



REPUBLIK
ÖSTERREICH
Patentamt

(10) Nummer: **AT 411 999 B**

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: A 1295/2001
(22) Anmeldetag: 17.08.2001
(42) Beginn der Patentdauer: 15.01.2004
(45) Ausgabetag: 26.08.2004

(51) Int. Cl.⁷: **C12Q 1/68**

(56) Entgegenhaltungen:
WO 00/27874A2
THE JOURNAL OF BIOLOGICAL
CHEMISTRY, JULI 1999, BAND 274, NR. 30,
SEITEN 20826-20832;
GENOME RESEARCH, OKTOBER 1998,
BAND 8, NR. 10, SEITEN 1060-1073

(73) Patentinhaber:
VIENNALAB LABORDIAGNOSTIKA GMBH
A-1110 WIEN (AT).

(54) VERFAHREN ZUR GENETISCHEN DIAGNOSE VON HÄMOCHROMATOSE SOWIE SONDEN ZUR GENETISCHEN DIAGNOSE VON HÄMOCHROMATOSE

AT 411 999 B

(57) Bei einem Diagnoseverfahren für Hämochromatose, wird eine biologische Probe erfindungsgemäß auf Vorliegen der Nukleotidfolge
5' cccgccgtggcccagctcgcagggcagctctc 3' (Sequenz Nr. 3) anstelle der Nukleotidfolge
5' cccgccgtggcccagggccgtggcccagctcgcagggcagctctc 3' (Sequenz Nr. 2) aufgrund einer 12 Nukleotide langen Deletion im Exon 16 der TFR2 cDNA-Sequenz untersucht. Oder es wird erfindungsgemäß eine biologische Probe auf Vorliegen von Nukleinsäuren untersucht, die für ein TFR2-produkt kodieren mit einer Aminosäurenfolge Pro Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 5) anstelle der Aminosäurenfolge Pro Ala Val Ala Gln Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 4) oder auf Vorliegen eines TFR2-genproduktes mit einer Aminosäurenfolge Pro Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 5) anstelle der Aminosäurenfolge Pro Ala Val Ala Gln Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 4). Eine Sonde zur Diagnose von Hämochromatose ist erfindungsgemäß fähig mit Nukleinsäuren einer biologischen Probe in einem Bereich, der die Nukleotidfolge
5' cccgccgtggcccagctcgcagggcagctctc 3' (Sequenz Nr. 3) im Exon 16 der TFR2 cDNA-Sequenz enthält zu hybridisieren.

Die Erfindung betrifft Verfahren zur genetischen Diagnose von Hämochromatose sowie Sonden zur genetischen Diagnose von Hämochromatose.

Hämochromatose ist durch eine Störung im Eisenstoffwechsel des menschlichen Körpers gekennzeichnet, die zu einer Eisenüberladung führt. Das überschüssige Eisen lagert sich in einer Vielzahl von Organen ab und verursacht irreversible Schäden und daraus resultierende Krankheiten. Da die klinischen Symptome der Hämochromatose oft erst im Alter von 40, 50 oder mehr Jahren auftreten, dann aber schon irreversible Organschäden vorliegen können, gibt es viele Befürworter einer präsymptomatischen Diagnostik. Umso mehr, als durch regelmäßigen Aderlaß das übermäßig aufgenommene Eisen einfach entfernt werden kann.

Im Zusammenhang mit Hämochromatose wurden bisher zahlreiche Mutationen im HFE-Gen gefunden (Feder et al., A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis, Nat.Genet. 1996, 13:399-408; Villiers et al., Spectrum of mutations in the HFE gene implicated in haemochromatosis and porphyria, Hum.Mol.Genet. 1999, 8:1517-22). Der Nachweis dieser Mutationen in biologischen Proben kann für die genetische Diagnose von Hämochromatose herangezogen werden.

Vor kurzem wurden auch Mutationen im TFR2-Gen gefunden, die in Zusammenhang mit Hämochromatose stehen. Sie sind gemeinsam mit weiteren neuen Mutationen im HFE-gen in der internationalen Veröffentlichung WO01/83812 beschrieben.

