

Terminologie und Nomenklatur für molekulargenetische Untersuchungen

Begrifflichkeiten, Mutationstypen und Auswirkung; HGVS-Nomenklatur
Qualitätsmerkmale eines Molekulargenetischen Berichts

Dr. rer. nat. Britta Blümcke

Dipl.-Biologin
Zentrum Familiärer Brust-
und Eierstockkrebs
Uniklinik Köln

PD Dr. rer. nat. Anke Waha

Dipl.-Biologin
Zentrum Familiärer Brust-
und Eierstockkrebs
Uniklinik Köln

Präambel

Die Online-basierte Fortbildung richtet sich insbesondere an ärztliche Mitarbeitende aus zertifizierten Brustkrebszentren und Gynäkologischen Krebszentren, die eine Kooperation mit einem Zentrum für familiären Brust- und Eierstockkrebs anstreben oder bereits abgeschlossen haben. Als Teilnehmende an der Online-basierten Fortbildung erhalten Sie alle relevanten Informationen und Lerninhalte, die für Ihre Kooperation und Ihre aktive Beteiligung an der Aufklärung zur genetischen Untersuchung Ihrer Patientinnen und Patienten nötig sind.

Die Online-basierte Fortbildung besteht aus zwei Teilen: aus Online-Vorträgen sowie einer Hospitation in einem Zentrum für familiären Brust- und Eierstockkrebs. Im Anschluss an die Vorträge bieten wir Ihnen eine kurze Wissensabfrage an, bei der eine Rate von 70 % richtiger Antworten erforderlich ist. Nach erfolgreicher Teilnahme an den Vorträgen und der Wissensabfrage wird Ihnen innerhalb weniger Tage eine Bestätigung an Ihre E-Mail-Adresse zugesandt. Bitte bringen Sie diese Bestätigung sowie das Formular zum Hospitationsnachweis (auf der Lernplattform zu finden) zur Hospitation im Zentrum für familiären Brust- und Eierstockkrebs mit, mit dem Ihre Klinik einen Kooperationsvertrag abschließen möchte bzw. bereits abgeschlossen hat. Die Terminabstimmung für die Hospitationen können Sie selbst flexibel vornehmen (Kontaktdaten der Zentren finden Sie auf der Lernplattform). Im Anschluss an die Hospitation können Sie sich dann mit dem unterschriebenen und eingescannten Dokument „Hospitationsnachweis“ bei der Deutschen Krebsgesellschaft e. V. melden, um das finale Zertifikat zu erhalten, das 2 Jahre gültig ist (Kontaktdaten auf der Lernplattform).

Das Vorliegen eines gültigen Zertifikats bei mindestens einer ärztlichen Mitarbeiterin bzw. einem ärztlichen Mitarbeiter ist eine der Voraussetzungen für den Abschluss bzw. die Aufrechterhaltung eines Kooperationsvertrages mit einem Zentrum für familiären Brust- und Eierstockkrebs .

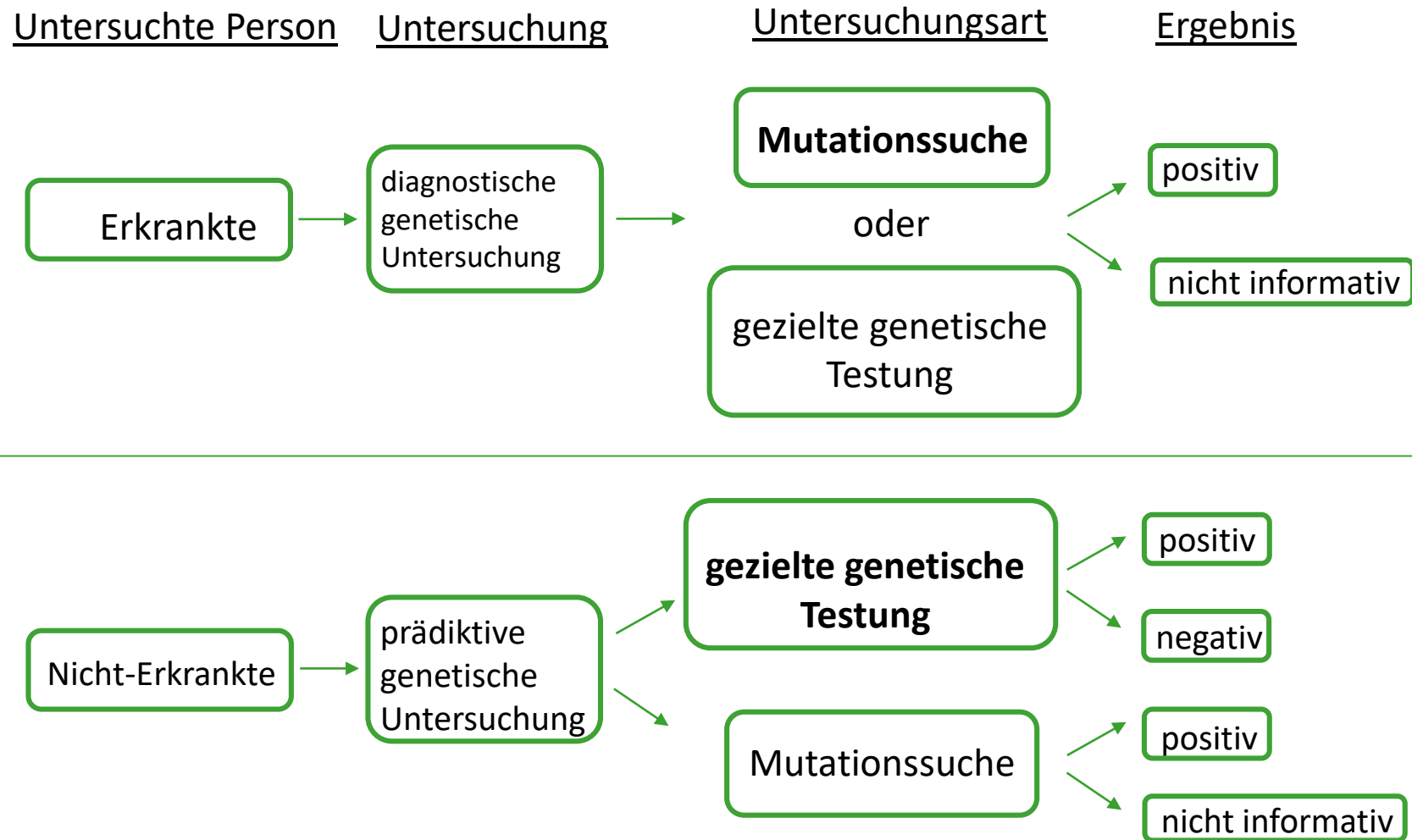
Wir hoffen, dass Ihnen unser neues Lernformat gefällt und wünschen Ihnen eine interessante Fortbildung und viel Erfolg!

