


Alles Gute **VDGH** !

Wir freuen uns, heute unserem langjährigen Partner zum 30-jährigen Jubiläum gratulieren zu können.

 möchte sich für viele Jahre erfolgreicher Zusammenarbeit beim VDGH Verband der Diagnostica-Industrie e.V. und seinem Geschäftsführer Dierk Meyer-Lüerßen bedanken. Er hat nicht nur zahlreiche Beiträge für die Zeitschrift verfasst, sondern auch unser wichtigstes IT-Projekt, den „DRG Watchdog“, ins Leben gerufen (www.trillium.de).

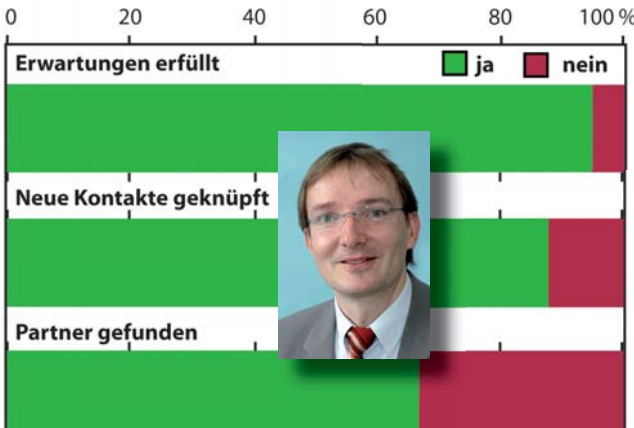
In 30 zum Teil stürmischen Jahren trug der VDGH stets zur „Verkehrsberuhigung“ im Markt der Labordiagnostik bei. Seit kurzem bietet er auch Herstellern von Life-Science-Reagenzien und -Laborsystemen eine Heimat. Die Lebenswissenschaften weisen den Weg in die nächsten 30 Jahre - und der VDGH hat dies zur rechten Zeit erkannt. Glückwunsch!



Von der Forschung zur Diagnostik

Ein Blick in die Kochtöpfe

In der neuen Rubrik „Medizin & Life Science“ geht es um technologische Fortschritte der Genomanalytik und den Brückenschlag zwischen Forschung und Diagnostik.



Auf diese guten Umfrageergebnisse zum Technologieforum Diagnostik 2006 können der PtJ, die DECHEMA e.V. und die VBU stolz sein. Die Tagung wurde von den Teilnehmern rundum als Erfolg empfunden (im Bild: Organisator Dr. Andreas Scriba).

Seit kurzem kann man DNA-Sequenzierungen zum Preis von weniger als einem Cent pro Base durchführen. Damit scheint das private 1000-Dollar-Genom in greifbare Nähe zu rücken – gleichzeitig erhebt sich die Frage: Wer braucht das wirklich? Die Vermittlung zwischen biotechnologischer Forschung und medizinischer Anwendung ist für die DECHEMA e.V.

ein zentrales Anliegen. Ende November letzten Jahres fand in Frankfurt das erste Technologieforum Diagnostik statt. Die zweitägige Veranstaltung wurde im Auftrag des BMBF von der DECHEMA e.V. und der Vereinigung deutscher Biotechnologie-Unternehmen (VBU) gemeinsam mit dem Forschungszentrum Jülich (PtJ) organisiert und brachte unter dem Motto „Science meets Industry“ Entwickler und Anwender innovativer Technologien mit Entscheidungsträgern der Industrie zusammen. In über 30 Vorträgen konnten sich mehr als 160 Teilnehmer über neue Produkte,

Applikationen und Kooperationsangebote von Forschungseinrichtungen und Biotech-Unternehmen informieren und neue Kontakte zwischen Forschern und Anwendern knüpfen.