Es ist Aufgabe der vorliegenden Erfindung weitere Möglichkeiten zu finden genetische Ursachen für Hämochromatose zu diagnostizieren, um bestehende Untersuchungsverfahren, die auf bisher bekannte genetische Ursachen untersuchen zu ergänzen und ein noch sichereres Untersuchungsergebnis zu erzielen.

Die Aufgabe wird dadurch gelöst, daß eine biologische Probe auf Vorliegen der Nukleotidfolge 5' cccgccgtggcccagctcgcagggcagctcctc 3' (Sequenz Nr. 3) anstelle der Nukleotidfolge 5' cccgccgtggcccagggccggtggcccagctcgcagggcagctcctc 3' (Sequenz Nr. 2) aufgrund einer 12 Nukleotide langen Deletion im Exon 16 der TFR2 cDNA-Sequenz untersucht wird. Vorzugsweise wird eine biologische Probe auf Vorliegen einer Deletion der Nukleotide 1780-1791 im Exon 16 der TFR2- α cDNA-Sequenz (Sequenz Nr.1) untersucht. Diese Mutation wurde bei drei hämochromatosekranken verwandten Personen gefunden, die keine der bekannten HFE-Mutationen zeigten. Die Mutation ist eine 12 Nukleotide lange Deletion einer wiederholten Sequenz in Exon 16 des TFR2- α -gens und wurde durch direktes Sequenzieren gefunden.

Sie lag im homozygoten Zustand vor und wurde assoziiert mit dem Phänotyp in der untersuchten Familie vererbt. Sie war in 100 normalen Chromosomen nicht vorhanden.

Als biologische Probe kann dabei Blut, Gewebs-Biopsie, Mundhöhlenabstrich, Fruchtwasser etc. verwendet werden, wobei die biologische Probe, je nach Auswahl des an sich bekannten Untersuchungsverfahrens, ebenfalls bekannten Vorbehandlungen unterworfen wird.

Ebenso wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß eine biologische Probe auf Vorliegen von Nukleinsäuren untersucht wird, die für ein TFR2-produkt kodieren mit einer Aminosäurenfolge Pro Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 5) anstelle der Aminosäurenfolge Pro Ala Val Ala Gln Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 4) oder auf Vorliegen eines TFR2-genproduktes mit einer Aminosäurenfolge

Pro Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 5) anstelle der Aminosäurenfolge Pro Ala Val Ala Gln Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 4). Vorzugsweise wird eine biologische Probe auf Vorliegen von Nukleinsäuren untersucht, die für ein TFR2- α -produkt kodieren mit einer Aminosäurenfolge Leucin-Alanin-Glycin-Glutamin für die Aminosäuren 594-597 oder auf Vorliegen eines TFR2- α -genproduktes mit einer Aminosäurenfolge Leucin-Alanin-Glycin-Glutamin für die Aminosäuren 594-597.

Wird die biologische Probe auch auf Vorliegen von Nukleinsäuren untersucht, deren TFR2-Gen die genannten Mutation oder die zuletztgenannte Aminosäurenfolge nicht aufweist, läßt sich nachweisen ob die Mutation homozygot oder heterozygot vorliegt.

Die Untersuchung kann in an sich bekannter Weise durch Sequenzierung der aus der biologischen Probe erhaltenen Nukleinsäure durchgeführt werden.

Oder die Nukleinsäuren der biologischen Probe werden mit mindestens einer Sonde in Kontakt gebracht, die fähig ist mit einem Bereich dieser Nukleinsäuren, der die Nukleotidfolge 5' cccgccgtggcccagctcgcagggcagctcctc 3' (Sequenz Nr. 3) enthält zu hybridisieren und es wird

überprüft ob entsprechende Hybridisierungsprodukte vorliegen.

Werden die Nukleinsäuren der biologischen Probe auch mit mindestens einer Sonde in Kontakt gebracht, die fähig ist mit einem Bereich dieser Nukleinsäuren, der die Nukleotidfolge 5' cccgccgtggcccaggccgtggcccagctcgcagggcagctctc 3' (Sequenz Nr. 2) enthält zu hybridisieren und wird überprüft ob entsprechende Hybridisierungsprodukte vorliegen, kann festgestellt werden ob die Mutation homozygot oder heterozygot vorliegt.

