglichen, typischerweise durch die Untersuchung fetalen (oder plazentaren) Zellmaterials.

Ziele und typische Fragestellungen

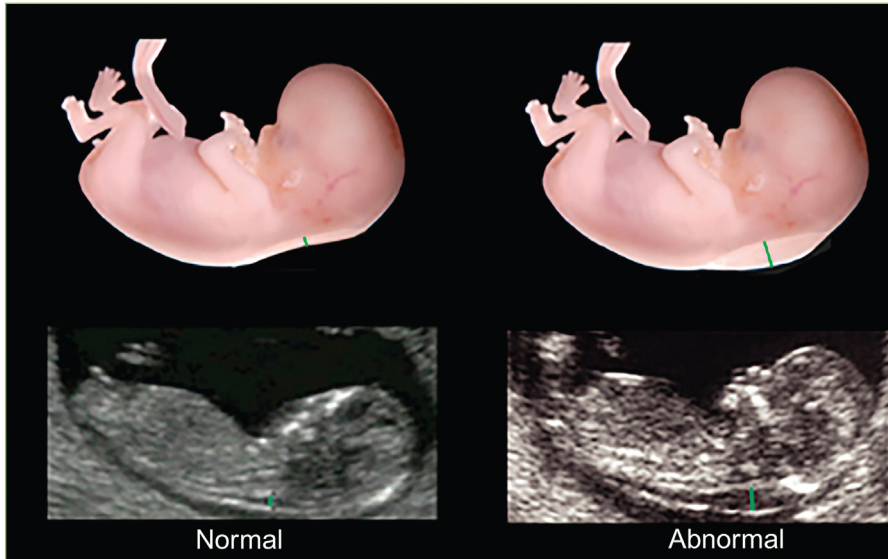
Das Ziel pränataler Untersuchungen ist grundsätzlich zweigleisig. Einerseits geht es darum, die **normale Entwicklung** zu begleiten und strukturelle Auffälligkeiten möglichst früh zu erkennen. Andererseits kann es darum gehen, bei konkreten Risiken genetische Ursachen abzuklären. Typische Fragestellungen sind dabei **Chromosomenstörungen** (z. B. numerische Aberrationen wie Trisomien), größere **strukturelle Veränderungen** (Deletionen/Duplikationen) oder – bei bekannter Familienanamnese – auch **monogene Erkrankungen**.

Hier sieht man bereits die Verbindung zur genetischen Diagnostik: Chromosomenaberrationen werden klassisch zytogenetisch erkannt (Karyogramm, FISH), während Mutationen und feiner aufgelöste Veränderungen eher in den Bereich molekulargenetischer Methoden fallen (PCR, Sequenzierung, Microarray).

Nicht-invasive Verfahren

Nicht-invasive Verfahren haben gemeinsam, dass sie **keine direkte Entnahme** von fetalem Gewebe aus der Gebärmutter erfordern. Damit sind sie in der Regel risikoärmer, liefern aber häufig **Screening-Informationen**.

Ein Grundpfeiler ist die **Ultraschalldiagnostik**. Sie dient nicht nur dem „Schauen, ob alles da ist“, sondern liefert systematisch Informationen über Wachstum, Organentwicklung, Plazenta, Fruchtwassermenge und mögliche strukturelle Fehlbildungen. In der Praxis spielen dabei auch sogenannte **Marker** eine Rolle, also Ultraschallbefunde, die statistisch mit bestimmten Chromosomenstörungen häufiger vorkommen. Entscheidend ist jedoch: Ein Marker allein ist selten beweisend, sondern verändert primär die **Risikoeinschätzung**.



0.2 Beispiel einer Nackendichtemessung des Fetus zur Abschätzung des Risikos einer Trisomie 21 [E1170-002]

Neben dem Ultraschall gibt es **biochemische Screenings** aus mütterlichem Blut, bei denen bestimmte Hormon- oder Proteinmarker gemessen und gemeinsam mit klinischen Daten (z. B. Alter der Schwangeren) zu einer Risikoberechnung zusammengeführt werden. Hier gilt derselbe Grundsatz: Das Ergebnis ist eine **Wahrscheinlichkeitsaussage**, keine genetische Diagnose.

In den letzten Jahren hat außerdem die Analyse von **zellfreier DNA** im mütterlichen Blut (häufig als NIPT – nicht-invasiver Pränataltest – bezeichnet) eine große Rolle bekommen. Das Prinzip ist, dass in der Schwangerschaft DNA-Fragmente, die vor allem aus der Plazenta stammen, in der mütterlichen Blutbahn nachweisbar sind. Diese DNA kann mit modernen molekulargenetischen Analyseverfahren ausgewertet werden, um Hinweise auf bestimmte Aneuploidien zu finden. Wichtig ist dabei, dass auch dieser Ansatz **ein Screening** ist: Er kann das Risiko stark verändern, ersetzt aber nicht automatisch eine diagnostische Bestätigung durch invasive Verfahren, wenn klinisch eine eindeutige Abklärung notwendig wird.

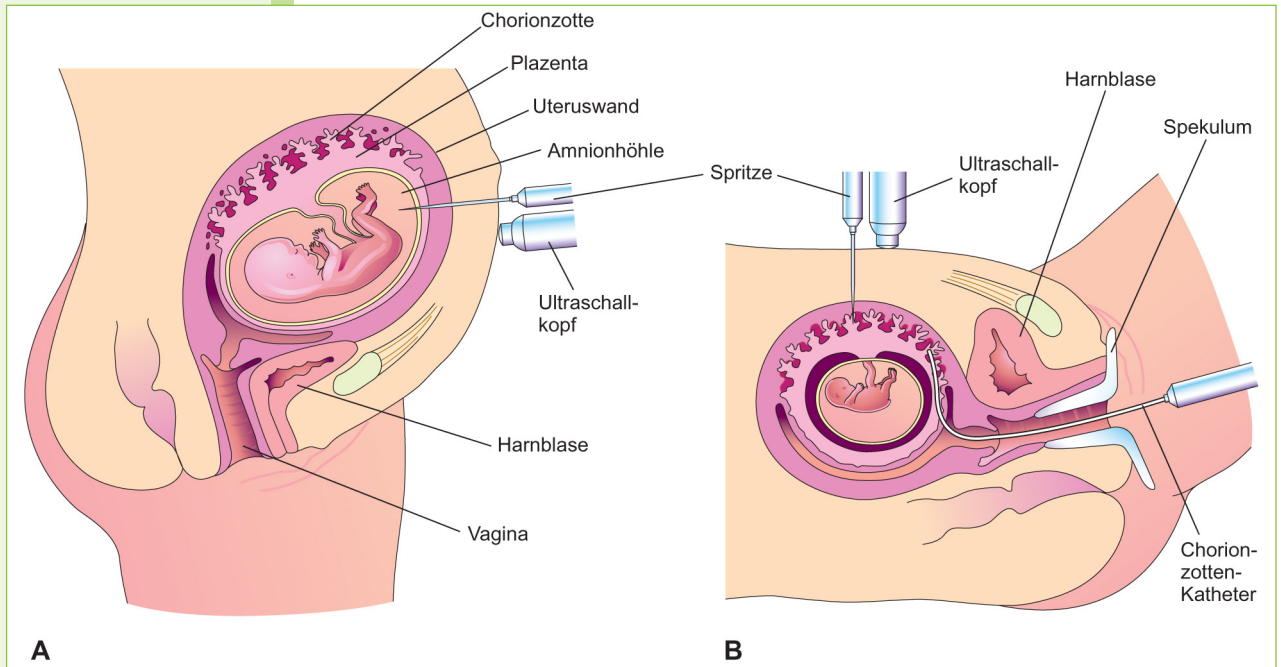
Invasive Verfahren

Invasive Verfahren liefern typischerweise diagnostischere Aussagen, weil sie auf **Zellmaterial** basieren, das genetisch untersucht werden kann. Der entscheidende Unterschied ist also nicht „invasiv = besser“, sondern: Invasiv bedeutet, dass man **biologisches Material** gewinnt, das für Zytogenetik und Molekulargenetik geeignet ist.

Häufig besteht die Indikation für invasive Pränataldiagnostik erst **nach Anwendung von nicht-invasiven Methoden**, die ein gewisses Risiko für Fehlbildungen aufzeigen.

Ein klassisches Verfahren ist die **Amniozentese** (Abb. A) unten), bei der Fruchtwasser entnommen wird. Im Fruchtwasser befinden sich fetale Zellen, die kultiviert und genetisch untersucht werden können.

Eine weitere etablierte Methode ist die **Chorionzottenbiopsie** (Abb. B) unten). Dabei wird, wie der Name bereits vermuten lässt, Zottengewebe der Plazenta entnommen. Der große Vorteil liegt darin, dass dieses Verfahren relativ früh in der Schwangerschaft möglich ist und zeitnah genetisch ausgewertet werden kann. Gleichzeitig muss man biologisch sauber denken: Plazentagewebe kann in manchen Fällen genetisch nicht perfekt dem Fetus entsprechen (z. B. im Rahmen eines **plazentaren Mosaizismus**), weshalb Befunde immer im Kontext interpretiert werden.



0.3 A) Schemazeichnung zur Amniozentese. Durch die untere Bauchdecke und die Uteruswand wird eine Nadel in die Amnionhöhle eingeführt. Dann wird eine Spritze angesetzt und Fruchtwasser (Amnionflüssigkeit) für diagnostische Zwecke entnommen.

B) Schemazeichnung zur Chorionzottenbiopsie. Zwei Biopsiemethoden sind dargestellt: (1) mit einer Spinalnadel durch die mütterliche Bauchdecke, (2) durch Vagina und Zervikalkanal unter Verwendung eines biegsamen Kunststoffkatheters. [L141]

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Seltener, meist in speziellen Fragestellungen, wird die **Chordozentese** (Entnahme fetalen Blutes aus der Nabelschnur) eingesetzt. Sie kann beispielsweise dann relevant werden, wenn sehr rasch Blutparameter oder bestimmte genetische Analysen aus fetalem Blut benötigt werden. Aufgrund der höheren Invasivität ist sie nicht das Standardverfahren für „jedes“ genetische Risiko, sondern eher ein spezialisiertes Werkzeug.

Welche genetischen Methoden nutzt man pränatal?

