

Praxis für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | D-72076 Tübingen

Frau Dr. med. Kathrin Brockmann  
z. Hd. Frau Ina Wolfstädter  
Universitätsklinikum Tübingen  
Zentrum für Neurologie  
Hoppe-Seyler Straße 3  
72076 Tübingen

Patient	Tom P. (1970)
Geschlecht	männlich
Patienten-ID	86438
Probeneingang	05.05.2021
Unterlagen vollst.	06.07.2021
Material	EDTA-Blut
Befunddatum	26.07.2021

## Befund molekulargenetische Diagnostik

**Indikation** Parkinson-Erkrankung  
**Auftrag** Molekulargenetische Diagnostik: Parkinson-Erkrankung, autosomal dominant, Parkinson-Erkrankung, autosomal rezessiv und Parkinson-Erkrankung

Sehr geehrte Frau Dr. Brockmann,

vielen Dank für die Anforderung einer molekulargenetischen Diagnostik.

### ERGEBNIS

- Kein Nachweis von Varianten, die auf Basis der aktuellen Datenlage die Erkrankung Ihres Patienten molekulargenetisch bestätigen. Das Vorliegen einer genetisch bedingten Erkrankung ist damit jedoch nicht ausgeschlossen.
- Es wurden keine genomischen Zugewinne oder Verluste gefunden, die nach heutigem Wissensstand als wahrscheinlich ursächlich für die Erkrankung Ihres Patienten angesehen werden können.

### BEURTEILUNG

Der Verdacht auf eine durch pathogene Veränderungen in den untersuchten Genen verursachte Parkinson-Erkrankung konnte bei Ihrem Patienten molekulargenetisch nicht bestätigt werden.

Varianten in nicht untersuchten Bereichen der analysierten Gene (z.B. Introns, untranslatierte Regionen (UTRs), Promotor oder Enhancer), in Bereichen mit multiplen Kopien hoher Sequenzhomologie, Repeat-Expansionen sowie Kopienzahlveränderungen einzelner Exons oder eines gesamten Gens können nicht sicher erfasst und somit nicht ausgeschlossen werden. Des Weiteren können Mosaik mit geringem Frequenzanteil nicht sicher erfasst und somit ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Varianten, die gemäß aktueller Datenlage als benigne oder wahrscheinlich benigne eingestuft werden, sind nicht

Praxis für Humangenetik Tübingen | Paul-Ehrlich-Str. 23 | D-72076 Tübingen

Dr. med. Dt. rer. nat. Saskia Biskup | Fachärztin für Humangenetik

Telefon: 07141 565 44 00; Fax: 07141 565 44 22 | info@humangenetik-tuebinge.de | www.humangenetik-tuebinge.de

Bank für Leasing: GLS Bank AG | DE22 6406 1850 0602 04 001 | SWIFT: GLSDF333

DAKKS

Deutsche  
Akkreditierungs-  
D-ML-2132-CHG

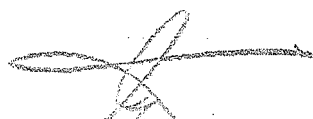
Abrechnung: ...  
DR. MED. SASKIA BISKUP

aufgeführt. Obwohl unwahrscheinlich, ist es außerdem möglich, dass sich aufgrund neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse die Einschätzung der Pathogenität von Varianten zu einem späteren Zeitpunkt verändern könnte.


Sollten Sie eine weiterführende Diagnostik für Ihren Patienten wünschen, können Sie uns gerne kontaktieren.

Nach § 10 Gen DG soll jede diagnostische genetische Untersuchung mit dem Angebot einer genetischen Beratung einhergehen.

