



## NGS в медицинской генетике

Третья международная научно-практическая конференция

Научная программа

Тезисы конференции

Суздаль  
25-27 апреля 2018

## Золотые спонсоры



## Серебряный спонсор



## Спонсоры



группа компаний



БиоГен-Аналитика  
ваши задачи - наши решения  
[www.bga.su](http://www.bga.su)



Организатор конференции: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

При финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований

Даты проведения: 25-27 апреля 2018 г.

- Заезд участников конференции: 25 апреля
- Регистрация участников: 25 апреля, 10:00-12:00
- Работа выставки конференции: 25-26 апреля

Место проведения: г. Суздаль, ул. Ленина, 45, отель «Пушкарская слобода»

Питание

- Завтраки включены в стоимость номера (ресторан «На Пинаихе»)
- Обеды и ужин 25.04 включены в стоимость пакета участника (ресторан «На Пинаихе»)
- Кофе-брейки (на территории конференции и выставки)
- Банкет по приглашениям 26 апреля в 20.00 (ГТК, ресторан «Суздаль», ул. Коровники, 45)

Бейджи обязательны для доступа на территорию конференции, выставки и организованного питания (в случае потери, пожалуйста, обращайтесь на стойку регистрации)

Организованный трансфер для участников

- К открытию конференции: 25 апреля от ж/д вокзала г. Владимира в 09:00
- После закрытия конференции: 27 апреля из «Пушкарской слободы» до ж/д вокзала г. Владимира в 16:45

Сайт конференции: [ngs.med-gen.ru](http://ngs.med-gen.ru)

Контакты оргкомитета: [mgngs@med-gen.ru](mailto:mgngs@med-gen.ru)





**WorkShop** представляет собой форму публичного обсуждения или освещения каких-либо вопросов по определённой тематике, при котором ведущий и остальные участники обмениваются информацией и своим опытом по решению той или иной проблемы в активном общении. Ведущий сам определяет удобный формат проведения: рассказ, доклад с презентацией или семинар с возможностью решения задач. Остальные участники имеют возможность общаться по ходу мероприятия, задавать вопросы или же делиться своим опытом. Время проведения – 40-45 минут.

### WorkShop 1.

#### Опыт работы на NovaSeq 6000 (Illumina)

Ведущий – И.В. Миронова

Полноэкзомное секвенирование широко используется для диагностики наследственных заболеваний. Качество секвенирования напрямую зависит от подготовки библиотек ДНК. Существует несколько производителей наборов реагентов для создания библиотек для полноэкзомного секвенирования. В докладе будет проведён анализ сравнения наборов для пробоподготовки «TruSeq Exome Kit» (Illumina) и SureSelectXT Human All Exon V6 +UTR (Agilent). Сравнение проводилось в равных условиях: секвенирование на платформе NovaSeq 6000 (Illumina), анализ данных с использованием алгоритмов FastQC, SeqPurge, Sambalster и bedtools.

### WorkShop 2.

#### Проблема чувствительности и специфичности выявления генетических вариантов методами NGS

Ведущий – К.О. Карандашева

Не все генетические варианты, выявленные при помощи NGS, являются истинными и подтверждаются альтернативными методами молекулярно-генетического анализа. С другой стороны, далеко не для всех пациентов удастся найти молекулярно-генетическое подтверждение клинического диагноза. Чем обусловлены данные проблемы? Как можно повысить чувствительность и специфичность при анализе данных NGS? Все ли возможности исчерпаны? Постараемся найти ответы на примерах анализа данных NGS.

### WorkShop 3.

#### Значение взаимодействия биоинформатика и врача при трактовке результатов секвенирования экзома

Ведущий – Е.Л. Дадали

Использование результатов секвенирования экзома в практической работе врача, безусловно, существенно повысило эффективность диагностики моногенных заболеваний, особенно, редких генетических вариантов или обусловленных мутациями в генах большого размера, диагностика которых ранее проводилась крайне редко в связи со значительными экономическими затратами. Однако основные успехи достигнуты в диагностике нозологических форм, характеризующихся локусной гетерогенностью, в то время как диагностика аллельных вариантов наследственных заболеваний, все еще вызывает определенные трудности и обуславливает необходимость тесного взаимодействия врача, наблюдающего больного, и биоинформатика, трактующего

результаты секвенирования. Увеличение количества аллельных вариантов заболеваний, обусловленных мутациями в одном и том же гене, клиническая картина которых существенно отличается, а также выявления значительного количества ранее не описанных нуклеотидных замен, требует тщательного анализа литературных данных. Кроме того, отдельные мутации в гене могут приводить к появлению варибельных по возрасту манифестации и тяжести клинических вариантов одного и того же заболевания. Причиной этого могут быть различия во влиянии мутации на функцию белкового продукта гена. Однако к настоящему времени для абсолютного большинства генов функциональная значимость отдельных мутаций не установлена, что создает проблемы для врача-генетика при проведении медико-генетического консультирования отягощенных семей, так как не позволяет прогнозировать тяжесть течения заболевания у пробанда, а также препятствует разработке персонализированного лечения. На протяжении work shop будут:

1. Представлены клинико-генетические характеристики аллельных вариантов, обусловленных мутациями в генах *DYNC1H1* и *SCN2A* и обсуждены, предполагаемы механизмы появления аллельных вариантов, различных по клиническим проявлениям. Показаны различия терапевтических подходов при лечении больных с эпилепсиями, обусловленными мутациями в генах ионных каналов.
2. Продемонстрированы примеры изменения диагноза, с которым длительное время наблюдался больной, на основании результатов секвенирования экзома, а также случаи диагностики редких вариантов наследственных синдромов, симптомы которых при клиническом осмотре не были выявлены врачом.
3. Продемонстрирована роль хромосомного микроматричного анализа в диагностике моногенного заболевания на примере ранней эпилептической энцефалопатии б типа, обусловленной мутациями в гене *SCN1A*.

### WorkShop 4.

#### Применение руководства по интерпретации данных на практике

Ведущий – А.В. Марахонов

Одним из основных источников как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов в диагностике с использованием методов ВПС являются ошибки в интерпретации значимости выявленных вариантов нуклеотидной последовательности. Основой для принятия решения о роли того или иного варианта в развитии заболевания, наблюдаемого у пациента, являются критерии Американского колледжа медицинской генетики и Ассоциации молекулярной патологии, в том числе их локально адаптированные версии. Несмотря на свою простоту и ясность, они зачастую применяются неверно, что порождает ошибочно поставленный диагноз для пациента, а также отсутствие указаний на продолжение диагностического поиска для врача. Противоположной ситуацией бывает недооценка значимости выявленного у пациента варианта нуклеотидной последовательности, что может приводить к его обращению за проведением дорогостоящего функционального анализа, который в таком случае может быть избыточным с клинической точки зрения. На семинаре будут разобраны несколько примеров ошибочного применения критериев оценки патогенности выявленных вариантов нуклеотидной последовательности с помощью методов ВПС у пациентов с наследственной патологией, вероятные причины их возникновения, а также даны практические рекомендации по их применению.

25 апреля, среда Зал: Романовский

10:00 – 12:00 Регистрация

**Сателлитный симпозиум компаний ThermoFisher Scientific и Хеликон - Генетический анализ в практической медицине**  
 Модераторы: *Натальин П.Б., Чеховских Е.А.*

12:00 – 12:10 Современные системы для генетического анализа *Натальин П.Б.*12:10 – 12:22 Новые решения высокопроизводительного секвенирования (NGS) для диагностики численных хромосомных нарушений *Глинкина Ж.И.*12:22 – 12:34 Оценка возможности использования набора Ion ReproSeq PGS kit для преимплантационного генетического скрининга *Екимов А.Н.*12:34 – 12:46 Реальные результаты виртуального кариотипирования. Анализ CNV в эпоху NGS *Канивец И.В.*12:46 – 13:00 Опыт использования капиллярного секвенатора SeqStudio в клинической лаборатории для валидации результатов NGS *Кошкин Ф.А.*

13:00 – 14:00 Обед

14:00 – 14:05 **Открытие конференции**  
*Куцев С.И., Скоблов М.Ю., Лавров А.В.*

**Тренды, новинки, будущее сегодня**  
 Спонсор секции: **Рош Диагностика Рус**  
 Модераторы: *Куцев С.И., Поляков А.В.*

14:05 – 14:30 Роль NGS в диагностике наследственных заболеваний *Куцев С.И.*14:30 – 14:55 От выбора панелей к полногеномному анализу. Куда движется молекулярно-генетическая диагностика *Лавров А.В.*14:55 – 15:20 NGS сближает онкологию с медицинской генетикой *Стрельников В.В.*

15:20 – 15:35 Перерыв

**Лабораторные аспекты использования NGS**Модераторы: *Танас А.С., Рыжкова О.П.*15:35 – 15:55 «Клинический» экзом: место в современной молекулярной диагностике наследственных заболеваний *Рыжкова О.П.*15:55 – 16:10 Опыт разработки, внедрения и анализа кастомных гибридизационных панелей разных производителей для диагностики иммунологических и гематологических заболеваний *Мерсиянова И.В.*16:10 – 16:20 Размерно-селективное разделение нуклеиновых кислот на основе карбоксил-функционализированных магнитных частиц *Натаров В.О.*16:20 – 16:35 GenSeq™: от частного к общему. Перспективы 2018. И не только. *Плугов А.Г.*16:35 – 17:15 WorkShop 1. Опыт работы на NovaSeq 6000 (Illumina) *Миронова И.В.*

17:15 – 17:45 Кофе-брейк

**NGS в неврологии**Модераторы: *Дадали Е.Л., Шарков А.А.*17:45 – 18:10 Поиск генетических факторов риска синдрома Туретта *Раменский В.Е.*18:10 – 18:35 Выявляемость причин заболевания в группе вероятно генетических эпилепсий с использованием NGS-тестов *Шарков А.А.*18:35 – 18:55 Эффективность полноэкзомного секвенирования для выявления генетических причин аутизма *Поволоцкая И.С.*18:55 – 19:10 Опыт использования диагностической таргетной панели при лобно-височной деменции *Шпилюкова Ю.А.*19:10 – 19:20 Ранняя эпилептическая энцефалопатия, ассоциированная с мутацией в гене *GABRB3* *Кожанова Т.В.*

