



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Advanced genome-wide screening in human genomic disorders

Knijnenburg, J.

### Citation

Knijnenburg, J. (2009, February 24). *Advanced genome-wide screening in human genomic disorders*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/13531>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/13531>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

---

## Samenvatting

Sinds de jaren vijftig van de afgelopen eeuw is het duidelijk geworden dat genetica een belangrijke rol speelt bij mentale retardatie. De zoektocht naar genetische afwijkingen die mentale retardatie veroorzaken, is gedomineerd door cytogenetische technieken als chromosoombandering. Hoewel vele genetische afwijkingen zoals trisomieën, gedeeltelijke trisomieën of monosomieën en (on)gebalanceerde translocaties zijn gevonden, is bij een significant deel van de gevallen geen genetische afwijking gedetecteerd, omdat de ondergrens van detectie bij chromosoombandering rond 5 tot 10 megabasen ligt.

Om kleinere genetische afwijkingen op te sporen is een nieuwe techniek ontwikkeld genaamd “array comparative genomic hybridization” (array-CGH). Deze moleculair-genetische techniek is gebaseerd op het vergelijken van twee genomische DNA monsters, die een verschillend fluorescerend label bevatten (meestal een patiëntmonster en een referentiemonster van een normaal persoon). Beide gelabelde monsters worden tegelijkertijd gehybridiseerd op een array van geïmmobiliseerde DNA fragmenten die specifieke stukken van het genoom vertegenwoordigen. De resolutie van deze array-CGH techniek hangt af van de mate van representatie van het hele genoom en de lengte van de geïmmobiliseerde DNA fragmenten.

In hoofdstuk 1 van dit proefschrift wordt array-CGH geïntroduceerd en besproken in de context van de algemeen gangbare cytogenetische en moleculaire technieken. Hoofdstukken 2 tot en met 8 beschrijven de ontwikkeling en het gebruik van een array-CGH platform in de moleculaire en cytogenetica. De desbetreffende array bestond uit DNA fragmenten van gemiddeld 100 kilobasen en een spatiële resolutie van ongeveer 1 megabase. De toegevoegde waarde van array-CGH ten opzichte van de conventionele banderingstechnieken wordt getoond in hoofdstuk 2. Chromosomale afwijkingen in primaire cellijnen van patiënten met bekende afwijkingen konden nauwkeuriger worden vastgesteld en zelfs worden verbeterd.

In een daaropvolgende studie is array-CGH vergeleken met technieken die op dit moment gebruikt worden voor de detectie van potentiële pathogene genetische afwijkingen. Met array-CGH konden 16% meer afwijkingen aangetoond worden in patiënten met mentale retardatie, welke ook bevestigd zijn met andere technieken. Deze resultaten zijn weergegeven in hoofdstuk 3 en het gevonden percentage is in overeenstemming met andere gepubliceerde studies.

De voordelen van array-CGH kunnen de huidige werkwijze in de postnatale diagnostiek volledig veranderen. Terwijl conventionele chromosoombandering de standaard is sinds vele jaren, wordt er in hoofdstuk 4 een nieuwe aanpak binnen de postnatale cytogenetica voorgesteld waarbij moleculair-genetische technieken als MLPA en array-CGH worden gebruikt als eerste stap in het onderzoek naar genetische afwijkingen. Deze robuuste, relatief goedkope en snelle procedure kan leiden tot een preciezere en snellere detectie van chromosoomafwijkingen.

De volgende hoofdstukken zetten op een gedetailleerde manier uiteen dat array-CGH een nuttige techniek is om chromosoomafwijkingen in detail aan te tonen en het nauwkeurig karakteriseren van afwijkingen mogelijk maakt. Dit type onderzoek toont genetische afwijkingen niet alleen aan, maar draagt ook bij tot de algemene kennis over hoe chromosoomafwijkingen ontstaan. Mogelijk resulteren deze studies in een beter inzicht tussen de correlatie tussen het genotype en het fenotype van patiënten en kunnen ze de invloed van een gen of genetisch gebied binnen een bepaald ziektebeeld vaststellen. Deze hoofdstukken laten ook zien dat het van wezenlijk belang is dat internationale samenwerkingsverbanden gecreëerd en onderhouden worden waarbinnen data over genetische variatie gedeeld worden. Immers alleen op deze manier kan beoordeeld worden of genetische variaties ziekteveroorzakend dan wel normaal zijn.

Hoofdstuk 5 en 6 beschrijven complexe chromosoomafwijkingen die tot in detail geanalyseerd zijn met array-CGH. In hoofdstuk 5 is bij een schijnbaar gebalanceerde complexe driewegtranslocatie met extra insertie een submicroscopische deletie vastgesteld. Hoofdstuk 6 beschrijft een complex ringchromosoom met een deletie, duplicatie en triplicatie, waarbij met G-banding en FISH in eerste instantie alleen de ringstructuur met een terminale deletie gevonden werd. Dit hoofdstuk laat zien dat voor een correcte correlatie tussen genotype en fenotype G-banding gecombineerd moet worden met een moleculair-genetische techniek met hoge resolutie.

In hoofdstuk 7 is een microduplicatie 3q29 beschreven die gevonden werd in vier verschillende families. Dit hoofdstuk toont aan dat deze specifieke chromosoomafwijking een causale maar een variabele en soms verminderde invloed heeft op het fenotype. Om te kunnen bewijzen dat een genetische afwijking een causale invloed heeft, is het van belang te komen tot een algemeen toegankelijke databank, waarin “case reports” en families met ongewone variatie staan geregistreerd. De interpretatie van dit soort data blijft een uitdaging, zoals blijkt uit hoofdstuk 8. Een deletie die herhaaldelijk gerapporteerd werd als een normale variatie bleek in homozygote vorm toch een causaal effect te hebben in een patiënt met syndroomaal gehoorsverlies.

Op dit moment worden in diagnostische laboratoria array-CGH technieken geïmplementeerd als ondersteuning of deels ter vervanging van klassieke cytogenetische technieken. Er is immers aangetoond dat deze een waardevolle aanvulling op de huidige diagnostiek zijn. Echter, om structurele chromosoomafwijkingen correct te kunnen typeren blijft chromosoombandering een belangrijke techniek.

De genetica bewijst een uiterst innovatief vakgebied te zijn, want nieuwe generatie sequencingtechnieken staan op het punt array-CGH te vervangen. Deze nieuwste technieken zullen het mogelijk maken het genoom van een patiënt volledig te sequencen om genetische afwijkingen op te sporen en hebben zodoende een superieure resolutie in vergelijking tot voorgaande technieken. Het is dus evident dat de ontwikkeling van de diagnostiek allerminst ten einde is met de introductie van de array-CGH.

---