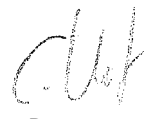
Mit freundlichen Grüßen



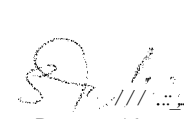
Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup  
Dr. med. Friedmar Kreuz, M.A.  
Fachärztin/Lehrärztin für Humangenetik



Dr. rer. nat. Carolin Obermaier  
Dr. rer. nat. Sabrina Jörchel  
Diagnostik



Dr. rer. nat.  
Christin Voigt  
Diagnostik



Dr. rer. nat.  
Silke Metzger  
Diagnostik

## ERGÄNZENDE INFORMATIONEN

- Untersuchte Regionen** **CHCHD2, GBA, LRRK2, SNCA, VPS35** (Parkinson-Erkrankung, autosomal dominant)  
**ATP13A2, DNAJC6, FBX07, PARK7, PINK1, PLA2G6, PRKN, SLC30A10, SYNJ1, VPS13C** (Parkinson-Erkrankung, autosomal rezessiv)  
**ATP13A2, ATP1A3, C19orf12, CHCHD2, DCTN1, DNAJC12, DNAJC6, FBX07, FTL, GBA, GCH1, GRN, LRRK2, MAPT, PANK2, PARK7, PINK1, PLA2G6, PRKN, PRKRA, SLC30A10, SLC39A14, SLC6A3, SNCA, SPG11, SPR, SYNJ1, TH, VPS13C, VPS35** (Parkinson-Erkrankung)
- Methoden**  
**Sequenzierung:** Die kodierenden Bereiche sowie die angrenzenden Intronbereiche wurden mittels in-solution-hybridization Technologie angereichert und anschließend mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung auf dem Illumina HiSeq/NovaSeq System analysiert. Mindestens eine seltene Variante wurde mittels herkömmlicher Sanger-Sequenzierung nachsequenziert und auf diese Weise in einem unabhängigen Ansatz durch eine zweite Methode bestätigt.  
**NGS basiertes CNV-Calling:** CNVs (*copy number variations*) wurden auf Basis von Sequenzen, die eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden konnten, unter Verwendung einer intern entwickelten Methode basierend auf der Sequenzierungstiefe berechnet. Es wurden Referenzproben verwendet, um ein Modell der erwarteten Abdeckung zu erstellen, das sowohl mögliche Abweichungen im Laborprozess als auch Variation zwischen Proben generell widerspiegelt. Das *CNV-Calling* wurde durchgeführt, indem die normalisierte Abdeckung jeder Probe und deren Abweichung von der erwarteten Abdeckung berechnet wurden. Genomische Regionen werden als Variante bezeichnet, wenn sie signifikant von der erwarteten Abdeckung abweichen.  
Bitte beachten Sie, dass die auf *Next-Generation Sequencing* basierende Detektion von Kopienanzahlveränderungen eine geringere Sensitivität/Spezifität aufweist als beispielsweise eine MLPA. Sämtliche befundenen CNVs wurden, wenn möglich, mit Hilfe einer zweiten Methode validiert. Im Rahmen des Befundes nicht berichtete CNVs garantieren letztlich nicht das generelle Fehlen von CNVs.  
**Bioinformatik:** Die Sequenzierdaten wurden mit Illumina bcl2fastq2 aufbereitet. Mitsequenzierte Adaptersequenzen wurden mit Skewer entfernt und die so erhaltenen Sequenzen durch den Burrows Wheeler Aligner gegen das humane Referenzgenom (hg19) aligniert. Sequenzen, die nicht eindeutig einer genomischen Position zugeordnet werden konnten, wurden entfernt, ebenso Sequenzduplikate, die wahrscheinlich auf die Amplifikation zurückzuführen sind. Anhand der verbleibenden Sequenzen hoher Qualität wurden

Pfaxis für Humangenetik Tübingen : Paul-Ehrlich-Str. 23 | 72076 Tübingen  
Dr. med. Dr. rer. nat. Saskia Biskup ; Fachärztin für Humangenetik  
Tel: 0707 | 565 44 00 : Fax: 07071 565 44 22 | info@humangenetik-tpebingen.de : www.humangenetik-webingen.de  
VR Bank Tübingen eG | IBAN: DE22 6406 1854 0602 6410 04 | SWIFT/ BIC: GENODES1STW

DAKKS  
Deutsche  
Akkreditierungsstelle  
DNVZ13001400  
DIN EN ISO 15189:2013

Sequenzvarianten (Einzelnukleotidaustausche und kurze Insertionen/Deletionen) bestimmt. Diese wurden mit verschiedenen internen und externen Datenbanken annotiert.