Lerninhalte

Nach erfolgreicher Absolvierung dieses Lernmoduls...

- kennen Sie die Terminologie der genetischen Untersuchungen.
 - kennen Sie die klinisch relevanten Mutationstypen.
 - können Sie diese anhand der HGVS (= Human Genome Variation Society) Nomenklatur beschreiben.
 - können Sie die Qualität eines Genbefundes bewerten.
-

Terminologie bei genetischen Untersuchungen



HGVS-Nomenklatur

autorisiert von:

Human Genome Variation Society (HGVS)

Human Variom Project (HVP)

HUman Genome Organization (HUGO)

www.hgvs.org

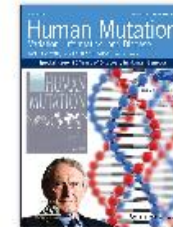
Nomenklatur-Updates werden veröffentlicht:



Special Article |  Free Access

HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update

Johan T. den Dunnen, Raymond Dalgleish, Donna R. Maglott, Reece K. Hart, Marc S. Greenblatt, Jean McGowan-Jordan, Anne-Francoise Roux, Timothy Smith, Stylianos E. Antonarakis, Peter E.M. Taschner,
on behalf of the Human Genome Variation Society (HGVS), the Human Variome Project (HVP), and the Human Genome Organisation (HUGO)



Volume 37, Issue 6

Special Issue: 25 Years of
Discovery in Human Genetics

June 2016

Pages 564-569

Allgemeine Empfehlungen der HGVS-Nomenklatur

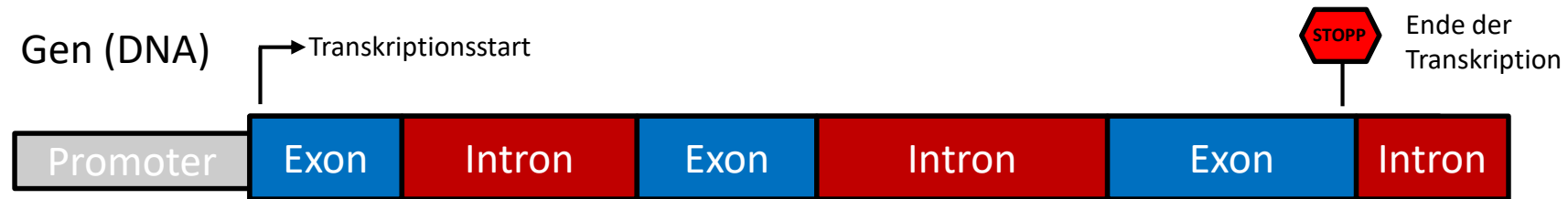
Die Bezeichnung der Sequenzvarianten werden auf **DNA-Ebene** angegeben, in Bezug auf eine Referenzsequenz

c. = codierende Sequenz
- experimentell bestimmt -

RNA- und / oder **Protein-**Bezeichnungen **können** als Zusatz erfolgen

p. = (Protein Sequenz)
- theoretisch abgeleitet -

Aufbau eines Gens



Promotor = Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren und Proteine, die für die Genregulation verantwortlich sind

