

Wozu virtuell Gene lokalisieren?

1990 beschrieben die beiden Fachjournalisten des Wall Street Journals J.E. Bishop und M. Waldholz in einem spannenden Buch „Landkarte der Gene“, wie Wissenschaftler mit viel Glück und noch mehr Ideen in speziellen Populationen die Gene diverser Krankheiten suchten und fanden. Besonders eindrucksvoll wird über das „Huntington-Gen“ berichtet. Die Protagonistin Nancy Wexler, die die Forschungen maßgeblich vorwärtstriebe, gab im Oktober 2000 in einem beeindruckenden Interview der Neuen Züricher Zeitung an, das von ihr erforschte Wissen für sich selbst nicht ausnutzen zu wollen. (www.-x.nzz.ch/folio/archiv/2000/09/articles).

Die Methoden, Gene zu lokalisieren, deren Erforschung bei Bishop und Waldholz beschrieben und deren Anwendung von Wexler problematisiert wird, können die Schüler im PedigreeLab in wenigen Schulstunden nachvollziehen. Sie benutzen dabei einfache Rekombinationsanalysen (vgl. Virtual FlyLab). Eine weiterführende Beschäftigung mit dem Thema über das Internet und wissenschaftliche Datenbanken bieten sich an.

Programmvorstellung

PedigreeLab ist ein Simulations-Programm im „Electronic Desktop Project“ der California State University in Los Angeles. 22 Gene für monogene Humankrankheiten können an jeweils 100 Stammbäumen auf ihre Erbgänge untersucht werden. Mit 17 DNA-Markern und einer Kopplungsanalyse kann man die Genloci feststellen.

Das Programm verlangt eine Passnummer. Diese erhält man für ein Jahr online per Kreditkartenzahlung von 5,25\$ bei <http://www.biologylab.awlonline.com> oder zusammen mit einem Infoheft über www.amazon.co.uk zu einem Preis von ca 4-12 £ („Desharnais“ suchen; Lieferbedingungen wechseln monatlich).

Beim Start wird ein Java-Applet geladen, das es im weiteren erlaubt, offline zu arbeiten.

Man wählt eine Krankheit aus, bestimmt in „Full Pedigree“ aus 100 Stammbäumen den Erbgang, wählt in „Large Family“ einen Marker, entscheidet welche Kombinationen von Großeltern-Eltern-Nachkommen für eine Rekombinationsanalyse brauchbar sind und führt die Analyse durch. Bei jedem Stammbaum zählt man die Rekombinanten und trägt die Ergebnisse in eine Tabelle ein; das Programm summiert über alle Stammbäume die Daten und liefert Rekombinationshäufigkeiten und „LOD-Scores“. Daraufhin kann man den Genort grafisch in ein Chromosomenbild einordnen. Da auf jedem Chromosom mehrere Marker angeboten werden, kann man durch Analyse mit einem weiteren Marker das erste Ergebnis falsifizieren und/oder präzisieren.

Curriculare Einbettung

Das Programm findet seine Einsatzmöglichkeit im Rahmen der Humangenetik:

- die Stammbaumanalyse zur Aufklärung von Erbgängen,
- die Kopplungsanalyse als ein Schritt des Human-Genom-Projektes: Wo liegt ein Krankheitsgen?

Die Kopplungsanalyse ist mit der Idee der RFLPS historisch der Durchbruch zum Auffinden von humanen Krankheitsgenen gewesen. (vgl dazu Chorea Huntington = Huntington Disease = HD; Nancy Wechsler in: <http://www-x.nzz.ch/folio/archiv/2000/09/articles/res.html>) Auch heute - Anfang 2002 - werden in vielen Laboren weltweit derartige Analysen durchgeführt. (WWW-Suche nach „LOD Score“, „Recombination“ oder ähnliches)

Bewertung des Programmes

Gegenüber vielen anderen Computerprojekten zur Biologie haben die BiologyLabs den unschätzbaren Vorteil, dass keine Lösungen abrufbar sind. Wie im Realexperiment müssen die SchülerInnen in PedigreeLab die Erbgänge selbst erschließen; die Lokalisierung der Gene muss durch Kontrollexperimente gesichert werden.

Hypothesen müssen aufgestellt und können umgehend mit den DNA-Markern an den vielen gegebenen Stammbäumen getestet werden.