19:20 – 21:00 Ужин

21:00 – 23:00 Приветственный фуршет и постерная сессия

26 апреля, четверг

Зал: Романовский

8:00 – 9:00	Завтрак	
	<b>NGS в онкогенетике</b> <i>Модераторы: Стрельников В.В., Бобрынина В.О.</i>	
9:00 – 9:25	NGS в изучении и диагностике наследственных опухолевых синдромов	<i>Козлова В.М.</i>
9:25 – 9:50	Проект по изучению наследственных онкологических синдромов в РФ: задачи и первые результаты	<i>Гордиев М.Г.</i>
9:50 – 10:05	Анализ аллореактивного иммунного ответа с помощью высокопроизводительного секвенирования рецепторов Т-лимфоцитов	<i>Ефимов Г.А.</i>
10:05 – 10:20	Опыт интерпретации соматических мутаций в опухолях: о чем не пишут в руководствах	<i>Милейко В.А.</i>
10:20 – 10:30	Изучение внутриопухолевой гетерогенности меланомы методом полноэкзомного секвенирования	<i>Абрамов И.С.</i>
10:30 – 10:45	От образца к результату. Передовые технологии illumina в NGS	
10:45 – 11:10	Кофе-брейк	
	<b>Новые подходы при использовании NGS</b> <i>Модераторы: Скоблов М.Ю., Скрябин Н.А.</i>	
11:10 – 11:40	Использование WGS для обнаружения небольших изменений последовательности, структурных вариантов, коротких tandemных повторов и вариантов в митохондриальной ДНК	<i>Каплун А.</i>
11:40 – 12:05	Эффективность экзомов и панелей в различных группах пациентов и вклад анализа CNV в диагностическую ценность метода	<i>Коновалов Ф.А.</i>
12:05 – 12:25	Функциональный анализ вариантов нуклеотидной последовательности, нарушающих сплайсинг, при менделирующих заболеваниях	<i>Филатова А.Ю.</i>
12:25 – 12:40	NGS в детекции эпигенетических механизмов неполной пенетрантности микроделеционных синдромов	<i>Скрябин Н.А.</i>
12:40 – 12:50	Функциональный анализ интронных вариантов нуклеотидной последовательности в гене KIAA1109 при синдроме Алкурая-Кучинскас	<i>Фреуре В.</i>
12:50 – 13:05	Solving the complexity within genomic data analysis with SOPHiA AI	<i>Martin G.</i>
13:05 – 14:00	Обед	

	<b>Биоинформатический анализ данных NGS</b> <i>Модераторы: Базыкин Г.А., Коновалов Ф.А.</i>	
14:00 – 14:25	Когортный анализ данных экзомного секвенирования 604 образцов	<i>Барбитов Ю.А.</i>
14:25 – 14:45	Проект “Российские геномы” – референсная популяционная база данных геномной вариабельности для медицинской генетики	<i>Горбунова А.В.</i>
14:45 – 15:00	Экспертная система анализа и интерпретации больших омиксных данных	<i>Шлихт А.Г.</i>
15:00 – 15:15	Особенности инфраструктуры Zenome – платформы для хранения, обработки и обмена генетическими данными на основе технологии блокчейн	<i>Кулемин Н.А.</i>
15:15 – 15:55	WorkShop 2. Проблема чувствительности и специфичности выявления генетических вариантов методами NGS	<i>Карандашева К.О.</i>
15:55 – 16:25	Кофе-брейк	
	<b>NGS в диагностике различных заболеваний</b> <i>Модераторы: Тюльпанов А.Н., Щагина О.А.</i>	
16:25 – 16:50	Опыт использования NGS в диагностике и изучении молекулярной основы наследственных вариантов гипогонадотропного гипогонадизма	<i>Тюльпанов А.Н.</i>
16:50 – 17:10	Молекулярно-генетическая диагностика моногенных форм сахарного диабета у детей. Современные методы и подходы	<i>Глотов О.С.</i>
17:10 – 17:25	Комплексная диагностика гемофилии А у российских больных	<i>Бескоровайная Т.С.</i>
17:25 – 17:40	Новая мутация в промоторном регионе гена RMRP у пациентки с анаукзетической дисплазией	<i>Федяков М.А.</i>
17:40 – 17:55	Молекулярно-генетическая диагностика у пациентов с наследственными заболеваниями глаз методом NGS	<i>Иванова Е.А.</i>
17:55 – 18:35	WorkShop 3. Значение взаимодействия биоинформатика и врача при трактовке результатов секвенирования экзома	<i>Дадали Е.Л.</i>
18:35 – 18:45	Групповая фотография. Романовский зал	
18:45 – 19:15	Перерыв	
19:15 – 20:00	Трансфер до гала-ужина	
20:00 – 23:00	Гала-ужин	

27 апреля, пятница

Зал: Романовский

8:00 – 9:00 Завтрак, Check-out

**NGS в диагностике различных заболеваний***Модераторы: Авдейчик С.А., Спарбер П.А.*9:00 – 9:25 Значимость высокого риска наличия редких анеуплоидий при использовании неинвазивного пренатального ДНК-скрининга *Шубина Е.С.*9:25 – 9:50 Клиническая интерпретация результатов преимплантационного генетического тестирования на хромосомные аномалии *Мусатова Е.В.*9:50 – 10:05 Патогенный вариант сплайсинга в гене *PALB2* при анемии Фанкони, выявленный с помощью экспрессионного анализа *Вяхирева Ю.В.*10:05 – 10:20 Определение причин потери беременности методом экзомного анализа эмбрионов *Гарушняц С.К.*10:20 – 10:40 Генетическое исследование наследственных спастических параплегий у российских пациентов *Кадникова В.А.*10:40 – 10:55 Семейный случай синдрома Лойса-Дитца 2 типа *Анисимова И.В.*

10:55 – 11:25 Кофе-брейк, Check-out

**NGS в кардиологии***Модераторы: Семенова Н.А., Марахонов А.В.*11:25 – 11:40 Новые мутации в генах саркомерных белков при гипертрофической кардиомиопатии у пациентов из Беларуси *Чакова Н.Н.*11:40 – 11:55 Диагностика болезни Данона методом NGS: два клинических случая *Сивицкая Л.Н.*11:55 – 12:05 Молекулярно-генетический анализ гена *TTN* у детей с дилатационной кардиомиопатией *Михайлов В.С.*12:05 – 12:15 Клиническая гетерогенность Фатальной инфантильной кардиоэнцефаломиопатии вследствие недостаточности цитохром-С-оксидазы *Семенова Н.А.*12:15 – 13:00 WorkShor 4. Применение руководства по интерпретации данных на практике *Марахонов А.В.*

13:00 – 14:00 Обед, Check-out

**Круглый стол***Модераторы: Куцев С.И., Лавров А.В.*14:00 – 14:30 Опыт популяционного скрининга наследственных опухолевых синдромов методом NGS *Афанасьев А.А.*14:30 – 15:00 Оценка качества заключений лаборатории преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А) методом секвенирования следующего поколения (NGS) *Авдейчик С.А.*15:00 – 15:40 Рекомендации по интерпретации данных, полученных методами высокопроизводительного секвенирования *Рыжкова О.П.*

15:40 – 15:45 Закрытие конференции

16:45 Отъезд автобуса

# Анонс предстоящего мероприятия

## Геномное редактирование в медицинской генетике 2018 (MGEediting'18)

2 июня 2018 года в Москве в рамках III Конгресса орфанных заболеваний состоится Первая международная научно-практическая конференция «Геномное редактирование в медицинской генетике 2018» - MGEediting'18.

Конференция посвящена обсуждению современных возможностей коррекции наследственной патологии с использованием технологий геномного редактирования и генной терапии. Будут рассмотрены актуальные вопросы выбора оптимальной стратегии редактирования, методов доставки и оценки эффективности методов *in vitro* и *in vivo*. Будут рассмотрены организационные вопросы развития технологий редактирования ДНК.

Доклады на Конференции заинтересуют учёных, врачей - лабораторных генетиков и других специалистов по разработке методов лечения орфанных заболеваний методами редактирования генома. Приглашаем участников Конференции присылать тезисы своих работ. Отобранные конкурсной комиссией тезисы будут опубликованы в сборнике тезисов, а авторы получат приглашение сделать устные и постерные доклады.

**Участие бесплатное**

**Место проведения:**

Москва, гостиница «Марриотт гранд отель», ул. Тверская, 26/1

**Подача тезисов:** до 13 мая 2018

**Оргкомитет конференции**

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»  
mgngs@med-gen.ru

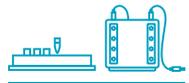
**Регистрация на сайте** <http://ngs.med-gen.ru/MGEediting18/>





Компания Хеликон обеспечивает полный рабочий процесс необходимым оборудованием и расходными материалами для молекулярной и клеточной биологии и прикладных исследований.

## ДЕЛАЕМ ВОЗМОЖНОЙ РАБОТУ ЛАБОРАТОРИЙ В РОССИИ НА МИРОВОМ УРОВНЕ



ООО «Компания Хеликон» поставляет передовые решения ведущих мировых брендов и производит лабораторное оборудование для молекулярной биологии.  
Подробнее на сайте [www.helicon.ru](http://www.helicon.ru)



ДОСТАВКА



ОБУЧЕНИЕ



СЕРВИСНОЕ  
ОБСЛУЖИВАНИЕ



МЕТОДИЧЕСКАЯ  
ПОДДЕРЖКА

Центральный офис:  
119991 г. Москва, Ленинские Горы, МГУ, д. 1, стр. 40  
Тел. 8 (800) 770-71-21 Факс +7 (495) 930-00-84  
mail@helicon.ru  
[www.helicon.ru](http://www.helicon.ru)

Представительство в Сибирском регионе:  
630090 г. Новосибирск, ул. Инженерная, 28  
Тел. +7 (383) 207-84-85, novosibirsk@helicon.ru

Представительство в Северо-Западном Регионе:  
195220 г. Санкт-Петербург, ул. Гжатская д. 22 корп. 1  
Тел. +7 (812) 244-85-50, spb@helicon.ru

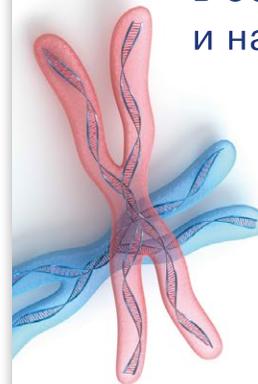
Представительство в Приволжском регионе:  
420021 г. Казань, ул. Татарстан, д. 14/59, оф. 201  
Тел. +7 (843) 202-43-37, volga@helicon.ru

Представительство в Южном регионе:  
344116 г. Ростов-на-Дону, ул. 2-ая Волгодарская, д. 76/22а  
Тел. +7 (863) 294-07-64, rostov@helicon.ru

iontorrent



## Все для ваших исследований в области репродуктивного здоровья и наследственных заболеваний



- Анализ полного экзома
- Секвенирование панелей генов, связанных с наследственными болезнями
- Планирование семьи, скрининг новорожденных, установление причин заболеваний

- Ion GeneStudio™ S5 Systems
- Ion AmpliSeq™ on demand
- Ion ReproSeq™ PGS Kit
- CytoScan™ XON Assay Kit



**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

8 (495) 651 6797

Узнайте больше на нашем сайте:  
[thermofisher.com](http://thermofisher.com)

Предназначено только для научных исследований.  
Не для применения в диагностических процедурах.  
Торговые марки — собственность Thermo Fisher Scientific и/или ее дочерних предприятий, если не указано иначе.  
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Все права защищены.



