

DNA-SEQUENZIERUNGSTECHNOLIGIEN: MÖGLICHKEITEN UND PERSPEKTIVEN

Die moderne Biologie beschäftigt sich mit riesigen Datenmengen, dafür alte Methoden entweder nicht anwendbar sind oder die einfach nicht bewältigt werden können. Da kommt der Bioinformatik zu Hilfe. Im Prinzip wird die Bioinformatik definiert als der Gebrauch von Computer-, mathematischen und statistischen Methoden, um biologische Probleme zu lösen. Jetzt ist die biologische Forschung sehr vielfältig, in die ist eine Anzahl neuer Wissenschaften aufgetaucht (Genomik, Transkriptomik, Proteomik, Metabolomik u. a.), von denen viele bereits ihren Platz in der modernen Biologie genommen haben. Es gibt auch viele interdisziplinäre wissenschaftliche Richtungen, zum Beispiel in einem Bereich der systemischen Biologie [1]. Es hat für das Ziel, alles in einem einzigen Bild zu vereinen und Interaktionen in lebenden Systemen zu untersuchen und zu modellieren. Bioinformatik, wie auch Biologie, hat eine ziemlich breite Palette von Methoden und Abschnitten.

Bioinformatik als Wissenschaft befasst sich mit der Analyse von molekularbiologischen Daten. Dies können Sequenzen von Genomen, Proteinstrukturen, Daten zur Funktionsweise von Genen usw. sein. All dies sollte analysiert werden und aussagekräftige biologische Schlussfolgerungen ziehen, die für klassische Biologen verständlich und interessant sind. Dies können Aussagen darüber sein, wie die Zelle als Ganzes funktioniert (zum Beispiel, wie sich der Embryo in einigen früheren Stadien entwickelt), es können sehr spezifische Daten sein, dass dieses Protein dies tut, dieses Gen wird durch einen solchen und einen solchen Transkriptionsfaktor reguliert ist in solchen und solchen Bedingungen usw. enthalten.

Bioinformatik ist ein wichtiger Bestandteil vieler Bereiche der Biologie geworden. In der experimentellen Molekularbiologie werden bioinformatische Techniken verwendet, wie Bildgebung und Signalverarbeitung, um nützliche Ergebnisse aus einer großen Anzahl von Quelldaten zu erhalten. In dem Gebiet der Genetik und Genomik hilft die Bioinformatik beim Ordnen und Kommentieren von Genomen und beobachteten Mutationen. Es spielt eine Rolle in der Analyse von Daten aus biologischer Literatur und der Entwicklung biologischer und genetischer Ontologien bei der Organisation und Abfrage biologischer Daten. Es spielt eine Rolle in der Genanalyse, Proteinexpression und -regulation. Bioinformatik-Tools helfen beim Vergleich von genetischen und genomischen Daten und im Allgemeinen beim Verständnis der evolutionären Aspekte der Molekularbiologie. Im Allgemeinen hilft es, die biologischen Pfade und Netzwerke, die ein wichtiger Teil der systemischen Biologie sind, zu analysieren und zu katalogisieren. In der Strukturbioologie hilft es bei der Simulation und Modellierung von DNA-, RNA- und Proteinstrukturen sowie molekularen Wechselwirkungen.

Heutzutage gibt es Technologien, die es sehr schnell und kostengünstig ermöglichen, die Sequenz von Nukleotiden im Genom zu bestimmen [2]. Was fälschlicherweise Dekodieren des Genoms genannt wird, ist nicht wirklich eine Entschlüsselung, weil man die Bedeutung der Sequenz nicht versteht. Aber in DNA in einem Teströhrchen oder in einer Zelle können wir nun richtig schnell die Sequenz des Genoms bestimmen und folglich nachher mit einigen Computerwerkzeugen am Computer studieren.

Neue Sequenzierungstechnologien, d.h. neue Technologien zur Bestimmung der Sequenz von Nukleotiden in Genomen können nicht nur dazu verwendet werden, die Genome selbst zu untersuchen, sondern auch, um zu untersuchen, wie eine Zelle angeordnet ist, individuelle Wechselwirkungen in Zellen. Und in den letzten Jahren sind viele experimentelle Techniken aufgetaucht, basierend auf der Bestimmung der Sequenz von Nukleotiden in Fragmenten des Genoms, aber da wird nicht das Genom untersucht, sondern alle Interaktionen, die in der Zelle

stattfinden [3]. Dieser Bereich wird Systembiologie genannt – im Sinne, dass die Zelle als integrales System betrachtet wird: nicht in einem separaten Gen oder Protein, sondern sofort in allen Proteinen und Interaktionen.

Eine der wichtigsten Aufgaben der Bioinformatik ist die Verarbeitung einer großen Menge von Daten, die durch Sequenzierung erhalten werden. Sequenzierung ist der allgemeine Name von Methoden, mit denen eine Sequenz von Nukleotiden in einem DNA-Molekül erstellt werden kann. Heute ist es ein zuverlässiger Weg, genetische Veranlagungen und Risiken, interessante Merkmale und mögliche Krankheiten zu untersuchen. Die Bestimmung der Nukleotidsequenz einer DNA und ihre nachfolgende Interpretation kann mehr Informationen liefern als alle bisher bekannten Analysen.

