



**MEDICOVER**  
**HUMANGENETIK**



# AKTUELLE UND KÜNFTIGE PRÄNATALE GENETISCHE ANALYSEMETHODEN

Vom Chromosom zum Genom

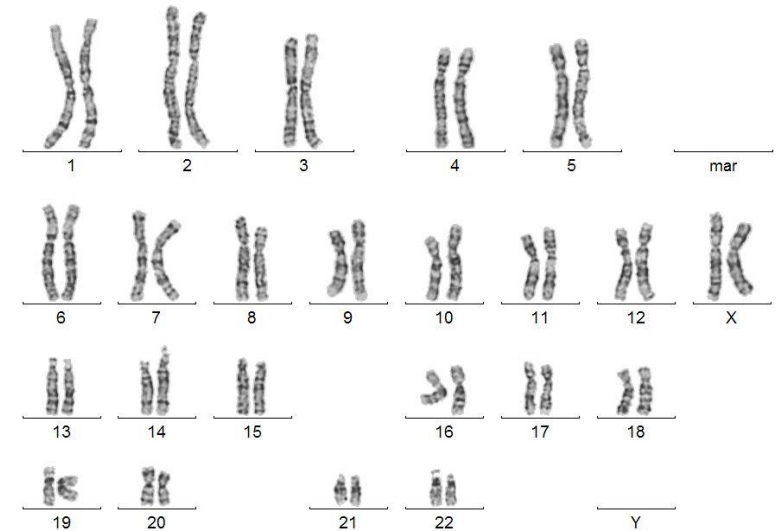
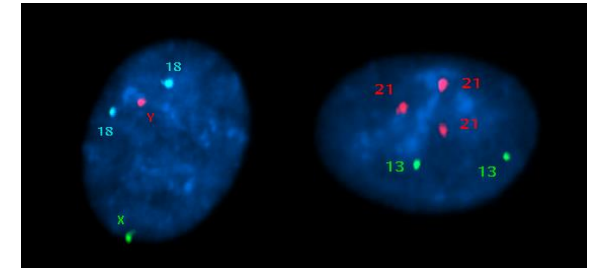
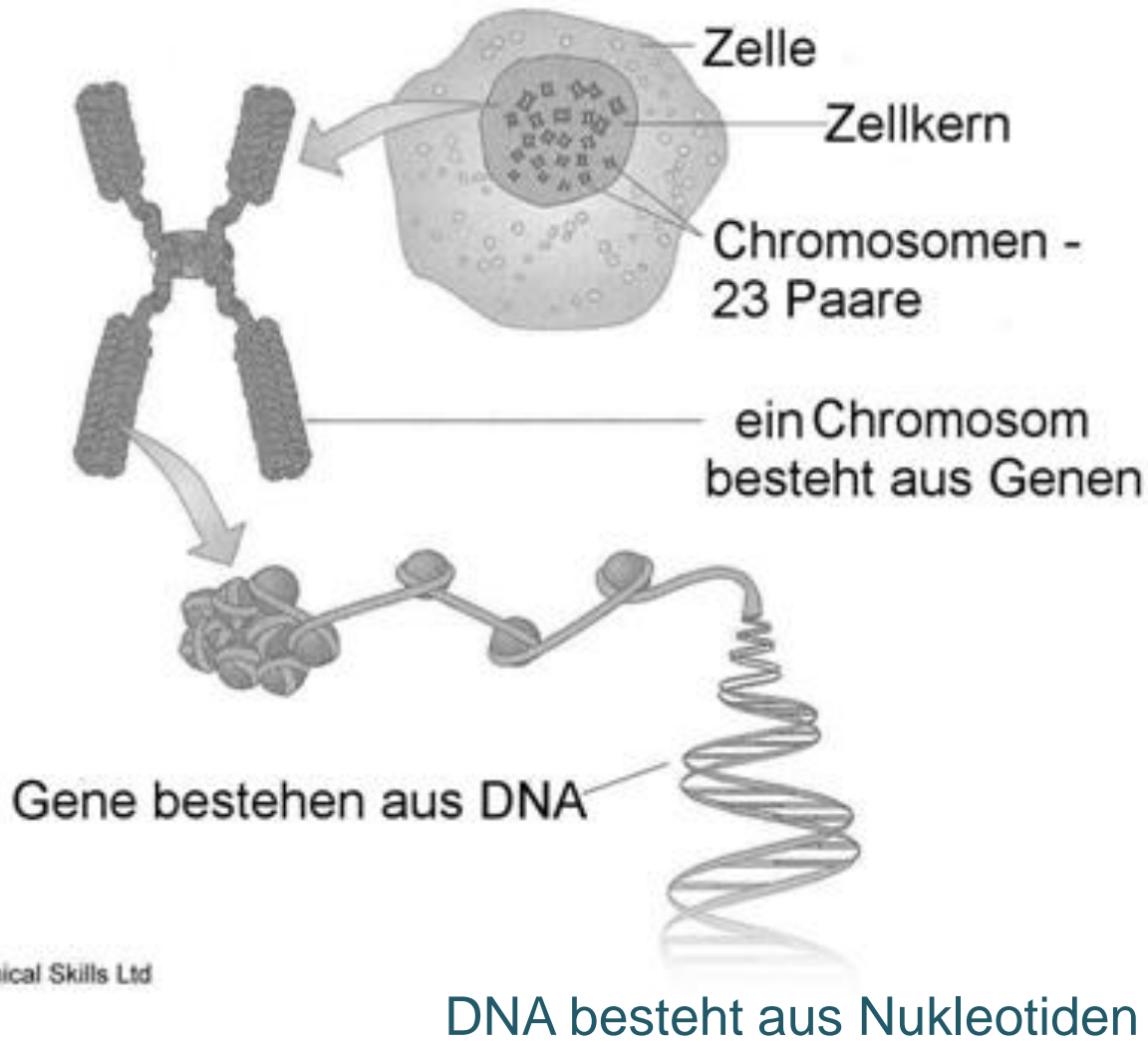
Markus Stumm