**Genetische Datenauswertung:** Die Klassifizierung von Varianten basiert auf den ACMG/ACGS-2020v4.01 Richtlinien (Richards et al., 2015, PMID: 25741868, <https://www.acgs.uk.com/quality/best-practice-guidelines/>).

Bewertet werden nur Varianten (SNVs/Small Indels) mit einer Populationsfrequenz (MAF) < 1,5 % innerhalb der kodierenden Regionen sowie in flankierenden intronischen Regionen ( $\pm 8$  bp). Bekannte krankheitsauslösende Varianten (laut HGMD) werden in flankierenden Regionen bis zu  $\pm 30$  bp und bis zu einer MAF < 5 % bewertet. Populationsfrequenzen werden anhand öffentlicher Datenbanken (z.B. gnomAD) sowie einer internen Datenbank ermittelt. Unsere Qualitätskriterien erfordern bei Nichterreichen einer informativen Sequenzierentiefe mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine lokale Re-Sequenzierung mittels herkömmlicher Sanger-Technologie. Sämtliche für den gegebenen Fall relevanten und nach obigem Vorgehen identifizierten CNVs werden manuell evaluiert. Potenziell pathogene Ergebnisse werden ggf. mit einer zweiten diagnostischen Methode, wie beispielsweise MLPA, validiert.

Im vorliegenden Fall wurde mittels Hochdurchsatz-Sequenzierung eine Sequenzierentiefe von min. 30X für > 99,9 % der kodierenden Bereiche erreicht. **Für die Beurteilung der Varianten wurden die klinischen Informationen herangezogen, die uns zum Zeitpunkt der Auswertung vorlagen.** Befundet werden nur Varianten, die entsprechend der aktuellen Datenlage nicht als benigne oder wahrscheinlich benigne eingestuft wurden. Die *in silico*-Vorhersage der in der Tabelle aufgeführten Varianten wird anhand der Einzelergebnisse der Programme Mutation Taster, fathmm, Mutation Assessor, SIFT, fathmm-MKL coding, LRT und PROVEAN wie folgt berechnet: 100 % Übereinstimmung= „pathogen“ bzw. „benigne“;  $\geq 75$  % Übereinstimmung= „überwiegend pathogen“ bzw. „überwiegend benigne“; Übereinstimmung < 75 % oder keine Vorhersage möglich= „uneinheitlich“. Zur Einstufung der Auswirkung einer Variante auf das Spleißen wird SpliceAI verwendet (Grenzwert 0,8-1 „Spleißeffekt“, 0,6-0,8 „Möglicherweise Spleißeffekt“, < 0,6 „Kein Spleißeffekt“; Jaganathan et al., 2019, PMID: 30661751). Für die Prädiktion von Spleißeffekten bei missense Veränderungen werden nur Werte > 0,8 berücksichtigt. In Einzelfällen kann diese Prädiktion durch zusätzliche *in silico*-Vorhersagen ergänzt werden.

Die Nomenklatur gefundener Varianten erfolgt nach den Richtlinien der HGVS, jedoch ohne Berücksichtigung der allelischen Zuordnung einzelner Varianten, da diese meist nicht bekannt ist.

Die Probe hat die bei uns geltenden Qualitätskriterien nach Probeneingang und den jeweiligen analytischen Bearbeitungsschritten im Labor eingehalten.

Bei dem oben beschriebenen Verfahren handelt es sich um einen inhouse entwickelten und validierten Test (Laboratory developed test; LDT).

**Bezüglich Mitteilung, Weitergabe und wissenschaftlicher Verwendung dieses Befundes gelten die Bestimmungen des GenDG.**