



Lernpartnerschaft mit der Oberstufe

**Lehrkonzept zur
Integration in eine Unterrichtseinheit**

PCR-Diagnostik einer NCL-Erkrankung

Computersimulation, Genetik-Version

Die Mutationen, die der neuronalen Ceroid-Lipofuszinose (NCL) zugrunde liegen, können durch eine Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nachgewiesen werden. Mittels einer internetbasierten Simulation soll die gendiagnostische Untersuchung einer Familie durchgeführt werden, in der ein Fall von juveniler NCL aufgetreten ist.

Die NCL bietet sich durch ihre monogene Vererbung als ideales Beispiel an, um die Regeln der klassischen Genetik sowie molekulargenetische Grundlagen und zugehörige Techniken in einem konkreten Szenario anzuwenden und zu verinnerlichen. Die Simulation sollte in eine inhaltlich passende Unterrichtseinheit eingebettet werden, in der die folgend aufgeführten Lehr-/Lerninhalte bzw. Kompetenzziele vorbereitet und die Ergebnisse reflektiert werden.

Kompetenzziele

Durch die Simulation sollen im Rahmen der übergeordneten Unterrichtseinheit folgende Kompetenzziele erreicht und gefestigt werden:

Die Lernenden ...

- interpretieren Stammbäume.
- leiten klassische Erbgänge (hier insbesondere rezessive) ab und analysieren sie.
- setzen Genotypen mit Phänotypen (hier der Erkrankung NCL) in Verbindung.
- erklären Mutationstypen (hier vor allem Deletionen und Punktmutationen).
- beschreiben das Prinzip der PCR und benennen die erforderlichen Komponenten.
- beschreiben das Prinzip der Agarosegelelektrophorese.
- werten das Ergebnis einer Agarosegelelektrophorese aus.
- erläutern die Bedeutung genetischer Diagnostik.

Laborpraktische Aspekte sind keine Kompetenzziele dieser Simulation.

Voraussetzungen

Für die Arbeit mit der Simulation sollten die Lernenden auf folgende Inhalte vorbereitet sein oder die zugehörigen Kenntnisse bereits besitzen:

- Vererbung, Allele, dominant/rezessiv
- Stammbaumdarstellungen
- Genbegriff, -funktion
- DNA-Replikation (DNA-Polymerase, Primer) oder Grundprinzip der PCR
- elektrophoretische DNA-Trennung nach Größe

Grundlagen

Unter Verweis auf einschlägige Literatur werden die inhaltlichen Grundlagen, auf denen die Simulation basiert, an dieser Stelle stichwortartig aufgelistet und anschließend in ihren wesentlichen Aspekten kurz ausgeführt:

- Neuronale Ceroid-Lipofuszinosen (NCL oder CLN, *ceroid lipofuscinosis, neuronal*) in 13 genetisch unterschiedlichen Formen (CLN1 bis CLN14, CLN9 nicht vergeben)
- Manifestation im Kindesalter, rascher Verlust der kognitiven und motorischen Fähigkeiten („Kinderdemenz“), früher Tod
- CLN3 (juvenile NCL) eine der beiden häufigsten Formen in Deutschland; in den meisten Fällen ausgelöst durch eine 966-bp-Deletion („1-kb-Deletion“) im *CLN3*-Gen
- Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur Vervielfältigung von DNA-Abschnitten, die durch kurze Primer begrenzt werden
- Analytische PCR durch geeignete Primerpositionen möglich
- Größenbestimmung der entstandenen DNA-Moleküle durch Agarosegelelektrophorese

Bei den neuronalen Ceroid-Lipofuszinosen (NCL oder CLN) handelt es sich um eine Gruppe von Erberkrankungen, in deren Verlauf es zu fortschreitenden Schädigungen von Nervenzellen kommt. Aufgrund genetischer Unterschiede werden sie mittlerweile in 13 verschiedene Formen (CLN1 bis CLN10) eingeteilt, die sich teilweise in unterschiedlichem Lebensalter manifestieren. Da die meisten Formen im Kindesalter ausbrechen und es im Verlauf zu einem umfassenden geistigen Abbau kommt, wird auch von „Kinderdemenz“ gesprochen. Eine kausale, heilende Therapie ist kaum möglich, es sind jedoch Gentherapien in der Entwicklung bzw. klinischen Testung. Für eine der Formen (CLN2) ist seit wenigen Jahren (2016/17) eine medikamentöse Therapie verfügbar, die das Fortschreiten der Erkrankung aufhalten kann. In allen anderen Fällen kommt es bislang im Verlauf einiger Jahre zum Verlust der kognitiven und motorischen Fähigkeiten und schließlich zum Tod. Der zeitliche Verlauf und symptomatische Details hängen von der Form und damit der genetischen Ursache ab. Bis auf eine Ausnahme liegt den Erkrankungsformen ein rezessiver Erbgang zugrunde. Die Erkrankungsrate schwankt von Land zu Land im Bereich von etwa 1:100.000 (Deutschland) bis 1:20.000 Lebendgeborenen.