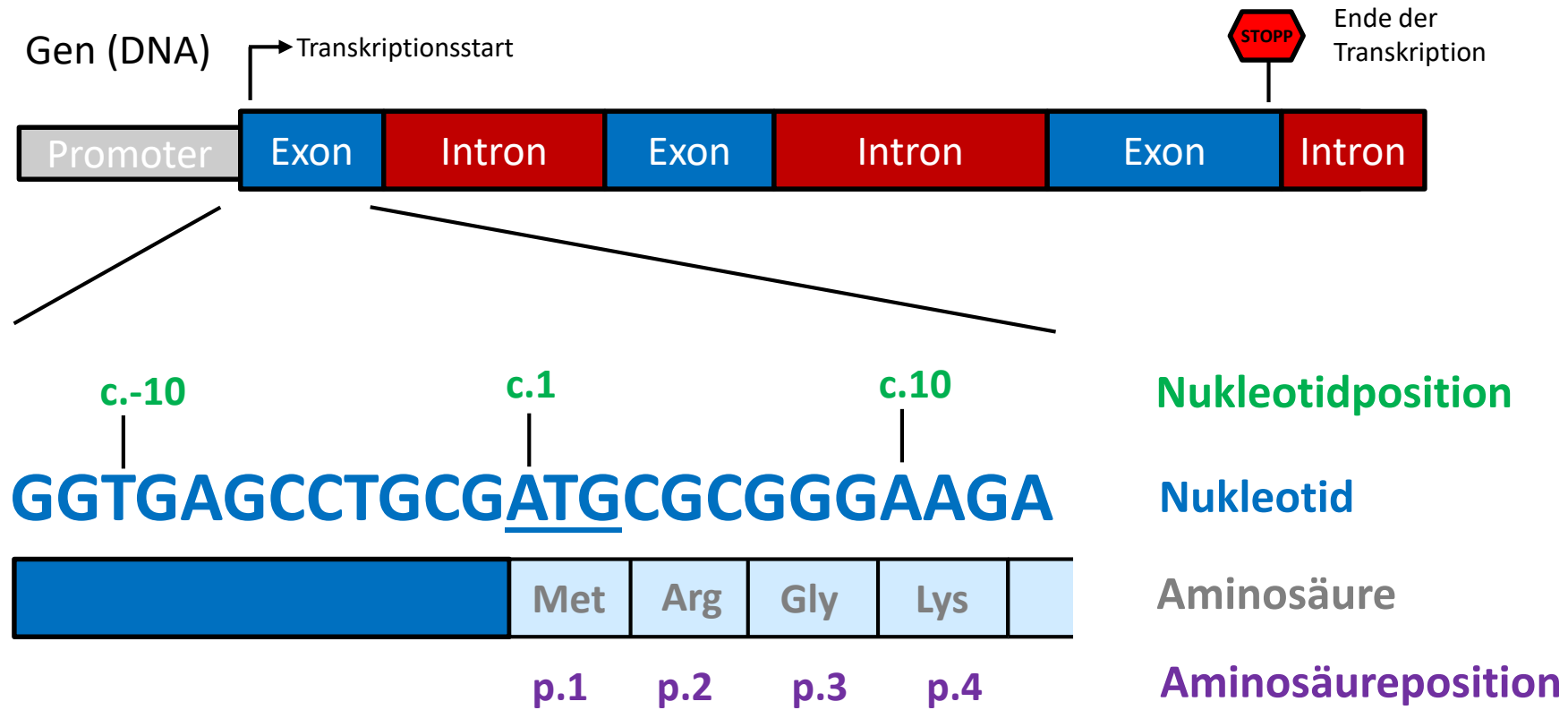
Exon = kodierender Bereich eines Gens

Intron = nicht kodierender Bereich

Transkription = Umschreiben von DNA in RNA (Synthese von RNA)

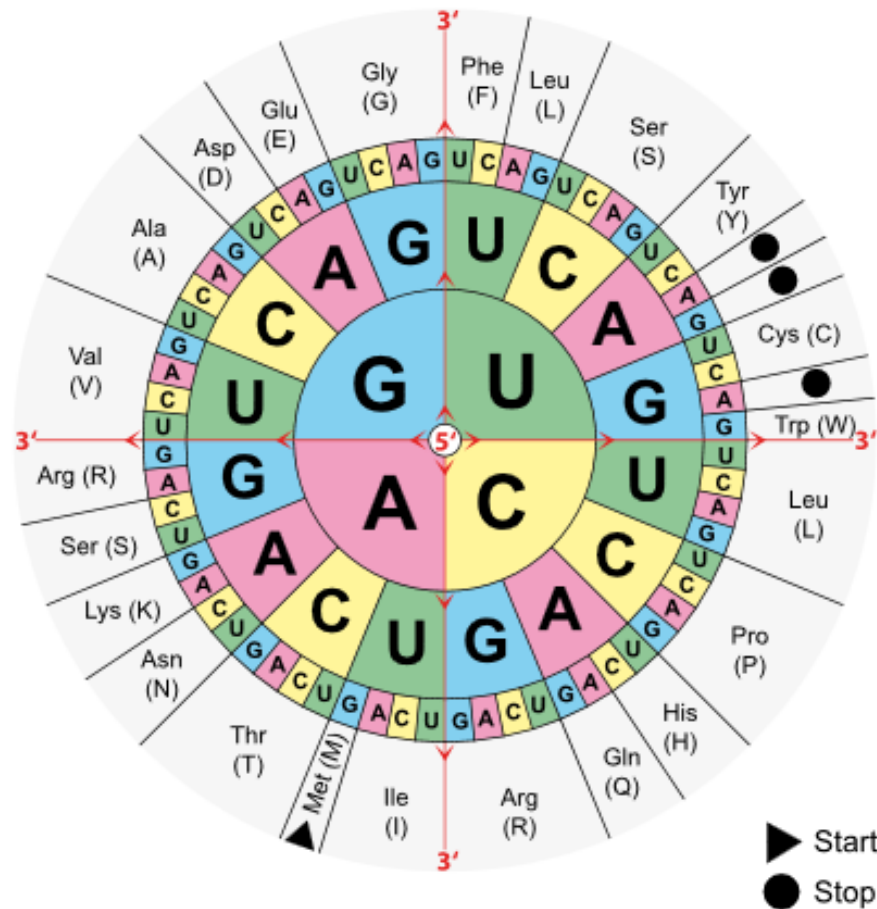
In der Regel wird genomische DNA amplifiziert, d.h. Exons mit den flankierenden intronischen Bereichen.

Bestimmung der Nukleotid- und Proteinposition



Die Basen Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) und Thymin (T) werden vom Start-Codon, ATG bis zum letzten Exon (Stopp-Codon) durchgezählt. Die Aminosäuren entsprechend im Triplet nummeriert. Exon- / Intron-Grenzen werden mit + bzw. – angegeben.