## ПРОБОПОДГОТОВКА ДЛЯ NGS КОМПЛЕКСНОЕ РЕШЕНИЕ ОТ РОШ

### АНАЛИЗ КАЧЕСТВА И КОЛИЧЕСТВА ГЕНОМНОЙ ДНК

**hgDNA Quantification Kit** - высокоточное определение концентрации и целостности геномной ДНК методом ПЦР в реальном времени

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ БИБЛИОТЕК ДНК/РНК

**KAPA Hyper Prep/KAPA Hyper RNA** - все реакции в одной пробирке с выбором метода фрагментации ДНК (ультразвук/фермент)

### АДАПТЕРЫ И МАГНИТНЫЕ ЧАСТИЦЫ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ БИБЛИОТЕК

**KAPA Adapters&Pure Beads** - совместимы с любым NGS секвенатором

### ТАРГЕТНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ NIMBLEGEN

**SeqCap EZ** - гибридизационные зонды под все известные геномы

**HEAT-seq** - быстрое и простое обогащение на основе амплификации, выявление соматических мутаций, включая CNVs

### КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ГОТОВЫХ NGS БИБЛИОТЕК

**KAPA Library Quantification Kit** - «золотой стандарт» определения концентрации библиотек методом ПЦР в реальном времени



ООО «Рош Диагностика Рус»  
sequencing.roche.com  
ras.russia@roche.com  
Тел.: +7 (495) 229-69-99

115114, Россия, Москва, ул. Летниковская, д. 2, стр. 2, Бизнес-центр «Вивальди Плаза»



Генетический  
анализатор  
MassARRAY



- Жидкостная биопсия и ранняя онкологическая диагностика
- Высококчувствительный количественный анализ SNP
- Количественный анализ метилирования ДНК
- Мини секвенирование
- Открытая платформа: готовые решения и пользовательские протоколы
- Высокая мультиплексность
- Валидация данных NGS
- Низкие требования к качеству и количеству ДНК
- Экономическая эффективность

**Геномный времяпролетный масс-спектрометр MassARRAY** – уникальная система для чувствительного, точного и быстрого таргетного анализа генетического материала.

**От выделения ДНК до результатов анализа всего один рабочий день!**

**Готовые решения включают панели для:**

- скрининговых исследований онкологических, генетических и сердечно-сосудистых заболеваний
- фармакогенетических исследований и подбора адресной медикаментозной терапии
- генотипирования доноров с редкими группами крови и идентификации образцов

[www.bga.su](http://www.bga.su)



## Тезисы конференции

# Оглавление

Устные доклады. . . . . 27

**Д01. Анализ аллореактивного иммунного ответа с помощью высокопроизводительного секвенирования рецепторов Т-лимфоцитов**  
Г.А. Ефимов, Н.А. Быкова, С.А. Шитиков . . . . . 27

**Д02. Выявляемость причин заболевания в группе вероятно генетических эпилепсий с использованием NGS-тестов**  
А.А. Шарков, Ф.А. Коновалов, И.В. Канивец, Е.Р. Толмачева, Д.Н. Хмелькова, М.А. Амплеева, И.Ф. Комарьков, Е.И. Суркова, А.О. Шумарина, А.В. Антонец, К.В. Горгишели, Д.В. Пьянков, Е.Л. Дадали, С.А. Коростелев . . . 27

**Д03. Генетическое исследование наследственных спастических параличей у российских пациентов**  
В.А. Кадникова, О.П. Рыжкова, Г.Е. Руденская, А.В. Поляков . . . . . 28

**Д04. Диагностика болезни Данона методом NGS: два клинических случая**  
Л.Н. Сивицкая, Т.Г. Вайханская, Н.Г. Даниленко, О.Д. Левданский, О.Г. Давыденко . . . . . 29

**Д05 (Workshop). Значение взаимодействия биоинформатика и врача при трактовке результатов секвенирования экзона**  
Е.Л. Дадали . . . . . 29

**Д06. Значимость высокого риска наличия редких анеуплоидий при использовании неинвазивного пренатального ДНК-скрининга**  
Е. Шубина, И.Ю. Барков, Л.В. Ким, И.С. Мукосей, Т.О. Кочеткова, А.Ю. Гольцов, Н.К. Тетрашвили, О.К. Ступко, Н.А. Каретникова, В.А. Бахарев, Д.Ю. Трофимов . . . . . 30

**Д07. Изучение внутриопухолевой гетерогенности меланомы методом полноэкзомного секвенирования**  
И.С. Абрамов, Г.С. Краснов, М.А. Емельянова, О.О. Рябая, К.В. Орлова, Л.В. Демидов, Т.В. Наседкина . . . . . 31

**Д08. Использование WGS для обнаружения небольших изменений последовательности, структурных вариантов, коротких tandemных повторов и вариантов в митохондриальной ДНК**  
А. Каплун . . . . . 32

**Д09. Клиническая гетерогенность Фатальной инфантильной кардиоэнцефаломиопатии вследствие недостаточности цитохром-С-оксидазы (OMIM #604377)**  
Н.А. Семенова, Н.А. Демина, И.В. Анисимова . . . . . 32

**Д10. Клиническая интерпретация результатов преимплантационного генетического тестирования на хромосомные аномалии**  
Е.В. Мусатова, И.С. Поволоцкая, Е.А. Померанцева . . . . . 33

**Д11. «Клинический» экзом: место в современной молекулярной диагностике наследственных заболеваний**  
О.П. Рыжкова, А.Л. Чухрова, О.Л. Миронович, А.В. Поляков . . . . . 34

**Д12. Когортный анализ данных экзомного секвенирования 604 образцов**  
Ю.А. Барбитов, Д.Е. Полев, И.В. Щербанова, А.С. Глотов, А.М. Киселев, Е.А. Серебрянова, А.А. Костарева, О.И. Полещук, О.С. Глотов и А.В. Предеус . . . . . 34

**Д13. Комплексная диагностика гемофилии А у российских больных**  
Т.С. Бескоровая, Т.Б. Миловидова, О.А. Цагина, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков . . . . . 35

**Д14. Молекулярно-генетическая диагностика моногенных форм сахарного диабета у детей. Современные методы и подходы**  
О.С. Глотов, Е.А. Серебрянова, М.Е. Турнунова, Е.Б. Башнина, А.С. Глотов, Ю.А. Барбитов, А.В. Предеус, Д.Е. Полев, Л.В. Дитковская, О.С. Берсенева, Л.В. Тыртова, Ю.Л. Скородок, Е.Р. Досовицкая, Н.Н. Лобанова, Д.А. Тыртова, К.В. Скобелева, М.А. Полянская, Ф.З. Цораева, Т.Е. Корытко, Т.А. Дубинина, В.В. Платонов, Е.С. Шабанова, Т.Э. Иващенко, Н.Ю. Швед, О.А. Ефимова, О.В. Романова, М.А. Федеяков, А.М. Сарана, С.Г. Щербак, В.С. Баранов. . . . . 36

**Д15. Молекулярно-генетическая диагностика у пациентов с наследственными заболеваниями глаз методом NGS**  
Е.А. Иванова, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков . . . . . 37

**Д16. Молекулярно-генетический анализ гена TTN у детей с дилатационной кардиомиопатией**  
В.С. Михайлов, А.А. Бунаева, В.А. Румянцева, Н.П. Котлукова, М.С. Балашова, Г.М. Раджабова, С.Л. Дземешкевич, Е.В. Заклязьминская . . . . . 38

**Д17. Новая мутация в промоторном регионе гена RMRP у пациентки с анауклетической дисплазией**  
М.А. Федеяков, В.М. Кенис, Т.Э. Иващенко, А.М. Сарана, С.Г. Щербак, О.С. Глотов . . . . . 39

**Д18. Новые мутации в генах саркомерных белков при гипертрофической кардиомиопатии у пациентов из Беларуси**  
Н.Н. Чанова, С.С. Ниязова, С.М. Комиссарова . . . . . 40

**Д19. Определение причин потери беременности методом экзомного анализа эмбрионов**  
М.А. Андрианова, С.К. Гарушяни, Е.Р. Набиева, Е.Р. Капушев, Д.А. Яроцкий, Г.А. Базыкин . . . . . 40

**Д20. Опыт интерпретации соматических мутаций в опухолях: о чем не пишут в руководствах**  
Е. Веселовский, Е. Игнатова, А. Касьянов, А. Ковтун, И. Володин, В. Стрельников, В. Милейко . . . . . 41

**Д21. Опыт использования диагностической таргетной панели при лобно-височной деменции**  
Ю.А. Шпилюкова, Е.Ю. Федотова, Н.Ю. Абрамичева, А.С. Ветчинова, В.В. Устинова, С.Н. Иллариошкин . . 42

**Д22. Опыт использования NGS в диагностике и изучении молекулярной основы наследственных вариантов гипогонадотропного гипогонадизма**  
М.В. Наумова, В.М. Петров, Е.В. Васильев, А.Н. Тюльпаков . . . . . 42