Pränatalmedizin. Heute und Morgen! 02.02.2022

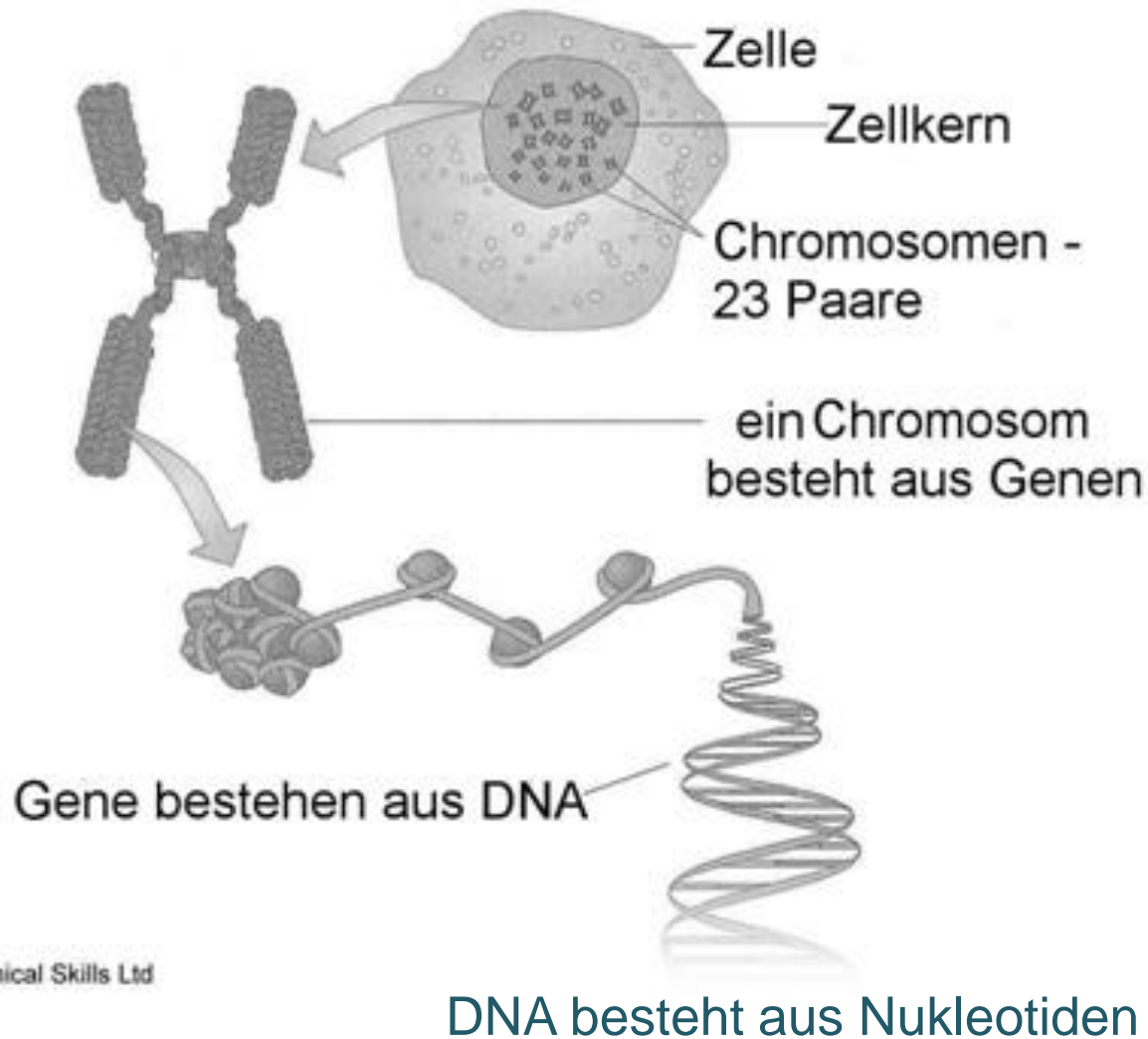
# Fetale Fehlbildungen

- fetale Auffälligkeiten werden durch Ultraschalluntersuchungen in ca. 3% aller Schwangerschaften detektiert.
- Das phänotypische Spektrum ist dabei sehr breit und erstreckt sich von subtilen Auffälligkeiten (z.B. erhöhte NT) bis zu letalen Konditionen (z.B. Hydrops fetalis).
- Die Ätiologie ist dabei sehr variabel und schließt sowohl exogene Faktoren (z.B. virale Infektionen) als auch genetische Veränderungen (**Aneuploidien, strukturelle Chromosomenaberrationen, pathologische CNVs, Punktmutationen**) ein.
- Im Bereich der genetischen Diagnostik gibt es dazu unterschiedliche Untersuchungsmöglichkeiten.
- Die nicht invasiven pränatalen Tests (**NIPTs**) werden zum Screening nach Chromosomenstörungen (hauptsächlich Trisomie 13,18 und 21) eingesetzt.
- Die Fluoreszenz in situ Hybridisierung (**FISH**), die **konventionelle Chromosomenanalyse** nach GTG-Bänderung und die chromosomalen Microarrays (**CMA**) werden im Rahmen der invasiven Diagnostik (nach CVS oder AC) zum Nachweis von Aneuploidien, strukturellen Chromosomenaberrationen und pathologischen CNVs eingesetzt.
- Die **Sanger Sequenzierung** und das **Next Generation Sequencing (NGS)** werden zum Nachweis von Punktmutationen eingesetzt.

# Vom Chromosom zum Nukleotid



# Vom Chromosom zum Nukleotid




© Clinical Skills Ltd



# Vom Chromosom zum Nukleotid

**Tab. 1** Übersicht der einzelnen diagnostischen Methoden

	<b>Giemsa Karyotyp</b>	<b>G-Banden Karyotyp</b>	<b>FISH Metaphase + Interphase</b>	<b>CMA</b>	<b>Einzelgen Sanger</b>	<b>Panel NGS</b>	<b>WES NGS</b>	<b>WGS NGS</b>
<i>Analytischer Anteil</i>	Gesamtes Genom	Gesamtes Genom	Einzelne klinisch relevante Regionen	Genomweite Analyse klinisch relevanter Regionen	Exons eines einzelnen ausgewählten Gens	Exons ausgewählter Gene	Alle bekannten Exons und einzelne regulatorische Sequenzen	Gesamtes Genom
<i>Umfang der Analyse</i>	Alle Chromosomen	Alle Chromosomen	~100–700 Kb	~2 Mb	Wenige Kb	Mehrere Kb bis wenige Mb	~50 Mb	~3000 Mb
<i>Anzahl an Varianten</i>	0–1	0–1	0–1	10–100	0 bis wenige	0 bis wenige	~15.000–40.000	>3 Mio.
<i>Detektierte Varianten</i>	Polyploidie, Aneuploidie	Polyploidie, Aneuploidie, SV	CNV, SV	CNV	Punktmutationen, InDels	Punktmutationen, InDels, CNV	Punktmutationen, InDels, CNV	Punktmutationen, InDels, CNV, SV
<i>Höchste diagnostische Auflösung</i>	Ganze Chromosomen und Chromosomenarme	Chromosomale Banden ~5 Mb	~100 Kb	~50 Kb Bis zu 200 bp für Targeted Arrays	1 bp	1 bp	1 bp 	1 bp

*InDels* Insertion Deletion, *FISH* Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, *CMA* chromosomale Mikroarrays, *WES* Gesamtexomsequenzierung, *WGS* Gesamtgenomsequenzierung *NGS* „next generation sequencing“, *CNV* „copy number variation“, *SV* strukturelle Varianten, *Kb* Kilobasenpaare, *Mb* Millionen Basenpaare

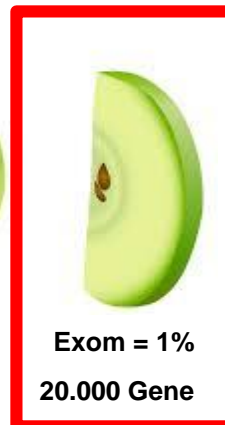
# Einzelgen – Panel – Exom – Genom

**Tab. 2** Zusammenfassung der Vorteile und Nachteile der unterschiedlichen Sequenziertechniken

	Sanger-Sequenzierung	Panel-Sequenzierung	Exomsequenzierung	Genomsequenzierung
Vorteile	Etablierte Methodik Keine Anwendung bioinformatischer Methoden notwendig	Parallele Sequenzierung aller krankheitsrelevanter Gene Hohe Wahrscheinlichkeit des Nachweises kausaler Mutationen Kosten- und zeiteffizient Vermeidung von Zusatzbefunden	Parallele Sequenzierung des gesamten kodierenden Bereichs Identifikation neuer Krankheitsgene möglich Eignung zur Untersuchung sehr seltener, komplexer Erkrankungen	Parallele Sequenzierung des gesamten Genoms inkl. nicht-kodierender Bereiche Identifikation kausaler Veränderungen, z. B. in regulatorischen intergenischen Sequenzbereichen
Nachteile	Beschränkung auf wenige, einzelne Gene Geringe Wahrscheinlichkeit der Identifikation kausaler Mutationen Kosten- und zeitintensiv bei vergleichbarem Durchsatz	Regelmäßige Aktualisierung des Paneldesign nötig Bioinformatische Aufbereitung der Daten erforderlich	Hohe Komplexität der Datenauswertung Bioinformatische Aufbereitung der Rohdaten notwendig Konsens zum Umgang mit Zusatzbefunden nötig	Hohes Datenaufkommen Sehr hohe Komplexität der Datenauswertung Bioinformatische Aufbereitung der Rohdaten notwendig Konsens im Umgang mit Zusatzbefunden nötig Zeit- und kostenintensiv