Hat man Material gewonnen, greifen pränatale Analysen im Kern auf dieselben Methoden zurück, die ihr aus der genetischen Diagnostik kennt. Zytogenetisch kann man Chromosomen numerisch und strukturell beurteilen (z. B. über Karyogramm oder zielgerichtet über FISH).

Molekulargenetisch kann man gezielt DNA-Abschnitte vervielfältigen (PCR), DNA-Sequenzen bestimmen (Sanger oder NGS) oder über Array-basierte Verfahren größere genomische Muster erfassen.

Wichtig ist dabei, dass die Methode immer zur Fragestellung passen muss. Wenn die Frage lautet „liegt eine Aneuploidie vor?“, braucht man keine Einzelbasenaufklärung, sondern ein Verfahren, das **Kopienzahlen** zuverlässig erkennt. Wenn die Frage lautet „trägt der Fetus die bekannte familiäre Mutation?“, braucht man eine **zielgerichtete** molekulargenetische Analyse. Dass Molekulargenetik grundsätzlich die Ebene ist, auf der Struktur und Funktion der Gene analysiert werden, bildet dabei die Basis für diese Diagnostik (**Band 1, > Kap. 6**).

Neue Stichwörter zu 6 Molekulare Genetik

6.8 Methoden der Gentechnik

Unter **Methoden der Gentechnik** versteht man alle molekularbiologischen Werkzeuge, mit denen man Erbinformation **gezielt untersuchen, vervielfältigen, „lesen“ und (in manchen Anwendungen) auch verändern** kann. Dabei geht es in der Praxis fast immer um sehr konkrete Fragen: *Ist eine bestimmte DNA-Sequenz vorhanden? Wie viel davon? Welche Variante liegt vor? Wie unterscheidet sich eine Probe von einer anderen?* – und je nach Fragestellung braucht man eine andere „Auflösung“: manchmal reicht der Blick auf ganze Chromosomenabschnitte, manchmal muss man einzelne Basen unterscheiden.

Gemeinsam ist vielen Verfahren ein typischer Ablauf: **Probe gewinnen** → **DNA/RNA aufbereiten** → **Signal erzeugen** (z. B. durch PCR-Amplifikation oder Sequenzierung) → **Daten auswerten** (häufig mit Bioinformatik) → **Befund interpretieren**. Genau hier setzen die folgenden Kapitel an: von der PCR als Grundwerkzeug, über Sequenzierverfahren (Sanger/NGS) und Genomanalyse bis hin zu Anwendungen wie genetischem Fingerabdruck sowie gentechnischen Veränderungen (rekombinante DNA, Vektoren, CRISPR/Cas).

PCR

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) findet ihr unter ➤ **Kapitel 5.11.3** Genetische Diagnostik – Molekulargenetische Methoden **S. 314. Band 1**.

6.8.1 DNA-Sequenzierung

Einführung

Eine kurze Erwähnung dieses Kapitels findet sich bereits im **Band 1** in ➤ **Kap. 5.11.3** Genetische Diagnostik – Molekulargenetische Methoden auf **Seite 314**.

Die DNA ist das Trägermolekül der genetischen Information und besteht – wie wir bereits beim Aufbau der DNA gesehen haben – aus einer Basenabfolge aus Adenin, Thymin, Guanin und Cytosin. Die **DNA-Sequenzierung** beschäftigt sich nun mit einer sehr konkreten Frage:

In welcher Reihenfolge stehen diese Basen tatsächlich in einem DNA-Abschnitt?

Genau diese Reihenfolge (Basensequenz) ist die „Schrift“ des Genoms. Wer sie lesen kann, kann Mutationen finden, Gene vergleichen, Erbkrankheiten diagnostisch einordnen oder bei Tumoren nachvollziehen, welche Veränderungen im Erbgut aufgetreten sind.

VERSTÄNDNIS+ Oft klingt Sequenzierung so, als würde man einfach „DNA anschauen“. In Wahrheit ist Sequenzierung eher wie das **Lesen eines sehr langen Textes**, der aus nur vier Buchstaben besteht – und in dem schon ein einziger falscher Buchstabe (z. B. ein Basenaustausch) eine große Bedeutung haben kann. Genau deshalb ist Sequenzierung ein zentrales Werkzeug der modernen Genetik und Medizin.

Was bedeutet „sequenzieren“ technisch überhaupt?

Bevor wir uns einzelne Methoden ansehen, ist es wichtig zu verstehen, was Sequenzierung im Kern leistet. In den meisten Sequenzierverfahren wird DNA nicht als endlos langer Doppelstrang „am Stück“ gelesen, sondern man arbeitet mit einem Grundprinzip: **DNA wird in viele kleinere Stücke zerlegt, diese Stücke werden ausgelesen, und anschließend wird aus den vielen gelesenen Fragmenten wieder ein Gesamtbild rekonstruiert.**

DEFINITION Ein **Read** ist ein „ausgelesenes DNA-Stück“, also das Sequenzresultat eines einzelnen Fragments.

Als **Coverage** (oder Sequenziertiefe) bezeichnet man, wie oft eine bestimmte Position im Genom im Mittel durch Reads abgedeckt ist (z. B. 30×).

Ein **Referenzgenom** ist eine Vergleichssequenz, an die Reads rechnerisch „angelegt“ werden, um Unterschiede zu erkennen.

Der **Variantenaufwurf** (Variant Calling) ist der bioinformatische Schritt, in dem Abweichungen zur Referenz identifiziert werden (z. B. Basenaustausche oder kleine Einfügungen/Verluste).

Wenn man Sequenzierung als Prozess zusammenfasst, dann läuft es – stark vereinfacht – so ab: Zuerst braucht man eine DNA–Probe (z. B. Blut, Speichel, Gewebe).

Diese DNA wird anschließend so vorbereitet, dass ein Sequenziergerät damit arbeiten kann. Dazu gehört fast immer eine Fragmentierung in kleinere Abschnitte und das Anfügen technischer „Hilfssequenzen“, die man Adapter nennt.

Danach werden die Fragmente tatsächlich ausgelesen.

Am Ende steht aber nicht automatisch „die perfekte Genomsequenz“, sondern eine sehr große Menge an kurzen Sequenzen, die mithilfe von Software geordnet, geprüft und interpretiert werden müssen.

Von der DNA zur Sequenzier–Library

Sequenziergeräte können nicht einfach irgendeinen DNA–Doppelstrang „ansaugen und ablesen“. Damit DNA technisch bearbeitbar wird, erstellt man eine **Library**. Eine Library ist eine Sammlung aus vielen DNA–Fragmenten, die so vorbereitet wurden, dass das Gerät sie erkennen, vervielfältigen und auslesen kann.

Typischerweise beginnt das Ganze mit der **Isolation** von DNA. Danach wird die DNA **fragmentiert**, also in kleinere Stücke zerlegt. Das kann mechanisch (z. B. durch Scherkräfte) oder enzymatisch passieren. Anschließend werden an die Fragmentenden meist **Adapter** angefügt. Diese Adapter sind kurze, bekannte DNA–Sequenzen. Sie erfüllen mehrere Aufgaben: Sie dienen als „Griff“ für das System, ermöglichen die Bindung an eine Oberfläche (je nach Technologie) und liefern definierte Startstellen für die Auslese–Reaktionen.

Oft wird die Library zusätzlich **amplifiziert**, also vermehrt. Das hat den einfachen Grund, dass ein einzelnes DNA–Molekül ein extrem schwaches Signal liefert. Mehr Kopien bedeuten ein besser messbares Signal. Gleichzeitig muss man im Hinterkopf behalten, dass Amplifikation auch Verzerrungen erzeugen kann: Manche Fragmente werden leichter vervielfältigt als andere.

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Wenn ihr später im klinischen Kontext Sequenzierungsbefunde seht, dann ist es nicht unwichtig zu wissen, dass bereits die Probenqualität und die Library–Herstellung Einfluss darauf haben, **welche Regionen gut** und **welche schlecht** erfasst werden. Nicht jede „fehlende Mutation“ ist wirklich nicht vorhanden – manchmal wurde die Region schlicht technisch schlecht abgedeckt.

Sequenzierung der 1. Generation: Sanger–Sequenzierung

Die klassische Methode der Sequenzierung nennt sich **Sanger–Sequenzierung**. Sie ist heute nicht unbedingt das Werkzeug für riesige Genomprojekte, aber sie ist konzeptionell sehr wichtig – und eignet sich sehr gut, wenn man einzelne Abschnitte gezielt überprüfen möchte.

Das zentrale Prinzip der Methode nach Sanger ist der **Kettenabbruch**. Damit DNA–Polymerasen DNA verlängern können, brauchen sie ein freies **3′–OH–Ende**, an das das nächste Nukleotid angehängt wird. Wenn man jedoch spezielle Nukleotide verwendet, denen genau dieses 3′–OH fehlt, kann die Synthese nicht weitergehen. Diese speziellen Nukleotide heißen **Didesoxynukleotide (ddNTPs)**.

DEFINITION Ein **ddNTP** (Didesoxynukleotid) ist ein Nukleotid, dem das **3′–OH** fehlt. Wird es eingebaut, stoppt die DNA–Synthese, weil keine weitere Phosphodiesterbindung entstehen kann.

Wie läuft das praktisch?

Man setzt eine Reaktion an, die eine DNA–Polymerase, eine Vorlage (Matrize) und normale Nukleotide enthält. Zusätzlich gibt man eine geringe Menge fluoreszenzmarkierter ddNTPs hinzu. Während die Polymerase den Strang verlängert, wird gelegentlich statt eines normalen Nukleotids ein ddNTP eingebaut – und genau dann bricht die Kette ab. So entstehen sehr viele DNA–Fragmente unterschiedlicher Länge, die jeweils an einer bestimmten Base enden. Trennt man diese Fragmente nach Länge (klassisch per Kapillarelektrophorese), kann man aus der Reihenfolge der Signale die Basenabfolge rekonstruieren.

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Der Trick ist nicht, dass Sanger „ein einzelnes Molekül perfekt liest“, sondern dass man viele Abbruchprodukte bekommt, die zusammen eine Art **Leiter** bilden. Aus dieser Leiter kann man dann die Reihenfolge ablesen.