Die Beschreibungen der Krankheiten und die ausführlichen Informationen - auf englisch - sollten eigentlich verwendet werden. Die SchülerInnen kennen aus dem Internet die Dominanz englischer Informationen. Daher akzeptieren sie die Notwendigkeit, die englische Sprache als Alltagswerkzeug zu benutzen. Aber man kann sich auch auf die Vermittlung von wenigen Fachbegriffen beschränken, die deutsche Übersetzung der Fachdidaktik Biologie Bonn (Juliane Kamann) benutzen und die Krankheitsinformationen über das WWW auf Deutsch zusammentragen lassen.

Wenn es dem Lehrer gelingt, die aktuelle Bedeutung der Methode und der daraus gewonnenen Ergebnisse für unseren zukünftigen Umgang mit unseren Genen zu vermitteln, werden die SchülerInnen mit großem Eifer nach den genauen Genorten des Gens für Cystische Fibrose usw. suchen!

Vorgehen:

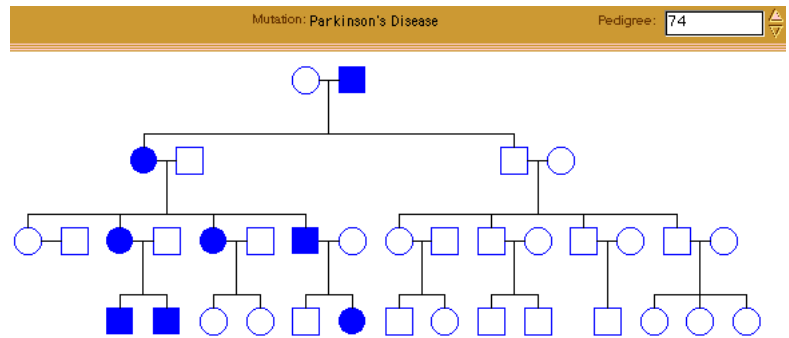
- Gehen Sie zu www.biologylab.awlonline.com und wählen Sie PedigreeLab.
- Geben Sie Ihren Benutzernamen und Ihr Passwort ein; nach dem Login erscheint ein Informationsdokument und der Knopf „Start“. Starten Sie das Applet - u.U. müssen Sie etwas warten.
Das Applet - das eigentliche PedigreeLab-Programm - wird in einem kleinen eigenen Fenster gezeigt.
Sie können den Browser auf „Offline“ stellen, dürfen das Hauptfenster jedoch nicht schließen.
- Wählen Sie in „Information“ eine Krankheit aus, deren Genort Sie finden wollen! (Vorschlag: Parkinson Park1, Phenylketonurie Phen oder Cystische Fibrose CF)



- Stellen Sie aufgrund der „Full Pedigrees“ eine Hypothese über den Erbgang auf!

Beispiel Parkinson:

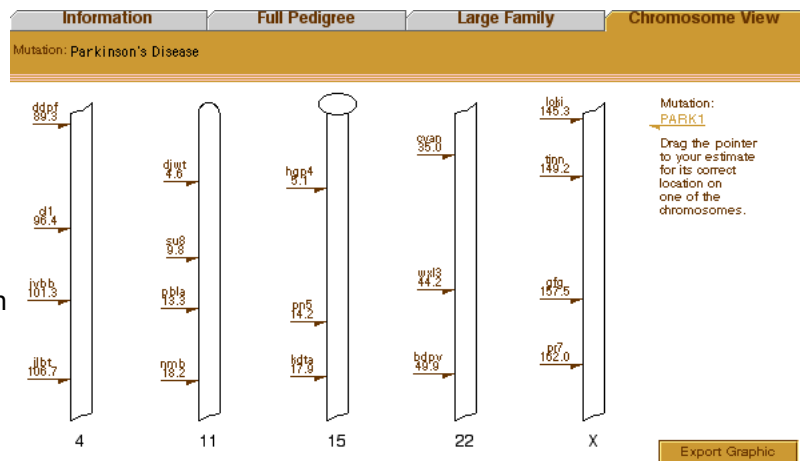
- beide Geschlechter etwa gleich betroffen, daher autosomal;
- wenn ein Elternteil krank ist, dann sind die Kinder etwa zu 50% krank;
- wenn beide Eltern gesund sind, sind auch alle Nachkommen gesund;



Hypothese für Parkinson 1: autosomal dominanter Erbgang.

- Informieren Sie sich in „Chromosome View“ über die Lage der verfügbaren Marker.