**Gesamte Genom**  
3.000 000 000 bp

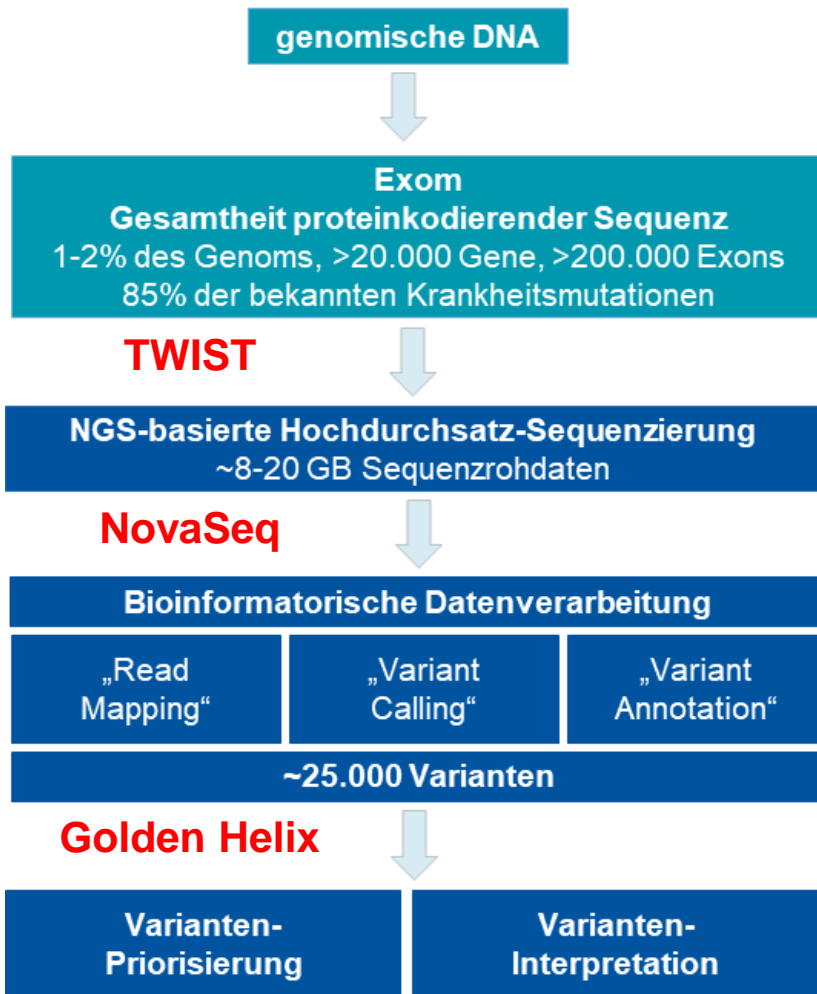


**Exom = 1%**  
20.000 Gene

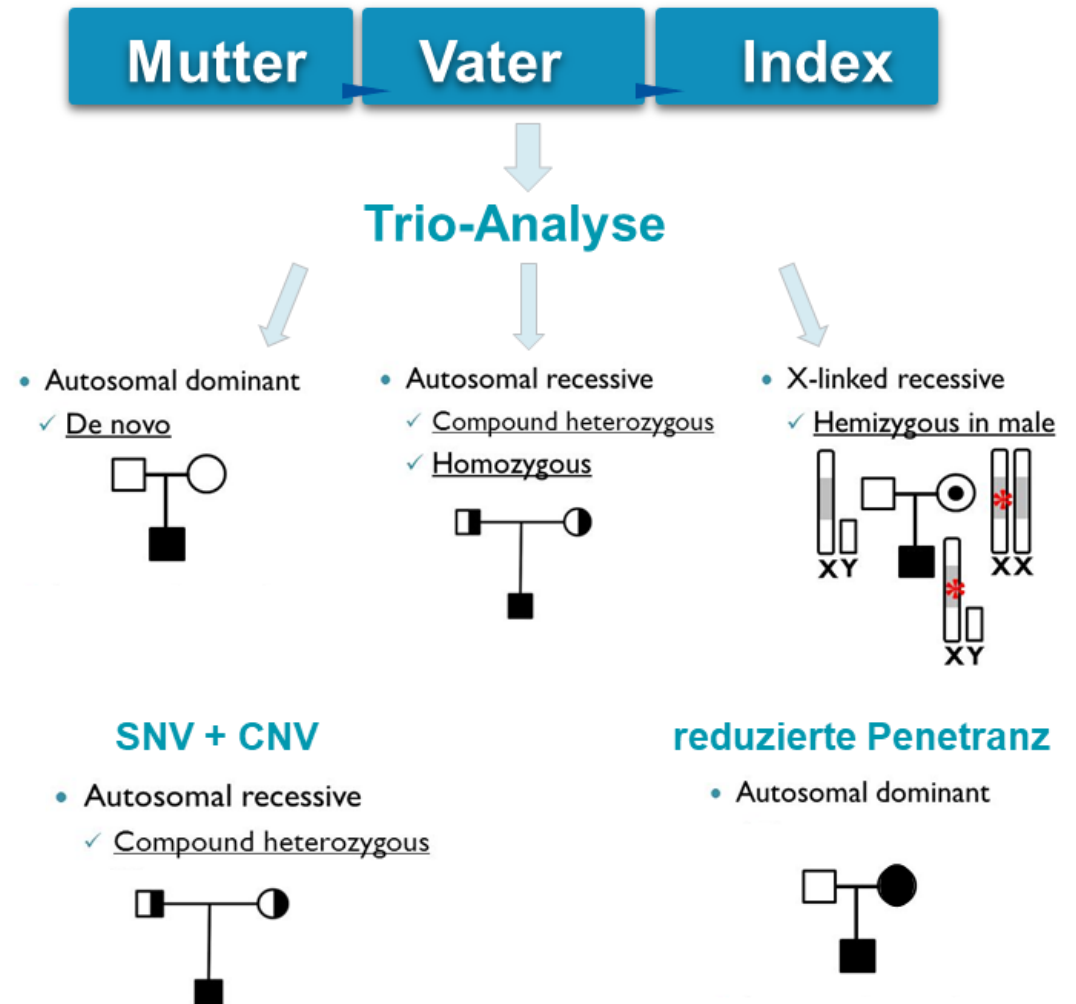


**Definierte Gene**  
< 100 Gene

Gynäkologe  
<https://doi.org/10.1007/s00129-020-04562-x>



Die Sequenzinformation wird bioinformatisch gefiltert und die selektierten Varianten werden in Bezug zum pränatalen Phänotyp bewertet.



In Trio-Analysen werden die parentalen Varianten in die Bewertung mit einbezogen. Das erleichtert die Auswertung und erhöht die diagnostische Aussagekraft (37% Trioanalyse versus 21% bei Einzelanalyse).

# Kasuistik 1

## Schwangere 35 Jahre alt, Konzeption nach IVF

**Indikation:** auffälliger Ultraschall (SSW 16+6)

Dichoriale Gemini mit konkordantem Wachstum

Fetus 1: V. a. Fallotsche Tetralogie, Hygroma colli (zystisch septiert), Makrozephalie, flaches Gesichtsprofil, Hypertelorismus, kleine Ohren, V.a. Polydaktylie an den Händen und gesicherte Polydaktylie an beiden Füßen

Fetus 2: Fallotsche Tetralogie, Polydaktylie an den Händen und Füßen

### Genetische-Diagnostik:

1. Fluoreszenz-in situ Hybridisierung (FISH) an nativen Fruchtwasserzellen (FW)
  - kein Hinweis auf Abweichungen der Chromosomenanzahl 13, 18 und 21
2. Konventionelle Chromosomenanalyse aus kultivierten Fruchtwasserzellen (FW)
  - unauffällige Chromosomensätze
3. Fluoreszenz-in situ Hybridisierung (FISH) an nativen und kultivierten Fruchtwasserzellen (FW)
  - kein Hinweis auf eine Mikrodeletion 22q11.2
4. **Exom-Trio-Analyse an kultivierten FW**, sowie maternaler Kontaminationsausschluss

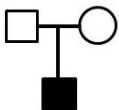




## Trio-Analyse

• Autosomal dominant

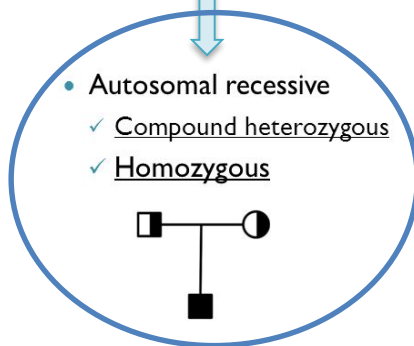
✓ De novo



• Autosomal recessive

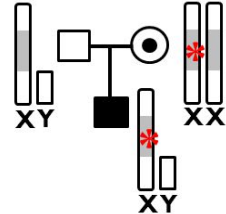
✓ Compound heterozygous

✓ Homozygous

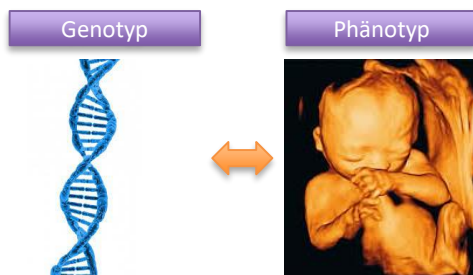


• X-linked recessive

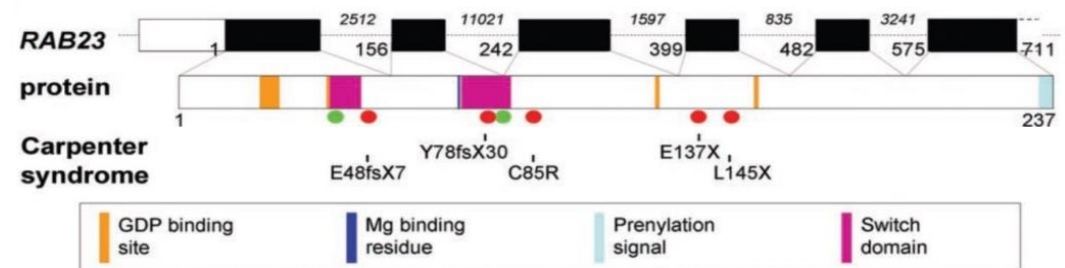
✓ Hemizygous in male



**RAB23 c.434T>A; p.(Leu145\*)**



**Ergebnis:** Bei beiden Zwillingen ist eine **pathogene Variante (Klasse 5)** im **RAB23-Gen** in **homozygoter** Form nachweisbar (25% Wiederholungsrisiko). Das **RAB23-Gen** kodiert für eine GTPase aus der RAS-Superfamilie. RAB Proteine sind an der Regulation verschiedener zellulärer Funktionen beteiligt und scheinen auch in die Entwicklung des ZNS involviert zu sein. Bei der nachgewiesenen Variante handelt es sich um eine **Nonsense-Variante**. Die Variante ist **bereits mehrfach beschrieben** und deutete auf einen **Gründereffekt** bei Betroffenen nordeuropäischer Abstammung hin. Dies führt unter Berücksichtigung der klinischen Symptomatik zur Diagnose **Carpenter Syndrom**.



Am. J. Hum. Genet. 2007;80:1162—1170

**Carpenter-Syndrom (OMIM 201000):** ist eine seltene, autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung und gehört zu den Akro-Cephalo-Syndaktylie-Syndromen.

Zu den Hauptmerkmalen zählen Akrozephalie mit variabler Synostose der Sagittal-, Lambdoid- und Koronalnähte, **faziale Dysmorphien**, Brachydaktylie der Hände mit Syndaktylie, **präaxiale Polydaktylie** und Syndaktylie der Füße, **angeborene Herzfehler**, Wachstumsverzögerung, mentale Retardierung, Hypogonitismus und Fettleibigkeit.

**Orphanet:** Ultrasound may detect abnormal head shape, short and bowed femurs, flattened face, proptosis, heart defect, heterotaxy and digit anomalies.