CLN3 ist mit CLN2 die in Deutschland häufigste Form. Es handelt sich bei CLN3 um die klassische juvenile NCL, die sich typischerweise zu Beginn der Schulzeit manifestiert. Zu den ersten auffälligen Symptomen zählt wie bei anderen Formen eine Sehstörung, die rasch bis zur Erblindung fortschreitet. Charakteristisch ist eine Mutation im *CLN3*-Gen auf Chromosom 16. Die Mehrzahl der Patienten weist eine Deletion von 966 Basenpaaren auf („1-kb-Deletion“, in älterer Literatur „1,02-kb-Deletion“), durch die zwei Exons verlorengehen und es durch eine Leserasterverschiebung zu einer weiteren Verkürzung des Proteins kommt. Es sind jedoch Dutzende weitere Mutationen bekannt, die zur Erkrankung führen. Sie werden bei Erkrankten aufgrund ihrer Seltenheit meist in gemischt heterozygoter Form mit der 1-kb-Deletion beobachtet. Die zellbiologischen Details der Proteinfunktion und die genaue Pathogenese sind wie bei den meisten übrigen Formen nur unzureichend bekannt.

Die Erkrankung folgt einem rezessiven Erbgang, daher sind heterozygote Träger symptomlos. Es ist deshalb möglich, und aufgrund der relativen Seltenheit der Erkrankung üblich, dass in Familienstammbäumen in mehreren Generationen niemand erkrankt, da nur selten zwei mutierte Allele an eine Person weitergegeben werden. Hinzu kommt, dass homozygote Träger, die das mutierte Allel in jedem Fall weitergeben würden, aufgrund der Schwere der Erkrankung in der Regel keine Eltern werden.

Eine genetische Untersuchung der Familie des diagnostizierten Patienten („Indexpatient“) kann zum Finden weiterer Fälle genutzt werden. Je seltener eine Erkrankung ist, desto hilfreicher ist dies, um möglichst viele Patienten frühzeitig zu identifizieren, da die Allelfrequenz in einer betroffenen Familie sehr viel höher ist als in der Gesamtbevölkerung (in einer Geburtsklinik müsste man mehrere 10.000 Tests durchführen, um ein Kind mit einem betroffenen Allel zu finden, in einer betroffenen Familie ist etwa jeder zweite Test positiv). Weiterhin liefern die genetischen Informationen bei Bedarf die Basis für eine humangenetische Beratung, etwa zur Frage, mit welchem Risiko ein zukünftiges Kind erkrankt.

Die Polymerase-Kettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR) ist eine Methode zur Vervielfältigung ausgewählter DNA-Abschnitte aus einer DNA-Vorlage. Dazu werden Primer eingesetzt, die als kurze einzelsträngige DNA-Stücke dem linken und rechten Bereich des zu vervielfältigenden Abschnittes entsprechen und sich an den komplementären Einzelstrang anlagern. Die eigentliche Synthese der DNA erfolgt durch eine DNA-Polymerase, die dafür einen geeigneten Reaktionspuffer sowie als Bausteine dNTPs benötigt. Da die DNA-Polymerase DNA-Fragmente wie die Primer nur am 3'-Ende verlängern kann, müssen die Primer so gewählt werden, dass ihre 3'-Enden aufeinander gerichtet sind, wenn sie durch Basenpaarung an die Vorlagen-DNA gebunden haben.