Am 11. und 12. Dezember 2007 soll sich dieser Erfolg wiederholen, wobei diesmal noch verstärkt klinische Diagnostiker eingeladen sind, einen Blick in die Kochtöpfe der Forscher zu werfen. Eine Podiumsdiskussion mit Vertretern aus Politik, Berufsverbänden und Industrie soll klären, welche Technologien in der medizinischen Praxis benötigt werden. ■

Dr. Olaf Spörkel
Chefredakteur

Gasteditorial

Selbstverständlich begrüßt der BIO Deutschland e.V. als Wirtschaftsverband der Biotechnologiebranche Programme zur Stärkung des Wissenschaftsstandorts Deutschland. Sie ermöglichen hochklassige Grundlagenforschung und üben auf exzellenten wissenschaftlichen Nachwuchs große Anziehungskraft aus.

Wir setzen uns aber auch für die kleinen und mittleren Biotechnologieunternehmen ein, die oft in riskante Innovationen investieren, um hochwertige Arbeitsplätze zu schaffen. Darum ist für uns entscheidend, dass Forschungsförderung ihre Kräfte ohne das Risiko der Wettbewerbsverzerrung entfalten kann.

Immer wieder kommt uns zu Ohren, dass Hochschulangehörige Routineuntersuchungen im Bereich der DNA-Sequenzierung zu Preisen weit unter denen privater Wettbewerber anbieten. Der Grund ist vermutlich, dass sie die mit öffentlichen Mitteln finanzierten Ressourcen wie Gebäude, Personal oder Großgeräte nicht anteilig berücksichtigen.

Was ihnen dabei nicht immer bewusst sein dürfte: Das missbräuchliche Ausnutzen dieses Wettbewerbsvorsprungs erfüllt das Merkmal des unlauteren Wettbewerbs. Es ist denkbar, dass manche öffentliche Einrichtungen auch in anderen Bereichen Service- und Routineleistungen anbieten, ohne dieses Risiko wirklich zu kennen. Deshalb sprechen wir derzeit die Verantwortlichen gezielt an - schließlich ist uns allen an einem fairen Wettbewerb gelegen. ■

Dr. Viola Bronsema
Geschäftsführerin
BIO Deutschland e.V.
www.biodeutschland.org

Fairer Wettbewerb

2. Technologieforum Diagnostik

11. und 12. Dezember 2007, DECHEMA-Haus, Frankfurt/Main



Von der Forschung zur Diagnostik

- Kurzpräsentationen zu marktnahen Forschungsergebnissen, Produkten und Verfahren auf dem Gebiet der Diagnostik
- Kooperations- und Patentangebote
- 30 Technologievorträge
- Onsite Partnering

PLENARVORTRÄGE

- **Neue Verfahren und Tests – was braucht die Labordiagnostik?**
Prof. K. Lackner, DGKL e.V.
- **Molekulare Diagnostik – Zukunftstrends**
Prof. W. Schlake, BV Path e.V.

PODIUMSDISKUSSION

- **Ist die individualisierte Medizin in Zukunft noch bezahlbar?**



Mehr Informationen erhalten Sie unter: www.dechema.de/techforum07

Parallele Sequenzierung zur Tumorcharakterisierung

Preiswerte Entdeckungsreisen

Ein neues hochparalleles DNA-Sequenzierungsverfahren mit Mikropartikeln verbessert die Suche nach neuen krankheitsspezifischen Mutationen erheblich. Im Gegensatz zur Genotypisierung kann man damit bisher unbekannte genetische Variationen im Erbgut entdecken und Tumor-Allele selbst in heterogenen Gewebeproben hochsensitiv identifizieren.

Klassische Sequenzierungstechniken stoßen bei der molekularbiologischen Charakterisierung von Tumoren schnell an ihre Grenzen. Kontaminationen aus dem Tumor-Bindewebe und die genetische Heterogenität von Krebs erschweren die Sequenzierung und führen bei Standardmethoden wie der Sanger-Technik zu hohen Fehlerquoten. War dieses auf Elektrophorese basierende Verfahren noch der Grundpfeiler des Humangenomprojekts, ist die Sensitivität nicht ausreichend, um komplexe Gewebeproben genetisch eindeutig zu identifizieren.