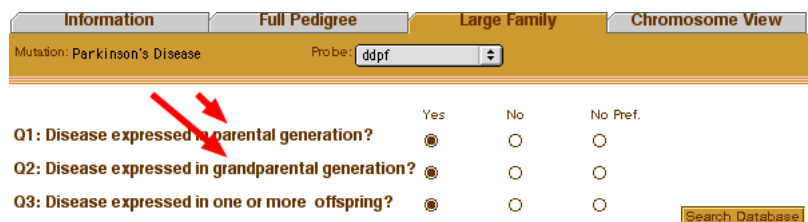
Den Pfeil für das Krankheitsgen kann man mit der Maus an den Chromosomen ablegen. Es gibt im Programm jedoch keine Information, ob die Entscheidung „richtig“ ist. Nur eigene Kontrolluntersuchungen und eventuelle Recherchen in wissenschaftlichen Datenbanken helfen weiter.



- Wählen Sie in „Large Family“ den Marker, in dessen Umgebung Sie nach dem Krankheitsgen suchen wollen!

Geben Sie an, welche Stammbäume für die Suche benutzt werden sollen:
P = grandparents-, F1 = parents- oder F2 = Offspring-Generation?

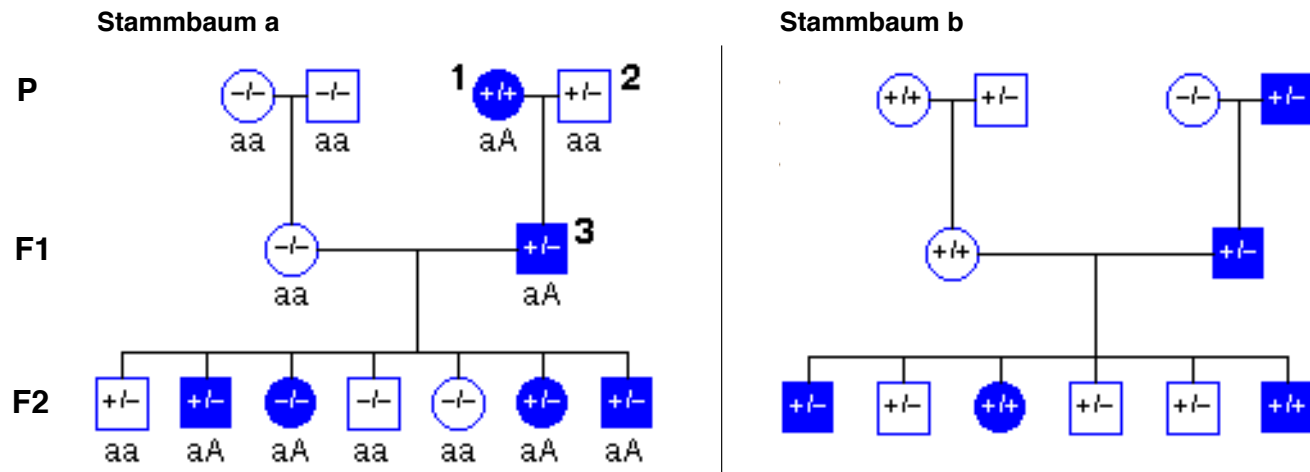
(Achtung: Reihenfolge im Programm irreführend!)



	Yes	No	No Pref.
Q1: Disease expressed in parental generation?	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Q2: Disease expressed in grandparental generation?	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Q3: Disease expressed in one or more offspring?	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

- Starten Sie die Datenbanksuche!

Beispiel Parkinson; Hypothese für den Erbgang: autosomal dominant; Marker beliebig



Sie untersuchen 2 Gene. Die Ausprägung des Krankheitsgens ist phänotypisch durch die Farbe weiß/blau angegeben, die Allele des Markers sind genotypisch mit + / - dargestellt. Es empfiehlt sich zunächst, die Genotypen zur Krankheit unter Ihrer Hypothese aus den „full pedigrees,, zu ergänzen (Doppelklick auf die Person) bis das Vorgehen klar ist.