Die PCR-Reaktion besteht aus sich mehrfach (typischerweise 25- bis 30fach) wiederholenden Zyklen, die jeweils aus drei Schritten bei unterschiedlichen Temperaturen bestehen. Im ersten Schritt werden DNA-Doppelstränge bei 95 °C getrennt (Denaturierung). Im zweiten Schritt wird soweit abgekühlt, dass sich die relativ kurzen Primer an die Einzelstränge anlagern können (Annealing/Anlagerung). Im dritten Schritt erfolgt die DNA-Synthese bei 72 °C, der Arbeitstemperatur der hitzestabilen DNA-Polymerase (Elongation). Die Temperatureinstellung wird von einer PCR-Maschine vorgenommen, die über eine entsprechende Kühl- sowie Heizfähigkeit verfügt und auf die benötigten Temperaturen programmiert werden kann. Pro Zyklus kommt es (nahezu) zu einer Verdopplung der Anzahl der gewünschten DNA-Abschnitte. Prinzipiell können mehrere Primerpaare gleichzeitig eingesetzt werden, wodurch unterschiedliche DNA-Moleküle synthetisiert werden.

Durch geeignete Wahl der Primerpositionen kann eine PCR zu analytischen Zwecken eingesetzt werden, etwa um eine Deletion zu erkennen. Werden die Primer seitlich der Deletionsstelle platziert, entsteht bei Vorliegen der Deletion ein kürzeres Produkt als beim Ausgangsallel. Es sollte vermieden werden, dass einer oder beide Primer im Bereich der Deletion liegen, da in diesem Fall bei Vorliegen der Deletion kein Produkt entsteht. Heterozygote Träger werden so mit hoher Wahrscheinlichkeit übersehen, da ihr normales Allel das gleiche Fragment ergibt, das man auch bei Gesunden beobachtet, und die klassische PCR bestenfalls eingeschränkt quantifizierbare Ergebnisse liefert. In der Praxis werden Designs wie das letztgenannte auch aufgrund der eingeschränkten Kontrollmöglichkeit (Ergebnis entspricht der Negativkontrolle) nach Möglichkeit nicht genutzt. Ein Ausnahmefall ist die Platzierung eines Primers über eine Mutationsstelle, an der Punktmutationen oder nur sehr kurze Deletionen oder Insertionen vorliegen, die im Agarosegel nicht als Größenänderung detektierbar sind. Hat der Primer die unveränderte Sequenz, entsteht ein PCR-Produkt nur, wenn keine Mutation vorliegt, da die Mutation die Komplementarität stört und damit die Bindungsstärke verringert. Besitzt anders herum der Primer die mutierte Sequenz, entsteht das PCR-Produkt nur, wenn die Mutation vorhanden ist.

Die Agarosegelelektrophorese nutzt das größenabhängige Wanderungsverhalten unterschiedlich großer DNA-Moleküle im elektrischen Feld. Dazu wird die Lösung mit den zu analysierenden DNA-Fragmenten in die Taschen eines Agarosegels eingefüllt und der Gellauf durch Anlegen einer Spannung gestartet. Da DNA bei sichtbarem Licht transparent ist, werden der Lösung zuvor ein oder zwei Farbstoffe zugesetzt, um die Wanderung der Probe verfolgen zu können. Die Detektion der DNA erfolgt unter UV-Licht mithilfe eines Fluoreszenzfarbstoffes. Die DNA-Fragmente bilden abhängig von ihrer Größe an bestimmten Positionen Banden unterhalb der Taschen. Die tatsächliche Größe kann durch Vergleich abgeschätzt werden, indem mindestens eine Tasche mit einem Marker beladen wird, der aus einem Gemisch von DNA-Fragmenten bekannter Länge besteht.

Szenario

Der Simulation liegt das Szenario zugrunde, dass bei einem 7-jährigen Mädchen juvenile NCL diagnostiziert wurde. Um die Diagnose abzusichern, soll die Mutation per PCR nachgewiesen werden. Zudem soll durch eine Familienuntersuchung geklärt werden, wer in der Familie ein oder zwei veränderte Allele trägt. Die Erkenntnisse sollen für eine humangenetische Beratung oder ggf. weitere Diagnosen genutzt werden. Das Mädchen hat einen Bruder sowie zwei Cousins und eine Cousine. Aus den Generationen davor leben noch die Eltern, der Onkel und eine Großmutter. Der Vater lehnt eine genetische Untersuchung bei sich ab, sodass sie bei ihm nicht durchgeführt werden kann.

