ЗАКЛЮЧЕНИЕ
по результатам секвенирования ДНК (Секвенирование генома трио)

Пациент:
Пол:
Дата рождения:
Вид материала:
Дата забора:
Внутренний номер:
Диагноз: Первичное поражение мышц неуточненное.

Отец пробанда:
Мать пробанда:

1. Патогенные мутации, являющиеся вероятной причиной заболевания

Положение (hg19)	Генотип	Ген	Положение в кДНК	Замена АК	Экзон	Транскрипт	Частота аллеля*	Глубина прочтения
chr15:42695919C>G	C/G	*CAPN3*	c.1746-20C>G	-	инт. 13	NM_000070.2	0.340434%	30x
chr15:42686465AG>A	N/del	*CAPN3*	c.1043delG	p.Gly348fs	8	NM_000070.2	0.0045541%	39x

2. Вероятно патогенные мутации, являющиеся возможной причиной заболевания

Положение (hg19)	Генотип	Ген	Положение в кДНК	Замена АК	Экзон	Транскрипт	Частота аллеля*	Глубина прочтения
Не выявлено								

3. Мутации с неизвестным клиническим значением, имеющие возможное отношение к фенотипу. Для уточнения статуса патогенности таких мутаций и их отношения к заболеванию у пациента могут потребоваться дополнительные исследования.

Положение (hg19)	Генотип	Ген	Положение в кДНК	Замена АК	Экзон	Транскрипт	Частота аллеля*	Глубина прочтения
Не выявлено								

**Частоты аллелей приведены по базе gnomAD (выборка до 141456 человек). н/д = нет данных (не описан)*

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

У ФИО был проведен поиск патогенных мутаций с учетом генотипа отца (ФИО) и матери (ФИО), ассоциированных с наследственными нервно-мышечными заболеваниями, а также с другими наследственными заболеваниями со сходными фенотипическими проявлениями.

Выявлена ранее описанная гетерозиготная мутация в гене *CAPN3* (chr15:42695919C>G, rs201892814), приводящая к изменению нуклеотидной последовательности в 13 интроне (c.1746-20C>G, NM_000070.2). Гомозиготные и компаунд-гетерозиготные мутации в гене *CAPN3* описаны у пациентов с аутосомно-рецессивной поясно-конечностной мышечной дистрофией, тип 1 (OMIM: 253600). Выявленная мутация описана в гомозиготной форме и в компаунд-гетерозиготной форме

(вместе с другими мутациями) у пациентов с аутосомно-рецессивной поясно-конечностной мышечной дистрофией и мышечной дистрофией Миоши [Ten Dam et al., 2019]. В ходе функциональных исследований как подтверждено [Nascimbeni et al., 2010], так и не подтверждено [Krahn et al., 2007] нарушение сплайсинга РНК вследствие данной мутации. Частота мутации в контрольной выборке gnomAD составляет 0.3404% (выявлено 963 мутантных аллеля среди 282874 хромосом, в том числе 3 гомозиготы). По совокупности сведений, мутацию следует расценивать как патогенную. Мутация выявлена в гетерозиготном состоянии у пробанда и его матери; у отца пробанда мутация не выявлена.

В том же гене *CAPN3* выявлена ранее описанная гетерозиготная мутация в 8 экзоне (chr15:42686465AG>A, rs781013226, rs886043486), приводящая к сдвигу рамки считывания, начиная с 348 кодона (p.Gly348fs, NM_000070.2). Мутация описана в компаунд-гетерозиготной форме вместе с другими мутациями у пациентов с поясно-конечностной мышечной дистрофией, тип 2A (тип 1) [Stehlíková et al., 2014]. Частота мутации в контрольной выборке ExAC составляет 0.0046%. По совокупности сведений, мутацию следует расценивать как патогенную. Мутация выявлена в гетерозиготном состоянии у пробанда и его отца; у матери пробанда мутация не выявлена.

АНАЛИЗ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

Значимых изменений, соответствующих критериям поиска, не обнаружено.

АНАЛИЗ ВАРИАЦИЙ ЧИСЛА КОПИЙ ДНК

Значимых изменений, соответствующих критериям поиска, не обнаружено.

Рекомендуется консультация врача-генетика. Результаты данного исследования могут быть правильно интерпретированы только врачом-генетиком.

ОПИСАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ ДНК пациента проведен на секвенаторе Illumina NovaSeq 6000 методом парно-концевого чтения (2x151 п.о.) shotgun-библиотеки со средним покрытием не менее 30x.

Обработка данных секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (hg19), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением ряда методов предсказания патогенности замен (SIFT, PolyPhen2-HDIV, PolyPhen2-HVAR, MutationTaster, LRT), а также методов расчета эволюционной консервативности позиций (PhyloP, PhastCons). Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы выборки проектов «1000 геномов», ESP6500, Exome Aggregation Consortium и gnomAD. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии) и литературные данные. В заключение включены только варианты, имеющие возможное отношение к клиническим проявлениям у пациента. Полиморфизмы, классифицированные по различным критериям как нейтральные, не включены в заключение.

Ограничения методики: метод не позволяет надежно выявлять инсерции и делеции длиной более 10 п.о., вариации длины повторов (в том числе экспансии триплетов), а также мутации в генах, у которых в геноме существует близкий по последовательности паралог (псевдоген). Метод не предназначен для определения фазы пар гетерозиготных мутаций, а также для оценки уровня метилирования, выявления хромосомных перестроек, полиплоидии, выявления мутаций в состоянии мозаицизма.

Заключение не является медицинским диагнозом и подлежит интерпретации врачом-генетиком. Исследование не является исключающим в отношении как наследственных заболеваний, так и мутаций, к ним приводящих.

СВЕДЕНИЯ О КАЧЕСТВЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пробанд			
Всего прочтений	323686448	**Всего выявлено вариантов**	103114
Длина прочтений	2x151 п.о.	**Вариантов после фильтрации по базовым критериям непатогенности и оценки по клиническим критериям**	2
Ширина покрытия (10x)	98.25%		
Среднее покрытие	35.2x		

Отец пробанда		Мать пробанда	
Всего прочтений	558433512	**Всего прочтений**	519695805
Длина прочтений	2x151 п.о.	**Длина прочтений**	2x151 п.о.
Ширина покрытия (10x)	98.76%	**Ширина покрытия (10x)**	98.73%
Среднее покрытие	45.5x	**Среднее покрытие**	42.6x

ССЫЛКИ НА ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ БАЗЫ ДАННЫХ И ЛИТЕРАТУРУ

1. Stehlíková K, Skálová D, Zídková J, et al. Autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies in the Czech Republic. BMC Neurol. 2014 Aug 19;14:154.
2. Ten Dam L., Frankhuizen W.S., Linssen W.H.J.P. et al. Autosomal recessive limb-girdle and Miyoshi muscular dystrophies in the Netherlands: The clinical and molecular spectrum of 244 patients. Clin Genet. 96(2): 126-133 (2019).
3. Nascimbeni A.C., Fanin M., Tasca E. et al. Transcriptional and translational effects of intronic CAPN3 gene mutations. Hum Mutat. 31(9): E1658-69 (2010).
4. Krahn M., Pécheux C., Chapon F. et al. Transcriptional explorations of CAPN3 identify novel splicing mutations, a large-sized genomic deletion and evidence for messenger RNA decay. Clin Genet. 72(6): 582-92 (2007).
5. http://www.omim.org/
6. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/
7. http://evs.gs.washington.edu/EVS/
8. http://exac.broadinstitute.org/
9. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/

Дата Биоинформатик

Заведующий лабораторией NGS

Врач-генетик