Next Generation Sequencing (NGS): Sequenzierung im Hochdurchsatz

Während Sanger gut für einzelne, gezielte Sequenzen ist, hat die moderne Genetik einen enormen Schritt gemacht, indem man Sequenzierung **massiv parallelisiert** hat. Genau das meint man mit **Next Generation Sequencing (NGS)**; > **Abb. 6.27 S. 338 Band 1**): Sehr viele DNA-Fragmente werden gleichzeitig sequenziert. Dadurch wird es möglich, nicht nur einzelne Gene, sondern ganze Genpanels, Exome oder sogar komplette Genome in vertretbarer Zeit zu analysieren.

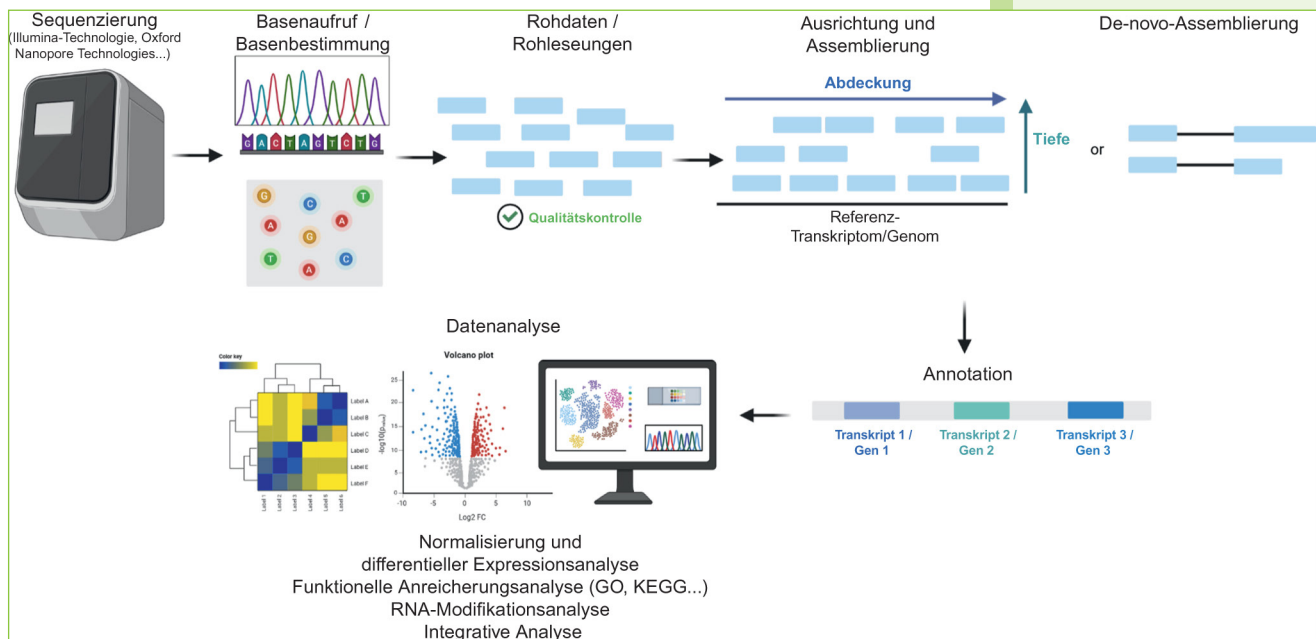
Das Grundgefühl bei NGS ist wichtig: NGS liefert typischerweise nicht „einen langen perfekten Text“, sondern **Milliarden kurzer Textschnipsel**, die anschließend rechnerisch geordnet werden müssen. Diese Schnipsel sind die Reads. Je nach Verfahren sind sie z. B. 75, 150 oder 300 Basen lang. Häufig werden Reads als **paired-end** erhoben, d. h. man liest beide Enden eines Fragments. Dadurch kann man besser bestimmen, wo das Fragment im Genom hingehört, vor allem in schwierigen Regionen.

Viele NGS-Plattformen arbeiten nach dem Prinzip des **Sequencing by Synthesis**: DNA wird schrittweise verlängert, und nach jedem Einbau wird registriert, welche Base eingebaut wurde. Damit das Signal stark genug ist, erzeugt man vor dem eigentlichen Lesen häufig sogenannte **Cluster** – also viele identische Kopien desselben DNA-Fragments an einem Ort. Je nach Technologie kann die Amplifikation z. B. über eine Oberflächen-Vermehrung (klassisch: „Brückenamplifikation“) oder über eine Emulsions-PCR auf Mikrokügelchen erfolgen. Danach laufen die Auslesezyklen, in denen Basen nacheinander eingebaut und detektiert werden.

VERSTÄNDNIS+ NGS ist wie das Lesen eines Buches, bei dem ihr nicht Seite für Seite bekommt, sondern sehr viele kurze Satzketten. Erst durch Überlappungen und durch den Abgleich mit einem Referenztext kann man rekonstruieren, wo welcher Satz hingehört – und wo Buchstaben abweichen. Für Menschen wäre dieser Prozess mit einem immensen Aufwand verbunden – für Computer ist es jedoch um einiges einfacher diese Art des Zusammensetzen von Informationen zu einem passenden Gesamtbild zu bewerkstelligen.

Von Reads zu Varianten: Bioinformatik als „zweite Hälfte“ der Sequenzierung

Nach dem Sequenzieren ist die Arbeit nicht vorbei, sondern beginnt in gewisser Weise erst richtig. Zunächst wird das Rohsignal in Basen übersetzt (**Basecalling**). Danach wird geprüft, ob die Datenqualität ausreichend ist. Schlechte Reads oder sehr unsichere Basenpositionen werden herausgefiltert oder markiert.



0.4 Weiterverarbeitung der Rohdaten der Sequenzierung [E1519]

Der nächste große Schritt ist das **Alignment**, also das rechnerische Anlegen der Reads an ein Referenzgenom. Wenn ein Read gut an eine Stelle passt, nimmt man an, dass dieses Fragment aus genau dieser Region stammt. Hat man das für Millionen Reads gemacht, kann man pro Genomposition sehen, welche Basen dort in der Probe tatsächlich häufig gelesen wurden. Wenn sich an einer Stelle in vielen Reads eine Base zeigt, die von der Referenz abweicht, spricht das für eine Variante.

Dabei unterscheidet man typischerweise zwischen **SNPs** (Single Nucleotide Polymorphisms bzw. Basenaustauschen) und **Indels** (kleinen Insertionen/Deletionen). Darüber hinaus gibt es größere strukturelle Varianten wie Kopienzahlveränderungen (CNVs) oder Translokationen. Je nachdem, welche Sequenzierstrategie und welche Readlängen man nutzt, erkennt man bestimmte Variantentypen besser oder schlechter.

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM In der Praxis ist nicht nur die Variante wichtig, sondern auch ihre Einordnung. Eine gefundene Mutation ist nicht automatisch krankheitsauslösend. Jeder Mensch trägt sehr viele Varianten in sich. Der klinische Schritt ist daher immer:

1. Passt die Variante zum Phänotyp?
2. Verändert sie die Proteinstruktur (z. B. nonsense/missense)?
3. Betrifft sie Spleißstellen oder regulatorische Regionen?
4. Und wie sicher ist der technische Nachweis?

Coverage und „Qualitätsscores“

Ein häufig unterschätzter Punkt ist die Frage, **wie sicher** ein Basenaufwurf eigentlich ist. NGS-Daten sind nicht fehlerfrei. Deshalb verwendet man Qualitätsscores, die angeben, wie wahrscheinlich ein Fehler an einer Base ist. Ein gängiges Konzept sind sogenannte **Phred-Scores**: Je höher der Score, desto geringer die angenommene Fehlerwahrscheinlichkeit.

DEFINITION Der **Phred-Score (Q)** ist ein logarithmisches Maß für die Fehlerwahrscheinlichkeit:

$$Q = -10 \log_{10}(P_{\text{fehler}})$$

Das klingt erstmal mathematisch, aber der MedAT-Kern ist simpel: Ein höherer Q-Score bedeutet, dass man einer Base stärker vertrauen kann. Häufig begegnet euch als Richtwert **Q30**, was ungefähr einer Fehlerwahrscheinlichkeit von 1 zu 1000 entspricht (also statistisch ein Fehler pro 1000 Basen).

Mindestens genauso wichtig ist die **Coverage**. Wenn ihr eine Position nur einmal lest (1×), könnt ihr schwer entscheiden, ob eine Abweichung eine echte Variante oder ein Messfehler war. Wenn ihr dieselbe Position aber z. B. 30-mal lest (30×) und in vielen Reads immer wieder dieselbe Abweichung seht, wird die Aussage deutlich stabiler.

Um das Gefühl dafür zu bekommen, kann man sich eine Mini-Rechnung anschauen: Angenommen, ihr habt 600 Millionen Reads mit einer Länge von 150 Basen. Dann wurden insgesamt $600.000.000 \cdot 150 = 90.000.000.000$ Basen „gelesen“. Das menschliche Genom hat ungefähr 3.000.000.000 Basenpaare. $90.000.000.000 / 3.000.000.000$ ergibt etwa 30. Das entspricht grob einer **30× Coverage** über das Genom, was für viele Fragestellungen eine übliche Größenordnung ist.

VERSTÄNDNIS+ Coverage ist wie „mehrfach Korrekturlesen“. Einmal lesen reicht oft nicht, um Tippfehler von echten Unterschieden zu trennen. Mehrfaches Lesen reduziert Unsicherheit.

Welche Sequenzierstrategie wählt man wofür?

In der Medizin sequenziert man selten „einfach alles“, sondern wählt je nach Fragestellung eine passende Strategie. Wenn man bereits weiß, welche Gene typischerweise relevant sind (z. B. bei bestimmten Tumoren oder bekannten Erbkrankheiten), nutzt man häufig **Genpanels**. Diese Panels fokussieren nur ausgewählte Gene oder Genabschnitte. Der Vorteil ist, dass man diese Regionen sehr tief abdecken kann (hohe Coverage) und dadurch Varianten sicherer findet. Außerdem ist es **schneller** und **günstiger** als eine Genomsequenzierung.

Wenn man breiter suchen möchte, aber sich dennoch auf die wichtigsten kodierenden Bereiche konzentriert, kann man eine **Exomsequenzierung (WES)** durchführen. Das Exom umfasst die Exons, also die protein-kodierenden Teile der Gene. Viele krankheitsrelevante Varianten liegen tatsächlich in diesen Bereichen. Dennoch ist das Exom nicht „alles“: Introns und viele regulatorische Regionen werden dabei nur eingeschränkt erfasst.