Die parallele Sequenzierung mit dem Genome Sequencer 20 System (GS 20) von Roche ist eine neue Technologie, die extrem schnell und sensitiv Mutationen auch in heterogenen Proben aus karzinogenem Gewebe nachweisen kann. Sie basiert auf der klonalen Amplifikation von Einzelmolekülen auf Mikropartikeln (Beads), die in einer Emulsion isoliert vorliegen. Die amplifizierte DNA wird auf den Beads, die in die Vertiefungen einer PicoTiterPlate platziert werden, hochpar-

allel sequenziert. Dabei führt der GS 20 Nukleotidlösungen über die Platte. Wird ein passender Nukleotidbaustein eingefügt, gibt es ein Lichtsignal („Pyrosequencing“), das eine Kamera aufzeichnet. Die DNA-Sequenz setzt sich anschließend aus der Gesamtheit aller Signale zusammen.

Ein Beispiel des breiten Anwendungsspektrums der GS 20-Sequenzierung ist die exakte molekulare Bestimmung heterogener Krebsproben. So berichten Thomas et al. (Nature Medicine 2006: 12; 852–855) über ihre Erfahrungen mit dem System beim gezielten Nachweis von Mutationen in heterogenen Proben aus kanzerogenen Geweben.

Bei Mutationsanalysen in primären Tumorproben amplifizierten die Forscher mittels PCR aus DNA von 22 Lungenkarzinom-Proben individuell elf Fragmente des Epidermal-Growth-Factor-Receptor (EGFR) Gens (Exons 18 – 22) mit einer Größe von ca. 100 bp. Mithilfe der GS 20-Sequenzierung konnten zu den bekannten Mutationen weitere, neue Varianten nachgewiesen werden, darunter eine bis dato unbekannte Insertionsmutante und eine bereits veröffentlichte Deletionsmutante, die mit der Sanger-Technologie nicht entdeckt worden waren.

Darüber hinaus analysierten die Autoren mit dem System Formalin-fixiertes, paraffinisierendes (FFPE) Gewebe, eine der Hauptquellen für klinisch verfügbare Krebsproben. Thomas et al. untersuchten zehn FFPE-Lungenkrebsproben, von denen fünf Mutationen in der EGFR-Kinase

Domäne 15 enthielten. Sie fanden mithilfe des Sequencers alle fünf Mutanten wieder, in Häufigkeiten zwischen 4,1 und 43,5 Prozent. Die Autoren schließen daraus, dass die Methode auch für die Analyse von FFPE-Proben einsetzbar ist.

In ihrer Veröffentlichung bestätigen Thomas et al., dass die Sequenzierungsmethode zur Detektion selten vorkommender onkogener Mutationen in komplexen Proben mit geringem Tumorgehalt geeignet ist – eine Anwendung, welche die Sanger-Methode nicht leisten kann. ■

Dr. Burkhard Ziebolz

Roche Diagnostics GmbH, Penzberg

Tel.: 08856/604830

burkhard.ziebolz@roche.com

www.roche-diagnostics.com



Das Genome Sequencer 20 System erreicht eine Sequenzierleistung von mind. 20 Mio. Basen in einem einzigen fünfständigen Durchgang. Er ist damit etwa 60 mal schneller als die herkömmliche Sanger-Methode.

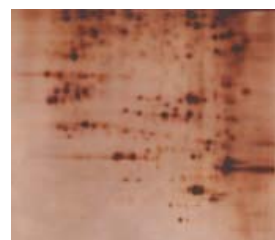
Technologie kurz und bündig

Das Protein macht's

Das Genom gibt nur unzureichend Auskunft über dynamische Vorgänge in der Zelle. Um z.B. Stoffwechselwege untersuchen oder maligne Entartungen erkennen zu können, ist eine Analyse auf Proteinebene erforderlich.

Die Herausforderung der Proteom-Analytik ist groß, denn die 25.000 Gene des Menschen kodieren für weit über 100.000 Proteine, die in unterschiedlichen Mengen exprimiert und nachträglich auch noch so modifiziert werden, dass sie sich an die jeweiligen funktionellen Anforderungen der Zelle anpassen.