Es gibt zwei Hauptmethoden für die DNA-Sequenzierung: chemische und enzymatische.

Die chemische Methode oder die Methode des chemischen Abbaus von Maxam-Gilbert wurde 1976 von Allan Maxam und Walter Gilbert entwickelt. Die Methode basiert auf der Spaltung markierter DNA-Abschnitte unter chemischer Einwirkung. Die Beschriftung erfolgt nur an einem Ende (3' oder 5'). Die Konzentration und Dauer der Wirkung des Reagenzes sind so gewählt, dass nur Nukleotide desselben Typs modifiziert sind (U; U + T; T; G + A). Die Trennung der markierten Abschnitte erfolgt durch Elektrophorese in einem Agarosegel.

Die enzymatische Methode oder Kettenabbruchmethode oder Didesoxysequenzierung wurde 1977 von Frederick Sanger entwickelt. Das Wesentliche liegt in der Synthese der untersuchten DNA-Kette mit dem Abbruch der Synthese durch Zugabe von Didesoxynukleotid. Geht in mehreren Stufen:

- Hybridisierung einer DNA-Stelle mithilfe eines Primers, einer künstlich erzeugter Sequenz, die zu einem Teil der ursprünglichen DNA komplementär ist;
- Enzymatische Synthese von DNA;
- Denaturierung, die zur Bildung von Oligonukleotidsequenzen unterschiedlicher Länge führt, die einen Primer enthalten;
- Elektrophorese in Polyacrylamidgel.

Die letzten 20 Jahre sind von automatisierter Sequenzierung nach der Sanger-Methode geprägt. Die Entwicklung der Sequenzierung in der Medizin begann das Zeitalter der Personalmedizin, wobei individuelle Unterschiede bei Patienten berücksichtigt wurden und die Qualität der medizinischen Versorgung verbessert werden konnte.

Derzeit gibt es auch sogenannte DNA-Sequenzierungsmethoden der neuen Generation [2]. Alle diese Technologien basieren auf der Sequenzierung von DNA-Chips während interaktiver zyklischer enzymatischer Reaktionen mit der weiteren Sammlung der erhaltenen Information in Form von Illustrationen. Mit Hilfe der erhaltenen Daten wird die DNA-Sequenz wiederhergestellt. Der Vorteil dieser Methoden ist, dass man mehrere Abschnitte der DNA gleichzeitig lesen kann.

Durch die schnelle Entwicklung neuer DNA-Sequenzierungstechnologien können die Eigenschaften von Organismen auf der Ebene ihrer Genome schnell und effizient bestimmt werden. Das Hauptergebnis der Entwicklung genomischer und postgenomischer Technologien war eine bedeutende Erweiterung der Möglichkeiten, die genetische Quelle einer ganzen Reihe von menschlichen Krankheiten zu untersuchen. Groß angelegte assoziative Forschung von vielen klinischen Proben ermöglicht es, Daten über genetische Merkmale in spezifischen Gruppen von Menschen (Familien, Populationen) zu erhalten und Methoden der personalisierten Medizin zu entwickeln. In diesem Zusammenhang ist die Untersuchung der Mechanismen der genetischen Prädisposition für multifaktorielle Erkrankungen und die Identifizierung von spezifischen genetischen Markern heute besonders relevant. Ähnliche Methoden sind in den USA und Europa [4] weit verbreitet, wo moderne Sequenzierungstechnologien auch schrittweise in die medizinische Forschung und medizinische Praxis eingeführt werden, um eine Behandlungsstrategie zu personifizieren.

References

1. Artemov A.V., Mugue N.S., Rastorguev S.M., Zhenilo S., Mazur A.M., Tsygankova S.V. et al. (2017). Genome-wide DNA methylation profiling reveals epigenetic adaptation of stickleback to marine and freshwater conditions. *Molecular Biology and Evolution* [Electronic Resource] – Resource Access Mode: <https://academic.oup.com/mbe/article-abstract/34/9/2203/3813257>.
2. Erwin L. van Dijk, Hélène Auger, Yan Jaszczyszyn, Claude Thermes. (2014). Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends in Genetics*. 30, 418-426.
3. Palmer M, Steenkamp ET, Coetzee MPA, Avontuur JR, Chan WY, van Zyl E, Blom J, Venter SN (2018). *Mixta* gen. nov., a new genus in the Erwiniaceae. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 68(4): 1396-1407.
4. Геном человека: как это было и как это будет [Electronic Resource] – Resource Access Mode: <https://biomolecula.ru/articles/genom-cheloveka-kak-eto-bylo-i-kak-eto-budet>.

Wissenschaftlicher Leiter: PhD, Professor, Jochen Blom, PostDoc at Justus-Liebig-University Gießen, Germany