## Kasuistik 2

**Schwangere 24 Jahre alt, Gravida 1, Para 0**

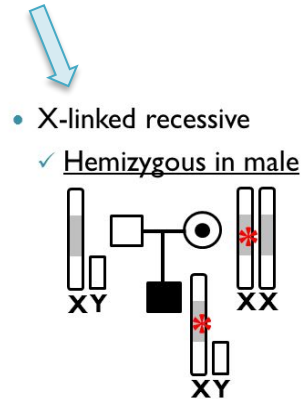
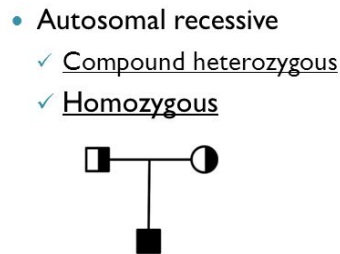
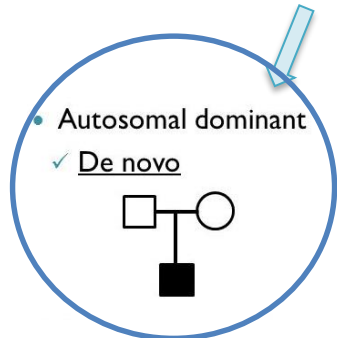
**Indikation:** auffälliger Ultraschall (SSW 12+0)  
NT (3,9 mm)

### **Genetische-Diagnostik:**

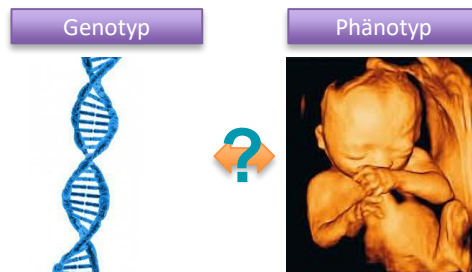
1. Fluoreszenz-in situ Hybridisierung (FISH) an nativen Fruchtwasserzellen (FW)
  - kein Hinweis auf Abweichungen der Chromosomenanzahl 13, 18 und 21
2. Konventionelle Chromosomenanalyse aus kultivierten Fruchtwasserzellen (FW)
  - unauffälliger Chromosomensatz
3. **Exom-Trio-Analyse an kultivierten Chorionzotten**, sowie maternaler Kontaminationsausschluss



## Trio-Analyse



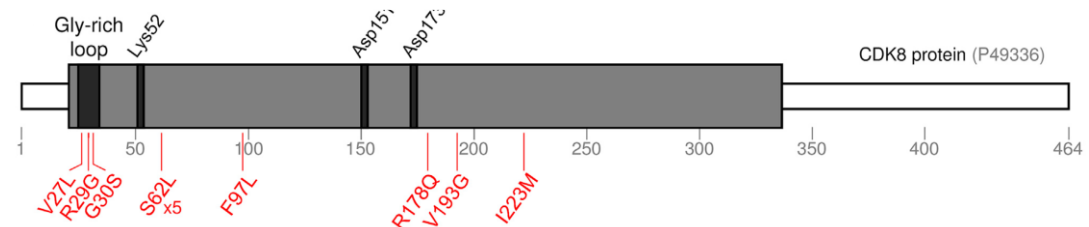
**CDK8 c.611T>A; p.(Leu204Gln)**



**Ergebnis:** Es ist eine **wahrscheinlich pathogene Variante (Klasse 4)** im **CDK8-Gen de novo in heterozygoter Form** nachweisbar (1-3% Wiederholungsrisiko).

Das Gen kodiert für das CDK8-Protein, das zur Gruppe der Cyklin-abhängigen Proteinkinasen (CDK) gehört und an Zellzyklus regulatorischen Prozessen beteiligt ist.

Bei der Variante handelt es sich um eine **Missense Variante** in der **hoch konservierten Kinasedomäne**. In dieser Domäne sind bereits andere Missense-Varianten beschrieben, die mit dem **IDHBA-Syndrom** assoziiert sind.



*Am J Hum Genet. 2019 Apr 4;104(4):709-720*

**Intellectual developmental disorder with hypotonia and behavioral abnormalities (OMIM: 618748):** Das **IDHBA-Syndrom** ist eine Entwicklungsstörung, die erstmals 2019 beschrieben wurde.

Zu den Hauptmerkmalen des Erkrankungsspektrums zählen eine verzögerte psychomotorische Entwicklung, Hypotonie, moderate bis schwere Intelligenzminderung, Sprachentwicklungsverzögerung, **kongenitale kardiovaskuläre Auffälligkeiten**, Fütterungsschwierigkeiten sowie **kraniofaziale Dysmorphiezeichen**. Einige Patienten zeigen zudem Verhaltensauffälligkeiten, vorwiegend aus dem autistischen Formkreis bzw. Autismus-ähnlichem Spektrum. In einigen Fällen wird auch von Krampfanfällen bzw. EEG-Auffälligkeiten berichtet. Zu den sehr variabel auftretenden Merkmalen zählen Schallempfindungs-schwerhörigkeit, Augenanomalien (z.B. Strabismus, Ptosis, Nystagmus) sowie Sehstörungen und Gelenkhypermobilität.

**Keine Informationen zum pränatalen Phänotyp verfügbar.**

# Pränatale Exomanalysen 2019 und 2020

	Exomanalysen 2019		Exomanalysen 2020		Summary 2019-2020		Prozent
	n	auffällig	n	auffällig	n	auffällig	
Multisystem	16	6	20	6	36	12	33,3
NT/Hygom/Hydrops	12	2	22	3	34	5	14,7
Herz	6	1	11	2	17	3	17,6
Gehirn	11	4	11	2	22	6	27,3
Skelett	7	4	10	3	17	7	41,2
Nieren	4	2	5	0	9	2	22,2
Zwerchfellhernie	1	0	3	1	4	1	25,0
Retrognathie/Dysmorphien	0	0	3	1	3	1	33,3
sonst. Einzelauffälligkeit	3	0	16	1	19	1	5,3
gesamt:	60	19	101	19	161	38	23,6

**WES additional diagnostic yield over karyotype 15-40%**  
**CMA additional diagnostic yield over karyotype 5-10%**


*Prenatal Diagnosis*. 2021;1–7.

DOI: 10.1002/pd.6081

ORIGINAL ARTICLE

PRENATAL  
**DIAGNOSIS** WILEY

## Trio exome sequencing is highly relevant in prenatal diagnostics

Heinz Gabriel<sup>1</sup> | Dirk Korinth<sup>1</sup> | Martin Ritthaler<sup>1</sup> | Björn Schulte<sup>1</sup> |  
Florian Battke<sup>2</sup>  | Constantin von Kaisenberg<sup>3</sup> | Max Wüstemann<sup>4</sup> |  
Bernt Schulze<sup>5</sup> | Almuth Friedrich-Freksa<sup>6</sup> | Lutz Pfeiffer<sup>7</sup> | Michael Entezami<sup>8</sup> |  
Andreas Schröer<sup>8</sup> | Joachim Bürger<sup>9</sup> | Eva Maria Christina Schwaibold<sup>10</sup> |  
Holger Lebek<sup>11</sup> | Saskia Biskup<sup>1,2</sup>

**Method:** Between 07/2018 and 10/2020, 500 pregnancies with fetal ultrasound abnormalities were analyzed after genetic counseling as part of prenatal diagnostics using WES of the fetus and parents.

<sup>1</sup>Praxis für Humangenetik Tübingen, Tübingen, Germany

<sup>2</sup>CeGaT GmbH, Tübingen, Germany

<sup>3</sup>Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Germany

<sup>4</sup>Zentrum für Pränatalmedizin Hannover, Hannover, Germany

<sup>5</sup>Medicover Humangenetik Hannover, Hannover, Germany

<sup>6</sup>Institut für Klinische Genetik Mainz, Mainz, Germany

<sup>7</sup>Medicover Humangenetik Berlin-Lichtenberg, Berlin, Germany

<sup>8</sup>Zentrum für Pränataldiagnostik, Berlin, Germany

<sup>9</sup>Limbach Humangenetik Berlin, Berlin, Germany

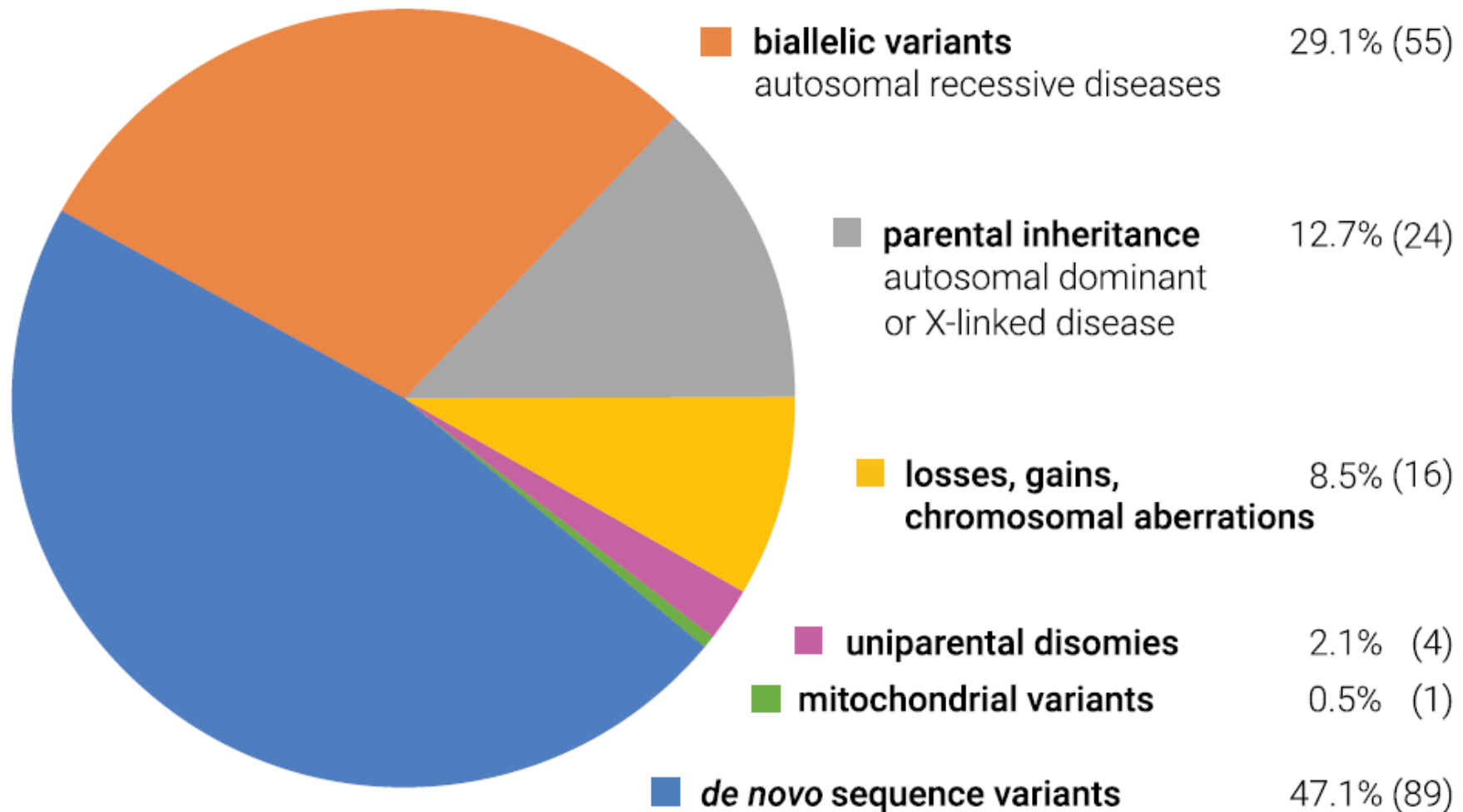
<sup>10</sup>Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Heidelberg, Heidelberg, Germany