Genetischer Code



Drei Basen (Codon, Triplet) codieren eine Aminosäure:

- GGA wird zu Glycin (Gly, G)
- TTC (UUC) wird zu Phenylalanin (Phe, F)
- ATG (AUG) wird zu Methionin (Met, M) **Start**
Hinweis: nach HGVS Nomenklatur werden Aminosäuren im Dreibuchstaben Code angegeben
- TAA (UAA) wird zu **Stopp**
- TAG (UAG) wird zu **Stopp**
- TGA (UGA) wird zu **Stopp**
- **Thymin (T) wird in der RNA durch Uracil (U) ersetzt.**

führt zum Abbruch der Proteinbiosynthese

Systematische Einteilung der Mutationen

1. Punktmutation (Nukleotidaustausch, Substitution)

- stille Mutation (synonyme Veränderung)
- missense Mutation (nicht synonyme Veränderung)
- nonsense Mutation

2. Deletion, Duplikation und Insertion (Änderung der Basenanzahl)

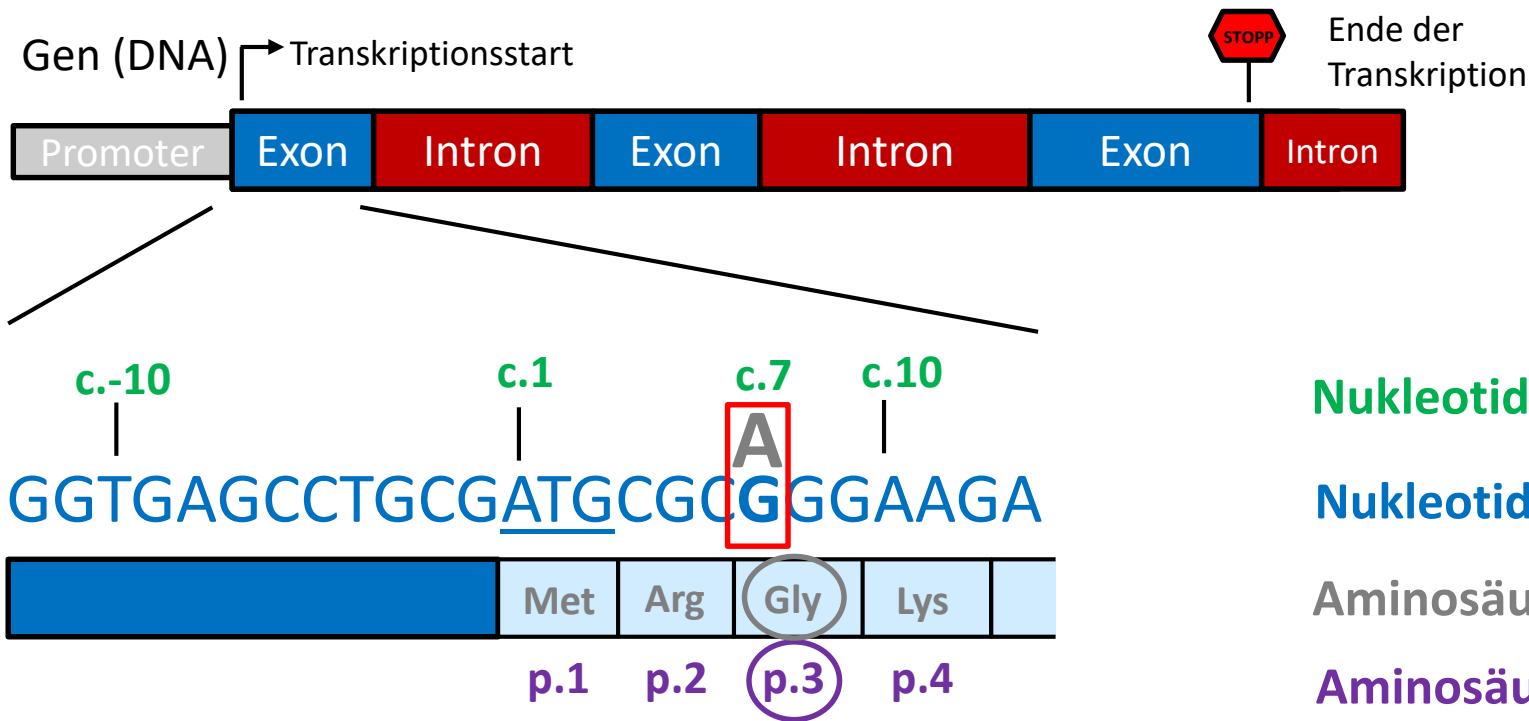
3. Spleißmutation (Veränderung im Ablauf des Spleißmechanismus)

4. CNV= Copy Number Variation (große Deletion/Duplikation)

Punktmutationen (Nukleotidaustausch, Substitution)

TTA	CGA	TCT	Wildtyp-Sequenz
Leu	Arg	Ser	Aminosäure-Sequenz
TTA	CGA	TCA	stille Mutation
Leu	Arg	Ser	kein Aminosäureaustausch
TTA	CGA	TTT	Missense-Mutation
Leu	Arg	Phe	Aminosäureaustausch Ser → Phe
TTA	TGA	TCT	Nonsense-Mutation
Leu	Stopp		Stopp-Codon (TAG, TAA, TGA) entsteht

Beispiel: Punktmutation - Missense



Nukleotidposition

Nukleotid

Aminosäure

Aminosäureposition

c.7G>A, p.(Gly3Arg)

Eine Punktmutation an Nukleotidposition 7 führt zum Austausch von Guanin (G) zu Adenin (A) sowie zum Aminosäureaustausch von Glycin zu Arginin an Position 3.

