

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**  
по результатам биоинформатического анализа  
данных секвенирования ДНК

СВЕДЕНИЯ О ПАЦИЕНТЕ		СВЕДЕНИЯ ОБ ОБРАЗЦЕ	
Пациент		Дата забора материала	17.07.2018
Дата рождения	22.10.2017	Материал для анализа	Замороженная кровь
Пол	Мужской	Внутренний номер	Y1984

КЛИНИЧЕСКАЯ ИНФОРМАЦИЯ	
Направляющий врач	Петров П.П.
Предположительный диагноз	Буллезный эпидермолиз, неуточненный тип
Клинические характеристики	Первый ребенок в семье, ребенок умер.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ, ВОЗМОЖНО ИМЕЮЩИЕ ОТНОШЕНИЕ К ФЕНОТИПУ							
Ген	Ассоциированное заболевание (ОМIM)	Изменение ДНК (hg19) Изменение транскрипта Изменение белка	Зиготность (Тип наследования)	Частота	Компьютерное предсказание	Эволюционная консервативность	Классификация патогенности
LAMA3	Буллезный эпидермолиз, пограничный, тип Херлитца (226700); Буллезный эпидермолиз, генерализованный атрофический доброкачественный (226650); Ларингоонихокутаный синдром (245660)	chr18:g.21508729G>A; ENST00000313654.9: c.8436G>A; ENSP00000324532.8: p.Trp2812Ter	Гомо- или гемизигота (Рецессивный)	0	Патогенный	Консервативный	Вероятно-патогенный
<p>Обнаружен вариант (rs1057516764) в гомо- или гемизиготном состоянии в 64 экзоне гена LAMA3, приводящий к приобретению преждевременного стоп-кодона. Биаллельные варианты с утратой функции этого гена могут вызывать пограничный (летальный) буллезный эпидермолиз (синдром Херлитца), характеризующийся гипоплазией зубной эмали, образованием пузырей, ассоциированным с атрофическим рубцеванием или с формированием гиперпластической грануляционной ткани и ногтевой дистрофией. Дополнительные проявления могут включать врожденное отсутствие кожи и прогрессирующую потерю волос. Слизистые оболочки поражаются всегда, хотя в разной степени тяжести, участки поражения локализуются в желудочно-кишечном тракте, дыхательных путях, мочеполовой системе и на слизистой глаз. Больные пограничным буллезным эпидермолизом типа Херлитца находятся в группе значительного риска смертности в течение первого года жизни:</p> <p>1. Kivirikko S et al. A homozygous nonsense mutation in the alpha-3 chain gene of laminin 5 (LAMA3) in lethal (Herlitz) junctional epidermolysis bullosa. Hum. Molec. Genet. 1995</p> <p>Указанный вариант отсутствует в базе популяционных частот gnomAD, находится в консервативной позиции и с большой вероятностью приводит к утрате функции гена. Вариант аннотирован как вероятно патогенный в базе ClinVar одной лабораторией.</p>							
<b>ПОБОЧНО ВЫЯВЛЕННЫЕ ВАРИАНТЫ В ГЕНАХ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ К ПРОВЕРКЕ</b>							
НЕ ОБНАРУЖЕНО							

Для интерпретации результатов исследования необходима консультация врача-генетика.

### ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прибор	Illumina NovaSeq 6000	Среднее покрытие	132X
Система целевого обогащения	SureSelect All Exon V7	Процент целевых нуклеотидов с покрытием >10X	98,9%

Дата выдачи заключения: 19.09.2018

Биоинформатик

\_\_\_\_\_

Врач-лаборант генетик

\_\_\_\_\_

Зав. лабораторией

\_\_\_\_\_

## ТЕХНИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

Секвенирование белок кодирующих генов человека методом парно-концевых прочтений, было проведено с использованием целевого обогащения геномной ДНК.

*Исходные данные секвенирования в формате fastq могут быть предоставлены по запросу.*

Данные секвенирования были проанализированы с помощью автоматизированного алгоритма, заключающего в себя оценку параметров качества секвенирования (модуль FASTQC); удаление адаптеров и последовательностей с низким качеством (модуль SEQPURGE); выравнивание прочтений на версию hg19 генома человека (модуль BWA MEM); фильтрацию оптических и ПЦР дубликатов (модуль SAMBLASTER); локальную оптимизацию выравниваний (модуль ABRA2); обнаружение вариантов и их фильтрация согласно качеству (пакет FREEBAYES) и аннотацию вариантов относительно баз данных с клинической информацией (модуль ENSEMBL-VEP).

Алгоритм был протестирован на экзомных данных, для которых существует расшифровка генома «золотого стандарта» (данные Genome in a Bottle). Чувствительность алгоритма составила 98,6% и средняя специфичность 99,1%.

При поиске клинически значимых генетических вариантов были отфильтрованы варианты, не влияющие на структуру белка и при этом не отмеченные как патогенные в базе данных ClinVar, а также все варианты с максимальной частотой встречаемости в популяциях более 10%. Во всех генах, потенциально имеющих отношение к заболеванию пациента, каждый из вариантов был проанализирован на предмет влияния на структуру и функцию белка, эволюционную консервативность позиции, клинический статус, частоту встречаемости и тип наследования соответствующего гена и классифицирован в одну из пяти категорий (патогенные варианты, вероятно патогенные варианты, варианты неопределенного значения, вероятно безвредные варианты, безвредные безвредные) в соответствии с рекомендациями ACMG (7). Варианты из категорий «Патогенные варианты», «Вероятно патогенные варианты» и «Варианты неопределенного значения» включены в заключение в формате, соответствующем рекомендациям HGVS.