**Д23 (в рамках круглого стола). Опыт популяционного скрининга наследственных опухолевых синдромов методом NGS**  
А.А. Тихонов, А.А. Афанасьев . . . . . 43

**Д24 (Workshop). Опыт работы на NovaSeq 6000 (Illumina)**  
И.В. Миронова, И.С. Поволоцкая, Е.А. Померанцева, В.С. Каймонов . . . . . 43

**Д25. Опыт разработки, внедрения и анализа кастомных гибридационных панелей разных производителей для диагностики иммунологических и гематологических заболеваний**  
И.В. Мерсиянова, М.А. Курникова, А.В. Павлова, В.В. Захарова, С.Г. Манн, Р.Х. Абасов, Е.В. Райкина, М.А. Масчан . . . . . 44

**Д26. Особенности инфраструктуры Zenote – платформы для хранения, обработки и обмена генетическими данными на основе технологии блокчейн**  
Н.А. Кулемин, А.Ю. Горбачев, В.А. Наумов, А.А. Губина, П.И. Реутов, С.А. Попов . . . . . 45

<b>Д27. От выбора панелей к полногеномному анализу. Куда движется молекулярно-генетическая диагностика</b> <i>А.В. Лавров</i> .....	45
<b>Д28 (в рамках круглого стола). Оценка качества заключений лаборатории преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А) методом секвенирования следующего поколения (NGS)</b> <i>С.А. Авдейчик, С.В. Попов</i> .....	46
<b>Д29. Патогенный вариант сплайсинга в гене <i>PALB2</i> при анемии Фанкони, выявленный с помощью экспрессионного анализа</b> <i>Ю. Вяхирева, Л. Бессонова, Ф. Коновалов, М. Скоблов</i> .....	48
<b>Д30. Поиск генетических факторов риска синдрома Туретта</b> <i>В. Раменский</i> .....	49
<b>Д31 (Workshop). Применение руководства по интерпретации данных на практике</b> <i>А.В. Марахонов, М.Ю.Скоблов</i> .....	49
<b>Д32 (Workshop). Проблема чувствительности и специфичности выявления генетических вариантов методами NGS</b> <i>К.О. Карандашева</i> .....	50
<b>Д33. Проект “Российские геномы” – референсная популяционная база данных геномной вариабельности для медицинской генетики</b> <i>А.В. Горбунова, В.Б. Брюхин, Д.В. Жернакова, С.В. Малов, С.Ф. Кливер, Н.А. Черкасов, Г.С. Тамазян, М.С. Роткевич, К.В. Крашенинникова, И.В. Евсюков, С.И. Сидоров, Е.Н. Черняева, А.К. Шевченко, А.С. Комиссаров, С.А. Симонов, А.А. Логачев, Д.Е. Полев, А.Г. Новожилов, С.Д. О’Брайен</i> .....	50
<b>Д34. Размерно-селективное разделение нуклеиновых кислот на основе карбоксил-функционализированных магнитных частиц</b> <i>В.О. Натаров, В.Л. Сурвило, И.А. Гоптарь</i> .....	51
<b>Д35. Ранняя эпилептическая энцефалопатия, ассоциированная с мутацией в гене <i>GABRB3</i></b> <i>Т.В. Кожанова, С.С. Жилина, Т.И. Мещерякова, Е.Г. Лукьянова, Е.С. Большакова, К.В. Осипова, С.О. Айвазян, А.Г. Притыко</i> .....	52
<b>Д36 (в рамках круглого стола). Рекомендации по интерпретации данных, полученных методами высокопроизводительного секвенирования</b> <i>О.П. Рыжкова</i> .....	53
<b>Д37. Семейный случай синдрома Лойса-Дитца 2 типа</b> <i>И.В. Анисимова, М.С. Петухова, Н.А. Семенова</i> .....	54
<b>Д38. Таргетное секвенирование нового поколения генов <i>BRCA1</i> и <i>BRCA2</i> для выявления редких мутаций при наследственном раке молочной железы и раке яичников</b> <i>Л.Х. Шигапова, О.И. Бровкина, М.Г. Гордиев, М.О. Дружков, Е.И. Шагимарданова, Р.Ф. Енинев, Г.К. Мухамедьярова, Д.С. Ходырев, А.Г. Никитин, В.В. Питнау, Д.Д. Сакаева, Р.Р. Фаисханова, А.Ф. Насретдинов, Ю.К. Моляка, Е.Г. Овчинникова, И.С. Шумская, О.А. Гусев</i> .....	54
<b>Д39. Функциональный анализ вариантов нуклеотидной последовательности, нарушающих сплайсинг, при менделирующих заболеваниях</b> <i>А.Ю. Филатова, А.В. Марахонов, Ю.В. Вяхирева, П.А. Спарбер, В. Фреире, М.Ю. Скоблов</i> .....	57

<b>Д40. Функциональный анализ интронных вариантов нуклеотидной последовательности в гене <i>KIAA1109</i> при синдроме Алкурая-Кучинскас</b> <i>В. Фреире, А.Ю. Филатова, Ф.А. Коновалов, Л.А. Бессонова, М.Ю. Скоблов</i> .....	58
<b>Д41. Экспертная система анализа и интерпретации больших омиксных данных</b> <i>А.Г. Шлихт, Н.В. Краморенко</i> .....	59
<b>Д42. Эффективность полноэкзомного секвенирования для выявления генетических причин аутизма</b> <i>И.С. Поволоцкая, Е.А. Померанцева</i> .....	59
<b>Д43. Эффективность экзомов и панелей в различных группах пациентов и вклад анализа CNV в диагностическую ценность метода</b> <i>Ф.А. Коновалов</i> .....	60
<b>Д44. NGS в детекции эпигенетических механизмов неполной пенетрантности микроделеционных синдромов</b> <i>Н.А. Скрябин, С.А. Васильев, Е.Н. Толмачева, О.Ю. Васильева, А.А. Кашеварова, Л.П. Назаренко, А.Р. Шорина, И.Н. Лебедев</i> .....	60
<b>Д45. NGS в изучении и диагностике наследственных опухолевых синдромов</b> <i>В.М. Козлова, Е.А. Алексеева, Т.П. Казубская, В.В. Стрельников, Т.Л. Ушакова</i> .....	61
<b>Д46. NGS сближает онкологию с медицинской генетикой</b> <i>В.В. Стрельников</i> .....	62
<b>Постерные доклады</b> .....	63
<b>П01. Гомозиготная мутация в гене <i>ARL6IP1</i> – причина редкой наследственной спастической параплегии с ранним началом</b> <i>А.Л. Чухрова, И.А. Акимова, О.А. Щагина, В.А. Кадникова, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков</i> .....	63
<b>П02. Диагностика редкого наследственного синдрома с помощью экзомного секвенирования нового поколения</b> <i>И.В. Шаркова, И.А. Акимова, О.В. Хлебникова, Е.Л. Дадали</i> .....	63
<b>П03. Диагностика синдрома Senior-Loken1 (SLSN1) с подтверждением методом NGS</b> <i>В.А. Галкина, Ф.А. Коновалов, А.В. Марахонов</i> .....	64
<b>П04. Изменение диагноза наследственного заболевания после проведения NGS (клинический экзом)</b> <i>А.А. Козина, К.Ю. Цуканов, П.А. Шаталов, Е.Г. Окунева, А.Ю. Красненко, В.В. Ильинский</i> .....	65
<b>П05. Использование NGS-панели для идентификации редких мутаций при гиперфенилаланинемии</b> <i>И.А. Кузнецова, П. Гундорова, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков</i> .....	66
<b>П06. Использование NGS-секвенирования для подтверждающей диагностики и раннего выявления аминокислотопатий, органических ацидурий и дефектов β-окисления жирных кислот</b> <i>Ю.А. Чурюмова, С.В. Шляга</i> .....	66
<b>П07. Метод МПС (NGS) для оценки генетического статуса эмбрионов – поиск равновесия между технологическими возможностями и клиническим прогнозом</b> <i>М.В. Кречмар, С.В. Вяткина, М.А. Стрижова, Р.В. Васильев, Н.В. Корнилов</i> .....	67

<b>П08. Молекулярно-генетические причины хронического панкреатита</b> <i>К.Ф. Хафизов, А.А. Айгинин, А.Д. Мацвай, Е.В. Пимкина, А.С. Сперанская, Д.С. Бордин, Е.А. Дубцова, Л.В. Винокурова, К.А. Никольская, Н.А. Бодунова, М.В. Волкова, Г.А. Шипулин, М.М. Литвинова</i> . . . . .	68
<b>П09. Оправданность применения NGS в случае сочетания синдрома трёхфалангового большого пальца и полисиндактилии с врождённым пороком сердца</b> <i>О.В. Мельник, А.М. Злотина, Т.С. Лоевец, Т.Л. Вершинина, Ю.В. Фомичева, Е.С. Васичкина, Т.М. Первунина, А.А. Костарева</i> . . . . .	69
<b>П10. Опыт применения таргетного секвенирования для исследования молекулярных причин мышечной дистрофии Дюшенна/Беккера</b> <i>М.В. Булах, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков</i> . . . . .	69
<b>П11. Оценка уровня метилирования регуляторного региона митохондриальной ДНК в лейкоцитах крови и атеросклеротических бляшках сонных артерий</b> <i>М.В. Голубенко, А.В. Марнов, А.А. Зарубин, М.С. Назаренко</i> . . . . .	70
<b>П12. Патогенный вариант сайта сплайсинга при нейродегенерации с накоплением железа 4 типа (NBIA4)</b> <i>П.А. Спарбер, А.В. Марахонов, А.Ю. Филатова, И.В. Шаркова, М.Ю. Скоблов</i> . . . . .	71
<b>П13. Применение метода NGS (клинический экзом) для диагностики клинически гетерогенных патогенных вариантов в гене <i>DYNC1H1</i></b> <i>Е.Г. Окунева, А.А. Козина, К.Ю. Цуканов, П.А. Шаталов, А.Ю. Красненко, В.В. Ильинский</i> . . . . .	71
<b>П14. Разработка метода детекции мутаций при несовершенном остеогенезе с помощью таргетного массового параллельного секвенирования</b> <i>О.Ю. Васильева, С.А. Васильев, Л.П. Назаренко, А.А. Агафонова, В.В. Петрова, М.Н. Филимонова, И.Н. Лебедев, Н.А. Скрыбин</i> . . . . .	72
<b>П15. Роль массового параллельного секвенирования в диагностике гетерогенной наследственной патологии на примере наследственных полинейропатий</b> <i>О.А. Щагина, О.П. Рыжкова, Т.Б. Миловидова, Е.Л. Дадали, А.В. Поляков</i> . . . . .	73
<b>П16. Создание и результаты использования кастомной MPS-панели для диагностики наследственной тугоухости</b> <i>О.Л. Миронович, Е.А. Близнач, Т.Г. Маркова, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков</i> . . . . .	74
<b>П17. Сочетание X-сцепленной и аутосомно-доминантной форм у пациента с врожденным ихтиозом</b> <i>Д.А. Алавердян, Э.С. Поленникова, Т.Э. Иващенко, А.М. Сарана, С.Г. Щербак, О.С. Глотов, М.А. Федяков</i> . . . . .	74
<b>П18. Спектр мутаций в десмосомных и не-десмосомных генах у пациентов с аритмогенной кардиомиопатией правого желудочка</b> <i>А.Г. Шестаков, А.А. Букаева, О.В. Благова, Ю.А. Лутохина, С.Л. Дземешкевич, Е.В. Заклязьминская</i> . . . . .	75
<b>П19. X-сцепленная тугоухость у ногайцев Карачаево-Черкесской Республики Российской Федерации</b> <i>Н.Е. Петрина, А.В. Марахонов, Р.А. Зинченко</i> . . . . .	76
<b>П20. NGS в диагностике редкого типа синдрома Адамса-Оливера-2</b> <i>Т.В. Маркова, И.А. Акимова, А.Л. Чухрова, О.А. Щагина</i> . . . . .	77
<b>Авторский указатель</b> . . . . .	78

## УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

### Д01. Анализ аллореактивного иммунного ответа с помощью высокопроизводительного секвенирования рецепторов Т-лимфоцитов

Г.А. Ефимов\*, Н.А. Быкова, С.А. Шитиков

Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Минздрава РФ

\*gefimov@gmail.com

**Мотивация и цели:** Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) применяется в терапии злокачественных заболеваний крови. CD8+ лимфоциты донора распознают чужеродные антигены пациента и вызывают аллореактивный иммунный ответ, проявляющийся как в реакции «трансплантат против опухоли», так и в реакции «трансплантат против хозяина», которая является одним из тяжелейших осложнений алло-ТГСК.

Показано, что развитие РПТО и/или РТПХ предопределяет как количество клеток, вовлеченных в аллореактивный иммунный ответ, так и их клональное разнообразие. Предлагаемый нами метод анализа аллореактивного иммунного ответа основан на секвенировании репертуаров активированных цитотоксических Т-лимфоцитов в крови пациента после алло-ТГСК.

Методы: Проведен анализ образцов периферической крови от больных после алло-ТГСК. Полученные из пациентов клетки использовались для антиген-специфичной экспансии, после чего проводилось NGS секвенирование библиотек переменных фрагментов бета-цепей Т-клеточного рецептора (ТКР).

**Результаты:** В крови больных после алло-ТГСК, повышено количество активированных CD8+ Т-лимфоцитов. Их число существенно возрастает при развитии РПТО и или РТПХ. Антиген-специфическая экспансия показала, что в кровотоке циркулируют клетки, специфичные к минорным антигенам гистосовместимости. NGS секвенирование библиотек переменных фрагментов ТКР продемонстрировало, что за счет отбора последовательностей, существенно обогащенных в активированной, по сравнению с неактивированной фракции, возможно выявить аллореактивные клоны. При этом антиген-специфичный иммунный ответ олигоклонален и содержит высокомолекулярные клоны.

**Заключение:** Таким образом, создание библиотек переменных фрагментов Т-клеточного рецептора и последующее дифференциальное NGS секвенирование различных фракций позволяет выявить аллореактивные лимфоциты, вносящие вклад как в развитие РПТО, так и в патогенез РТПХ, и является крайне перспективным методом в изучении аллореактивного иммунного ответа.

### Д02. Выявляемость причин заболевания в группе вероятно генетических эпилепсий с использованием NGS-тестов

А.А. Шарков<sup>1,2\*</sup>, Ф.А. Коновалов<sup>2</sup>, И.В. Канивец<sup>2</sup>, Е.Р. Толмачева<sup>2</sup>, Д.Н. Хмелькова<sup>2</sup>, М.А. Амплеева<sup>2</sup>, И.Ф. Комарьков<sup>2</sup>, Е.И. Суркова<sup>2</sup>, А.О. Шумарина<sup>2</sup>, А.В. Антонцев<sup>2</sup>, К.В. Горгишели<sup>2</sup>, Д.В. Пьянков<sup>2</sup>, Е.Л. Дадали<sup>3</sup>, С.А. Коростелев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 000 Геномед, Москва, Россия

<sup>2</sup> Отдел психоневрологии и эпилептологии НИКИ педиатрии им. Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия.

\*a.a.sharkov@yandex.ru

**Мотивация и цели:** мы планировали оценить чувствительность генетических тестов на основе NGS в группе пациентов с подозрением на моногенную эпилепсию в разных возрастных группах и во времени за 2 года.

**Методы:** В 2015-2017 гг. мы обследовали 1777 больных с помощью тестов на основе NGS (клиническое экзомное секвенирование, генная панель «Наследственные эпилепсии» и полное экзомное секвенирование), направленных от разных медицинских центров и врачей, с использованием Illumina NextSeq 500 и собственного программного обеспечения для биоинформатического анализа.

**Результаты:** в 506 случаях (28,5%) была установлена вероятная причина заболевания, еще в 300 (16,9%) предполагалась возможная причина (что требовало дополнительных доказательств). Интересно отметить, что в течение 2 лет частота обнаружения генетических причин (включая хромосомные аномалии и вариации числа копий и исключая вероятно патогенные мутации) варьировала от 20% до 40%. Кроме того, частота выявления различалась по возрастным группам: максимальная выявляемость составляла 40% (85 / 209) в возрасте до 1 года и постепенно снижалась в старших возрастных группах - до 18,3% (61/333) старше 10 лет.

**Заключение:** мы наблюдаем широкий диапазон показателей выявляемости генетических причин в одной лаборатории в течение длительного периода и в зависимости от возраста пациента. У нас есть серьезные сомнения относительно целесообразности использования статических временных точек для оценки выявляемости в лаборатории в качестве оценки эффективности лаборатории. Наши данные также указывают на более существенный вклад моногенных причин в развитие эпилепсии раннего возраста.

#### **Д03. Генетическое исследование наследственных спастических параличей у Российских пациентов**

**В.А. Кадникова\*, О.П. Рыжкова, Г.Е. Руденская, А.В. Поляков**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», г. Москва  
\*vkadnikova@gmail.com

**Введение:** Наследственные спастические параличи (НСП) – это группа нейродегенеративных заболеваний, которые характеризуются прогрессирующей спастичностью и слабостью нижних конечностей, вследствие дегенерации аксонов пирамидного тракта.

С патогенезом НСП ассоциированы мутации в 79 различных локусах и 60 генах. Наиболее целесообразным подходом к молекулярно-генетической диагностике такой гетерогенной группы заболеваний является применение методов, позволяющих анализировать многие гены одновременно – NGS.

**Материалы и методы:** Нами были проанализированы образцы ДНК 91 неродственного пробанда с НСП. ДНК 60 пробандов были проанализированы на наличие мутаций в гене *SPAST* и 24 – в гене *ATL1* (некоторые из них имели оба входящих диагноза). ДНК 10 пациентов не анализировались методом секвенирования по Сэнгеру. Пациенты без мутаций были проанализированы методом MLPA-анализа и таргетной панелью, включающей 63 гена, потенциально связанных с патогенезом НСП (56 генов ответственных за параличи, 7 – за атаксию).

**Результаты:** В результате анализа диагноз был подтвержден для 41 (45%) пациента (SPG4 (*SPAST*) - 28,5%, SPG3A (*ATL1*) - 11%, SPG11 (*SPG11*) - 3,3%, SPG31 (*REEP1*) – 1%, SPG17 (*BSCL2*) – 1%). Среди этих пациентов было обнаружено 44 мутации, 19 (43%) из которых не описаны ранее. Примечательно, что 82% мутаций было обнаружено методами секвенирования по Сэнгеру и полноэкзомным, и 18% – с помощью MLPA-анализа.

**Заключение:** Наши данные демонстрируют, что комбинирование NGS с рутинными методами позволяет эффективно диагностировать НСП. Это первый обзор частот мутаций в российской выборке больных, который показывает, что частоты SPG4 и SPG11 ниже, а частота SPG3A сравнима с мировыми данными.

#### **Д04. Диагностика болезни Данона методом NGS: два клинических случая**

**Л.Н. Сивицкая<sup>1\*</sup>, Т.Г. Вайханская<sup>2</sup>, Н.Г. Даниленко<sup>1</sup>, О.Д. Левданский<sup>1</sup>, О.Г. Давыденко<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь, cytoplasmic@mail.ru

<sup>2</sup> Республиканский научно-практический центр «Кардиология», ул. Р. Люксембург, 110, 220036, г. Минск, Беларусь \*cytoplasmic@mail.ru

Болезнь Данона (БД) – мультисистемная патология, связанная с накоплением в тканях гликогена вследствие мутации в гене трансмембранного белка лизосом *LAMP2* (Xq24). Основными клиническими проявлениями БД являются кардиомиопатия, скелетная миопатия и умственная отсталость. Представлены два клинических случая БД, верифицированной методом NGS. Для поиска мутаций была использована коммерческая панель TruSight Cardiomyopathy Sequencing panel (Illumina Inc). В обоих случаях семейный анализ был отягощен: внезапная смерть матери в возрасте до 30 лет.

Пациент 1 (муж.) с 16 лет отмечал приступы мышечной слабости и сердцебиения, с 30 лет частые потери сознания. Обследование выявило гипертрофическую кардиомиопатию (ГКМП), скелетную миопатию. Когнитивный тест Mini-Mental State Examination выявил деменцию умеренной степени. В гене *LAMP2* у пациента обнаружена делеция с.864+3\_864+6delGAGT (rs397516751), приводящая к ликвидации донорного сайта сплайсинга вблизи экзона 6.