Systematische Einteilung der Mutationen

1. Punktmutation (Nukleotidaustausch, Substitution)

- stille Mutation (synonyme Veränderung)
- missense Mutation (nicht synonyme Veränderung)
- nonsense Mutation

2. Deletion, Duplikation und Insertion (Änderung der Basenanzahl)

3. Spleißmutation (Veränderung im Ablauf des Spleißmechanismus)

4. CNV= Copy Number Variation (große Deletion/Duplikation)

Deletion – Duplikation – Insertion

TTA CGA TCT TTA CGA TCT TTA ACT AGT
Leu Arg Ser Leu Arg Ser Leu Thr Ser

Wildtyp-Sequenz
Aminos.-Sequenz

TTA CGA TCT TAC GAT CTT TAA CTA GTX
Leu Arg Ser Tyr Asp Leu **Stopp**

Deletion T

TTA CGA TCT ~~Leu~~ CGA TCT TTA ACT AGT
Leu Arg Ser Arg Ser Leu Thr Ser

Deletion TTA

TTA CGA TCT TTT ACG ATC TTT AAC TAG
Leu Arg Ser Phe Thr Ile Phe Asn **Stopp**

Duplikation T

TTA CGA TCT TTA CTG ATC TTT AAC TAG
Leu Arg Ser Leu Leu Ile Phe Asn **Stopp**

Insertion T

Ist die Anzahl der deletierten, duplizierten oder inserierten Nukleotide durch die Zahl 3 teilbar, kommt es zu keiner Verschiebung des Leserasters (*in frame*-Mutation). Ist die Anzahl dagegen nicht durch 3 teilbar, kommt es zu einer Verschiebung des Leserasters, zu einem verfrühten Stopp-Codon und folglich zum Abbruch der Proteinsynthese (*frameshift*-Mutation).

Systematische Einteilung der Mutationen

1. Punktmutation (Nukleotidaustausch, Substitution)

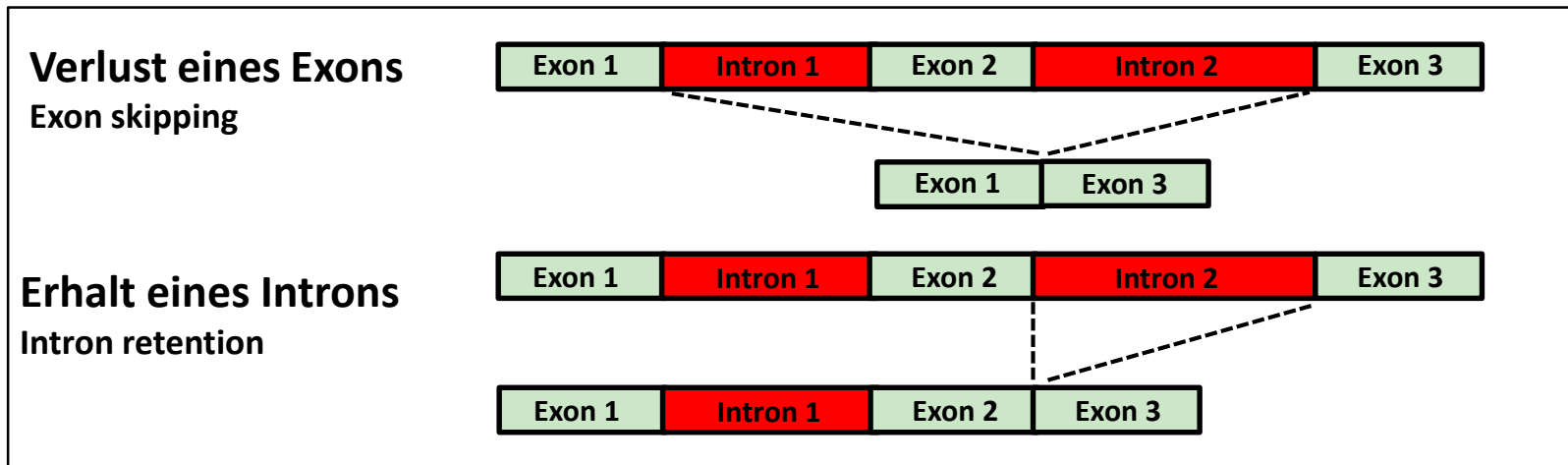
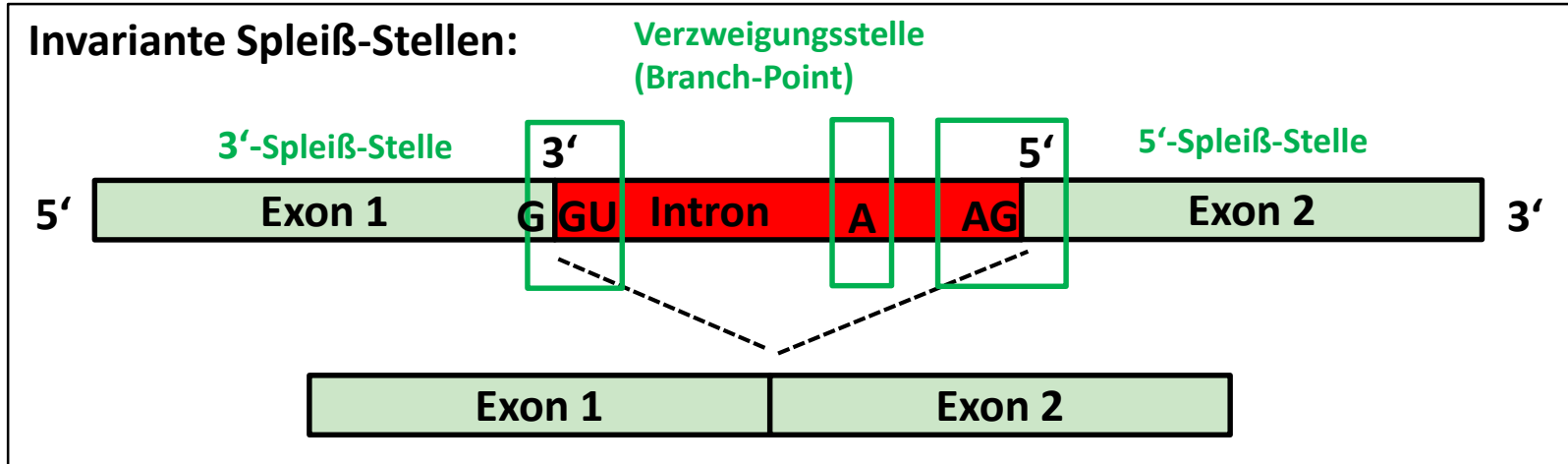
- stille Mutation (synonyme Veränderung)
- missense Mutation (nicht synonyme Veränderung)
- nonsense Mutation