**Aufgabe 1.1 (Musterlösung; mit Arbeitsblatt zu bearbeiten):
Welche F2-Personen sind Rekombinanten?**

Suche eine „Paarung“ in der F1 - also der „parents“ - mit folgenden Eigenschaften:
 Ein Partner homozygot rezessiv, also **gesund (aa)** mit RFLPs **++ oder --**
 der andere Partner heterozygot, also **krank (aA)** mit RFLPs **+-**

- a) In welcher Kombination wurden die Allele dem heterozygoten Partner vererbt?
 In Stammbaum a: Das „-“ des **kranken** Vaters 3 kann nur mit „a“ vom gesunden Großvater 2 kommen;
 Also waren in den Keimzellen vom Großvater 2 (**a -**) und von der Großmutter 1 (**A +**) verknüpft.
 - b) Wie sehen Nicht-Rekombinanten in F2 („offspring“) aus?
 Wenn vom Vater 3 (**a -**) oder (**A +**) weitergegeben wurde, hat **keine** Rekombination stattgefunden.
 Von der Mutter (entspricht homozygot rezessivem Rückkreuzungspartner) kommt auf jeden Fall (gesund -).
- Wegen der Dominanz der Krankheit gilt:**
(gesund --) und (krank +-) sind die Rekombinanten
(gesund +-) und (krank --) sind die Rekombinanten.
- c) Stellen Sie entsprechende Überlegungen für den Stammbaum b an!

Aufgabe 1.2 (mit dem Programm zu bearbeiten):

Liegt das Parkinson-Gen auf demselben Chromosom wie der (selbst gewählte) Marker?

(Stammbäume sind nicht wiederholbar, da das Programm sie aus den gewählten Daten zufallsgesteuert berechnet!)

- d) Zählen Sie Rekombinanten über mehrere Stammbäume!
Achten Sie auf die Veränderungen mit der wachsenden Zahl der Daten.
Welche Häufigkeit finden Sie? Eine Rekombinationshäufigkeit deutlich unter 50 % deuten auf Kopplung hin.
Der „LOD-Score“ liefert einen genaueren Hinweis. Er berücksichtigt die Wahrscheinlichkeit einer zufällig niedrigen Rekombinationshäufigkeit bei kleinen Probandenzahlen.
(Zur Vertiefung s. Seyffert: Genetik oder Internetsuche.)
Liegt der LOD-Score deutlich über 0, lohnt die Weitersuche;
Ein LOD-Score über 3 gilt als Nachweis für eine Kopplung!
Mehr Wissen zum LOD-Score benötigen Sie hier nicht.
- e) Ordnen Sie in der Chromosomenansicht das Gen für Parkinson ein!
- f) Kontrollieren bzw. Präzisieren Sie Ihr Ergebnis durch Rekombinationsanalyse mit einem geeigneten anderen Marker!

Beispiele für 5 Marker, ca 40 Stammbäume ausgewertet

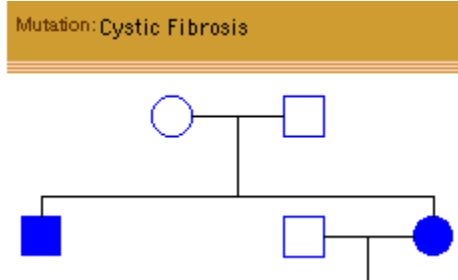
Probe Search Results Durst 3.3.02

Parkinson's Disease, Familial, Type 1

#	Probe	Q1=F1	Q2=P	Q3=F2	Non-Rek	Rek	% Rek	LOD
1	pn5	yes	yes	yes	12	9	42,9	0,093
2	wxl3	yes	yes	yes	55	52	48,6	0,018
3	jlbt	yes	yes	yes	103	2	1,9	27,308
4	jbby	yes	yes	yes	192	5	2,5	49,182
5	cl1	yes	yes	yes	234	20	7,9	46,051

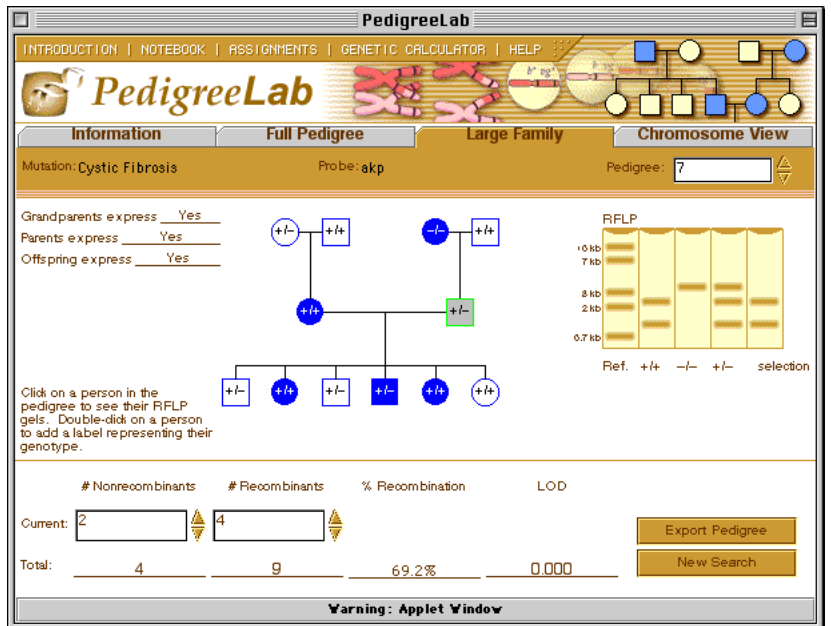
Beispiel Cystische Fibrose:
Erbgang in Full Pedigree