Für eine detaillierte Analyse des Proteoms stehen mehrere Technologien zur Verfügung. Ein Standardwerkzeug ist die 2D-Gelelektrophorese, die Proteine - wie der Name besagt - in zwei Dimensionen, nämlich anhand ihres isoelektrischen Punktes (im Bild von rechts nach links) und ihrer Molekülmasse (von oben nach unten), auf trennt. Trotz des hohen manuellen Aufwands ist die Methode nach



wie vor die Grundlage der Auftrennung vieler komplexer Proteinmischungen.

Anschließend können die gefärbten Proteinpunkte mit Robotern ausgestanzt werden, um sie weiteren Trenn- und Analyseverfahren wie der Massenspektrometrie zuzuführen. Dabei zeigt sich, dass hinter einem „Spot“ oft viele weitere Proteine stecken. Durch Computervergleich solcher „Protein-Fingerabdrücke“ kann man schließlich versuchen, Marker für Krankheiten wie Krebs zu identifizieren. ■ os

Jim und das 1000-Dollar-Genom

Ultraschnelle Sequenzierverfahren sollen die Kosten der Genomanalyse so senken, dass jeder Einzelne einen erschwinglichen Zugriff auf das eigene Erbgut erhält. Technisch ist das denkbar, die Frage ist nur, was es bringt.



Nobelpreisträger James Watson

Als Watson und Crick 1953 die dreidimensionale Molekülstruktur der DNA als Doppelhelix identifizierten, legten sie den Grundstein für die Biowissenschaften und Genomforschung. Ein halbes Jahrhundert später verfolgen Unternehmen das Ziel, die Entzifferung eines kompletten Genoms für 1000 Euro anzubieten. Die Idee, ein humanes Genom kostengünstig und in kurzer Zeit zu sequenzieren, hob die amerikanische Firma 454 Life Sciences aus der Taufe. Als DNA-Spender kam für das Unternehmen nur eine Person in Frage: Der DNA-Pionier James Watson. Das

gesamte Vorhaben mit dem Namen Projekt Jim fand seinen Abschluss Ende Mai diesen Jahres.

Mit Watsons Zustimmung sequenzierte das Unternehmen innerhalb von knapp zwei Monaten das Erbgut des Nobelpreisträgers, immerhin drei Milliarden Basen. Die komplette Sequenz brannte das Unternehmen auf DVD und übergab es Watson. Er selbst kann bestimmen, welche Basenfolgen veröffentlicht werden dürfen und welche der Öffentlichkeit nicht zugänglich gemacht werden sollen. Bereits im Vorfeld hatte Watson darauf bestanden, auf eine Veröffentlichung des ApoE-Gens zu verzichten. Diese Gensequenz wird mit der Entstehung von Morbus Alzheimer in Verbindung gebracht. Die Kosten für das Projekt Jim lagen allerdings nicht bei 1000, sondern bei einer Million Euro.

Während das Humane Genomprojekt um die Jahrtausendwende ca. drei Milliarden Euro verschlang, kostete 2006 der Zugriff auf einen Genbaustein weniger als einen Cent. Die Schallmauer von 1000 Euro für eine komplette Genomsequenz liegt noch in der Zukunft, soll aber in einigen Jahren fallen. Für diese Summe kann sich dann jeder über seine genetischen Veranlagungen informieren. Mithilfe der Gendaten sollen sich im Rahmen einer individualisierten Medizin Therapien maßgeschneidert anpassen und die Verträglichkeit von Medikamenten verbessern lassen - so zumindest die Hoffnung der Wissenschaftler.