Vorteilhafterweise werden die Nukleinsäuren, der biologischen Probe insbesondere mit mindestens einer Sonde in Kontakt gebracht, die fähig ist mit einem Bereich dieser Nukleinsäuren, der einem Bereich im Exon 16 der TFR2- α cDNA-Sequenz im Bereich der Nukleotide 1780-1791 entspricht, zu hybridisieren wenn eine Deletion der Nukleotide 1780-1791 vorliegt und es wird überprüft, ob entsprechende Hybridisierungsprodukte vorliegen.

Werden die Nukleinsäuren der biologischen Probe auch mit mindestens einer Sonde in Kontakt gebracht, die fähig ist mit einem Bereich dieser Nukleinsäuren, der einem Bereich im Exon 16 der TFR2- α cDNA-Sequenz im Bereich der Nukleotide 1780-1791 entspricht, zu hybridisieren wenn keine Mutation im Bereich der Nukleotide 1780-1791 vorliegt und wird überprüft, ob entsprechende Hybridisierungsprodukte vorliegen, kann festgestellt werden ob die Mutation homozygot oder heterozygot vorliegt.

Derzeit werden eine Vielzahl von Verfahren zur Analyse von Mutationen verwendet, unter anderem RFLP (restriction fragment length polymorphism), PCR-SSP (PCR with sequencespecific primers), Allelespezifische Oligonukleotidhybridisierung, SSCP (single-strand conformation polymorphism), DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis), OLA (oligonucleotide ligation assay), Echtzeit-Fluoreszenz-PCR und DNA Sequenzierung. Wenn RNA untersucht wird, kann das z.B. mittels sog. "NASBA" (nucleic acid sequence-based amplification; siehe: Nature (1991) Mar 7; 350(6313):91-2, Compton J.) erfolgen, oder es kann auch RNA mittels reverser Transkription in cDNA umgeschrieben werden, dann mit PCR amplifiziert und anschließend charakterisiert werden. All diese bekannten Analyseverfahren können für das erfindungsgemäße Diagnoseverfahren herangezogen werden.

Die erfindungsgemäße Sonde zur Diagnose von Hämochromatose ist fähig mit Nukleinsäuren einer biologischen Probe in einem Bereich, der die Nukleotidfolge 5' cccgccgtggcccagctcgcagggcagctctc 3' (Sequenz Nr. 3) im Exon 16 der TFR2 cDNA-Sequenz enthält zu hybridisieren. Vorzugsweise ist sie fähig mit Nukleinsäuren einer biologischen Probe in einem Bereich zu hybridisieren, der einem Bereich im Exon 16 der TFR2- α cDNA-Sequenz im Bereich der Nukleotide 1780-1791 entspricht, wenn eine Deletion der Nukleotide 1780-1791 vorliegt.

Das folgende Beispiel beschreibt mögliche Ausführungsformen eines erfindungsgemäße Verfahrens zur genetischen Diagnose von Hämochromatose.

DNA Isolation und Amplifikation:

DNA wurde aus antikoaguliertem Blut unter Verwendung herkömmlicher Extraktionsverfahren ("A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells" Miller et al., 1988) oder kommerziell erhältlicher Reagenzien (GenXtract DNA extraction system, ViennaLab, Wien, AT) isoliert. Die Exon 16-Sequenzen des TFR2-Gens wurde in einer PCR-Reaktion unter Verwendung der Primer 5'-cccagcgtccaccctgtcctggc-3' und 5'-ctggattgccagagaggacc-3' amplifiziert. Jeder Primer wurde mit einer Endkonzentration von 25 pM verwendet.

Ein Thermozyklrierprogramm mit 30 Zyklen (94°C für 15s, 58°C für 30s, und 72°C für 30s) wurde durchgeführt mit dem GeneAmp PCR System 2400 (PE Biosystems, Foster City, CA).

