

Wie funktioniert die Genchip-Analyse?

Molekulargenetische Untersuchungen werden oft mithilfe sogenannter Genchips durchgeführt. Das Prinzip beruht auf der altbekannten komplementären Bindung von Nukleinsäuresträngen. Anders als früher können heute dank neuer technologischer Entwicklungen jedoch tausende von Gensequenzen auf einmal getestet werden.

Wenn in der molekularbiologischen Fachliteratur von «Microarrays» die Rede ist, sind damit Verfahren gemeint, mit deren Hilfe man mit einer kleinen Blut- oder Gewebeprobe tausende von Einzeltests auf einmal durchführen kann. Prinzipiell sind Microarray-Systeme für die Analyse unterschiedlicher Substanzen geeignet, beispielsweise DNS, RNS, Proteine oder auch Kohlenhydrate.

Bei einer Genchip-Analyse werden eine bestimmte Menge genau definierter, einsträngiger DNS-Sequenzen – die DNS-Sonden – mit einer Trägermatrix – dem Chip – fest verbunden. Die unterschiedlichen DNS-Sonden für die jeweilige Gensequenz, auf welche man testen will, sind rasterförmig auf dem Chip angeordnet. Aus einer Blutprobe (oder ggf. anderem Gewebe) des Patienten wird DNS oder RNS extrahiert und aufbereitet. Bei der Aufbereitung wird das genetische Material je nach Fragestellung behandelt. So werden DNS mithilfe von Restriktions-

enzymen in definierte Bruchstücke zerteilt, RNS in DNS «umgeschrieben» oder bestimmte Sequenzen mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) vermehrt, um sie überhaupt nachweisbar zu machen. Am Ende werden die aus dem Patientenmaterial aufbereiteten DNS-Fragmente mit Farbstoffen markiert. Meist handelt es sich um Fluoreszenzfarbstoffe, aber auch Silberfärbungen oder Chemoluminiszenzfarbstoffe werden verwendet.

Die aufgearbeiteten DNS-Fragmente werden in einem kleinen Volumen mit den DNS-Sonden auf dem Chip inkubiert (Abbildung 1). Bei komplementären Sequenzen erfolgt unter bestimmten Ionen- und Temperaturbedingungen die Bindung zwischen DNS-Sonde und Probe (Hybridisierung; Abbildung 2), die als entsprechendes Lichtsignal sichtbar gemacht wird (Abbildung 3). Wie man sich leicht vorstellen kann, ist bei dieser Methode – wie bei vielen Laboruntersuchungen – die Unterscheidung zwischen unspezifischem Grundrauschen und tatsächlichem Signal ein mitunter nicht einfach zu lösendes Problem. Die Auswertung der Lichtsignale erfolgt darum mit Laserscannern und einer Software, welche die spezifische Signalstärke errechnet und diese in Form von Diagrammen darstellt.

Das Genchip-Prinzip ist die Grundlage verschiedener molekulargenetischer Verfahren. Von besonderem Interesse ist im Zusammenhang mit der Diagnose genetischer Erkrankungen die «Array-CGH», welche auch Matrix-CGH genannt wird. CGH steht für «comparative genomic hybridization». Hierbei wird das Patienten-genom mit dem Genom gesunder Personen verglichen. Mithilfe hochauflösender Chips mit Millionen von DNS-Sonden können bereits geringe Abweichungen in der Gensequenz identifiziert werden. ☉

Renate Bonifer



Abbildung 1: Genchip im Größenvergleich; der Chip mit den DNS-Sonden befindet sich in der quadratischen Kammer (Foto: Wikimedia Commons).

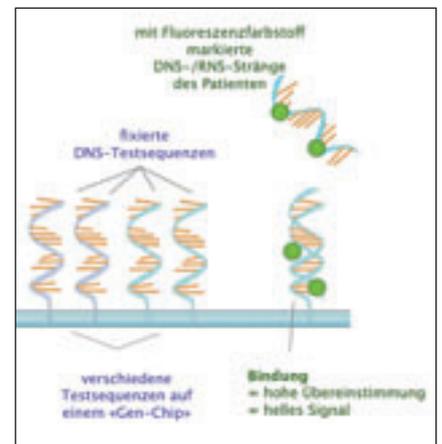


Abbildung 2: Prinzip der Genchip-Analyse: Auf einer Trägermatrix befinden sich einsträngige DNS-Sequenzen, das heisst diejenigen Gensequenzen, auf deren Vorkommen man testen will. Genetisches Material aus den Zellen des Patienten wird aufbereitet, mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert und überschichtet. Bei komplementären Sequenzen erfolgt die Bindung (Hybridisierung), die als entsprechendes Lichtsignal sichtbar wird.

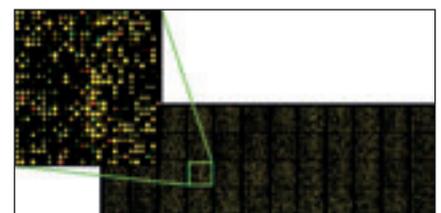


Abbildung 3: Testresultat auf einem Genchip mit zirka 40 000 Testsequenzen. Jeder Punkt entspricht einer DNS-Sonde, das heisst einer bestimmten Gensequenz. Falls diese nicht in der Patientenprobe erhalten war, bleibt der entsprechende Rasterpunkt schwarz. Hier wurden parallel zwei Proben (z.B. Patienten- vs. Standard-DNS) parallel getestet, die mit unterschiedlichen Farbstoffen (grün oder rot) markiert sind.