<sup>11</sup>Pränatale Diagnostik Berlin-Lichtenberg, Berlin, Germany

# Pränatale Exomanalysen

TABLE 2 Phenotype groups and diagnostic yield

Fetal phenotype group	Definition	Total cases	Solved cases (diagnostic yield)
Skeletal malformations	Evidence of skeletal abnormalities in ultrasound, such as shortened tubular bones, multiple fractures, achondroplasia, thanatophoric dysplasia, other skeletal dysplasias	63	33 (52%) <b>41,2%</b>
Complex malformations	≥2 organ systems affected in ultrasound, incl. Facial dysmorphias	122	54 (44%) <b>33,3%</b>
Urogenital malformations	Renal agenesis, renal dysplasia, polycystic kidneys	25	11 (44%)
Brain malformations	Lissencephaly, corpus callosum agenesis, holoprosencephaly, hydrocephalus, ventrikulomegalia	79	34 (43%) <b>27,3%</b>
Increased nuchal transparency	Nuchal transparency >3 mm, nuchal edema, hygroma colli	72	24 (33%) <b>14,7%</b>
IUGR (intrauterine growth retardation)	<10th percentile	27	7 (26%)
Heart defects	Ventricular septal defect, hypoplastic left heart syndrome, tetralogy of Fallot	50	12 (24%) <b>17,6%</b>
Eye anomalies	Anophthalmie, cataracts	10	2 (20%)
Arthrogryposis	Arthrogryposis	10	2 (20%)
Abnormalities of internal organs	Intestinal malformations (e.g., microcolon), megacystis, malformations of the liver	21	4 (19%)
Other	For example, abnormal biochemical parameters such as PAPP-A, β-hCG; akinesia, generalized edema, harlequin ichthyosis	21	6 (29%)



**127 unterschiedliche Gene sind betroffen**

**solved cases total 189**

*Prenatal Diagnosis. 2021;1-7.*

## Pränatale Exomanalysen

### What's already known about this topic?

- It is known that about 20% of malformations in newborns can be associated with genetic causes.
- Whole-exome sequencing, and especially trio exome sequencing, is an established and successful method in postnatal genetic diagnostics. Diagnostic yield for trio exome sequencing is around 37%.

### What does this study add?

- We show that trio exome sequencing is a fast and comprehensive method in prenatal diagnostics with diagnostic yield similar to that of postnatal trio exome sequencing.
- We provide case solution rates for different phenotypic observations from 19% for abnormalities of internal organs up to 52% for skeletal malformations.

**Conclusion:** Trio exome sequencing is a useful addition to prenatal diagnostics due to its high diagnostic yield and short processing time (comparable to chromosome analysis). It covers a wide spectrum of genetic changes. Comprehensive interdisciplinary counseling before and after diagnostics is indispensable.



## The Added Value of Whole-Exome Sequencing for Anomalous Fetuses With Detailed Prenatal Ultrasound and Postnatal Phenotype

Miao He<sup>1†</sup>, Liu Du<sup>1†</sup>, Hongning Xie<sup>1\*</sup>, Lihe Zhang<sup>1</sup>, Yujun Gu<sup>1</sup>, Ting Lei<sup>1</sup>, Ju Zheng<sup>1</sup> and Dan Chen<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Ultrasonic Medicine, Fetal Medical Center, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou, China, <sup>2</sup> Guangzhou Kingmed Diagnostics Group, Guangzhou, China

**Results:** WES was performed for 94 eligible fetuses, DNA samples of which were extracted from 53 parent–fetus trios and 41 proband-only fetal tissues. A diagnostic genetic variant was identified in 37 (39.4%) of 94 fetuses, and 34 (64.2%) were detected in 53 trios, which was significantly greater than 3 (7.3%) in 41 proband-only cases ( $p < 0.001$ ). In 34 trios with diagnostic genetic variants, 23 (67.6%) were *de novo* and 11 (32.4%) were inherited with two homozygous and nine heterozygous variants. Fourteen (14.9%) of 94 fetuses had a variant of uncertain significance (VUS). Among 94 cases, six affected pregnancies continued and 88 terminated, and 57 of 88 terminated cases underwent postmortem examinations. With accurate phenotypes demonstrated by prenatal ultrasound and postnatal autopsies, the clinical phenotypes were correlated in 33 (89.2%) of 37 cases with specific genotypes, with the highest matching ratio in skeletal diseases (20/33, 60.6%).

<b>WES Diagnostic Yield</b>	<b>37/94</b>	<b>39,4%</b>
<b>WES Trios</b>	<b>34/53</b>	<b>64,2%</b>
<b>WES Singleton</b>	<b>3/41</b>	<b>7,3%</b>

**TABLE 1 |** The frequency of fetal anomalies and examples of specific findings.

Category of anomaly	Numbers of fetuses (n = 94)	Examples of specific findings
Skeletal system	36 (38.3%)	Shortened and bowing bone, dysplasia of thoracic vertebra and ribs, hemivertebra, scoliosis, syndactyly
Cardiovascular system	26 (27.7%)	Tetralogy of Fallot, interrupted aortic arch, transposition of the great arteries, pulmonary artery sling
Central nervous system	21 (22.3%)	Agenesis of corpus callosum, Dandy–Walker malformation, pachygyria, cerebral dysplasia, hydrocephalus
Genitourinary system	19 (20.2%)	Enlarged polycystic and echogenic kidneys, hypospadias, common cloacal deformity
Neuromuscular system	14 (14.9%)	Clubfeet, arthrogryposis
Head	12 (12.8%)	Micrognathia, bilateral anophthalmia, unilateral microphthalmia, depressed nasal bridge
Hydrops	5 (5.3%)	Hydrops, pleural effusion
Gastrointestinal system	4 (4.3%)	Esophago-tracheal fistula, mesenteric cyst, situs in vs.
Growth abnormality	3 (3.2%)	Intrauterine growth restriction
Abdominal wall	2 (2.1%)	Omphalocele, exstrophy of bladder
Respiratory system	1 (1.1%)	Dysplasia of right lung


*Fetuses with several anomalies involving different anatomic systems were counted several times.*

In conclusion, prenatal WES can improve the genetic diagnostic yield of anomalous fetuses with accurate phenotypes with normal karyotype and CMA results and expand the information for the prenatal genotype–phenotype spectrum. With the utility of WES, parents will gain information on the guidance and assessment of recurrence risk for the subsequent pregnancy. A preimplantation genetic diagnosis can be performed for cases with specific inherited variants.



## ARTICLE

# Beyond diagnostic yield: prenatal exome sequencing results in maternal, neonatal, and familial clinical management changes

Leandra K. Tolusso <sup>1,2✉</sup>, Paige Hazelton<sup>1,2</sup>, Beatrix Wong<sup>1,2</sup> and Daniel T. Swarr<sup>1,3,4</sup>

**PURPOSE:** Previous studies have reported that prenatal exome sequencing (pES) can detect monogenic diseases in fetuses with congenital anomalies with diagnostic yields ranging from 6% to 81%, but there are few reports of its clinical utility.

**METHODS:** We conducted a retrospective chart review of patients who had pES to determine whether results led to clinical management changes.

**RESULTS:** Of 20 patients, 8 (40%) received a definitive diagnosis. Seven patients (35%) had medical management changes based on the pES results, including alterations to their delivery plan and neonatal management (such as use of targeted medications, subspecialty referrals, additional imaging and/or procedures). All patients who received a definitive diagnosis and one who received a likely pathogenic variant ( $n = 9$ ; 45%) received specific counseling about recurrence risk and the medical/developmental prognosis for the baby. In five (25%) cases, the result facilitated a diagnosis in parents and/or siblings.

**CONCLUSION:** pES results can have significant impacts on clinical management, some of which would not be possible if testing is deferred until after birth. To maximize the clinical utility, pES should be prioritized in cases where multiple care options are available and the imaging findings alone are not sufficient to guide parental decision-making, or where postnatal testing will not be feasible.