Am umfassendsten ist die **Genomsequenzierung (WGS)**, bei der das gesamte Genom untersucht wird. Damit kann man auch Varianten in nicht-kodierenden Regionen besser erfassen und strukturelle Veränderungen oft besser beurteilen. Gleichzeitig steigt die Datenmenge enorm, und auch die Interpretation wird komplexer.

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Gerade im Tumorbereich ist Sequenzierung so wichtig, weil Tumoren oft **somatische Mutationen** tragen. Diese sind nicht in jeder Körperzelle vorhanden und werden nicht „klassisch vererbt“, können aber für Prognose und Therapieentscheidungen relevant sein. Sequenzierung ist deshalb ein Kernbaustein der Präzisionsmedizin.

Grenzen und typische Fehlerquellen

So leistungsfähig Sequenzierung ist, sie hat Grenzen. Eine häufige Fehlerquelle ist schon die Probe selbst: Ist die DNA stark degradiert oder kontaminiert, leidet die Qualität. Technisch können bestimmte Regionen schwerer sequenzierbar sein, etwa sehr GC-reiche Abschnitte oder repetitive Sequenzen. Auch das Alignment kann problematisch werden, wenn Reads in mehreren Regionen ähnlich gut passen – dann kann eine falsche Zuordnung entstehen.

Ein weiterer klassischer Punkt ist **zu geringe Coverage**: Varianten können übersehen werden, wenn eine Region nur schwach abgedeckt ist. Außerdem gibt es biologische Situationen wie **Mosaizismus**, bei dem eine Variante nur in einem Teil der Zellen vorkommt. Dann ist das Mutationssignal „verdünnt“ und schwerer sicher nachzuweisen.

VERSTÄNDNIS+ „Nicht gefunden“ ist nicht immer „nicht vorhanden“. Bei Sequenzierung ist die Aussagekraft immer an Qualität, Coverage und die Art der Fragestellung gebunden.

6.8.2 Genomanalyse

Einführung

Unter **Genomanalyse** versteht man alle Methoden, mit denen man das Erbgut einer Zelle oder eines Organismus **untersucht, vergleicht und interpretiert**. Im Gegensatz zur „klassischen“ Genetik, die oft von einem Merkmal ausgeht und dann nach der Ursache sucht, beginnt die Genomanalyse häufig direkt bei der DNA: Man fragt, **welche Veränderungen im Genom vorliegen**, wie groß sie sind, wo sie sitzen und ob sie funktionell relevant sein könnten.

Dabei ist wichtig zu verstehen, dass „Genom“ nicht nur „Gene“ bedeutet. Ein großer Teil des eukaryotischen Genoms besteht aus **nicht direkt protein-kodierenden** Bereichen, darunter repetitive Sequenzen, regulatorische Abschnitte und viele Regionen, deren Funktion nicht auf den ersten Blick erkennbar ist. Genau deshalb braucht man unterschiedliche Methoden: Manche Verfahren sind gut, um **große chromosomale Veränderungen** zu sehen, andere sind stark bei **kleinen Sequenzvarianten** – und wieder andere analysieren eher die **Aktivität** bzw. **Regulation** von Genen.

VERSTÄNDNIS+ Die zentrale Frage der Genomanalyse ist fast immer: *Was ist die passende „Auflösung“?* Wenn du wissen willst, ob ein ganzes Chromosom zu viel vorhanden ist, brauchst du keine Basen-für-Basen-Sequenzierung. Wenn du aber eine Punktmutation suchst, hilft dir ein Karyogramm nicht weiter. Genomanalyse heißt deshalb auch: **die richtige Methode für die richtige Fragestellung auswählen.**

Welche Arten von genetischen Veränderungen kann man überhaupt finden?

Das Genom kann auf sehr unterschiedliche Weise verändert sein. Manche Veränderungen betreffen nur **ein einziges Basenpaar**, andere verändern ganze Chromosomenabschnitte oder sogar die Chromosomenzahl (**Band 1 > Kap. 5.8**).

DEFINITION Eine **Variante** ist eine Abweichung von einer Referenzsequenz.
 Ein **SNP** (Single Nucleotide Polymorphism) ist ein **Basenaustausch** an einer einzelnen Position.
 Ein **Indel** ist eine **kleine Insertion oder Deletion** (Einfügung/Verlust weniger Basen).
 Eine **CNV** (Copy Number Variation) ist eine **Kopienzahlveränderung** eines DNA-Abschnitts (z. B. Deletion oder Duplikation).
 Als **strukturelle Varianten** bezeichnet man größere Umbauten wie Inversionen, Translokationen oder große Insertions/Deletionen.

Zusätzlich muss man unterscheiden, **wo** die Veränderung auftritt:

- **Keimbahnvarianten** sind in (fast) allen Zellen vorhanden und können vererbt werden.
- **Somatische Varianten** entstehen im Laufe des Lebens in einzelnen Zelllinien (z. B. Tumoren) und sind typischerweise nicht vererbbar.

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Gerade in der Onkologie ist diese Unterscheidung extrem wichtig: **Tumorprofile** basieren häufig auf **somatischen Mutationen**, während bei klassischen **Erbkrankheiten** der Fokus auf **Keimbahnvarianten** liegt. In beiden Fällen ist die technische Frage aber ähnlich: *Welche Variante ist vorhanden und wie zuverlässig wurde sie nachgewiesen?*

Von der Probe zur Analyse: Warum „gute DNA“ die halbe Miete ist

Bevor irgendein Gerät etwas messen kann, braucht man geeignetes Ausgangsmaterial. In der Praxis beginnt Genomanalyse daher fast immer mit der **Probengewinnung** (z. B. Blut, Speichel, Gewebe) und der **DNA-Isolation**. Anschließend prüft man, ob die DNA **ausreichend konzentriert, nicht zu stark fragmentiert** und **frei von Inhibitoren** ist (z. B. Substanzen, die PCR-Reaktionen stören können).

Je nachdem, welche Methode man einsetzen möchte, wird die DNA dann weiterverarbeitet: Für PCR-basierte Verfahren braucht man häufig nur geringe Mengen, für Microarrays oder Sequenzierung wird meist eine definierte Menge und Qualität benötigt, und bei manchen Techniken (z. B. NGS) wird die DNA zusätzlich gezielt fragmentiert und mit technischen Adaptersequenzen versehen (Library-Herstellung; s. oben).

VERSTÄNDNIS+ Viele „Fehler“ in der Genomanalyse sind keine echten biologischen Fehler, sondern starten bereits bei der Probe: Schlechte DNA-Qualität kann dazu führen, dass bestimmte Regionen nicht zuverlässig erfasst werden. Das ist auch der Grund, warum Befunde oft Qualitätsangaben enthalten (z. B. „Abdeckung/Coverage“, Messgüte oder Kontrollmarker).

Genomanalyse auf Chromosomenebene: Wenn die Veränderung „groß“ ist

Wenn man vermutet, dass die Ursache einer Auffälligkeit eine **große chromosomale Veränderung** ist – also etwa eine Aneuploidie (z. B. Trisomie) oder eine große Translokation –, dann beginnt man oft auf der Ebene der Chromosomen.

Ein klassisches Verfahren ist die **Karyotypisierung** (**Band 1 > Kap. 5.8.2, > Abb. 5.24 und > Abb. 5.25**): Chromosomen werden in der Metaphase sichtbar gemacht und nach Größe, Zentromerlage und Bandenmuster geordnet. Damit kann man große Aberrationen erkennen, aber die Auflösung ist begrenzt: Kleine Deletionen im Bereich weniger hundert Kilobasen sieht man damit unter Umständen nicht. Für gezieltere Fragestellungen gibt es **FISH** (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung; **vgl. Band 1 > Kap. 5.11.3; > Abb. 5.43**). Hier werden fluoreszenzmarkierte DNA-Sonden eingesetzt, die an komplementäre Sequenzen binden. Das ist besonders praktisch, wenn man eine konkrete Region überprüfen möchte, etwa bei Verdacht auf eine bestimmte Mikrodeletion oder bei bestimmten Tumortranslokationen.

DEFINITION Bei der **FISH** binden fluoreszenzmarkierte DNA-Sonden an eine komplementäre Zielsequenz in Chromosomen oder Zellkernen. So kann man das Vorhandensein, die Lage oder die Anzahl bestimmter DNA-Abschnitte sichtbar machen.
Ein weiteres Konzept ist die **vergleichende Genomhybridisierung** (CGH; *comparative genomic hybridization*) bzw. als moderne Variante die **Array-CGH**. Hier vergleicht man DNA einer Probe mit DNA einer Referenz und erkennt **Kopienzahlveränderungen** im Genom. Das ist besonders nützlich bei unklaren Entwicklungsstörungen oder wenn man Deletionen/Duplikationen vermutet, die im Karyogramm „zu klein“ wären.

Genomanalyse auf DNA-Ebene: Wenn es um „Buchstaben“ geht

Sobald die Fragestellung in Richtung **kleiner Varianten** geht (SNPs, kleine Indels, Punktmutationen), arbeitet man auf Sequenzebene – entweder direkt durch Sequenzierung oder indirekt über Methoden, die Sequenzunterschiede „sichtbar“ machen.

Ein sehr häufiges Grundwerkzeug ist die **PCR** (**Band 1 > Kap. 5.11.3; > Abb. 5.44**). Mit ihr kann man einen bestimmten DNA-Abschnitt gezielt vervielfältigen, um ihn anschließend weiter zu untersuchen. In der Diagnostik wird PCR nicht nur zum „Mehrmachen“ genutzt, sondern oft auch als Messinstrument: Bei der **qPCR** (Realtime-PCR) wird während der Amplifikation ein Fluoreszenzsignal gemessen, wodurch

man Rückschlüsse auf die Ausgangsmenge der DNA ziehen kann. Das ist zum Beispiel relevant, wenn man bestimmte Erregerlasten quantifiziert oder Kopienzahlveränderungen grob abschätzen möchte.

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Noch präziser in der Quantifizierung kann die **digitale PCR** sein: Hier wird die Probe in sehr viele kleine Reaktionsräume aufgeteilt. Am Ende zählt man, in wie vielen dieser „Mini-PCRs“ ein Signal entstanden ist. Das ist besonders nützlich, wenn man seltene Varianten in einem Hintergrund aus viel „normaler“ DNA finden möchte (z. B. Tumor-DNA in Blut).