Пациентка 2 (жен., 34г.) с высоким уровнем интеллекта (педагог по профессии) в 3-ем триместре третьей беременности стала отмечать одышку, отеки, слабость. При обследовании выявлены признаки дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) с феноменом предвозбуждения WPW, симптомы скелетной миопатии отсутствуют. В экзоне 3 гена *LAMP2* обнаружена новая гетерозиготная frameshift-делеция - с.190\_191delAC. Мутация приводит к образованию усеченного белка - p.V64NfsX11.

Описанные случаи демонстрируют гендерные различия в течение БД вследствие X-сцепленного наследования. Мужчины с гемизиготными мутациями чаще имеют фенокопию ГКМП, тяжелое течение БД с признаками скелетной миопатии и когнитивного дефицита. У женщин клиническая симптоматика более «мягкая»: более поздняя манифестация фенокопии ДКМП, скелетная миопатия и умственная отсталость наблюдаются реже.

Прогрессирование БД может быть стремительным, требует частого динамического наблюдения и рассмотрения вопроса о целесообразности трансплантации сердца, что и было предпринято в случае пациента 2.

#### **Д05 (Workshop). Значение взаимодействия биоинформатика и врача при трактовке результатов секвенирования экзона**

**Е.Л. Дадала**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

Использование результатов секвенирования экзона в практической работе врача, безусловно, существенно повысило эффективность диагностики моногенных заболеваний, особенно, ред-

ких генетических вариантов или обусловленных мутациями в генах большого размера, диагностика которых ранее проводилась крайне редко в связи со значительными экономическими затратами. Однако основные успехи достигнуты в диагностике нозологических форм, характеризующихся локусной гетерогенностью, в то время как диагностика аллельных вариантов наследственных заболеваний, все еще вызывает определенные трудности и обуславливает необходимость тесного взаимодействия врача, наблюдающего больного, и биоинформатика, трактующего результаты секвенирования. Увеличение количества аллельных вариантов заболеваний, обусловленных мутациями в одном и том же гене, клиническая картина которых существенно отличается, а также выявления значительного количества ранее не описанных нуклеотидных замен, требует тщательного анализа литературных данных. Кроме того, отдельные мутации в гене могут приводить к появлению переменных по возрасту манифестации и тяжести клинических вариантов одного и того же заболевания. Причиной этого могут быть различия во влиянии мутации на функцию белкового продукта гена. Однако к настоящему времени для абсолютного большинства генов функциональная значимость отдельных мутаций не установлена, что создает проблемы для врача-генетика при проведении медико-генетического консультирования отягощенных семей, так как не позволяет прогнозировать тяжесть течения заболевания у пробанда, а также препятствует разработке персонализированного лечения. На протяжении work shop будут:

Представлены клинико-генетические характеристики аллельных вариантов, обусловленных мутациями в генах *DYNC1H1* и *SCN2A* и обсуждены, предполагаемые механизмы появления аллельных вариантов, различных по клиническим проявлениям. Показаны различия терапевтических подходов при лечении больных с эпилепсиями, обусловленными мутациями в генах ионных каналов.

Продемонстрированы примеры изменения диагноза, с которым длительное время наблюдался больной, на основании результатов секвенирования экзона, а также случаи диагностики редких вариантов наследственных синдромов, симптомы которых при клиническом осмотре не были выявлены врачом.

Продемонстрирована роль хромосомного микроматричного анализа в диагностике моногенного заболевания на примере ранней эпилептической энцефалопатии 6 типа, обусловленной мутациями в гене *SCN1A*.

#### **Д06. Значимость высокого риска наличия редких анеуплоидий при использовании неинвазивного пренатального ДНК-скрининга**

**Е. Шубина\***, И.Ю. Барков, Л.В. Ким, И.С. Мукосей, Т.О. Кочеткова, А.Ю. Гольцов, Н.К. Тетраушвили, О.К. Ступко, Н.А. Каретникова, В.А. Бахарев, Д.Ю. Трофимов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр акушерства гинекологии и перинатологии им. В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Мотивация и цели:** При использовании полногеномного подхода к неинвазивному пренатальному ДНК-скринингу (НИПС), возможно детектировать не только риск наличия частых анеуплоидий (трисомии по 21, 18 и 13 хромосомам и нарушение числа копий X и Y хромосом), но и анеуплоидий по другим аутосомам. Однако данных о значимости высокого риска редких анеуплоидий по данным НИПС недостаточно. Часто, даже если они детектируются неинвазивными методами, информация не сообщается пациенткам. В данной работе представлен опыт применения НИПС в НИИЦ АГП им. В.И. Кулакова.

**Методы:** Неинвазивный пренатальный ДНК скрининг проводили с использованием технологии

высокопроизводительного секвенирования Ion Torrent и разработанного авторами алгоритма анализа данных. Всего было проанализировано 983 образца на сроках 11–20 недель.

Для подтверждающей диагностики проводили инвазивный забор материала плода или анализировали клетки крови ребенка. При исследовании плаценты проводили биопсию 4 фрагментов ткани плодового происхождения в разных участках плаценты.

**Результаты:** Высокий риск анеуплоидий по данным НИПС был определен в 38 случаях. Среди них было 13 случаев трисомии по 21 хромосоме, 3 трисомии по 13 хромосоме, 15 нарушений числа копий половых хромосом из которых 4 были обусловлены особенностями кариотипа матери и 7 редких анеуплоидий (трисомии по 7, 8, 10 хромосомам, крупные CNV).

Наличие крупных CNV у плода было подтверждено в 1 случае, в 2-х случаях редких трисомий для анализа была доступна плацента, подтверждено наличие анеуплоидных клеток в плаценте.

**Заключение:** Высокий риск наличия редких анеуплоидий по данным НИПС, может свидетельствовать о наличии анеуплоидных клеток в плаценте и, в редких случаях, о наличии мозаичной формы анеуплоидии или однородительской дисомии у плода. Эта информация может влиять на тактику ведения беременной женщины. Необходимо создание клинических рекомендаций, регламентирующих порядок действий при выявлении высокого риска наличия редких анеуплоидий у плода по данным НИПС.

#### **Д07. Изучение внутриопухолевой гетерогенности меланомы методом полноэкзомного секвенирования**

**И.С. Абрамов<sup>1\*</sup>, Г.С. Краснов<sup>1</sup>, М.А. Емельянова<sup>1</sup>, О.О. Рябая<sup>2</sup>, К.В. Орлова<sup>2</sup>, Л.В. Демидов<sup>2</sup>, Т.В. Наседкина<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН, Москва, Российская Федерация,

<sup>2</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России \*abriv@bk.ru

**Мотивация и цели:** Злокачественные опухоли претерпевают постоянные эволюционные изменения. Поддержание их роста и развития происходит за счет возникновения вторичных мутаций. Это процесс приводит к высокой гетерогенности опухолевых клеток.

**Методы:** Для изучения клональной архитектуры образцов меланомы было проведено полноэкзомное секвенирование первичных опухолей и метастазов трех пациентов с использованием системы NextSeq 500. Соматические мутации были аннотированы и сгруппированы по частоте с выделением кластеров. Реконструкцию клональной эволюции опухоли проводили на основе представленности кластеров в опухолевых клетках.

**Результаты:** Все пациенты изначально являлись носителями мутации *BRAF* V600E. Первый пациент метастазировал после таргетной терапии вемурафенибом. В его метастатических клетках были выявлены мутации *PMS2* (16%) и *CYP21A2* (19%). У второго пациента мутация в гене *PMS2* была выявлена и в первичной опухоли и в метастазе, но мутация в гене *TERT* с.835G>A была представлена в 64% первичных опухолевых клеток и только в 15% клеток метастаза. Третий случай был представлен опухолью (M0) и тремя метастазами, отличающимися локализацией и временем первоначальной диагностики (M1, M2, M3). *BRAF* V600E был идентифицирован во всех образцах, кроме M1. Однако в M1 почти во всех клетках был представлен мутированный ген *MICAL1*, в то время как в исходной опухоли эти мутации обнаруживали только в 4% клеток. Известно, что ген *MICAL1* контролирует рост и выживаемость клеток меланомы при положительном статусе V600E. Последний по времени выявления метастаз M3 нес дополнительные соматические мутации в генах *ANK3*, *DCDC1*, *STAB2*, *FLT1*, *ZNF638*, *ACVR1C*, *SNAP91*.

**Заключение:** Таким образом, реконструкция клональной эволюции опухолей важна для понимания дальнейшего прогрессирования опухоли и механизмов устойчивости к противораковой терапии. Работа была поддержана Российским научным фондом (грант № 14-35-00107).

#### **Д08. Использование WGS для обнаружения небольших изменений последовательности, структурных вариантов, коротких тандемных повторов и вариантов в митохондриальной ДНК**

**А. Каплун**

Director of Product Management, Variantx

With the cost of whole genome sequencing (WGS) continuing to decrease we are fast approaching the point of inflection where WGS testing will become more economically feasible, facilitating broader access to the benefits that are helping to define WGS as the new diagnostic standard.

Many benefits are inherent in the sequencing technology itself. PCR-free DNA preparation methods eliminate amplification-related issues producing better coverage of amino acid coding regions. In addition comprehensive coverage of intronic and intergenic regions ensures the identification of potentially relevant transcription factor binding site, enhancer and other regulatory variants. Importantly, WGS provides unique opportunities for detection of structural variants, but such analyses have not previously made their way into clinical practice.

We have developed a clinically validated WGS pipeline for highly specific and sensitive detection of small sequence changes, mitochondrial and structural variants and short tandem repeats from a single saliva or blood sample. Using a combination of breakpoint analysis, read depth analysis and *de novo* assembly of tandem nucleotide repeats and trinucleotide tandem repeats, the pipeline identifies structural variants down to single base pair resolution. False positives are minimized using calculations for loss of heterozygosity and bi-modal heterozygous variant allele frequencies to enhance heterozygous deletion and duplication detection respectively. To facilitate clinical interpretation, identified structural variants are annotated with phenotype information derived from HGMD Professional and population allele frequencies derived from DGV. Single base pair resolution enables easy visual inspection of potentially causal variants using the IGV genome browser.