2. Deletion, Duplikation und Insertion (Änderung der Basenanzahl)

3. Spleißmutation (Veränderung im Ablauf des Spleißmechanismus)

4. CNV= Copy Number Variation (große Deletion/Duplikation)

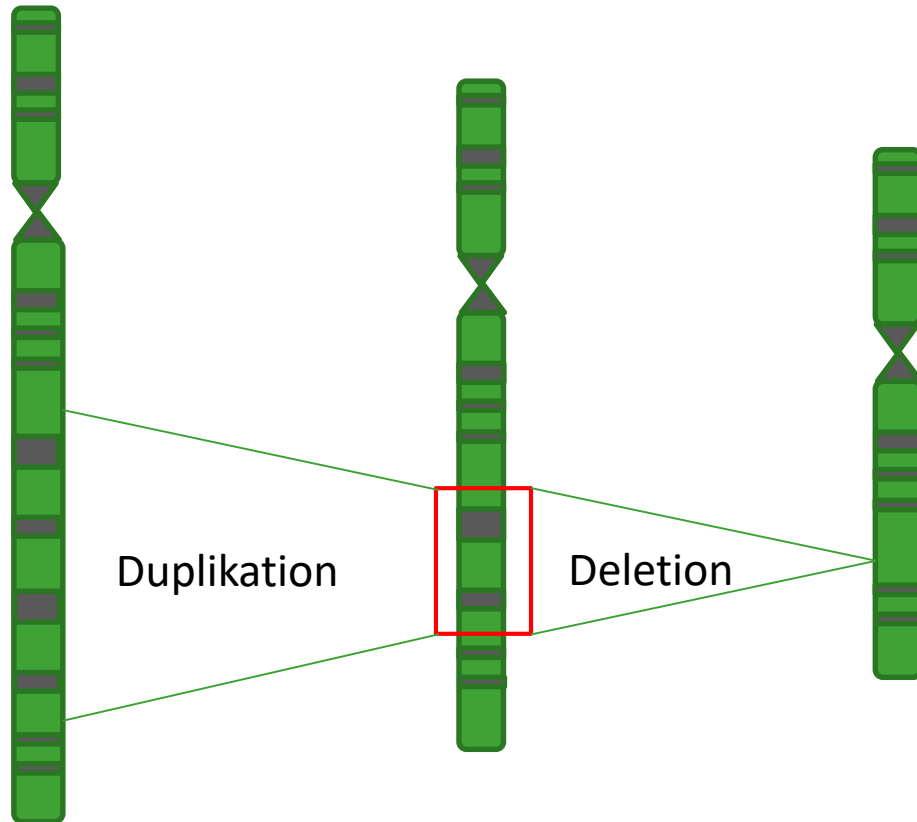
Prozess des Spleißens und Spleißmutationen



Systematische Einteilung der Mutationen

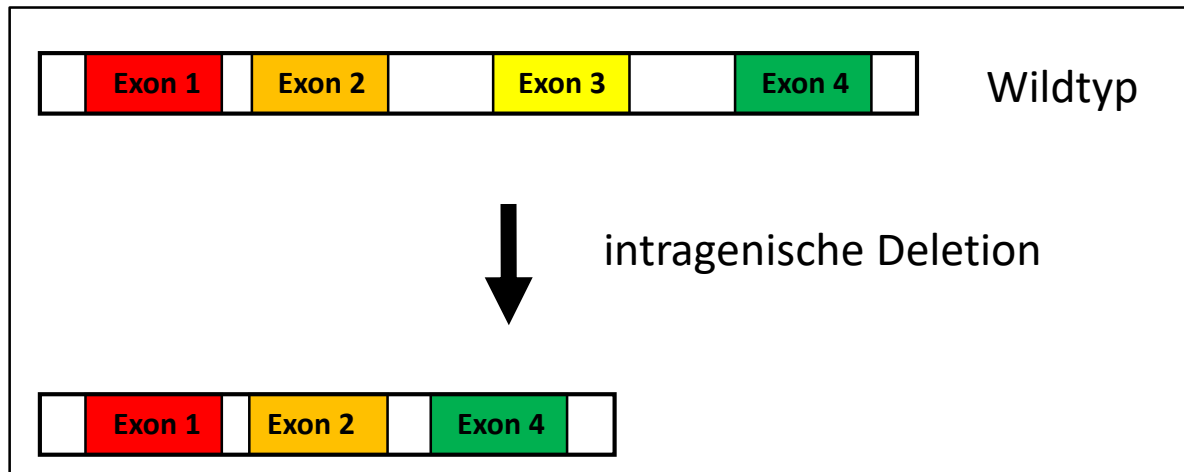
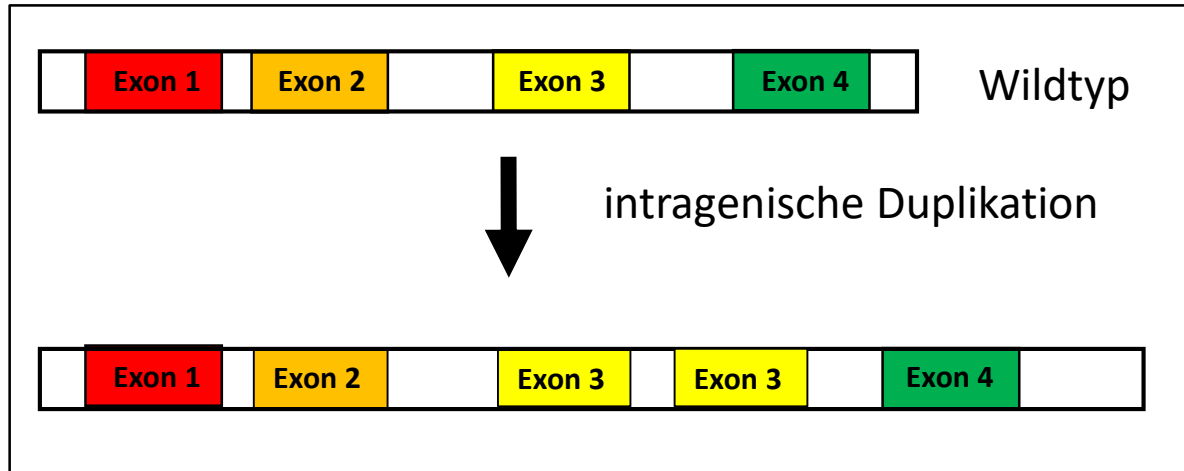
1. Punktmutation (Nukleotidaustausch, Substitution)
 - stille Mutation (synonyme Veränderung)
 - missense Mutation (nicht synonyme Veränderung)
 - nonsense Mutation
 2. Deletion, Duplikation und Insertion (Änderung der Basenanzahl)
 3. Spleißmutation (Veränderung im Ablauf des Spleißmechanismus)
 4. **CNV= Copy Number Variation (große Deletion/Duplikation)**
-