Aufgabenstellung

- Es soll eine PCR mit vorgegebenen Primern durchgeführt werden, mit deren Hilfe zwei potenziell von Mutationen betroffene Bereiche des *CLN3*-Gens untersucht werden können.
- Das Ergebnis einer anschließend durchgeführten Agarosegelelektrophorese soll anhand der auf der Internetseite der Simulation skizzierten Primerpositionen analysiert werden.
- Aus den Analyseergebnissen sollen die Genotypen der untersuchten Familienmitglieder abgeleitet werden.

- Gibt es weitere Personen, die die Krankheit entwickeln (werden)? Wie unterscheidet sich das Risiko der Kinder, später ein Kind zu bekommen, das an NCL erkrankt? Wie hoch ist jeweils die Wahrscheinlichkeit, dass die Kinder ein betroffenes Allel weitergeben?
- Welche Rückschlüsse lassen sich auf die Genotypen der verstorbenen Familienmitglieder ziehen?
- [Falls auch ethisch-rechtliche Aspekte behandelt werden sollen:] Wie sollte mit Blick auf den Genotyp des Vaters verfahren werden, der die eigene Untersuchung abgelehnt hat? Ließe sich sein Genotyp auch ohne direkte Untersuchung ermitteln? Falls ja, wie groß ist der Aufwand? Wären er oder andere Laien dazu in der Lage?

Durchführung/Lösung

- Die Simulation ist im Internet verfügbar unter www.wisssim.de/nclgenanalyse. Im unwahrscheinlichen Fall, dass die Simulation dort aufgrund technischer Probleme nicht verfügbar ist, kann auf www.wisssim-seminare.de/nclgenanalyse ausgewichen werden.
- Die Simulation wird von oben nach unten durchgearbeitet, das Szenario und die durchzuführenden Schritte sind stichwortartig oder durch kurze Erläuterungstexte beschrieben; aktuell nicht durchzuführende Schritte sind inaktiviert. Um die Simulation auf Wunsch abzubrechen und neu zu starten, muss die Seite neu geladen werden.
- 1. PCR-Komponenten auswählen und PCR starten:
 Es müssen die zusätzlich zu den Primern erforderlichen Komponenten für die PCR-Reaktion ausgewählt werden (dNTPs, DNA-Polymerase und Puffer/Mg²⁺). Die Auswahl ist aus didaktischen Gründen auf maximal drei Komponenten beschränkt, da die zusätzliche Zugabe „falscher“ Komponenten den Ablauf der PCR nicht signifikant beeinflusst. Durch die Beschränkung hat eine Falschwahl zur Folge, dass eine essentielle Komponente fehlt und die PCR fehlschlägt.
 Durch einen Klick auf „PCR starten“ werden insgesamt 11 DNA-Proben analysiert: 8 Familienmitglieder sowie 3 Kontrollen. Da keine „Schmutzeffekte“ einer Durchführung im realen Labor simuliert werden und auch kein Lernziel sind, wird keine „Wasserkontrolle“ mitgeführt. Das PCR-Programm ist in dieser Simulation fest vorgegeben. Es werden nur 25 Zyklen durchgeführt, um die Ergebnisse für die Analyse des Bereichs in Exon 15 im semiquantitativ auswertbaren Bereich zu halten. Während die PCR simuliert wird, wird das Display der PCR-Maschine eingeblendet. Die Anzeige erfolgt in 10fachem Zeitraffer, ganz unten wird die vergangene simulierte Zeit in Minuten und Sekunden angezeigt.
Vertiefungsmöglichkeiten: Ablaufdetails einer PCR, Pufferabhängigkeit der Enzymaktivität/3D-Struktur, Unterschiede DNA/RNA, Doppelfunktion von ATP als Ribonukleotid der RNA und Energiespeicher im Zellstoffwechsel, Zweck und Art von Kontrollen (Überprüfung der Methode, des Materials, des Ergebnisses; Positiv-, Negativ-Kontrollen etc., Doppelwerte, unabhängige Wiederholungen, alternatives Experiment mit anderer Methodik, Verblindung, ...)
- 2. Marker auswählen und Gellauf starten:
 Für die Beladung des Gels muss der zu verwendende Marker ausgewählt werden. Aufgrund der zu erwartenden Banden mit Laufweiten zwischen 155 bp und 1121 bp ist die 100-bp-Leiter bis 1500 bp am geeignetsten.
 Nach dem Start des Gels öffnet sich ein Fenster mit der Ansicht des Gels. Über dem Gel befindet sich der Beladungsplan für die insgesamt 12 Spuren. Zunächst ist zu sehen, wie die Taschen des Gels beladen werden, dann startet der Gellauf in 10fachem Zeitraffer. Die beiden Farbstoffbanden laufen bei jeweils etwa 2000 bp bzw. 500 bp.
 Der Gellauf kann nach dem Einlaufen der Proben ins Gel durch einen Klick auf „Gel stoppen“ angehalten werden. Das angehaltene Gel kann per Klick unter UV-Licht betrachtet werden, sodass die DNA-Banden sichtbar werden (die Darstellung erfolgt wie bei Geldokumentationsanlagen üblich in Graustufen). Die Produkte entstehen bei der PCR grob