<b>WES Diagnostic Yield</b>	<b>9/20</b>	<b>45%</b>
<b>Neonatal medical management changes</b>	<b>5/20</b>	<b>25%</b>
<b>Diagnostic for parents and/or siblings</b>	<b>5/20</b>	<b>25%</b>
<b>Altered family planing</b>	<b>5/20</b>	<b>25%</b>

## Pränatale Exomanalysen - Probleme und Grenzen

1. Aneuploidien, Polyploidien, chromosomale Strukturaberrationen, Repeat-Expansionen und niedrig prozentige Mosaik werden in der Regel nicht detektiert.
2. GC-reiche und repetitive Sequenzen sind problematisch zu sequenzieren.
3. CNVs können nur in den Exon-Regionen und nicht immer sicher beurteilt werden (Option: Array CGH als Folgediagnostik).
4. Datenbanken zur Variantenbeurteilung beinhalten wenige oder keine pränatalen Daten.
5. Eine detaillierte Genotyp/Phänotyp-Analyse ist nicht immer möglich.
6. Klinisch relevante Nebenergebnisse treten in ca. 1% der WES Fälle auf. Der Umgang mit diesen Befunden muss geregelt sein (z. B. Prädisposition für Tumore oder kardiovaskuläre Erkrankungen). Speziell deshalb, weil die gängigen Leitlinien eine prädiktive Diagnostik bei Kindern ablehnen.
7. Nebenergebnisse können auch eine klinische Bedeutung für die Eltern und/oder die gesamte Familie haben.
8. Bei Trioanalysen kann auch die Vaterschaft mitbestimmt werden.
9. Umfangreichere genetische Beratungen werden erforderlich.
10. Die Anzahl der Genetischen Berater ist begrenzt.

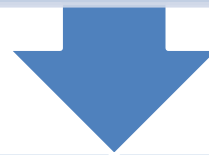
Ultraschall

Auffällig mit spezifischer Verdachtsdiagnose



Schneller Aneuploidie Test >>> CVS KZK oder Amnion FISH

Ansatz der Zellkulturen für Zytogenetik und Molekulargenetik



Einzelgenanalysen oder Genpanelanalysen und/oder CMA  
(falls möglich aus nativem Material)

Zytogenetische Analyse aus Zellkulturen

Ultraschall

Auffällig mit unspezifischer Verdachtsdiagnose



Schneller Aneuploidie Test >>> CVS KZK oder Amnion FISH

Ansatz der Zellkulturen für Zytogenetik, CMA, WES



Trio WES und/oder CMA (falls möglich aus nativem Material)

Zytogenetische Analyse aus Zellkulturen

# Pränatale Diagnostik – was wird sich noch ändern?

## OGM-Projekt

- physical distance between enhancers and their target gene promoters
- genome compartmentization
- locations specific effect on expression

- genome-wise binding sites of proteins (e.g. transcription factors)

- binding and docking properties
- locations of charged residues for electrostatic interactions
- enzyme-substrate and ligand-protein interactions

- differential protein abundance
- posttranslational modification
- signal peptide and cellular localization

- DNA methylation
- histone modification

High-throughput data used in bioinformatics

## WGS-Projekt

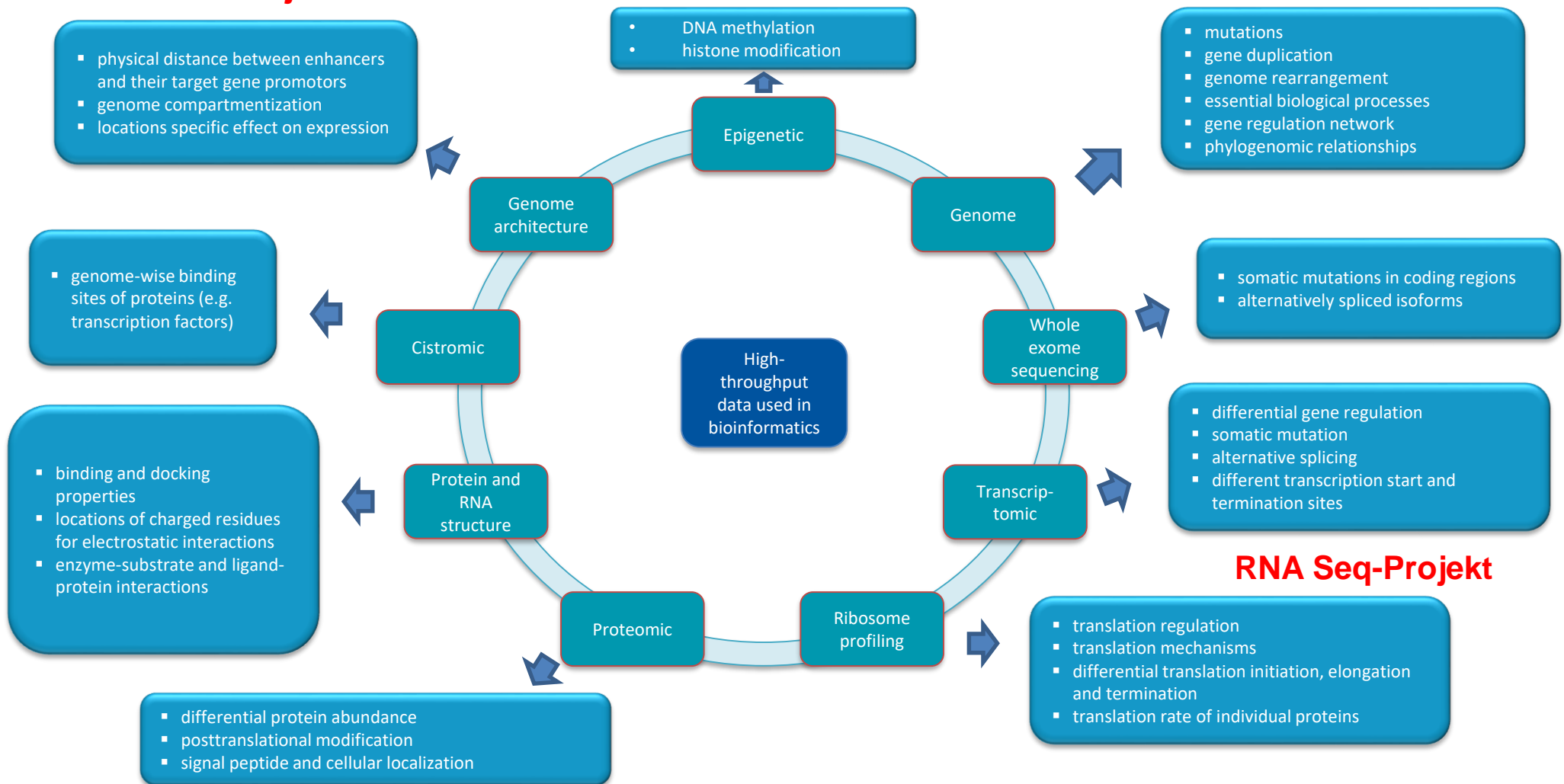
- mutations
- gene duplication
- genome rearrangement
- essential biological processes
- gene regulation network
- phylogenomic relationships

- somatic mutations in coding regions
- alternatively spliced isoforms

- differential gene regulation
- somatic mutation
- alternative splicing
- different transcription start and termination sites

## RNA Seq-Projekt

- translation regulation
- translation mechanisms
- differential translation initiation, elongation and termination
- translation rate of individual proteins



---

## Korrespondenzadresse

---



**PD Dr. rer. nat.**  
**Markus Stumm**  
Medicover Genetics GmbH  
Plauener Str. 163–165,  
13053 Berlin, Deutschland  
markus.stumm@medicover.de

---

Markus Stumm · Melanie Isau  
Medicover Genetics GmbH, Berlin, Deutschland

## Aktuelle und künftige pränatale genetische Analysemethoden – vom Chromosom zum Genom

Gynäkologe  
<https://doi.org/10.1007/s00129-020-04562-x>

© Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von  
Springer Nature 2020

**VIELEN DANK!**

**MEDICOVER Humangenetik Berlin-Lichtenberg**



Rosenfelder Straße 15/16  
10315 Berlin  
Tel.: + 49 30 – 577 987 12  
fax + 49 30 – 577 987 19  
humangenetik-berlin@medicover.de

# Optical Genomic Mapping in der Pränataldiagnostikdiagnostik



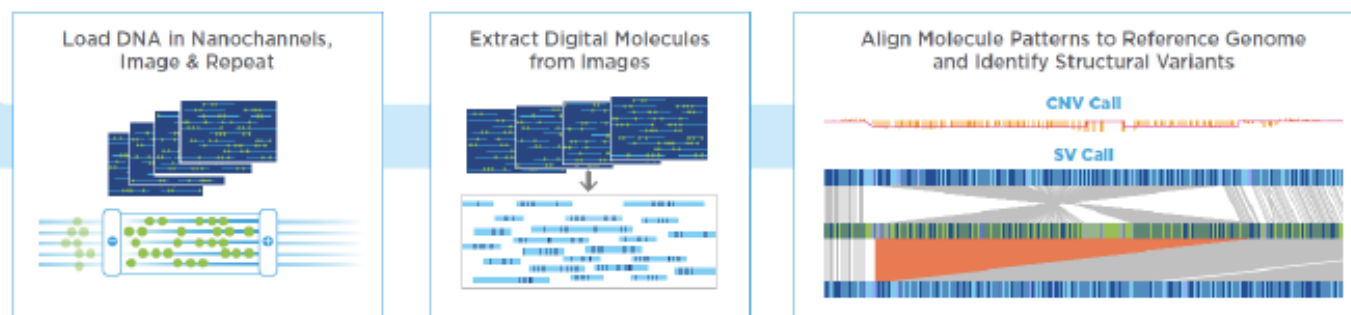
Commentary

## Optical Genome Mapping as a Next-Generation Cytogenomic Tool for Detection of Structural and Copy Number Variations for Prenatal Genomic Analyses