Sequenzieren:

Die PCR Produkte wurde mit "Centricon-100" Säulen entsprechend den Empfehlungen des Herstellers gereinigt. Die amplifizierte und gereinigte DNA wurde mit UV-Spektrophotometrie quantifiziert und anschließend sequenziert unter strikter Einhaltung des Protokolls aus "BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit - with AmpliTaq DNA Polymerase, FS" (PE Applied Biosystems) für die ABI Prism instrumentation (PE Applied Biosystems).

SEQUENCE LISTING

	<110>	ViennaLab Labordiagnostika GmbH					
5	<120>	Verfahren zur genetischen Diagnose von hereditärer Hämochromatose und Sonde zur genetischen Diagnose von hereditärer Hämochromatose					
	<130>	37396/VIENNALAB					
10	<140>	A 1295/2001					
	<141>	2001-08-17					
	<160>	7					
15	<170>	PatentIn Version 3.1					
	<210>	1					
	<211>	2343					
	<212>	DNA					
20	<213>	Homo sapiens					
	<400>	1					
	atggagcggc	tttggggtct	attccagaga	gcgcaacaac	tgtccccaag	atcctctcag	60
	accgtctacc	agcgtgtgga	aggccccgg	aaagggcacc	tggaggagga	agaggaagac	120
25	ggggaggagg	gggcggagac	altggccac	ttctgcccc	tggagctgag	gggccctgag	180
	ccccgggct	ctagaccag	gcagccaaac	ctcattccct	gggcggcagc	aggacggagg	240
	gctccccct	acctgtcct	gacggccctg	ctgatcttca	ctggggcctt	cctactgggc	300
	tacgtcgct	tccgagggtc	ctgccaggcg	tgcggagact	ctgtgttgt	ggtcagttag	360
	gatgtcaact	atgagcctga	cctggatttc	caccagggca	gactctactg	gagcgacctc	420
30	caggccatgt	tcctgcagtt	cctgggggag	gggcgcctgg	aggacaccat	caggcaaacc	480
	agccttcggg	aacgggtggc	aggctcggcc	gggatggccg	ctctgactca	ggacattcgc	540
	gcggcgctct	cccgcagaa	gctggaccac	gtgtggaccg	acacgcacta	cgtggggctg	600
	caattccggg	atccgggtca	ccccaacacc	ctgcactggg	tcgatgaggc	cgggaaggtc	660
	ggagagcagc	tgccgttga	ggaccctgac	gtctactgcc	cctacagcgc	catcggaac	720
35	gtcacgggag	agctgggtga	cgccactac	gggcggcccg	aagacctgca	ggacctgcgg	780
	gccagggcg	tggatccagt	gggccgcctg	ctgctgtgtc	gcgtgggggt	gatcagcttc	840
	gccagaagg	tgaccaatgc	tcaggacttc	ggggctcaag	gagtgtcat	ataccagag	900
	ccagcggact	tctccagga	cccacccaag	ccaagcctgt	ccagccagca	ggcagtgtat	960
	ggacatgtgc	acctgggaac	tggagacccc	tacacacctg	gcttcccttc	cttcaatcaa	1020
40	accagaagc	tcaaaggccc	tgtggcccc	caagaatggc	aggggagcct	cctaggctcc	1080
	cctatcacc	tgggccccgg	gccacgactg	cggctagtgg	tcaacaatca	caggacctcc	1140
	accccatca	acaacatctt	cggctgcatc	gaaggccgct	cagagccaga	tcactacgtt	1200
	gtcatcgggg	cccagaggga	tgcattgggg	ccaggagcag	ctaaatccgc	tgtggggacg	1260
	gtatactcc	tggagctggt	gcggaccttt	tcctccatgg	tgagcaacgg	cttccggccc	1320
45	cgcagaagtc	tcctctcat	cagctgggac	ggtgtgtact	ttggaagcgt	gggctccacg	1380
	gagtggctag	agggtacct	cagcgtgtcg	cacctcaaag	ccgtagtgtg	cgtgagcctg	1440
	gacaacgcag	tgtctgggga	tgacaagttt	catgccaaga	ccagccccct	tctgacaagt	1500
	ctcattgaga	gtgtcctgaa	gcagggtgat	tcctccaacc	acagtgggca	gactctctat	1560
	gaacagggtg	tgttcaccaa	tccagctgg	gatgtgagg	tgatccggcc	cctacccatg	1620
50	gacagcagtg	cctattcctt	cacggccttt	gtgggagtcc	ctgccgtcga	gttctccttt	1680
	atggaggacg	accaggccta	cccattcctg	cacacaaagg	aggacactta	tgagaacctg	1740
	cataggtgc	tgcaaggccg	cctgccggcc	gtggcccagg	ccgtggccca	gctcgcaggg	1800
	cagctcctca	tccggctcag	ccacgatcgc	ctgctgcccc	tcgacttcgg	ccgtacggg	1860
	gacgtcgtcc	tcaggcacat	cgggaacctc	aacgagtctt	ctggggacct	caaggcccg	1920
55	gggtgacctc	tgcagtgggt	gtactcggcg	cggggggact	acatccgggc	ggcgaaaaag	1980