Auch **Restriktionsenzyme** spielen in der klassischen Genomanalyse eine Rolle. Sie schneiden DNA an spezifischen Erkennungssequenzen. Wenn eine Mutation eine Schnittstelle erzeugt oder zerstört, kann man daraus ein charakteristisches Fragmentmuster erhalten (Stichwort Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus; RFLP).

Die aktuell wichtigsten Verfahren für detaillierte Genomanalyse sind jedoch die in > Kap. 6.8.1 beschriebenen Sequenzier- und Array-Technologien. **NGS** ermöglicht eine hochparallele Sequenzierung sehr vieler DNA-Fragmente, wodurch man – je nach Design – Genpanels, Exome oder ganze Genome analysieren kann. Ergänzend dazu liefern **SNP-Arrays** Informationen über häufige Varianten (SNPs) und können auch Hinweise auf Kopienzahlveränderungen oder Verlust von Heterozygotie geben.

VERSTÄNDNIS+ Sequenzierung beantwortet primär: *Welche Base steht wo?*
Arrays beantworten oft eher: *Welche bekannte Variante ist vorhanden? bzw. Wie ist die Signalstärke (→ Kopienzahl)?*
Beide können „genomweit“ sein – aber sie messen unterschiedliche Dinge.

Aus Daten wird Wissen: Interpretation ist Teil der Genomanalyse

Ein Genomdatensatz ist erst dann medizinisch sinnvoll, wenn man ihn **einordnet**. Das gilt besonders für Sequenzierdaten, weil jeder Mensch sehr viele Varianten trägt. Der entscheidende Schritt ist also nicht nur das „Finden“, sondern das **Bewerten**: Handelt es sich um eine harmlose Variation, eine potenziell krankheitsrelevante Veränderung oder um eine Variante unklarer Bedeutung?

Typischerweise betrachtet man dabei unter anderem:

- Liegt die Variante in einem **Exon**, an einer **Spleißstelle** oder in einer **regulatorischen Region**?
- Verändert sie die Proteinsequenz (z. B. missense, nonsense) oder ist sie „still“?
- Wie häufig ist sie in der Bevölkerung (selten vs. häufig)?
- Passt sie zur Klinik/Anamnese?
- Wie sicher ist der technische Nachweis (Qualität, Coverage, Kontrollen)?

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM In Befunden werden Varianten oft nach klinischer Relevanz kategorisiert (z. B. „pathogen“, „wahrscheinlich pathogen“, „unklar“, „wahrscheinlich benigne“, „benigne“). Die Genomanalyse stellt also nicht nur eine labortechnische Dienstleistung dar, sondern benötigt im medizinischen Kontext zwingend eine **klinische Interpretation**.

Wofür macht man Genomanalysen in der Medizin?

Genomanalyse ist heute in vielen Bereichen angekommen. Bei **seltenen Erbkrankheiten** kann Sequenzierung helfen, die genetische Ursache für Krankheiten zu finden – besonders dann, wenn mehrere Gene infrage kommen. Bei **Tumorerkrankungen** werden genomische Veränderungen genutzt, um Diagnosen zu präzisieren und teilweise Therapien zu steuern (z. B. zielgerichtete Therapien bei bestimmten Mutationsprofilen). In der **Pränatal- und Reproduktionsmedizin** (> Kap. 5.11.5) spielen genetische Tests ebenfalls eine Rolle, allerdings immer eingebettet in ethische und beratende Rahmenbedingungen.

Grenzen und typische Fallstricke

So leistungsfähig Genomanalyse ist: sie hat auch ihre Grenzen. Manche Regionen des Genoms sind schwer zu analysieren, zum Beispiel **hochrepetitive Abschnitte**.

Manche Variantentypen werden von manchen Methoden schlecht erfasst: Eine Sequenzierung kann zwar Buchstaben lesen, erkennt aber Kopienzahlveränderungen manchmal weniger robust als ein Array; ein Array sieht Kopienzahlveränderungen gut, „liest“ aber keine neue unbekannte Punktmutation.

Ein weiteres Problem ist **Mosaizismus**: Wenn eine Variante nur in einem Teil der Zellen vorkommt, ist das Signal schwach und kann übersehen werden.

Außerdem gibt es den Faktor „**Zufallsbefund**“: Je größer die Analyse (z. B. WGS), desto höher die Wahrscheinlichkeit, etwas zu finden, das nicht zur aktuellen Fragestellung passt, aber medizinisch relevant sein könnte – oder eben nicht.

6.8.3 Genetischer Fingerabdruck

Einführung

Der **genetische Fingerabdruck** ist eine Methode, mit der man anhand ausgewählter DNA-Abschnitte Personen **mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit unterscheiden** oder Verwandtschaftsbeziehungen überprüfen kann. Der Name ist dabei gut gewählt: So wie ein klassischer Fingerabdruck nicht „den ganzen Körper“ beschreibt, sondern ein sehr charakteristisches Muster nutzt, analysiert der genetische Fingerabdruck **nicht das gesamte Genom**, sondern bestimmte Stellen, die sich zwischen Menschen besonders stark unterscheiden.

Wichtig ist hierfür das Grundverständnis: Es geht nicht darum, *welche Gene jemand hat* oder *welche Eigenschaften daraus entstehen*, sondern darum, ob eine DNA-Spur **zu einer Person passt** oder ob die DNA-Muster **zueinander kompatibel** sind (z. B. bei Vaterschaftstests). Genau deshalb spielt der genetische Fingerabdruck eine große Rolle in der Forensik, in der Abstammungsdiagnostik und bei der Identifizierung von Personen, etwa nach Katastrophen.

VERSTÄNDNIS+ Wenn von „DNA-Identifizierung“ die Rede ist, ist fast nie gemeint, dass man „das ganze Genom sequenziert“. Stattdessen nutzt man kleine, sehr variable DNA-Bereiche, die wie ein Barcode funktionieren.

Warum eignet sich ausgerechnet repetitive DNA?

Damit der genetische Fingerabdruck funktioniert, braucht man DNA-Bereiche, die sich **zwischen Menschen unterscheiden**, aber gleichzeitig bei jeder Person **stabil** sind (also nicht in jeder Zelle anders). Genau hier kommen **repetitive DNA-Abschnitte** ins Spiel, insbesondere **Tandemwiederholungen (Band 1 > Kap. 5.7)**: kurze Sequenzmotive, die direkt hintereinander mehrfach vorkommen.

Bei Eukaryoten besteht ein großer Anteil des Genoms aus repetitiven Sequenzen; dazu zählen unter anderem Tandemwiederholungen.

Diese repetitiven Bereiche sind für den genetischen Fingerabdruck deshalb so praktisch, weil sich vor allem **die Anzahl der Wiederholungen** von Mensch zu Mensch stark unterscheiden kann. Und genau diese Wiederholungszahl kann man messen.

DEFINITION Ein **Lokus** ist eine definierte Position im Genom.
Ein **Allel** ist eine Variante eines DNA-Abschnitts an einem bestimmten Lokus (im Kontext der Tandemwiederholungen meist: eine bestimmte Wiederholungszahl).

VERSTÄNDNIS+ Beim genetischen Fingerabdruck sind nicht „neue Basen“ oder „Mutationen“ die Hauptidee, sondern etwas viel Einfacheres: **Zählen**. Man schaut, wie oft ein bestimmtes Muster wiederholt ist. Diese Zahl kann sich zwischen Personen unterscheiden – und ergibt zusammen über mehrere Loci ein sehr individuelles Profil.

STR und VNTR: Die „Barcodes“ der DNA

In der Praxis begegnet euch vor allem der Begriff **STR** (Short Tandem Repeats; **Band 1 > Kap. 5.7**). STRs sind kurze Wiederholungseinheiten (oft nur wenige Basen lang), die im Genom an vielen Stellen vorkommen. Eine Person kann z. B. an einem STR-Lokus 10 Wiederholungen haben, eine andere 14. Diese Wiederholungszahl wird dann als Allel interpretiert.

Ältere Konzepte arbeiten mit **VNTRs** (Variable Number of Tandem Repeats; **Band 1 > Kap. 5.7**), meist längeren Wiederholungseinheiten („Minisatelliten“). Das Prinzip ist gleich: variable Wiederholungszahl, aber STRs sind technisch heute meist deutlich praktischer.

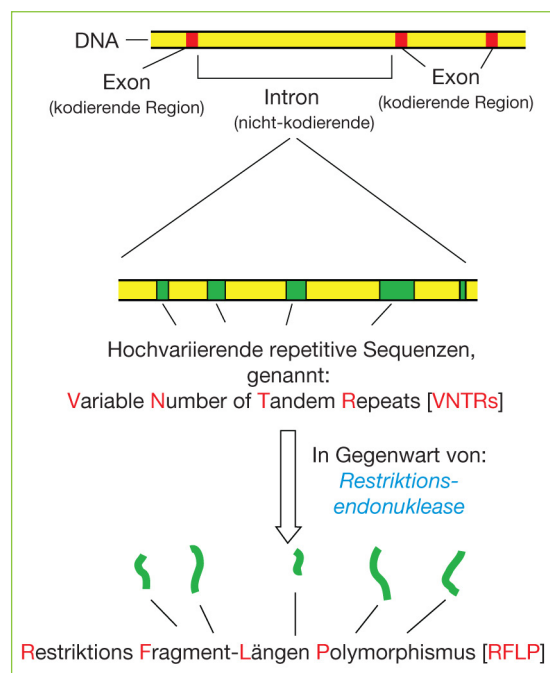
Ein entscheidender Punkt für das Verständnis ist die Diploidie: Der Mensch besitzt (abgesehen von wenigen Ausnahmen) von jedem autosomalen Lokus **zwei Kopien**, eine mütterliche und eine väterliche. Das bedeutet: Im STR-Profil hat man an einem Lokus typischerweise **zwei Allele** (z. B. 12/15). Sind beide gleich, spricht man von **homozygot** (z. B. 14/14), sind sie unterschiedlich, von **heterozygot** (z. B. 10/13).

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Dieses „zwei Allele pro Locus“-Prinzip ist genau der Grund, warum STR-Profile so gut für Verwandtschaftstests funktionieren: Ein Kind muss an jedem betrachteten Locus **ein Allel von der Mutter und eines vom Vater** geerbt haben.

Wie wird der genetische Fingerabdruck hergestellt?