Nikhil Shri Sahajpal <sup>1,†</sup>, Hayk Barseghyan <sup>2,3,4,†</sup> , Ravindra Kolhe <sup>1</sup> , Alex Hastie <sup>4</sup> and Alka Chaubey <sup>1,4,\*</sup>





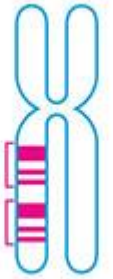
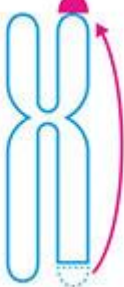
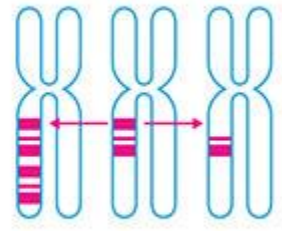
High-throughput, High-resolution Imaging of Ultra-Long DNA Molecules



*Genes* **2021**, *12*, 398. <https://doi.org/10.3390/genes12030398>



# Optical Genomic Mapping

				
<b>Insertions/deletions</b> larger than 500 bp	<b>Inversions</b> larger than 30 kbp	<b>Duplications</b> larger than 30 kbp	<b>Balanced and unbalanced translocations</b> larger than 50 kbp	<b>Fractional copy number variations</b> larger than 500 kbp
<b>99% sensitivity</b>	<b>99% sensitivity</b>	<b>97% sensitivity</b>	<b>95% sensitivity</b>	<b>97% sensitivity</b>
<b>False positives below 2%</b>				

- **Nachweis von Aneuploidien, balancierten / unbalancierten Strukturaberrationen und CNVs in einem Diagnostikansatz möglich**

# Optical Genomic Mapping

## Current Methods

3 different platforms required to identify all events

Karyotyping

FISH

aCGH



FISH needed to confirm t(5;14)

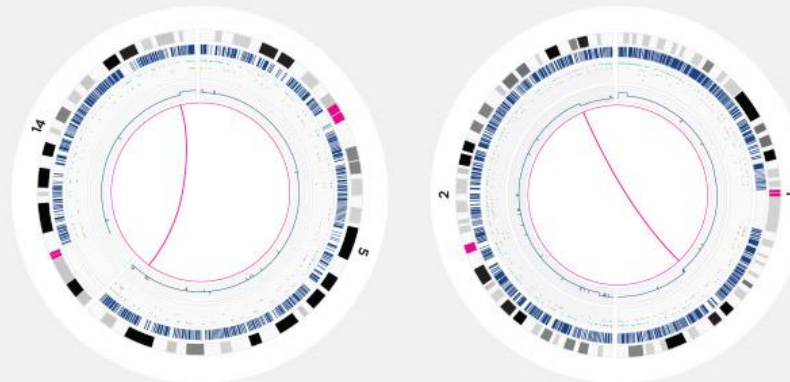
t(5;14)

Challenging karyogram necessitated cCGH to validate t(1;2)

t(1;2)

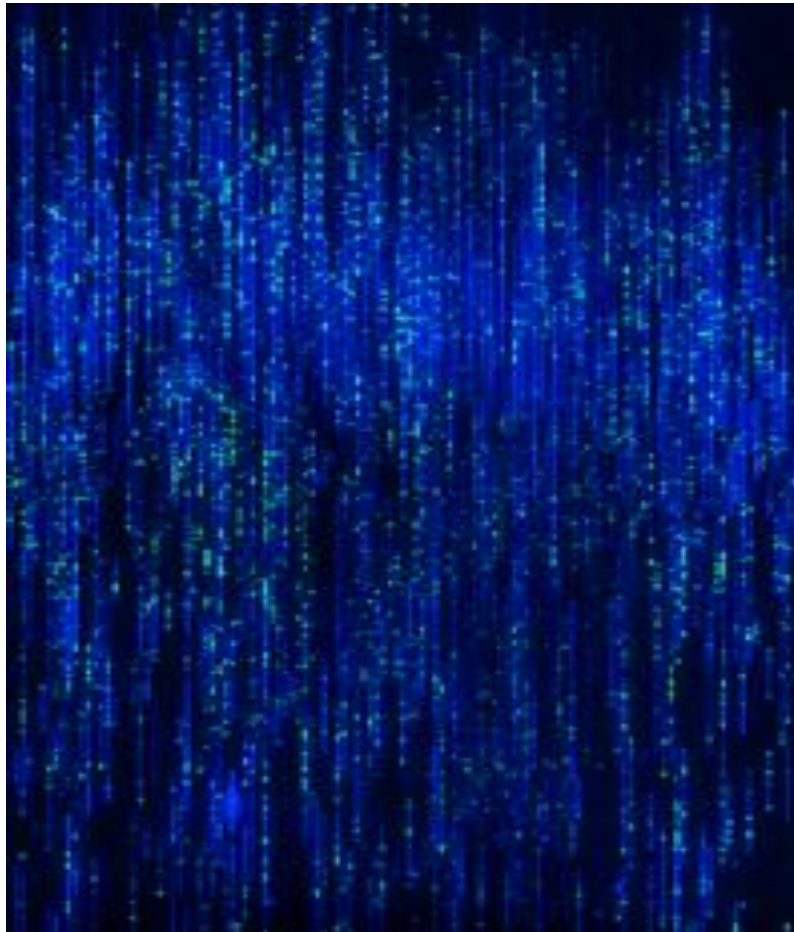
## Bionano Genome Imaging

Consolidates 3 Into 1 convenient assay with all events identified

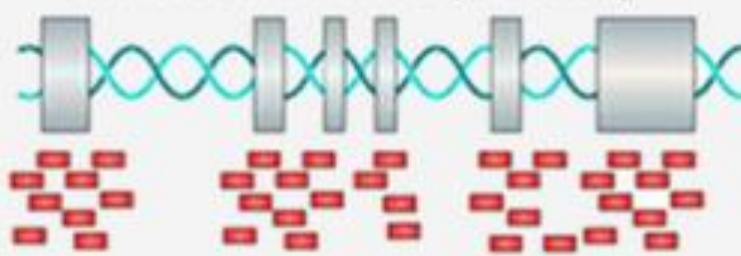


# Zukünftiger Diagnostik Algorithmus

## Optical Genomic Mapping



### Whole exome sequencing



- Sequencing region: whole exome
- Sequencing Depth : >50X ~ 100X
- Identify all kinds of variants including SNPs, INDELs and SV in coding region.
- Cost effective

# Sequenzierung des gesamten Genoms

## DNaseq

### Whole genome sequencing



- Sequencing region : whole genome
- Sequencing Depth : >30X
- Covers everything – can identify all kinds of variants including SNPs, INDELs and SV.

### Whole exome sequencing

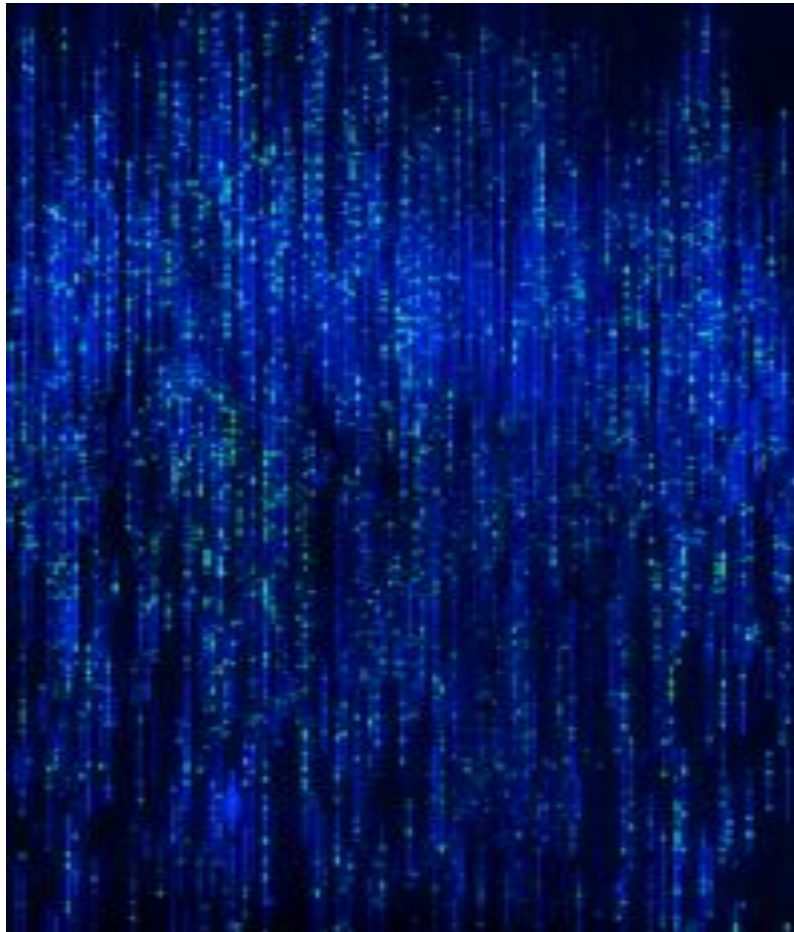


- Sequencing region: whole exome
- Sequencing Depth : >50X ~ 100X
- Identify all kinds of variants including SNPs, INDELs and SV in coding region.
- Cost effective