AT 411 999 B

	ctgcggcagg	agatctacag	ctcggaggag	agagacgagc	gactgacacg	catgtacaac	2040
	gtgcgcataa	tgcggatccc	cctctctgcg	cagggtggagt	tctacttcct	ttcccagtac	2100
	gtgtcgccag	ccgactcccc	gttcgcccac	atcttcatgg	gccgtggaga	ccacacgctg	2160
	ggcgccctgc	tggaccacct	gcggctgctg	cgctccaaca	gctccgggac	ccccggggcc	2220
5	acctctcca	ctggcttcca	ggagagccgt	ttccggcgtc	agctagccct	gctcacctgg	2280
	acgctgcaag	gggcagccaa	tcgccttagc	ggggatgtct	ggaacattga	taacaacttc	2340
	tga						2343
	<210>	2					
10	<211>	45					
	<212>	DNA					
	<213>	Homo sapiens					
	<400>	2					
15	cccgccgtgg	cccaggccgt	ggcccagctc	gcagggcagc	tcctc		45
	<210>	3					
	<211>	33					
	<212>	DNA					
20	<213>	Homo sapiens					
	<400>	3					
	cccgccgtgg	cccagctcgc	agggcagctc	ctc			33
	<210>	4					
25	<211>	15					
	<212>	PRT					
	<213>	Homo sapiens					
	<400>	4					
30	Pro Ala Val Ala Gln Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu						
	1 5 10 15						
	<210>	5					
35	<211>	11					
	<212>	PRT					
	<213>	Homo sapiens					
	<400>	5					
40	Pro Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu						
	1 5 10						
	<210>	6					
	<211>	23					
45	<212>	DNA					
	<213>	Homo sapiens					
	<400>	6					
50	cccagcgtcc	accctgtcct	ggc				23
	<210>	7					
	<211>	20					
	<212>	DNA					
55	<213>	Homo sapiens					

<400> 7
ctggattgcc agagaggacc

20

PATENTANSPRÜCHE:

1. Verfahren zur Diagnose von Hämochromatose, **dadurch gekennzeichnet**, daß eine biologische Probe auf Vorliegen der Nukleotidfolge
5' cccgccgtggcccagctcgcagggcagctcctc 3' (Sequenz Nr. 3) anstelle der Nukleotidfolge
10 5' cccgccgtggcccagggccgtggcccagctcgcagggcagctcctc 3' (Sequenz Nr. 2) aufgrund einer 12 Nukleotide langen Deletion im Exon 16 der TFR2 cDNA-Sequenz untersucht wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass eine biologische Probe auf Vorliegen einer Deletion der Nukleotide 1780-1791 im Exon 16 der TFR2- α cDNA-Sequenz (Sequenz Nr. 1) untersucht wird.
- 15 3. Verfahren zur Diagnose von Hämochromatose, **dadurch gekennzeichnet**, daß eine biologische Probe auf Vorliegen von Nukleinsäuren untersucht wird, die für ein TFR2-produkt kodieren mit einer Aminosäurenfolge
Pro Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 5) anstelle der Aminosäuren-
folge Pro Ala Val Ala Gln Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 4)
20 oder auf Vorliegen eines TFR2-genproduktes mit einer Aminosäurenfolge
Pro Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 5) anstelle der Aminosäuren-
folge Pro Ala Val Ala Gln Ala Val Ala Gln Leu Ala Gly Gln Leu Leu (Sequenz Nr. 4).
4. Verfahren nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass eine biologische Probe auf Vorliegen von Nukleinsäuren untersucht wird, die für ein TFR2- α -produkt kodieren mit einer Aminosäurenfolge Leucin-Alanin-Glycin-Glutamin für die Aminosäuren 594-597 oder
25 auf Vorliegen eines TFR2- α -genproduktes mit einer Aminosäurenfolge Leucin-Alanin-Glycin-Glutamin für die Aminosäuren 594-597.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die biologische Probe auch auf Vorliegen von Nukleinsäuren untersucht wird, deren
30 TFR2-Gen die genannte Mutation oder die genannte geänderte Aminosäurefolge nicht aufweist.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Untersuchung in an sich bekannter Weise durch Sequenzierung der aus der biologischen Probe erhaltenen Nukleinsäure durchgeführt wird.
- 35 7. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß Nukleinsäuren der biologischen Probe mit mindestens einer Sonde in Kontakt gebracht werden, die fähig ist mit einem Bereich dieser Nukleinsäuren, der die Nukleotidfolge
5' cccgccgtggcccagctcgcagggcagctcctc 3' (Sequenz Nr. 3) enthält zu hybridisieren und daß überprüft wird ob entsprechende Hybridisierungsprodukte vorliegen.
- 40 8. Verfahren nach Anspruch 2 und 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß Nukleinsäuren der biologischen Probe mit mindestens einer Sonde in Kontakt gebracht werden, die fähig ist mit einem Bereich dieser Nukleinsäuren, der einem Bereich im Exon 16 der TFR2- α cDNA-Sequenz im Bereich der Nukleotide 1780-1791 entspricht, zu hybridisieren wenn eine Deletion der Nukleotide 1780-1791 vorliegt und daß überprüft wird ob entsprechende Hybridisierungsprodukte vorliegen.
- 45 9. Verfahren nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß Nukleinsäuren der biologischen Probe mit mindestens einer Sonde in Kontakt gebracht werden, die fähig ist mit einem Bereich dieser Nukleinsäuren, der die Nukleotidfolge
5' cccgccgtggcccagggccgtggcccagctcgcagggcagctcctc 3' (Sequenz Nr. 2) enthält zu hybridisieren und daß überprüft wird ob entsprechende Hybridisierungsprodukte vorliegen.
- 50 10. Verfahren nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß Nukleinsäuren der biologischen Probe mit mindestens einer Sonde in Kontakt gebracht werden, die fähig ist mit einem Bereich dieser Nukleinsäuren, der einem Bereich im Exon 16 der TFR2- α cDNA-Sequenz im Bereich der Nukleotide 1780-1791 entspricht, zu hybridisieren wenn keine Mutation im Bereich der Nukleotide 1780-1791 vorliegt und daß überprüft wird ob
55

entsprechende Hybridisierungsprodukte vorliegen.

11. Sonde zur Diagnose von Hämochromatose, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sonde fähig ist mit Nukleinsäuren einer biologischen Probe in einem Bereich, der die Nukleotidfolge 5' cccgccgtggcccagctcgagggcagctcctc 3' (Sequenz Nr. 3) im Exon 16 der TFR2 cDNA-Sequenz enthält zu hybridisieren.
12. Sonde nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Sonde fähig ist mit Nukleinsäuren einer biologischen Probe in einem Bereich, der einem Bereich im Exon 16 der TFR2- α cDNA-Sequenz im Bereich der Nukleotide 1780-1791 entspricht, zu hybridisieren wenn eine Deletion der Nukleotide 1780-1791 vorliegt.

KEINE ZEICHNUNG