#### **Д09. Клиническая гетерогенность Фатальной инфантильной кардиоэнцефаломиопатии вследствие недостаточности цитохром-С-оксидазы (OMIM #604377)**

**Н.А. Семенова\*, Н.А. Демина, И.В. Анисимова**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

\*Semenova@med-gen.ru

**Введение:** Ген *SCO2* занимает важную роль в этиологической структуре митохондриальных заболеваний, дебютирующих в неонатальном периоде. Мутации в нем приводят к Фатальной инфантильной кардиоэнцефаломиопатии вследствие недостаточности цитохром-С-оксидазы. Манифестация болезни, как правило, происходит с первых дней жизни, иногда внутриутробно, в виде прогрессирующей кардиомиопатии и неврологических нарушений.

**Методы:** Представлено две семьи здоровых супругов, не состоящих в кровнородственном браке:

**Случай 1:** Двое дочерей в семье родились с низкой массой тела и ВПС. У старшей диагностирована коарктация аорты и гипертрофическая кардиомиопатия. Второй дочери порок сердца (ДМЖП) установлен пренатально. Постанально, помимо ДМЖП, выявлен некомпактный миокард. Смерть двоих детей произошла до 4-х месячного возраста от сердечно-легочной недостаточности.

**Случай 2:** Единственная дочь в семье от 1-й беременности. В 3 мес. отмечена задержка психомоторного развития, в 6 мес. – дебют симптоматической эпилепсии и псевдобульбарного синдрома. МРТ головного мозга (6 мес.): расширение наружных ликворных пространств. В 9 мес. появился стридор, нарастали признаки дыхательной недостаточности, в связи с чем госпитализирована в отделение реанимации. Позже, появились УЗИ-признаки гипертрофии миокарда. В 10 мес. ребенок погиб от полиорганной недостаточности.

Младшей дочери из первой и ребенку из второй семьи проведено исследование NGS секвенирование 587 генов по панели «Наследственные болезни обмена веществ».

**Результаты:** У обоих детей выявлены патогенные варианты в гене *SCO2* в комплаунд гетерозиготном состоянии: с.227\_230del/ с.G418A и с.G418A/ с.C533T соответственно. Найденные замены валидированы секвенированием по Сенгеру, в транспозиции.

**Заключение:** Показано, что первым симптомом заболевания может стать не только кардиомиопатия, но и неврологическая симптоматика с постепенным присоединением гипертрофии миокарда, что необходимо учитывать на клиническом этапе диагностики.

#### **Д10. Клиническая интерпретация результатов преимплантационного генетического тестирования на хромосомные аномалии**

**Е.В. Мусатова<sup>1,2\*</sup>, И.С. Поволоцкая<sup>1</sup>, Е.А. Померанцева<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Центр Генетики и Репродуктивной Медицины «Генетико»

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

\*musatova@genetico.ru

**Мотивация и цели:** Преимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии (ПГТ-А) является современным инструментом эффективного выбора эмбриона на перенос. Клиническая интерпретация данных ПГТ-А определяет рекомендации по переносу эмбриона, полученного в протоколе ЭКО. Неверная интерпретация хромосомного статуса эмбриона может привести к снижению эффективности ЭКО. Целью исследования явилось сравнение разницы в интерпретации данных ПГТ-А методом NGS и aCGH разными специалистами.

**Методы:** Для исследования были выбраны по 50 неоднозначных, наиболее сложных для интерпретации образцов, проанализированных методами NGS и aCGH. Участникам исследования с целью клинической интерпретации было предложено проанализировать следующее: сырые данные, представленные хромосомными профилями, данные по контролю качества, автоматически определяемые программой BlueFuse Multi (Illumina) результаты по числу копий всех хромосом.

Полученные от участников результаты сравнивались с результатами, предварительно принятыми за референсные. Поскольку в настоящее время не существует более точного, чем NGS, метода ПГТ-А, то верификация референсным методом невозможна технически. По формальным признакам ни одна интерпретация не может быть признана «верной», и можно говорить только о сходимости интерпретации, но не о ее истинности.

**Результаты:** Было определено, что интерпретация данных ПГТ-А различалась в зависимости от принадлежности участника эксперимента к той или иной лаборатории. Сходимость интерпретации внутри одной лаборатории была выше. Зависимость от опыта эксперта наблюдалась меньшая, чем от принадлежности к определенной «школе». Были выделены отдельные классы ситуаций, представляющих большую сложность для анализа. Сходимость мнений в отношении таких образцов была меньше.

**Заключение:** Интерпретация неоднозначных данных ПГТ-А сложна и роль человеческого фактора очень велика. Переанализ данных ПГТ-А может приводить к значительным изменениям в клинических решениях относительно судьбы эмбрионов.

#### **Д11. «Клинический» экзом: место в современной молекулярной диагностике наследственных заболеваний**

**О.П. Рыжкова\***, А.Л. Чухрова, О.Л. Миронович, А.В. Поляков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», г.

Москва

\*ryzhkova@dnalab.ru

**Мотивация и цели:** «Клинический» экзом – совокупность генов, патогенные варианты в которых приводят к развитию наследственных заболеваний. На данный момент описано чуть более 7000 таких генов. Их число увеличивается примерно на 500 – 700 генов в год, что обуславливает необходимость ежегодного обновления как списка генов, так и реактивов, используемых при исследовании. В ФГБНУ «МГНЦ» разработана система анализа «клинического» экзома, включающего 6277 генов (не включены гены, единственным описанным вариантом в которых является миссенс-замена неопределенного значения).

**Методы:** Создание «библиотек» по протоколу NimbleGen SeqCap EZ (Roche) с последующим секвенированием на приборе Illumina NextSeq500. Обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения Basespace (Illumina). Патогенность вариантов определялась на основе «Руководств по интерпретации данных полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS)».

**Результаты:** При анализе «клинического» экзома в 26% случаев обнаружены патогенные варианты, в 33.3% вероятно-патогенные, в 18.5% неопределенного значения и в 22.2% случаев вариантов, объясняющих развитие заболевания не обнаружено.

**Заключение:** Информативность разработанной системы (патогенные и вероятно-патогенные варианты) составила 59.3%, что выше чем при исследовании полного экзома (48,8%), но сравнимо с таковой при анализе ДНК пациентов, направленных на исследование «нервно-мышечной панели», для которых было проведено исследование полного экзома (57.3%). При анализе «клинического» экзома у пациентов, направленных на исследование «нервно-мышечной панели» (17 случаев) информативность диагностики составила 58.8%. Таким образом, информативность анализа «клинического» экзома для диагностики наследственных заболеваний относительно анализа полного экзома не уменьшается, при в два раза меньшей стоимости. Так же имеется возможность редактирования разработанной системы в дальнейшем без кардинальных изменений в работе с ней.

#### **Д12. Когортный анализ данных экзомного секвенирования 604 образцов**

**Ю.А. Барбитов<sup>1,2,3\*</sup>, Д.Е. Полев<sup>2</sup>, И.В. Щербаклова<sup>2</sup>, А.С. Глотов<sup>2</sup>, А.М. Киселев<sup>4</sup>, Е.А. Серебрякова<sup>2</sup>, А.А. Костарева<sup>4</sup>, О.И. Полещук<sup>1</sup>, О.С. Глотов<sup>5</sup> и А.В. Предеус<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Институт биоинформатики, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> РЦ «Центр Биобанк» Научного Парка СПбГУ, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> Городская больница №40, Санкт-Петербург, Россия

\*barbitoff@bk.ru

**Мотивация и цели:** Характеристика генетической вариации в белок-кодирующих регионах генома человека имеет решающее значения для диагностики наследственных заболеваний. В рамках данной работы мы произвели анализ данных экзомного секвенирования 604 образцов с целью сравнения различных технологий секвенирования экзома и составления референса аллельных частот в российской популяции.

**Методы:** Используемые в работе образцы были собраны и отсеквенированы на платформе РЦ «Биобанк» Научного Парка СПбГУ. Для приготовления библиотек использовались наборы для полноэкзомного (WES) (Agilent SureSelect, Illumina Nextera Rapid Capture, Roche SeqCap EZ MedExome и Illumina TruSeq Exome) и клинического экзомного (Illumina TruSight One) секвенирования. Анализ данных производился при помощи программных пакетов bwa, Picard, Genome Analysis ToolKit (GATK) и SnpEff/SnpSift.

**Результаты:** Мы обнаружили существенные различия в покрытии при использовании разных технологий секвенирования (WES, WGS), а также охарактеризовали несколько частых ошибок при анализе данных, уменьшающих диагностическую эффективность экзомного секвенирования. В результате когортного анализа данных секвенирования 604 образцов, нами было обнаружено 420,995 экзомных генетических вариантов, 84,335 из которых ранее не были обнаружены в проектах «1000 геномов» и Exome Aggregation Consortium (ExAC). Нами также было обнаружено 89 вариантов, аннотированных как патогенные в ClinVar и имеющих высокую встречаемость в изученной выборке, но не в глобальной популяции (по данным ExAC). Нами также охарактеризованы новые варианты, связанные с патогенезом эндокринологических заболеваний.

**Заключение:** В рамках данной работы нами были изучена эффективность технологий полноэкзомного секвенирования, а также составлена первая версия референса аллельных частот в российской популяции, имеющая большое значения для диагностики наследственных заболеваний.

Работа по созданию биобанка поддержана грантом РФФИ №14-50-00069 и выполнена на базе РЦ «Биобанк» Научного Парка СПбГУ.

#### **Д13. Комплексная диагностика гемофилии А у российских больных**

**Т.С. Бескоровайная\***, Т.Б. Миловидова, О.А. Щагина, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», г.

Москва

\*t-kovalevskaya@yandex.ru

**Введение:** Гемофилия А (OMIM 306700) является частым X-сцепленным рецессивным заболеванием, связанным с отсутствием или функциональным дефектом VIII фактора свертываемости крови. Встречается с частотой 1:5000 мальчиков. Фактор VIII кодируется геном F8. В базе HGMD в нем описано более 3000 мутаций. Они представляют собой различные точечные изменения последовательности и крупные структурные перестройки.