# Zukünftiger Diagnostik Algorithmus

## Optical Genomic Mapping



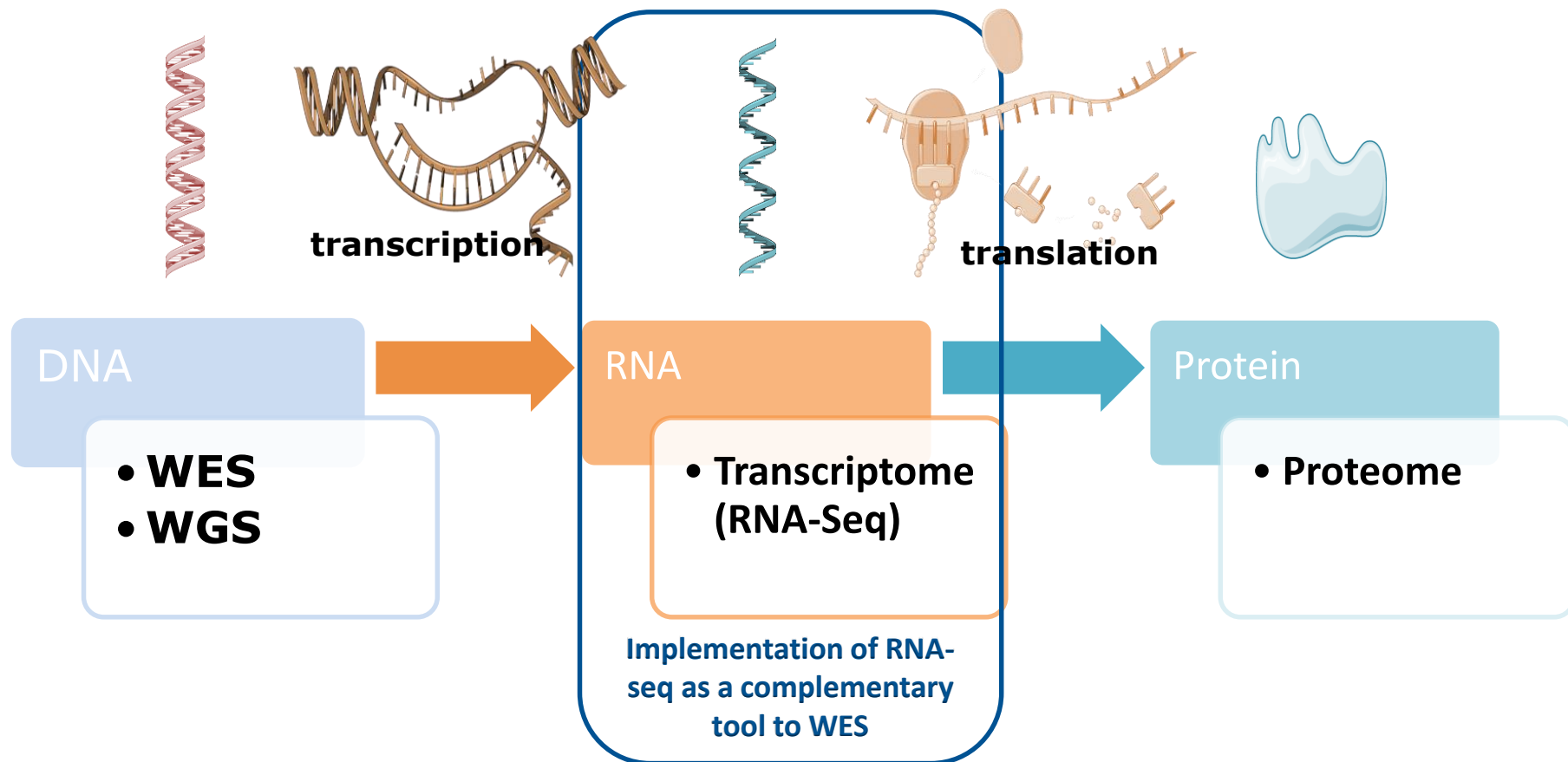
## DNAseq

### Whole genome sequencing



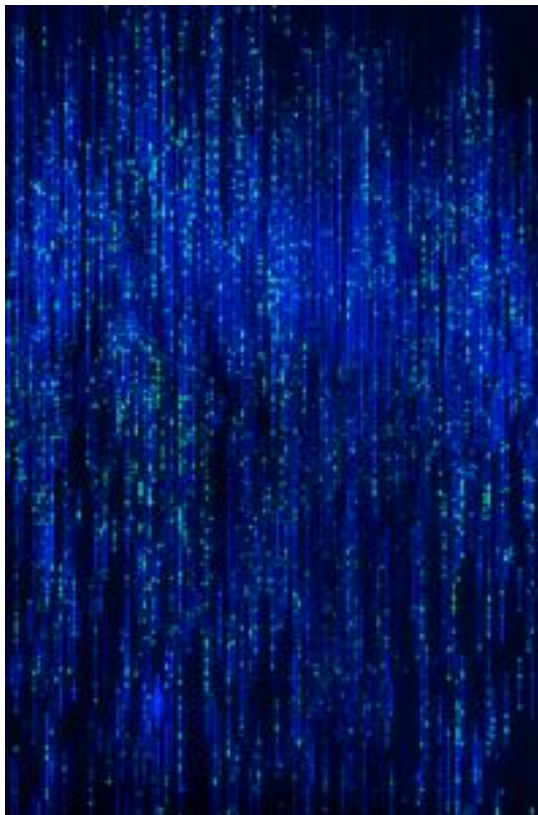
- Sequencing region : whole genome
- Sequencing Depth: >30X
- Covers everything – can identify all kinds of variants including SNPs, INDELs and SV.

# RNA Sequenzierung



# Zukünftiger Diagnostik Algorithmus

## Optical Mapping



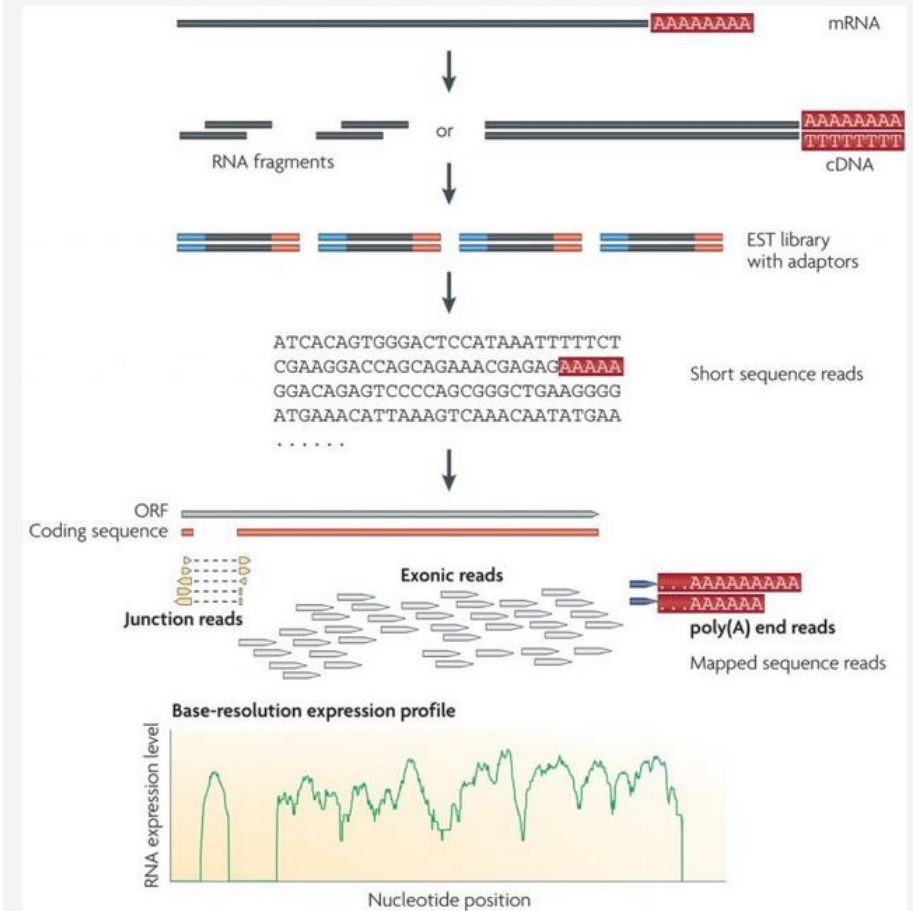
## DNaseq

### Whole genome sequencing



- Sequencing region : whole genome
- Sequencing Depth: >30X
- Covers everything – can identify all kinds of variants including SNPs, INDELS and SV.

## RNAseq

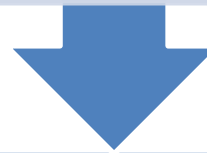


RNA-sequencing (Whole Transcriptome Sequencing, WTS) can quantify the level of individual genes and also identify the structural changes in the transcriptome.

## Zukünftiger Diagnostikalgorithmus

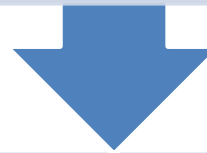
Ultraschall

Auffällig mit spezifischer oder unspezifischer Verdachtsdiagnose



Optical Genomic Mapping

Ansatz der Zellkulturen



WGS und ggfs. RNA Seq (falls möglich aus nativem Material)

Falls erforderlich zytogenetische Analyse aus Zellkulturen