Damit aus einer DNA-Spur ein verwertbares Profil wird, braucht man mehrere Schritte. Egal ob Forensik oder Abstammungstest: Man startet mit einer Probe (z. B. Speichel, Blut, Haarwurzel, Gewebe), isoliert DNA und analysiert dann die relevanten Loci.

Historisch wichtig ist die **RFLP-Analyse** (Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus; s. Abb. unten). Dabei wird DNA mit Restriktionsenzymen geschnitten; Unterschiede in der Länge der entstehenden Fragmente können auf unterschiedliche Wiederholungszahlen oder Schnittstellen hinweisen. Diese Methode brauchte jedoch vergleichsweise **viel und gut erhaltene DNA**, was in der Praxis nicht immer gegeben ist.



0.5 Beispiel eines Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus [E1520]

In der modernen Routine dominiert deshalb meist die **PCR-basierte STR-Analyse** (**Band 1, > Abb. 5.44 Seite 314**). Der Grund ist logisch: STR-Bereiche lassen sich mit PCR gezielt vervielfältigen, und PCR funktioniert auch mit sehr kleinen DNA-Mengen. Meist amplifiziert man gleich mehrere STR-Loci gleichzeitig (Multiplex-PCR), wobei die Primer fluoreszent markiert sein können. Danach trennt man die PCR-Produkte nach Größe, typischerweise per (Kapillar-)Elektrophorese. Aus der Fragmentlänge kann man auf die Wiederholungszahl schließen, weil mehr Wiederholungen ein längeres DNA-Stück ergeben. Was am Ende entsteht, ist kein „Text“ wie bei einer Sequenzierung, sondern ein **Profil**: An jedem betrachteten Locus stehen zwei Zahlen (die Allele), und die Gesamtheit dieser Zahlenkombinationen ergibt den genetischen Fingerabdruck.

VERSTÄNDNIS+ Ein STR-Profil ist ein wenig wie ein Zahlenschloss mit vielen Ringen: Ein einzelner Ring (ein Locus) ist noch nicht super eindeutig, aber viele Ringe zusammen ergeben eine Kombination, die extrem selten zufällig identisch ist.

Was bedeutet „Match“?

Ein ganz wichtiger Punkt ist auch hier die Interpretation. Wenn zwei STR-Profile übereinstimmen, bedeutet das: Die DNA-Spur ist **mit der DNA dieser Person kompatibel**. Je mehr unabhängige Loci man

vergleicht, desto unwahrscheinlicher wird es, dass eine zufällige, nicht verwandte Person das gleiche Profil besitzt.

Daraus kommt die typische statistische Aussage: Man berechnet eine **Zufallstrefferwahrscheinlichkeit** (random match probability). Vereinfacht gesagt multipliziert man die Wahrscheinlichkeit der Allelkombinationen über mehrere Loci (unter Annahmen wie Unabhängigkeit der Loci und bekannten Allelfrequenzen in einer Population). Dadurch werden die Zahlen schnell extrem klein.

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Nah verwandte Personen teilen mehr Allele als zufällige Unverwandte. Deshalb ist es in der Praxis relevant, ob man einen Datenbank-Match als „einzig plausible Person“ interpretiert oder ob z. B. ein Bruder statistisch ebenfalls gut passen könnte. Es gilt das Grundprinzip: **Verwandtschaft erhöht Profilähnlichkeit.**

Anwendungen

Der genetische Fingerabdruck hat mehrere klassische Einsatzgebiete. In der **Forensik** wird er genutzt, um DNA-Spuren von Tatorten mit Referenzproben (z. B. von Verdächtigen) zu vergleichen oder Datenbanken nach passenden Profilen zu durchsuchen. In der **Abstammungsdiagnostik** (z. B. Vaterschaftstest) nutzt man die Mendel-Logik: Ein Kind muss an jedem untersuchten STR-Lokus ein Allel mit der Mutter und eines mit dem biologischen Vater teilen. Passt das über viele Loci hinweg, steigt die Wahrscheinlichkeit der Vaterschaft sehr stark; passen mehrere Loci nicht, kann man Vaterschaft meist sicher ausschließen.

Außerdem ist die Methode relevant bei der **Identifizierung unbekannter Personen**, z. B. nach Katastrophen oder bei Vermisstenfällen, wenn Vergleichsmaterial vorhanden ist.

VERSTÄNDNIS+ Merke: Forensik fragt meist „**von wem stammt die Spur?**“, Abstammungstests fragen „**passen die Vererbungsregeln?**“. Beides nutzt dieselbe Technik, aber die Logik der Interpretation ist unterschiedlich.

Grenzen und typische Fehlerquellen

So „eindeutig“ ein genetischer Fingerabdruck wirkt, er hat Grenzen. Ein Klassiker: **Eineiige Zwillinge** besitzen (praktisch) dasselbe Genom und sind mit Standard-STR-Profilen nicht unterscheidbar. Ein weiterer Punkt sind **Mischspuren**, wenn DNA von mehreren Personen in einer Probe enthalten ist. Dann sieht man an einem Locus nicht mehr nur zwei Allele, sondern potenziell mehr – und die Interpretation wird deutlich anspruchsvoller.

Auch die Qualität der DNA spielt eine große Rolle. Stark degradierte DNA führt dazu, dass manche Loci nicht mehr zuverlässig amplifiziert werden (Allel-Dropout). Zusätzlich kann PCR typische Nebenprodukte erzeugen, z. B. sogenannte „Stutter“-Artefakte (kleine Nebenpeaks), die man bei der Auswertung kennen muss.

6.8.4 Gentechnisch veränderte Organismen

Einführung

Wenn wir in der Molekulargenetik über Gene, DNA und Genexpression sprechen, klingt das zunächst oft sehr „theoretisch“. Spätestens beim Thema **gentechnisch veränderte Organismen** wird aber klar, dass dieses Wissen eine direkte praktische Anwendung hat: Man kann Erbinformation nicht nur **lesen** (z. B. Sequenzierung), sondern auch **gezielt verändern**. Ein **gentechnisch veränderter Organismus (GVO)** ist dabei ein Lebewesen, dessen Erbgut mit molekularbiologischen Methoden so verändert wurde, dass die Veränderung **nicht** (oder zumindest nicht in dieser Form und Geschwindigkeit) durch klassische Kreuzung und Selektion zustande kommen würde.

Wichtig ist dabei ein sauberes Begriffsverständnis: „Gentechnisch verändert“ bedeutet nicht automatisch „künstlich“ im Sinne von „komplett neu erfunden“, sondern häufig, dass man gezielt eine bestimmte Information ergänzt, entfernt oder umschreibt. Das kann ein einzelnes Gen betreffen, aber auch regulatorische Bereiche, die steuern, **wann** und **wie stark** ein Gen exprimiert wird. Gerade diese Regulation ist entscheidend dafür, ob eine Veränderung im Genom überhaupt zu einem beobachtbaren Merkmal (Phänotyp) führt.

VERSTÄNDNIS+ Ein GVO ist nicht dadurch „besonders“, dass er DNA besitzt – DNA haben alle Lebewesen. Der entscheidende Punkt ist, dass man eine genetische Information **gezielt** verändert, um eine bestimmte Eigenschaft zu erreichen oder zu untersuchen. Die Logik dahinter ist dieselbe wie bei der Proteinbiosynthese: DNA trägt die Information, und über RNA und Protein wird daraus Funktion.

Was wird bei Gentechnik eigentlich verändert?

Damit Gentechnik verständlich wird, lohnt sich eine kurze Einordnung der „Bauteile“ eines funktionsfähigen genetischen Konstrukts. Wenn ein Genprodukt (Protein oder RNA) im Zielorganismus entstehen soll, reicht es in der Regel nicht, nur „irgendeinen DNA–Abschnitt“ einzubauen. Man braucht vielmehr eine Art funktionelles Paket: eine **Kontrollregion** (Promotor/Enhancer), eine **kodierende Sequenz** (oder die Sequenz der gewünschten RNA) und häufig Signale für ein korrektes Ende (Terminator/Polyadenylierungssignal, je nach System; vgl. **Band 1 > Kap. 6.3.2** Eukaryotische Gene im **Band 1 Seite 326**).

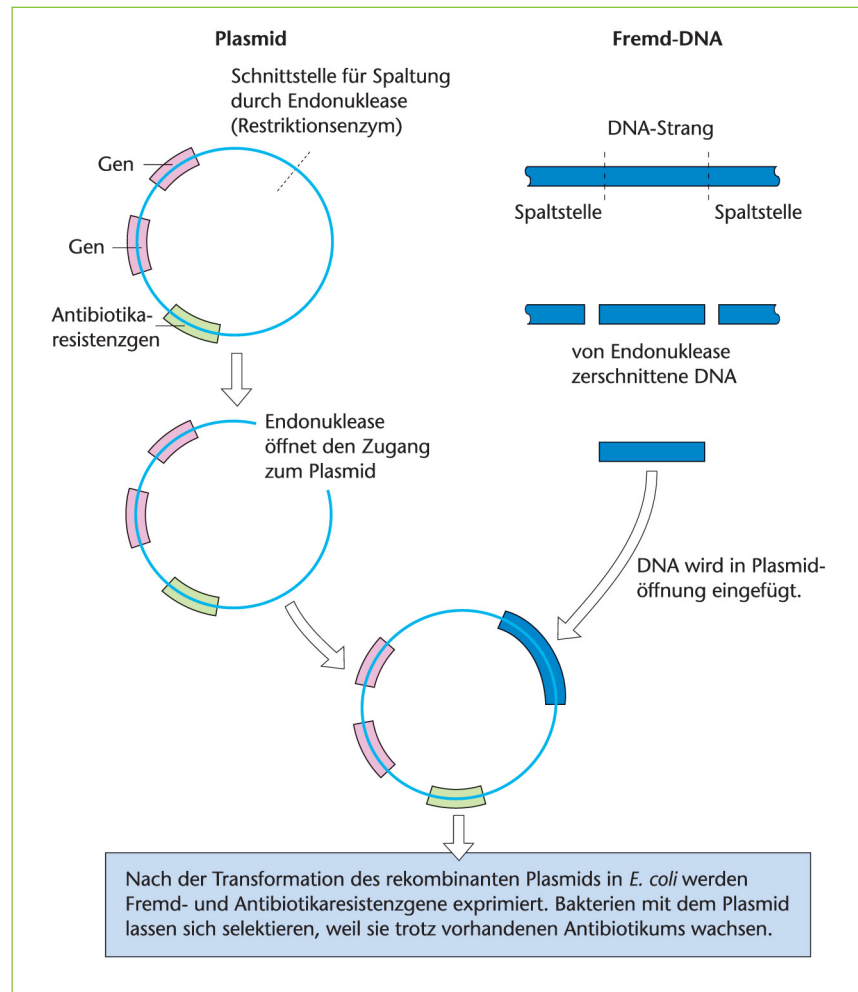
DEFINITION Ein **Transgen** ist ein Gen bzw. DNA–Abschnitt, der in einen Organismus eingebracht wurde und dort (typischerweise) neu ist.
 Ein **Vektor** ist ein „Transportmittel“ für DNA (z. B. ein Plasmid), das den Einbau oder die Vermehrung einer DNA–Sequenz ermöglicht.
 Ein **Promotor** ist eine DNA–Region, an die die Transkriptionsmaschinerie bindet und die Start und Stärke der Genexpression wesentlich bestimmt.
 Ein **Selektionsmarker** ist ein Merkmal (z. B. Resistenz), mit dem man Zellen identifizieren kann, die das gewünschte DNA–Konstrukt tatsächlich aufgenommen haben.