Mittlerweile arbeiten eine ganze Reihe von Forschungseinrichtungen und Unternehmen an neuen Sequenziertechnologien und Geräten, die billiger und schneller

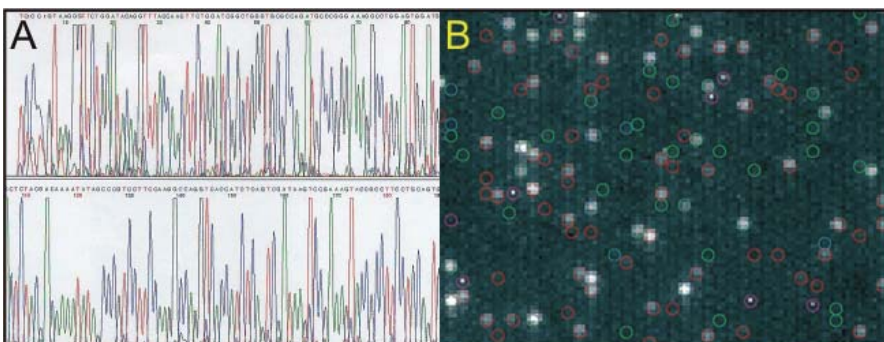
DNA-Fragmente oder komplette Genome sequenzieren können. Der Großteil der Systeme befindet sich noch in der Entwicklungsphase. Kommerziell erhältlich sind bisher zwei Lösungen: Der Genome Sequencer von 454 Life Sciences (Roche) und der Genome Analyzer von Solexa (Illumina). Beide Methoden eignen sich besonders gut für Re-Sequenzierungen und die Detektion von Mutationen in bekannten Sequenzen. Im Vergleich zu den herkömmlichen elektrophoretischen Methoden sind die Leseweiten jedoch geringer. Neuere Forschungsergebnisse mit dem Genome Sequencer zeigen, dass auch De-Novo-Sequenzierungen bzw. die Entzifferung unbekannter Genome oder Teilgenome möglich sind. Laut Hersteller schaffen beide Systeme bis zu einer Milliarde Basenpaare pro Lauf. Die Preise dieser Geräte liegen bei etwa einer halben Million Euro.

Unabhängig von den technischen Möglichkeiten stellt sich die Frage nach dem Nutzen. Was bringt es dem Einzelnen, wenn er seine komplette Genomsequenz kennt? Die wenigsten Krankheiten sind monokausal und lassen sich auf eine einzelne Mutation innerhalb eines Gens zurückführen. Erkrankungen wie Krebs, Rheuma oder Demenz entstehen nur dann, wenn viele Faktoren zusammenspielen. Neben den genetischen Prädispositionen gehören Umwelteinflüsse und Verhaltensweisen zu den Ursachen, die letztendlich zur Manifestation der Symptome führen. Wie die Zelle die Genexpression reguliert und festlegt, wann welche Merkmale ausgebildet werden, ist nur in Ansätzen verstanden.

Immerhin wissen wir seit einigen Jahren, dass auch die bislang als genetischer Müll bezeichneten DNA-Sequenzen zwischen den Genen, die rund 97 Prozent des gesamten Genoms ausmachen, nahezu vollständig abgelesen werden und Funktionen bei der Genregulation übernehmen. Diese nichtkodierenden Ribonukleinsäuren regulieren das Gleichgewicht von Synthese und Abbau der Genprodukte, sind häufig nur in einem Gewebe aktiv und bewirken wesentlich mehr individuelle Unterschiede als die eigentlichen messenger-RNAs, die als Matrize für Proteine dienen.

Die neuen leistungsfähigen Sequenzier-techniken sind eine wichtige Voraussetzung für die wissenschaftliche Erforschung dieser Zusammenhänge. Der Weg bis zur Nutzung für die „individualisierte molekulare Medizin“ ist allerdings noch weit. ■

os



Die Sanger-Methode basiert auf der Synthese unterschiedlich langer DNA-Fragmente, die nach der Sequenzierreaktion gelelektrophoretisch aufgetrennt werden. Die endständigen Didesoxynukleosidtriphosphate, die zum Kettenabbruch führen, sind mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert, sodass die Basenabfolge direkt an der Farbe abgelesen werden kann (links). Das ultraschnelle Genome Sequencer-System arbeitet dagegen mit Lichtblitzen, die entstehen, wenn passende Nukleotide eingebaut werden (rechts).