äquimolar, d. h., kürzere Fragmente ergeben in der Gelanalyse schwächere Banden, sofern sich die PCR-Reaktion und die Detektionsmethodik noch nicht in der Sättigung befinden. Nach dem Ausschalten des UV-Lichts können die Proben über den zum Stoppen verwendeten Knopf bei Bedarf weiter aufgetrennt werden. Eine gute Trennung der Fragmente ist üblicherweise nach etwa einer halben Stunde (3 min nach Gelstart in der Simulation) erreicht. Es ist gut zu beobachten, dass besonders die beiden kleinen Banden zu Beginn des Gellaufs noch nicht verlässlich getrennt sind.

Vertiefungsmöglichkeiten: Polung des Gels (Plus unten, Minus oben, da DNA negativ geladen ist), Fluoreszenz/Fluoreszenzfarbstoffe, Toxizität interkalierender DNA-Farbstoffe (Veränderung der DNA-Struktur und damit der Proteininteraktion), Nachweisgrenze/Hintergrundintensität, digitale Bildanalyse (Histogrammanalyse, Intensitätsquantifizierung, Kontrastverschiebung/Neuskalierung der Intensitäten; das Gelbild lässt sich dafür per Rechtsklick über die Zwischenablage in ein übliches Grafikprogramm, z. B. Gimp, kopieren)

○ Interpretation:

Aus jeder PCR gehen bis zu drei Banden hervor. Am einfachsten zu interpretieren ist die 1-kb-Deletion: Ein unverändertes Allel erzeugt ein Produkt mit 1121 bp. Ein Allel mit der Deletion führt zu einem um 966 bp verkürzten Produkt, d. h. 155 bp (vgl. Kontrollen „Normal-Kontrolle del“ und „Kontrolle del+“). So können auch heterozygote Fälle eindeutig erkannt werden. Etwas schwieriger ist die Interpretation für den Bereich in Exon 15: Hier liefern nur unveränderte Allele ein Produkt (mit einer Länge von 203 bp, vgl. „Normal-Kontrolle Ex15“). Dadurch kann nur eine homozygot vorliegende Mutation eindeutig erkannt werden (die jedoch extrem unwahrscheinlich ist, da Mutationen in diesem Bereich sehr selten sind). Zwischen heterozygot vorliegender Mutation und komplettem Fehlen einer Mutation kann nur durch einen Vergleich der Intensitäten unterschieden werden. Eine intensivere Bande bei 203 bp (wie in der Kontrolle) stammt von zwei unveränderten Allelen, eine schwächere Bande stammt von dem verbliebenen Allel im heterozygoten Fall. Um die Entscheidung hier zu erleichtern und letztlich sicher zu ermöglichen, werden Schwankungen in der PCR-Effizienz und der Template-Qualität und -menge in dieser Simulation nicht mitsimuliert, sodass die Bandenintensitäten von einer Spur zur nächsten verglichen werden dürfen. Aufgrund der Sättigung sind Mengenunterschiede in der insgesamt intensiveren 1121-bp-Bande nicht erkennbar.