Im Grunde ist das Ziel der Gentechnik, dass am Ende in der Zelle die Information des eingebrachten oder veränderten DNA–Abschnitts genutzt wird – also **transkribiert** und ggf. **translatiert** wird. Genau deshalb hängen GVO-Eigenschaften stark davon ab, ob das Konstrukt im richtigen Zelltyp, zur richtigen Zeit und in der richtigen Menge aktiv ist.

Klassische Gentechnik: Rekombinante DNA als Grundprinzip

Unter **rekombinanter DNA** versteht man DNA, die aus Abschnitten unterschiedlicher Herkunft künstlich zusammengesetzt wurde. Das Grundprinzip dahinter ist – konzeptionell – erstaunlich logisch: Man nimmt eine gewünschte Sequenz, verknüpft sie mit einem geeigneten Vektor und bringt dieses Konstrukt in Zellen ein. Anschließend werden jene Zellen ausgewählt, bei denen der Transfer tatsächlich funktioniert hat.

Häufig werden in der Praxis Plasmide eingesetzt. Plasmide sind kleine, ringförmige DNA–Moleküle, die besonders in Bakterien vorkommen und sich unabhängig vom bakteriellen Chromosom vermehren können. Sie eignen sich daher gut als „DNA–Taxi“. In der Biotechnologie nutzt man dieses Prinzip seit Jahrzehnten, etwa um Mikroorganismen dazu zu bringen, bestimmte Proteine in großen Mengen herzustellen.



0.6 Plasmide als Vektoren – ein Grundschrift der Genklonierung, um z.B. Fremd-DNA in *Escherichia coli* einzubringen. [R297]

VERSTÄNDNIS+ Hier sieht man sehr schön den Unterschied zwischen „Genetik“ und „Gentechnik“: Die Genetik erklärt, *wie* Information wirkt und vererbt wird. Die Gentechnik nutzt dieses Wissen, um Information **gezielt** zu verändern oder zu verwenden.

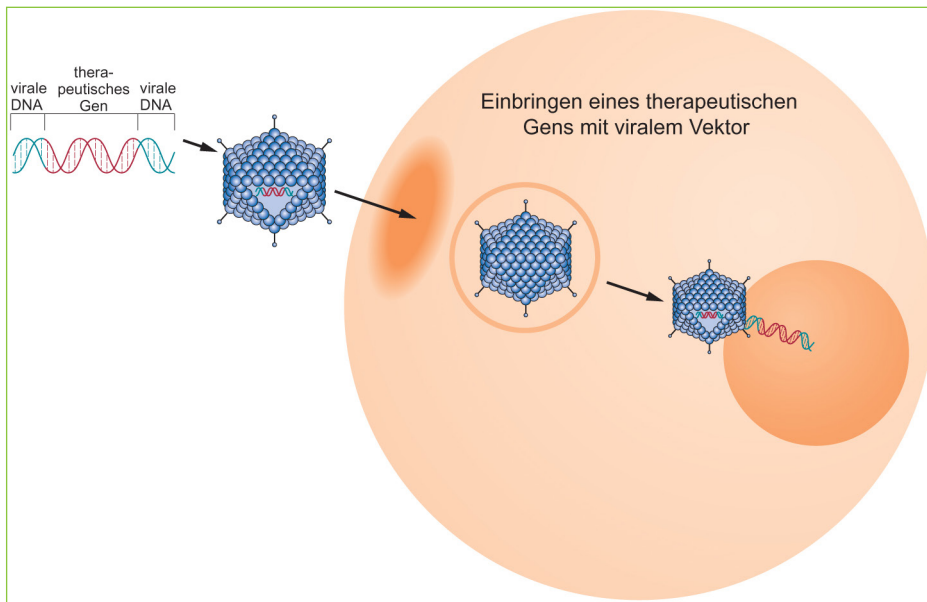
AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Ein Klassiker ist die Herstellung von **rekombinanten Proteinen** (z. B. Hormone oder Enzyme) durch genetisch modifizierte Mikroorganismen oder Zelllinien. Das ist keine „Spielerei“, sondern einer der Gründe, warum moderne Medizin viele standardisierte Biopharmazeutika in hoher Reinheit zur Verfügung hat.

Wie gelangt DNA in einen Organismus?

Damit ein Organismus gentechnisch verändert werden kann, muss die gewünschte genetische Veränderung zunächst in die Zellen gelangen. Wie das funktioniert, hängt stark davon ab, ob man Bakterien oder Tiere betrachtet.

Bei **Bakterien** ist der DNA-Transfer vergleichsweise „einfach“, weil viele Bakterien DNA aus ihrer Umgebung aufnehmen können oder man sie dazu bringen kann, DNA aufzunehmen. In der Praxis wird das genutzt, um Plasmide in Bakterien einzuschleusen, die dann das gewünschte Genprodukt exprimieren oder das Plasmid vervielfältigen.

Bei **Tieren** (und auch beim Menschen im Kontext gentechnisch veränderter Zellen) gibt es verschiedene Möglichkeiten, DNA oder ein Editier-System in Zellen zu bringen. Hier sind neben direkten Einbringungsstrategien auch **virale Vektoren** als Konzept wichtig, weil Viren natürlicherweise sehr gut darin sind, genetisches Material in Zellen zu transportieren.



0.7 Einbringen eines Gens mit einem viralem Vektor zur Expression eines therapeutischen Proteins [L231]

Wofür nutzt man GVO?

In der Praxis werden gentechnisch veränderte Organismen nicht „aus einem einzigen Grund“ hergestellt, sondern in mehreren großen Bereichen.

In der **Landwirtschaft** geht es häufig um Eigenschaften wie Schädlingsresistenz, Krankheitsresistenz oder Toleranz gegenüber bestimmten Umweltbedingungen. Das Ziel ist oft, Erträge zu stabilisieren oder den Einsatz bestimmter Pflanzenschutzmaßnahmen zu reduzieren. Gleichzeitig ist das ein Bereich, in dem Fragen zu Umweltfolgen, Resistenzentwicklung und Koexistenz mit nicht-veränderten Pflanzen besonders relevant sind.

In der **Medizin und Biotechnologie** sind GVO (oder gentechnisch veränderte Zellen) zentrale Werkzeuge. Mikroorganismen können so verändert werden, dass sie therapeutische Proteine herstellen. In der Forschung ermöglichen genetisch veränderte Modellorganismen (z. B. Knockout-Modelle) das Verständnis von Genfunktionen: Wenn ein Gen fehlt oder verändert ist, kann man beobachten, welche Konsequenzen das für einen Organismus hat. Das ist eine sehr direkte Strategie, um Gen-Funktion-Beziehungen herzustellen.

In der **Grundlagenforschung** sind außerdem sogenannte Reporter-Systeme wichtig: Man koppelt z. B. die Aktivität eines Promotors an ein messbares Signal, um zu sehen, wann und wo ein Gen aktiv ist. Damit wird Genregulation praktisch „sichtbar“.

VERSTÄNDNIS+ Viele Anwendungen wirken nach außen sehr unterschiedlich (Pflanze, Bakterium, Mausmodell), folgen aber derselben Logik: **DNA-Information gezielt verändern → Änderung der Genexpression → Änderung von Eigenschaften.**

CRISPR-Cas: gezieltes „Umschreiben“ des Genoms

In den letzten Jahren hat sich ein Begriff praktisch zum Synonym für modernes Gene Editing entwickelt: **CRISPR-Cas**. Während klassische Gentechnik häufig darauf beruht, dass man eine neue DNA-Sequenz (ein Transgen) in eine Zelle „hineinbringt“ und anschließend hofft, dass sie stabil eingebaut und passend exprimiert wird, ermöglicht CRISPR-Cas etwas deutlich Präziseres: Man kann das Genom **an einer definierten Stelle** verändern. Damit wird Gentechnik in vielen Fällen von einem „Einfügen“ zu einem **gezielten Bearbeiten**.

Ursprünglich stammt CRISPR-Cas aus Bakterien. Dort dient es als eine Art **adaptives Abwehrsystem** gegen Viren (Bakteriophagen): Das Bakterium „merkt“ sich Sequenzen von Angreifern und kann bei erneutem Angriff diese fremde DNA gezielt erkennen und zerschneiden. In der Biotechnologie macht man sich genau dieses Prinzip zunutze, nur dass nun nicht mehr virale DNA im Fokus steht, sondern eine gewünschte Zielsequenz im Genom.

DEFINITION CRISPR steht für *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* und bezeichnet wiederholte DNA-Abschnitte im bakteriellen Genom, die mit „Erinnerungsstücken“ (Spacer) an frühere Virusinfektionen kombiniert sind.

Cas-Proteine (CRISPR-associated) sind Enzyme, die – vereinfacht gesagt – als **molekulare Scheren** fungieren und DNA schneiden können.

Die **guide RNA (gRNA)** ist eine kurze RNA, die die Zielsequenz bestimmt: Sie bindet über Basenpaarung an die komplementäre DNA-Region und führt das Cas-Protein genau dorthin.