Copy Number Variations



Variationen in der Kopienzahl von genomischen Regionen
➔ Duplikationen, Deletionen von > 1kb bis zu mehreren Mbs

Große Deletionen/Duplikationen (large rearrangements)



Zusammenfassung HGVS-Nomenklatur für Sequenzvarianten

Mutationstyp	HGVS	Folge / Auswirkung
<p>Substitution <u>Stille Mutation</u> (synonyme Veränderung) Bsp: <i>BRCA2</i>, Exon 11</p>	<p>c.3396A>G p.(Lys1132=)</p>	<p>Obwohl Basenaustausch, keine Änderung der Translation des Codes Aber: Je nach Position der stillen Mutation, Beeinflussung des Spleißvorgangs möglich</p>
<p>Substitution <u>Missense Mutation</u> (nicht synonyme Veränderung) Bsp.: <i>BRCA2</i>, Exon 22</p>	<p>c.8871A>T p.(Gln2957His)</p>	<p>Basenveränderung im Codon führt zum Aminosäureaustausch.</p>
<p>Substitution <u>Nonsense Mutation</u> Bsp.: <i>BRCA1</i>, Exon 2</p>	<p>c.34C>T p.(Gln12*)</p>	<p>Durch Basenveränderung entsteht ein vorzeitiges oder verspätetes Terminationssignal, die Proteinbiosynthese wird vorzeitig beendet.</p>

Zusammenfassung HGVS-Nomenklatur für Sequenzvarianten

Mutationstyp	HGVS	Folge /Auswirkung
Deletion (<i>frameshift</i>) Bsp. <i>BRCA1</i> , Exon 11	c.1504_1508del p.(Leu502Ala fs*2)	Ausfall von 5 Nukleotiden (TTAAA), Änderung der Abfolge der Basen und der Aminosäuren, <i>frameshift</i>
Deletion (<i>in frame</i>) Bsp. <i>BRCA1</i> , Exon 11	c.1504_1506del p.(Leu502 del)	Ausfall von 3 Nukleotiden (TTA), Änderung der Abfolge der Basen und der Aminosäuren, Kein <i>frameshift</i>
Duplikation Bsp. <i>BRCA1</i> , Exon 20	c.5266dup p.(Gln1756Pro fs*74)	2 faches Auftreten einzelner oder mehrerer Basen (C), <i>frameshift</i>
Insertion Bsp. <i>BRCA1</i> , Exon 6	c.229_230insGTCAACTTGTT oder c.229_230ins11 p.(Thr77Ser fs*15)	Einfügen von 11 Nukleotiden (GTCAACTTGTT), Änderung der Abfolge der Basen und der Aminosäuren, <i>frameshift</i>

Zusammenfassung HGVS-Nomenklatur für Sequenzvarianten

Mutationstyp	HGVS	Folge /Auswirkung
Spleißmutation Bsp. <i>BRCA1</i> , Intron 15	c.4675+1G>A	Signalsequenzen für das Spleißen von Exons und Introns werden erzeugt oder zerstört.
CNV Bsp. <i>BRCA1</i> , del Exon 3	c.(80+1_81-1)_(134+1_135-1)del	Verlust von Exon 3 inklusiv. angrenzendes Intron 2 u. 3

Qualitätsmerkmale eines Molekulargenetischen Berichts

- Die Molekulargenetische Analyse wird in einem **akkreditierten** Labor durchgeführt, der molekulargenetische Bericht enthält das Logo der Internationalen und Deutschen Akkreditierungsstelle.
- Die identifizierte Sequenzvariante wird nach den Richtlinien der **HGVS-Nomenklatur** beschrieben.
- Die Klassifizierung der Sequenzvarianten erfolgt gemäß:



Plon et al., Hum Mutat. 2008 Nov; 29(1): 1282-1291.