Keine Mutationen finden sich beim Bruder und bei der Großmutter. Die Indexpatientin ist homozygot für die 1-kb-Deletion, ihre Mutter und ihre Cousine sind heterozygot. Der Onkel und der jüngere Cousin sind heterozygot für die Mutation in Exon 15. Der ältere Cousin ist gemischt heterozygot für beide Mutationen. Er ist mit 5 Jahren noch gesund, wird aber aufgrund seines Genotyps neben der Indexpatientin der einzige sein, der aus der Familie noch erkrankt, da wie bei seiner Cousine beide seiner Allele zur Produktion eines defekten Proteins führen – der einzige Unterschied ist, dass es bei ihm zwei unterschiedliche Defekte sind. Für alle Kinder ist das Risiko gering, später ein Kind zu bekommen, das an NCL erkrankt (lediglich für den Bruder ist es ausgeschlossen, da er keine Mutation trägt). Für die beiden erkrankten Kinder ist das Risiko fast genau doppelt so hoch wie für die heterozygoten Geschwister, da sie zwei mutierte Allele besitzen, sodass sie mit Sicherheit ein verändertes Allel weitergeben, sollten sie trotz ihrer schweren Erkrankung Eltern werden. Trotzdem ist auch bei ihnen die Wahrscheinlichkeit genauso niedrig wie bei allen anderen, dass ihr zukünftiger Partner oder Partnerin ebenfalls ein mutiertes Allel trägt, da die Allelfrequenz in der Bevölkerung niedrig ist. (Hier ist gut erkennbar, warum Kinder aus Verbindungen naher Verwandter ein hohes Risiko haben, rezessive Erberkrankungen zu entwickeln – die Wahrscheinlichkeit, dass beide Partner ein mutiertes Allel für dieselbe der vielen Erkrankungen tragen, ist dramatisch höher als gegenüber der übrigen Bevölkerung.) Die verstorbene Tante muss ebenfalls ein Allel mit der 1-kb-Mutation getragen haben, da es sonst nicht bei ihren Kindern auftreten könnte. Ihr zweites Allel muss unverändert sein, sonst könnte ihr jüngerer Sohn nicht heterozygot sein (da er die Exon-15-Mutation von seinem Vater geerbt hat, muss das unveränderte Allel von seiner Mutter stammen). Der verstorbene Mann der noch lebenden Großmutter muss mindestens ein Allel mit der 1-kb-Deletion getragen haben, da es sonst nicht bei seinen Kindern auftreten könnte. Das Vorhandensein eines zweiten Allels mit 1-kb-Deletion oder der Exon-15-Mutation ist unwahrscheinlich – aus

statistischen Gründen und weil er im Falle der dann zu erwartenden Erkrankung vermutlich keine Kinder gezeugt hätte; sollte er erst in hohem Alter gestorben sein, ist es aufgrund des Krankheitsverlaufs ausgeschlossen. Über die Genotypen der anderen Großelternpaare lässt sich am wenigsten rückschließen; sicher ist nur, dass jeweils mindestens (wahrscheinlich nur) ein Allel mit der Mutation vorlag, die jeweils in der Folgegeneration heterozygot auftritt. Der nicht untersuchte Vater muss ein Allel mit der 1-kb-Deletion tragen (sonst könnte seine Tochter nicht homozygot betroffen sein) und ein unverändertes Allel (sonst könnte sein Sohn nicht zwei unveränderte Allele tragen). Dies ist aufgrund der Untersuchungsergebnisse der Tochter und des Sohnes leicht zu erschließen und auch Laien mit Schulkenntnissen in Genetik möglich. In der klinischen Praxis würde dieser Rückschluss dem Vater nicht mitgeteilt werden, nur die untersuchten Familienmitglieder erhalten einen Befund. Die aktive Entscheidung zur Untersuchung der Kinder (jeder genetischen Untersuchung muss von den Betroffenen bzw. Sorgeberechtigten zugestimmt werden) wird in diesem Fall höher gewichtet als das Recht des Vaters auf Nichtwissen. Um diesem Wunsch des Vaters Rechnung zu tragen, werden ihm keine Schlussfolgerungen mitgeteilt. (Hinweis: Letztlich ist jede Konstellation individuell, sodass hier im Unterricht keine scheinbar allgemeingültigen Aussagen getroffen werden sollten. In der klinischen Humangenetik sind daher individuelle ärztliche Aufklärungsgespräche verpflichtend. Theoretisch wäre es beispielsweise möglich, dass der Vater die Mutation nicht trägt, sondern sie spontan aufgetreten ist. Spätestens durch den Nachweis der Mutation bei seiner Nichte und seinem älteren Neffen ist dies jedoch sehr unwahrscheinlich. Der Anteil an Spontanmutationen schwankt von Erkrankung zu Erkrankung. Der Sorge vor Schuldgefühlen, dass man nicht erkrankter Überträger einer rezessiven Erkrankung ist, kann in einem Beratungsgespräch entgegengetreten werden, da aufgrund der Vielzahl solcher Erberkrankungen jeder Mensch Überträger mehrerer solcher Erkrankungen ist. Dies entkräftet entsprechende Bedenken gegen einen Test zumindest objektiv. NCL manifestiert sich schon im Kindesalter, daher ist die Gendiagnostik bei Kindern gerechtfertigt. Bei Erkrankungen, die sich erst im Erwachsenenalter manifestieren, wird von der Untersuchung von Kindern abgesehen, insbesondere, wenn die Erkrankung schwer und keine Präventionsmaßnahme möglich ist, beispielsweise bei der dominant vererbten, nahezu immer tödlich endenden Huntington-Krankheit. Hier kann zudem der Fall auftreten, dass sich ein – bereits erwachsener – Enkel einer erkrankten Person testen lässt, sodass bei positivem Testergebnis klar ist, dass auch der verbindende, ggf. noch symptomlose Elternteil tödlich erkranken wird.)