Ein **PAM-Motiv** (protospacer adjacent motif) ist eine kurze DNA-Sequenz in der Nähe des Ziels, die viele Cas-Enzyme als „Startsignal“ brauchen, um überhaupt schneiden zu können.

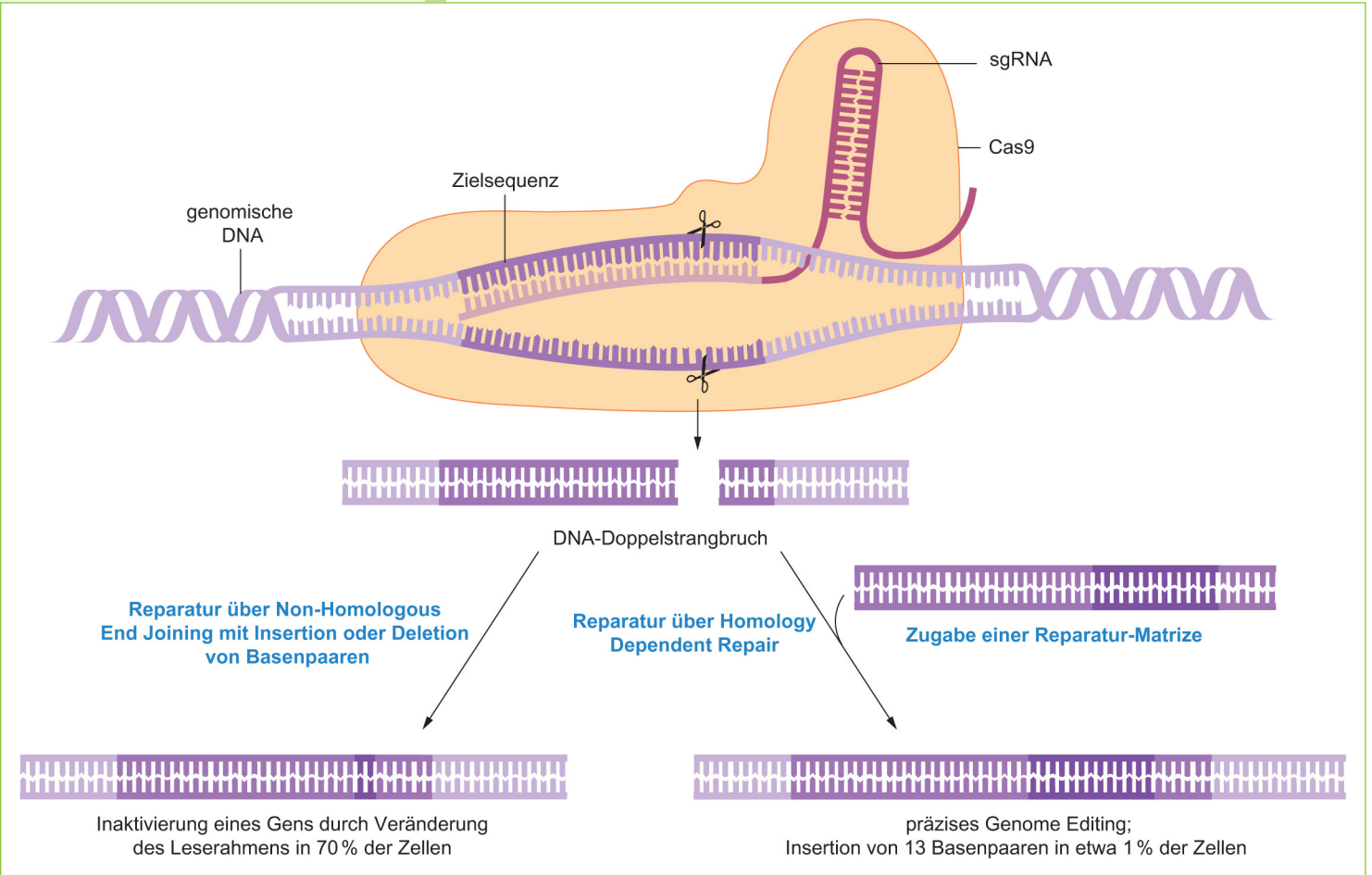
VERSTÄNDNIS+ Das Entscheidende an CRISPR-Cas ist nicht, dass es „irgendeine neue DNA“ hineinträgt, sondern dass es die Zelle dazu bringt, an einer bestimmten Stelle einen **gezielten Schnitt** (oft einen Doppelstrangbruch) zu setzen. Was danach passiert, ist nicht mehr „Magie“, sondern normale Zellbiologie: Die Zelle **muss reparieren** – und genau diese Reparatur erzeugt dann die genetische Veränderung.

Wie entsteht durch CRISPR eine Veränderung?

Wenn Cas an der Zielstelle schneidet, entsteht ein DNA-Schaden. Und damit sind wir wieder bei einem zentralen Konzept der Molekulargenetik: **DNA-Reparatur (Band 1 > Kap. 6.2.3)**. Zellen besitzen Mechanismen, um Doppelstrangbrüche zu beheben, und zwei Wege sind dabei besonders wichtig: das **Nicht-homologe End-Joining (NHEJ)** und die **homologe Rekombination (Band 1 > Abb. 6.11)**.

Beim **NHEJ** werden die Enden „direkt“ wieder zusammengefügt. Das ist schnell, aber nicht perfekt: Häufig gehen dabei einzelne Nukleotide verloren oder es werden kleine Stücke hinzugefügt. Genau diese kleinen Veränderungen (Insertionen/Deletionen) können dazu führen, dass ein Gen nicht mehr korrekt gelesen wird – man erhält funktionell oft einen **Knockout** (Gen wird ausgeschaltet).

Die **homologe Rekombination** ist dagegen präziser, weil sie eine Vorlage nutzt (z. B. die Schwesterchromatide). In der Gentechnik kann man dieses Prinzip ausnutzen, indem man der Zelle eine passende „Vorlage“ anbietet, die eine gewünschte Sequenzänderung enthält. Dann kann – vereinfacht gesagt – nicht nur „geflickt“, sondern **gezielt umgeschrieben** werden (Knock-in).



Warum ist CRISPR–Cas für GVO so relevant?

Mit CRISPR–Cas kann man GVO herstellen, deren genetische Veränderung auf den ersten Blick „kleiner“ wirkt als bei klassischer Transgenese. Statt ein zusätzliches Gen einzubauen, kann man z. B. eine bestehende Sequenz leicht verändern, eine Funktion abschalten oder regulatorische Bereiche anpassen. Gerade deshalb taucht in Diskussionen oft die Frage auf, ob jede CRISPR–Veränderung automatisch „gleich“ zu bewerten ist wie das Einbringen eines fremden Gens. Biologisch gesehen bleibt aber entscheidend: Es handelt sich um eine **gezielte molekularbiologische Veränderung des Genoms** – und damit um Gentechnik im engeren Sinn.

AUS DEM MEDIZINSTUDIUM Im medizinischen Kontext ist CRISPR–Cas besonders deshalb spannend, weil man theoretisch krankheitsverursachende Varianten gezielt korrigieren könnte. Praktisch stehen dabei aber wichtige Herausforderungen im Vordergrund: Wie bringt man das System sicher in die richtigen Zellen? Wie verhindert man unerwünschte Schnitte? Und wie kontrolliert man, dass das Ergebnis tatsächlich wie geplant ausfällt (und nicht als Mosaik aus verschiedenen Reparaturprodukten entsteht)?

Grenzen und typische Probleme

Auch CRISPR–Cas ist nicht „fehlerfrei“. Ein Begriff, der oft fällt, sind **Off–Target–Effekte**: Das sind Schnitte an Stellen, die der Zielsequenz ähnlich genug sind, um versehentlich mit erkannt zu werden. Außerdem ist das Ergebnis nach dem Schnitt nicht immer exakt vorhersagbar, weil Reparaturmechanismen – insbesondere NHEJ – kleine, variable Veränderungen erzeugen können. Dadurch können in einer Zellpopulation verschiedene leicht unterschiedliche Varianten entstehen.

Ein weiterer klassischer Punkt ist, dass Gene Editing nicht nur „Gen an/aus“ bedeutet: Man kann auch regulatorische Bereiche treffen und damit die **Genexpression** verändern, ohne die Proteinsequenz selbst zu ändern. Das knüpft direkt an das Kapitel zur Genregulation an: Entscheidend ist oft nicht nur *welches* Gen vorhanden ist, sondern *wann* und *wie stark* es exprimiert wird.

Wie erkennt man, ob ein Organismus gentechnisch verändert ist?

Für viele Anwendungen reicht es nicht, „zu glauben“, dass eine Veränderung geklappt hat – man muss sie nachweisen. Prinzipiell kann man auf verschiedenen Ebenen nachweisen:

Auf **DNA–Ebene** kann man gezielt nach der eingebrachten oder veränderten Sequenz suchen, z. B. mit PCR–basierten Methoden oder durch Sequenzierung. Auf **RNA–Ebene** kann man prüfen, ob das Gen tatsächlich transkribiert wird (z. B. über RNA–Analysen). Und auf **Protein–Ebene** kann man testen, ob das erwartete Protein gebildet wird (z. B. über immunologische Nachweisverfahren). Welche Ebene am sinnvollsten ist, hängt davon ab, ob man die reine Existenz der Veränderung oder die tatsächliche Expression/Wirksamkeit überprüfen möchte.

Abbildungsverzeichnis

Der Verweis auf die jeweilige Abbildungsquelle befindet sich bei allen Abbildungen im Werk am Ende des Legendentextes in eckigen Klammern.

- E1170-002** Courtesy Dr. Gregory R. DeVore, Fetal Diagnostic Center, Pasadena, California. Reprinted with permission
- E1519** Devaux Y. Sopic M. Transcriptomics in Atherosclerosis: Deciphering Molecular Signatures and Advancing Therapeutic Strategies, 1.A. Elsevier Inc. 2026
- E1520** Dr. S. Chand Essentials of Forensic Medicine and Toxicology, 2.A. Elsevier Inc. 2024
- G912-002** Woodward PJ. Diagnostic Imaging: Obstetrics, 4. Aufl., Elsevier, 2021
- L231** Stefan Dangl, München
- L141** Stefan Elsberger, Planegg
- L143** Heike Hübner, Berlin
- R297** Mims, Medizinische Mikrobiologie - Infektiologie, Elsevier/Urban & Fischer, 2.A., 2006, 41272