*Повторный биоинформатический анализ исходных данных по запросу может быть проведен через год либо в случае уточнения фенотипа.*

## ИНФОРМАЦИОННОЕ ПРИЛОЖЕНИЕ

### МЕТОДИКА ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Полноэкзомное секвенирование - это секвенирование всех белок-кодирующих генов человека (приблизительно 20 000), а секвенирование экзома с клинической целью – это секвенирование порядка 5000 генов, про которые на настоящий момент известна ассоциация с генетическими болезнями или признаками. Экзом составляет всего ~1% от полного генома человека, но приблизительно 85% всех болезнетворных вариантов находятся именно в белок-кодирующих областях. С помощью технологии секвенирования экзома можно определить последовательность 90-95% целевых участков человека, и некоторые участки поддаются секвенированию с помощью этой методики несколько хуже. Способность метода выявить болезнетворный вариант зависит от того, в каком участке он находится.

Метод предназначен для поиска однонуклеотидных замен в кодирующих участках генов человека. Некоторые другие типы генетических вариантов могут быть выявлены, но поддаются обнаружению с меньшей вероятностью, чем однонуклеотидные замены: это относится, в частности, к коротким делециям или вставкам (инделам) и изменениям числа коротких tandemных повторов.

Результативность обследования сильно зависит от наличия информации о варианте во внешних базах данных клинической информации, а также от изученности генетического заболевания пациента. В настоящий момент изучение генетических заболеваний является приоритетным направлением исследований во всем мире, и базы данных с клинической информацией постоянно пополняются. В практике клинического секвенирования экзома процент диагностированных случаев растет с каждым годом, поэтому в некоторых случаях переанализ данных секвенирования через некоторое время может привести к установлению диагноза, даже если изначально он не был поставлен.

### ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Ввиду некоторых технических ограничений, секвенирование экзома не может покрыть 100% целевых участков. Мы обеспечиваем необходимое для достоверного обнаружения гетерозиготных вариантов покрытие: не менее 10x для 90% целевых участков. Частота ошибочно обнаруженных вариантов при секвенировании экзома в среднем составляет не больше 1%, но в отдельных участках может достигать 5%, поэтому релевантные варианты рекомендуется подтверждать независимым секвенированием по Сэнгеру или другими референсными методами, если такая возможность существует.

Некоторые типы вариантов поддаются выявлению методом экзомного секвенирования плохо, в том числе структурные изменения хромосом (инверсии, транслокации, делеции), полиплоидия, анеуплоидия, протяженные участки триплетных и других повторов, варианты в генах с наличием в геноме близкого по последовательности псевдогена или паралога, варианты в GC-богатых участках, варианты в интронах за пределами стандартных сайтов сплайсинга, а также эпигенетические варианты. Метод имеет ограниченную чувствительность в отношении вариантов в состоянии мозаицизма. Чувствительность и специфичность обнаружения вариантов, находящихся в областях сегментарных дупликаций, могут быть низкими.

Результаты клинического секвенирования всегда интерпретируются в контексте клинической картины, семейной истории и других лабораторных данных. Изучаются только варианты, которые потенциально могут иметь отношение к заболеванию пациента. Результаты секвенирования экзома могут быть интерпретированы неверно, если предоставленная информация ошибочна или неполна. Некоторые медицинские процедуры, такие как пересадка костного мозга или переливание крови могут привести к неверным результатам. Редкие безвредные варианты могут быть классифицированы неверно. Выявленные варианты не всегда объясняют все клинические проявления у пациента. Предоставление большего количества клинически значимой информации может помочь более точной оценке значимости выявленных вариантов.

### ПОБОЧНО ВЫЯВЛЕННЫЕ ВАРИАНТЫ

ACMG разработал рекомендации (8) по предоставлению информации пациенту о патогенных и вероятно патогенных вариантах, присутствующих в некоторых генах (ACT2, ACTC1, APC, APOB, BRCA1, BRCA2, CACNA1S, COL3A1, DSC2, DSG2, DSP, FBN1, GLA, KCNH2, KCNQ1, LDLR, LMNA, MEN1, MLH1, MSH2, MSH6, MUTYH, MYBPC3, MYH11, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK, NF2, PCSK9, PKP2, PMS2, PRKAG2, PTEN, RB1, RET, RYR1, RYR2, SCN5A, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD3, STK11, TGFBR1, TGFBR2, TMEM43, TNNT3, TNNT2, TP53, TPM1, TSC1, TSC2, VHL, WT1). Эти гены связаны с определенными генетическими заболеваниями, нуждающимися в медицинском контроле. В случае обнаружения вариантов в этих генах необходима консультация врача-генетика.

### ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА И РЕСУРСЫ

1. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>
2. Database of Single Nucleotide Polymorphisms (dbSNP). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>
3. Exome Aggregation Consortium (ExAC). <http://exac.broadinstitute.org/>
4. ClinVar. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>
5. Clinical Genome Resource, ClinGene. <https://www.clinicalgenome.org/>
6. Ensembl. <http://www.ensembl.org/index.html>
7. 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. Genet Med. 2015
8. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. Genet Med. 2017