

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**  
по результатам биоинформатического анализа  
данных секвенирования ДНК  
(полное секвенирование экзона с целью скрининга на носительство вариантов,  
ассоциированных с рецессивными заболеваниями)

СВЕДЕНИЯ ОБ ОБСЛЕДУЕМОМ		СВЕДЕНИЯ ОБ ОБРАЗЦЕ	
Обследуемый	-	Дата поступления образца	-
Дата рождения	-	Материал для анализа	Кровь
Пол	Мужской	Внутренний номер	-

КЛИНИЧЕСКАЯ ИНФОРМАЦИЯ	
Направляющий врач	
Предположительный диагноз	Преконцепционный генетический скрининг
Клинические характеристики	-

**РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ**

НОСИТЕЛЬСТВО ВАРИАНТОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕЦЕССИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ							
Ген	Ассоциированное заболевание (Номер OMIM; тип наследования*)	Изменение ДНК (hg19) Изменение транскрипта Изменение белка	Зиготность	Частота	Компьютерное предсказание	Эволюционная консервативность	Классификация патогенности
<i>GBA</i>	Перинатальная летальная болезнь Гоше (608013; AR) Болезнь Гоше I типа (230800; AR) Болезнь Гоше II типа (230900; AR) Болезнь Гоше III типа (231000; AR) Болезнь Гоше типа IIIС (231005; AR)	chr1:g.155205043A>G ENST00000327247.5: c.1448T>C ENSP00000314508.5: p.Leu483Pro	Гетерозигота	0,1%	Патогенный (MetaSVM, SIFT, MutationTaster)	Умеренно консервативный	Патогенный
<p>Обнаружен ранее описанный в литературе вариант в гетерозиготном состоянии в 11 экзоне (из 12) гена <i>GBA</i>, приводящий к замене аминокислоты лейцин на пролин в положении 483 (p.Leu483Pro, мутация типа миссенс).</p> <p>Патогенные биаллельные варианты в данном гене могут приводить к развитию болезни Гоше различных типов. Обнаруженный вариант был описан в гомозиготном и компаунд-гетерозиготном состоянии у пациентов с болезнью Гоше типов I и II (также в литературе упоминается как p.Leu444Pro):</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Grabowski GA, et al. Gaucher disease types 1 and 3: Phenotypic characterization of large populations from the ICGG Gaucher Registry. Am J Hematol. 2015 Jul;90 Suppl 1:S12-8. PMID: 26096741</li> <li>Tammachote R, et al. A common and two novel GBA mutations in Thai patients with Gaucher disease. J Hum Genet. 2013 Sep;58(9):594-9. PMID: 23719189</li> </ol> <p>Вариант присутствует в базе данных популяционных частот gnomAD с частотой 0,1% (345 гетерозиготных носителей, гомозигот не зарегистрировано).</p> <p>Результаты in silico алгоритмов предсказания эффекта вариантов свидетельствуют о патогенном (MetaSVM, SIFT, MutationTaster) влиянии данной замены на структуру белка. Вариант затрагивает умеренно консервативную аминокислоту.</p> <p>В базе данных ClinVar вариант описан как патогенный, вероятно патогенный (<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/4288">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/4288</a>).</p> <p>Вариант описан в базе данных OMIM в ассоциации с болезнью Гоше типов I и II (<a href="https://omim.org/entry/606463#0001">https://omim.org/entry/606463#0001</a>, <a href="https://omim.org/entry/606463#0009">https://omim.org/entry/606463#0009</a>).</p> <p>Вариант присутствует в курируемой базе данных Global Variome shared LOVD, классифицирован как патогенный, вариант неопределенной клинической значимости (<a href="https://databases.lovd.nl/shared/variants/0000321026#00000025">https://databases.lovd.nl/shared/variants/0000321026#00000025</a>).</p> <p>Вариант расценивается как патогенный.</p> <p>Данный вариант обнаружен в гетерозиготном состоянии и не может вызывать описанный фенотип при отсутствии патогенных вариантов во второй копии гена.</p> <p>Данный вариант также обнаружен у супруги.</p>							

Ген	Ассоциированное заболевание (Номер OMIM; тип наследования*)	Изменение ДНК (hg19) Изменение транскрипта Изменение белка	Зиготность	Частота	Компьютерное предсказание	Эволюционная консервативность	Классификация патогенности
<i>GORAB</i>	Остеодиспластическая геродермия (231070; AR)	chr1:g.170521413T>G ENST00000367763.3: c.995T>G ENSP00000356737.3: p.Leu332Ter	Гетерозигота	0,02%	-	-	Вероятно патогенный

Обнаружен ранее не описанный в литературе вариант (rs145659887) в гетерозиготном состоянии в 5 экзоне (из 5) гена *GORAB*, приводящий к появлению стоп-кодона и преждевременной терминации трансляции белка (p.Leu332Ter, мутация типа нонсенс).

Патогенные биаллельные варианты в данном гене могут приводить к развитию остеодиспластической геродермии:

1. Hennies HC, Kornak U, Zhang H, et al. Geroderma Osteodysplastica Is Caused by Mutations in SCYL1BP1, a Rab-6 Interacting Golgin. Nat Genet. 2008 Dec;40(12):1410-2. PMID: 18997784

Вариант присутствует в базе данных популяционных частот gnomAD с частотой 0,02% (47 гетерозиготных носителей, гомозигот не зарегистрировано).