Abb 1



Beispiel Cystische Fibrose:
Rekombinationsanalyse „Large Family“
mit dem Marker akp auf Chromosom 2

Abb 2



Aufgabe 2:

Welchen Erbgang vermuten Sie nach dem Stammbaum Abb 1?

Tragen Sie unter dieser Hypothese die Genotypen zu den Personen in Abb 2 ein!

Welche F2-Personen (= Offspring) sind Rekombinanten?

Suche eine „Paarung“ in der F1 („parents“) mit folgenden Eigenschaften:

homozygot rezessive, also **Person mit RFLPs ++ oder --**
heterozygote, also **Person mit RFLPs +-**

- Ist die Verknüpfung von Marker (+ oder –) und Krankheitsallel in den Keimzellen der P-Generation (Grandparents) eindeutig?
- Wie sehen **Nicht**-Rekombinanten in F2 (Kinder) aus?
- Zählen Sie Nicht-Rekombinanten und Rekombinanten über mehrere Stammbäume und stellen Sie eine Hypothese zur Kopplung auf!
Wechseln Sie danach den Marker oder sammeln Sie Daten von mindestens 30-50 Stammbäumen!
- Stellen Sie eine erste Hypothese zum Genlokus auf!
- Kontrollieren und präzisieren Sie Ihre Hypothese durch Vergleich mit einem anderen Marker auf demselben Chromosom!
- Verifizieren Sie Ihr Ergebnis durch Vergleich mit Daten aus einer professionellen Gendatenbank, z.B. des NCBI unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> oder von dort bei OMIM

In PedigreeLab verfügbare Krankheitsgene

Abk.	Englisch	Deutsch	Kommentare: Häufigkeit, Schwere, Erbgang
AD3	Alzheimer's Disease, Familial, Type 3	Alzheimer	
ALS	Amyotrophic Lateral Sclerosis		
CBD	Color Blindness, Deutan	Farbenblindheit	
CF	Cystic Fibrosis	cystische Fibrose, Mukoviszidose	1:2500; autosomal rezessiv; tödlich max 30 J. Leben (Watson et al. 1992)
DMD	Duchenne Muscular Dystrophy		
DMPK	Myotonic Dystrophy		
HBB	Sickle-Cell Disease		
HD	Huntington's Disease	Chorea Huntington	
HEMA	Hemophilia A	Bluter	
HNPCC	Colorectal Cancer, Familial, Nonpolyposis Type 2		
LQTS	Long Q-T Syndrome, Type 1		
MFS	Marfan's Syndrome		
MK	Menkes' Disease		
MLM	Familial Melanoma		
NF2	Neurofibromatosis, Type II		
NSD	Nonsyndromic Sensorineural Deafness		
OCA2	Albinism Type II	Albinismus	
PARK1	Parkinson's Disease, Familial, Type 1	Parkinson	(nicht in OMIM, nur PARK3 auf 2p12; autosomal dominant könnte stimmen)
PKD1	Polycystic Kidneys		
PKU1	Phenylketonuria	Phenylketonurie	
WRN	Werner's Syndrome		
WS	Waardenburg's Syndrome		

In PedigreeLab werden für jede Krankheit etwa 17 DNA - Marker auf 5 Chromosomen zur Kartierung angeboten, die von Krankheit zu Krankheit variieren.

In PedigreeLab verwendete Symbole:

blaue Farbe: + oder - Genotyp	krank Marker vorhanden oder nicht - keine Dominanzaussage möglich frei wählbare Buchstaben
Quadrat im Stammbaum Kreis im Stammbaum	Mann / Junge Frau / Mädchen