Vertiefungsmöglichkeiten: Hardy-Weinberg-Gesetz zur konkreten Berechnung der Allel- und Genotypfrequenzen, Einsatzmöglichkeiten von Stammbaumanalysen, ethische und rechtliche Aspekte genetischen Testens (Recht auf Nichtwissen, Rückschlüsse auf den Genotyp verwandter inkl. noch nicht geborener Personen, Konsequenz der Information, Erfassung in Datenbanken wie Gesundheitskarte/Versicherungen, ...), psychologische Aspekte genetischen Testens (z. B.: „Gene kann ich nicht verändern“: „Dann ist es egal“ vs. „Dann brauche ich mich auch nicht anstrengen“ vs. „Dann muss ich erst recht veränderliche Faktoren beeinflussen“ vs. Depression; unterschiedliche Beurteilung je nach untersuchtem Aspekt: nicht therapierbare Krankheit mit 100%iger Penetranz vs. durch Lebensstil beeinflussbare Veranlagung, humangenetische Beratung mit Blick auf Familienplanung – medizinische, soziale, ethische, religiöse Beurteilung)

Technische Hinweise

- Es werden keine Cookies verwendet, keine speziellen Freigaben benötigt und keine lokale Speicherung durch die Internetseite genutzt.
- Javascript muss aktiviert sein (Standardeinstellung aktuell üblicher Browser).
- Aufgrund einer aktuell von Safari noch nicht unterstützten Funktion wird die in der Realität zu beobachtende, zunehmende Unschärfe der Banden bei diesem Browser nicht dargestellt. Dies hat jedoch keinen Einfluss auf die Interpretation der Banden und ihrer Laufweiten.
- Nachdem die Seite aufgerufen ist, wird für die Durchführung der Simulation keine weitere Internetverbindung benötigt. Das zum Laden benötigte Datenvolumen beträgt nur etwa 20 Kilobyte.

Weitere Hinweise

- Der Fokus der Simulation liegt auf der Auswertung einer diagnostischen PCR und der Verfolgung von Mutationen innerhalb eines Familienstammbaums. In einer alternativ einsetzbaren Fortgeschrittenen-Version der Simulation liegt der Fokus auf der Entwicklung einer analytischen PCR, wobei ein tieferes Verständnis der molekularbiologischen Details erforderlich ist und erreicht wird.

Ausgewählte Literatur

- Ceroid Lipofuscinosis, neuronal, 3; CLN3; Eintrag in der Datenbank *Online Mendelian Inheritance in Man*; www.omim.org/entry/204200
- Mirza et al.: The CLN3 gene and protein: What we know; *Mol Genet Genomic Med* 2019, 7, 12; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31568712>
- Standardwerke der Biochemie oder Humangenetik

Autor: Dr. Alexander Laatsch, www.wisssim.de

*Das Projekt wurde realisiert mit freundlicher
Unterstützung der Klaus Tschira Stiftung.*

 **NCL-Stiftung**
Für eine Zukunft ohne Kinderdemenz
Holstenwall 10
20355 Hamburg
Tel. +49 (40) 69 666 74-0
contact@ncl-stiftung.de