Beschreibung des biologischen Effekts der Variante

Class 1: > 99 % neutral

Class 2: ≥ 95 % neutral

Class 3: unklare Signifikanz

Class 4: ≥ 95 % Funktionsverlust

Class 5: > 99 % Funktionsverlust

- Die Bewertung der Varianten erfolgt anhand der **ENIGMA** Kriterien und der **ACMG** Guidelines (<https://enigmaconsortium.org/> und Richards, S. et al., 2015, Genet Med; Hauke, J. et al., 2021, Senologie.), wissenschaftliche Publikationen werden zitiert.
- Angabe der im Labor durchgeführten Methoden zur molekulargenetischen Analyse.
- Angebot eines **Recall-Systems** bei Reklassifizierung einer Sequenzvariante, um ggf. die Behandlung und Betreuung der Betroffenen anzupassen.

Zusammenfassung

Eine einheitliche, standardisierte Beschreibung von Sequenzvarianten erfolgt nach den Empfehlungen der **HGVS-** (Human Genome Variation Society) Nomenklatur. Hierdurch wird ein internationaler Standard in der DNA-Diagnostik gesetzt, Molekulargenetische Berichte sind vergleichbar.

Veränderungen in der Sequenzabfolge der DNA (Mutation) können systematisch eingeteilt werden in:

- **Punktmutation** (Nukleotidaustausch, Substitution)
- **Deletion**, Duplikation und **Insertion** (Änderung der Basenanzahl)
- **Spleißmutation** (Veränderung im Ablauf des Spleißmechanismus)
- **CNV**= Copy Number Variation (große Deletion /Duplikation)

Die Qualität eines Molekulargenetischen Berichts zeichnet sich aus durch eine:

- Molekulargenetische Analyse in einem **akkreditierten** Labor
 - Beschreibung der Sequenzvariante nach **HGVS**
 - Bewertung der Sequenzvariante nach **ENIGMA** und **ACMG** Kriterien, Klassifizierung nach Plon et al., 2008 und Angabe von aktuellen **Publikationen**
 - Angebot eines **Recall-Systems** bei Reklassifizierung einer Sequenzvariante
-

Quellenverzeichnis

- den Dunnen, J. T. et al. (2016): HGSV Recommendations for the Description of Sequence Variations: 2016 Update, in: Human Mutation, 37(6): 564-569.
 - Diederichs, S. et al. (2016): The dark matter of the cancer genome: aberrations in regulatory elements, untranslated regions, splice sites, non-coding RNA and synonymous mutations, in: EMBO Molecular Medicine, 8(5): 442-457.
 - enigmaconsortium.org [Internet] <https://enigmaconsortium.org/> [Stand 2021-09-16].
 - Hauke, J. et al. (2021): Senologie - Zeitschrift für Mammadiagnostik und –therapie, 18(02): 136-162.
 - hgvs.org [Internet] <https://hgvs.org> [Stand 2021-09-16].
 - Plon, S. E. et al. (2008): Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results, in: Hum Mutatations, 29(11): 1282-1291.
 - Richards, S. et al. (2015): Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology, in Genet Med., 17(5): 405-424.
-

Ein Projekt von



Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Impressum

Die Online-basierte Fortbildung „Familiärer Brust- und Eierstockkrebs“ wurde – mit Förderung des Bundesministeriums für Gesundheit aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages durch die Bundesregierung – durch die DKG e. V. und das Deutsche Konsortium Familiärer Brust- und Eierstockkrebs (Projektleitung: PD Dr. Wesselmann, DKG e. V. und Prof. Dr. Rita Schmutzler, Koordinatorin Deutsches Konsortium Familiärer Brust- und Eierstockkrebs) konzipiert.

Die Inhalte des Curriculums wurden durch die Arbeitsgemeinschaft Curriculum des Deutschen Konsortiums entwickelt, basierend auf den Vorarbeiten am Zentrum Familiärer Brust- und Eierstockkrebs der Uniklinik Köln unter der Leitung von Prof. Dr. Rita Schmutzler und Prof. Dr. Kerstin Rhiem.

© Schulungsinhalte: Universitätsklinikum Köln, UKK (für das Deutsche Konsortium Familiärer Brust- und Eierstockkrebs, DK)

© elearning Format: UKK (für DK) und DKG e. V.

Die Inhalte dieser Präsentation sind urheberrechtlich geschützt. Jegliche Verwendung und/oder Weiterverarbeitung der geschützten Inhalte ist untersagt bzw. bedarf der Genehmigung der Urheber.

Mitglieder der Arbeitsgemeinschaft Curriculum Familiärer Brust- und Eierstockkrebs

Prof. Dr. rer. nat. Norbert Arnold

Dr. med. Barbora Cierna

PD Dr. Eva Maria Fallenberg

Dr. sc. hum. Christine Fischer

Dr. med. Sabine Grill

Prof. Dr. med. Tiemo Grimm

PD Dr. med. Ines Gruber

Andrea Hahne

PD Dr. med. Karin Kast

Dr. med. Kathrin Loosen

Dr. med. Stefanie Pertschy

PD Dr. med. Anne Quante

Prof. Dr. med. Kerstin Rhiem

Prof. Dr. med. Brigitte Schlegelberger

Prof. Dr. med. Rita Schmutzler

PD Dr. med. Dorothee Speiser

PD Dr. med Alexander Volk

PD Dr. rer. nat. Anke Waha

Prof. Dr. rer. nat. Bernhard H. F. Weber

Assoziierte Mitglieder/

Externe Expertinnen und Experten:

Dr. rer. nat. Britta Blümcke

Julia Dick, M.Sc

PD Dr. rer. nat. Eric Hahnen

Anke Harney

Dr. rer. nat. Jan Hauke

Friedhelm Meier

Prof. Dr. rer. nat. Tanja Zimmermann