В базе данных ClinVar вариант описан как вариант неопределенной клинической значимости (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/288228>).

Вариант присутствует в курируемой базе данных Global Variome shared LOVD, классифицирован как патогенный (<https://databases.lovd.nl/shared/variants/0000504190#00008727>).

Вариант расценивается как вероятно патогенный.

Данный вариант обнаружен в гетерозиготном состоянии и не может вызывать описанный фенотип при отсутствии патогенных вариантов во второй копии гена.

Ген	Ассоциированное заболевание (Номер OMIM; тип наследования*)	Изменение ДНК (hg19) Изменение транскрипта Изменение белка	Зиготность	Частота	Компьютерное предсказание	Эволюционная консервативность	Классификация патогенности
<i>PAH</i>	Фенилкетонурия (261600; AR) Легкой форма гиперфенилаланинемии (261600; AR)	chr12:g.103260377C>T ENST00000553106.1: c.506G>A ENSP00000448059.1: p.Arg169His	Гетерозигота	0,03%	Патогенный (MetaSVM, SIFT, MutationTaster)	Консервативный	Вероятно патогенный

Обнаружен ранее описанный в литературе вариант (rs199475679) в гетерозиготном состоянии в 5 экзоне (из 13) гена *PAH*, приводящий к замене аминокислоты аргинин на гистидин в положении 169 (p.Arg169His, мутация типа миссенс).

Патогенные биаллельные варианты в данном гене могут приводить к развитию фенилкетонурии и легкой формой гиперфенилаланинемии. Обнаруженный вариант был описан в гомозиготном и компаунд-гетерозиготном состоянии у пациентов с этим заболеванием:

2. Hillert A, et al. The Genetic Landscape and Epidemiology of Phenylketonuria. Am J Hum Genet. 2020 Aug 6;107(2):234-250. PMID: 32668217
3. Ngjwsara L, et al. Molecular characterization of Thai patients with phenylalanine hydroxylase deficiency and in vitro functional study of two novel PAH variants. Mol Biol Rep. 2021 Mar;48(3):2063-2070. PMID: 33677757

В статье 2 приведены данные функционального исследования, показывающие снижение функциональной активности белка в следствие замены аминокислоты.

Вариант присутствует в базе данных популяционных частот gnomAD с частотой 0,03% (77 гетерозиготных носителей, гомозигот не зарегистрировано).

Результаты in silico алгоритмов предсказания эффекта вариантов свидетельствуют о патогенном (MetaSVM, SIFT, MutationTaster) влиянии данной замены на структуру белка.

Вариант затрагивает консервативную аминокислоту.

В базе данных ClinVar вариант описан как патогенный, вероятно патогенный, вариант неопределенной клинической значимости (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/102706>).

Вариант присутствует в курируемой базе данных Global Variome shared LOVD, классифицирован как вариант неопределенной клинической значимости (<https://databases.lovd.nl/shared/variants/0000342055#00000005>).

Вариант расценивается как вероятно патогенный.

Данный вариант обнаружен в гетерозиготном состоянии и не может вызывать описанный фенотип при отсутствии патогенных вариантов во второй копии гена.

#### ПОБОЧНО ВЫЯВЛЕННЫЕ ВАРИАНТЫ В ГЕНАХ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ К ПРОВЕРКЕ

НЕ ОБНАРУЖЕНО

\* AR, Autosomal recessive, аутосомно-рецессивный тип наследования  
AD, Autosomal dominant, аутосомно-доминантный тип наследования

Для интерпретации результатов исследования необходима консультация врача-генетика.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Прибор	Illumina NovaSeq 6000	Среднее покрытие	118x
Система целевого обогащения	SureSelect all Exon V7	Процент целевых нуклеотидов с покрытием >10X	98,7%

Дата выдачи заключения:

Биоинформатик

Заведующая лабораторией NGS

Врач-генетик

## 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, не отмеченные как патогенные в базе данных ClinVar, с максимальной частотой встречаемости в популяциях более 2%. Во всех известных генах, ассоциированных с развитием моногенных рецессивных заболеваний, 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) в соответствии с рекомендациями ACMG (7). Варианты из категорий «Патогенные варианты» и «Вероятно патогенные варианты» и «Варианты неопределенного значения» включены в заключение в формате, соответствующем рекомендациям HGVS. В особых случаях лаборатория оставляет за собой право включить в заключение генетические варианты из категории «Варианты неопределенного значения».

Скрининг носительства рецессивных заболеваний может позволить уточнить генетические риски, но не позволяет полностью исключить их.

*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 экзона 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 экзона 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 экзона 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 экзона 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 экзона 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 экзона 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 (*ACTA2, ACTC1, APC, APOB, ATP7B, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, CACNA1S, COL3A1, DSC2, DSG2, DSP, FBN1, GLA, KCNH2, KCNQ1, LDLR, LMNA, MEN1, MLH1, MSH2, MSH6, MUTYH, MYBPC3, MYH11, MYH7, MYL2, MYL3, NF2, OTC, PCSK9, PKP2, PMS2, PRKAG2, PTEN, RB1, RET, RYR1, RYR2, SCN5A, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD3, SMAD4, STK11, TGFBFR1, TGFBFR2, TMEM43, TNNI3, 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. Genome Aggregation Database (gnomAD). <http://gnomad.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
9. Sequence Variant Nomenclature <https://varnomen.hgvs.org/>