**Цель и задачи:** Целью данного исследования являлось определение спектра мутаций гена F8 у российских больных с гемофилией А.

**Материалы и методы** Выборку составил 71 пробанд с входящим диагнозом «гемофилия А». Поиск мутаций проводили методом: Inverse Shifting-PCR, мультиплексной ПЦР, количествен-

ного MLPA анализа и методом массового параллельного секвенирования с помощью панели, включающей в себя гены *F8*, *F9*, *VWF*.

**Результаты:** Мутации обнаружены у 68 обследованных пробандов. У одного больного был выявлен описанный патогенный вариант в гене *F9*, у другого – две *LoF*-мутации в гене *VWF*. Из дальнейших расчетов эти больные были исключены. Инверсия интрона 22 обнаружена в 36% случаев. Инверсия интрона 1 выявлена у одного больного, что составило 1%. Также в изученной выборке зарегистрирована одна крупная делеция гена *F8* (экзонов 15-21), одна крупная перестройка с дупликацией экзонов 11-14 и 19-26 и одна структурная перестройка неустраненного характера, что суммарно составило 4%.

На долю точковых мутаций в изученной выборке приходится 54%: 29% составили миссенс-мутации, 6% – нонсенс-мутации, 6% – мутации сайта сплайсинга, 9% – небольшие делеции, 4% – небольшие дупликации.

Девять мутаций в гене *F8* ранее не были описаны: с.788-1G>A, с.1537+2T>C, с.6901-2A>C, с.3689T>A (p.L1230\*), с.3709dupA, с.3704\_3705delCA, с.411\_412delCA, с.902dupG, с.1754T>A (p.I585K). Большинство из них является *LoF*-мутациями, для некоторых в этой же позиции описаны другие нуклеотидные замены, аннотированные как патогенные.

Информативность метода IS-PCR составила 39%, методов поиска делеций/дупликаций – 11%, NGS-панели – 55%.

**Заключение:** Таким образом, для диагностики гемофилия А необходимо использовать различные методы. Это обусловлено характером мутаций в гене *F8*. Алгоритм молекулярно-генетического обследования каждой семьи зависит от особенности клинической картины у больного.

#### Д14. Молекулярно-генетическая диагностика моногенных форм сахарного диабета у детей. Современные методы и подходы

О.С. Глотов<sup>1,3,5\*</sup>, Е.А. Серебрякова<sup>1,3,5</sup>, М.Е. Туркунова<sup>6</sup>, Е.Б. Башнина<sup>2</sup>, А.С. Глотов<sup>1,3,5</sup>, Ю.А. Барбитов<sup>1,7</sup>, А.В. Предеус<sup>7</sup>, Д.Е. Полев<sup>1</sup>, Л.В. Дитковская<sup>6</sup>, О.С. Берсенева<sup>2</sup>, Л.В. Тыртова<sup>6</sup>, Ю.Л. Скороход<sup>6</sup>, Е.Р. Досовицкая<sup>4</sup>, Н.Н. Лобанова<sup>6</sup>, Д.А. Тыртова<sup>6</sup>, К.В. Скобелева<sup>6</sup>, М.А. Полянская<sup>4</sup>, Ф.З. Цораева<sup>4</sup>, Т.Е. Корытко<sup>4</sup>, Т.А. Дубинина<sup>4</sup>, В.В. Платонов<sup>4</sup>, Е.С. Шабанова<sup>3</sup>, Т.Э. Иващенко<sup>3</sup>, Н.Ю. Швед<sup>1,3,5</sup>, О.А. Ефимова<sup>3</sup>, О.В. Романова<sup>5</sup>, М.А. Федяков<sup>5</sup>, А.М. Сарана<sup>1,5</sup>, С.Г. Щербак<sup>1,5</sup>, В.С. Баранов<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия.

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия.

<sup>3</sup> ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Россия.

<sup>4</sup> СПб ГБУЗ «Детская городская больница №19 им. К.А. Раухфуса», г. Санкт-Петербург, Россия.

<sup>5</sup> ГБ СПб ГБУЗ «Городская больница №40», Санкт-Петербург, Россия.

<sup>6</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия.

<sup>7</sup> Институт биоинформатики, Санкт-Петербург, Россия

\*olglotov@mail.ru

**Цель:** определить выявляемость и спектр мутаций у детей с моногенным сахарным диабетом (МСД-MODY).

**Методы и материалы:** В исследование были включены пациенты с СД манифестировавшим в возрасте первых 6 месяцев жизни, а также группа пациентов с «мягким» течением СД сохраненной секрецией инсулина, отсутствием диабетогенных аутоантител. При исследовании ДНК

пациентов использовался метод полноэкзомного секвенирования. Для изучения кодирующих регионов генов МСД была разработана NGS панель, включающая следующие гены: *HNF1A*, *GSK*, *HNF4A*, *HNF1B*, *PDX1*, *NEUROD1*, *KLF11*, *CEL*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *EIF2AK3*, *RFX6*, *WFS1*, *ZFP57*, *FOXP3*, *KCNJ11*, *ABCC8*, *GLUD1*, *HADH* (*SCHAD*), *SLC16A1*, *UCP2*, *INSR*, *AKT2*, *GCG*, *GCGR*, *PPARG*, *PTF1A*. Биоинформационный фильтринг результатов секвенирования образцов ДНК проводили с помощью программ: «GeneTalk» (<https://www.gene-talk.de/>), «UGENE» (<http://ugene.unipro.ru/>), «Ion Reporter» (<https://ionreporter.lifetechnologies.com/ir/>), «SIFT» (<http://sift.jcvi.org/>), «PolyPhen2» (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), «PAPi» (<http://papi.uniprv.it/>). Для ранжирования вариантов использована оригинальная ранее разработанная метрика. Верификация полученных данных проводили методом прямого секвенирования на приборе «Genetic Analyzer 3500» («Applied Biosystems», США).

**Результаты:** Были исследованы образцы ДНК 72 пациентов с подозрением на наличие МСД. МСД был подтвержден у 51% (n=37). Наиболее часто встречались мутации в гене *GSK*-39% (n=23), у 3 пациентов выявлены патогенные мутации в нескольких генах 4%, *HNF1A* –2,7% (n=2), *WFS1*-2,7% (n=2), *EIF2AK3*-2,7% (n=2), *PAX4*-1,4% (n=1), *GATA6*-1,4% (n=1), *FOXP3*-1,4% (n=1), *KCNJ11*-1,4% (n=1), *ABCC8*-1,4% (n=1).

**Заключение:** Частота выявляемости моногенных форм СД в нашей группе выше, чем описано в литературе, и составляет 51%. Высокая выявляемость может быть связана как с особенностями нашей группы, так и с использованным биоинформатическим подходом. Молекулярно-генетическая верификация диагноза при помощи NGS секвенирования позволяет прогнозировать течение заболевания и вносить коррективы в лечение СД.

**Исследование поддержано:** Фондом «КАФ» в рамках программы «Альфа-эндо», грантом РНФ №14-50-00069, полноэкзомное секвенирование выполнена на базе ПЦ «Центр Биобанк» Научного парка СПбГУ.

#### Д15. Молекулярно-генетическая диагностика у пациентов с наследственными заболеваниями глаз методом NGS

Е.А. Иванова\*, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

\*E\_Ivanova@dnalab.ru

**Мотивация и цели:** Клинический полиморфизм и генетическая гетерогенность наследственных заболеваний глаз (НЗГ) затрудняют медико-генетическое консультирование и снижает эффективность диагностики для пациента. Целью настоящей работы является создание и внедрение секвенирования панели генов методом NGS для повышения эффективности молекулярно-генетической диагностики для пациентов с НЗГ.

**Методы:** Молекулярно-генетический анализ был проведен 35 пациентам с НЗГ, у которых не выявлено патогенных вариантов методами MLPA-анализа и секвенирования по Сенгеру. В панель были включены 211 генов, ответственных за развитие различных форм дегенерации сетчатки, катаракты, атрофии зрительного нерва, амавроза Лебера, глаукомы, дистрофии роговицы и некоторых врожденных пороков развития глаз. В данную панель включено максимально возможное число генов, ограниченное техническими возможностями программы расчета оригинальных праймеров ресурса Ion Ampliseq Designer (Termo Fisher Scientific). Подготовка библиотек была выполнена с помощью Ion AmpliSeq™ Library Kit 2.0 (Ion Torrent™). Секвенирование проводилось на приборе Ion S5 с использованием Torrent Server™. Выявленные варианты были аннотированы GeneTalk и интерпретированы с учетом рекомендаций ACMG.

**Результаты:** Патогенные и вероятно патогенные варианты были выявлены у 15 из 35 пациентов (43%) с пигментной дегенерацией сетчатки (n=5), болезнью Штаргардта (n=4), палочко-колбочковой дистрофией (n=2), атрофией зрительного нерва (n=1), хороидермией (n=2), синдромом Аксенфельда-Ригера (n=1). Выявленные варианты были представлены всеми классами мутаций за исключением протяженных инсерций и делеций и сложных перестроек, что является ограничением метода. Среди выявленных вариантов были выявлены ранее неописанные варианты в генах *ABCA4* (n=3), *PITX2* (n=1), *CRX* (n=1), *RPGR* (n=1).

**Заключение:** Секвенирование панели генов методом NGS в молекулярно-генетической диагностике НЗГ дает неоспоримое преимущество в сравнении с секвенированием по Сенгеру.

#### **Д16. Молекулярно-генетический анализ гена *TTN* у детей с дилатационной кардиомиопатией**

**В.С. Михайлов<sup>1\*</sup>, А.А. Букаева<sup>1</sup>, В.А. Румянцева<sup>1</sup>, Н.П. Котлукова<sup>2</sup>, М.С. Балашова<sup>3</sup>, Г.М. Раджабова<sup>1,4</sup>, С.Л. Дземешкевич<sup>1</sup>, Е.В. Заклязьминская<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

<sup>3</sup> Центр генетики и репродуктивной медицины «ГЕНЕТИКО», Москва

<sup>4</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

\*mihailov.vadim@gmail.com

**Мотивация и цели:** В педиатрической группе дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) диагностируется ежегодно с частотой 0,57 на 100 тыс. детей. По результатам различных исследований, касающихся взрослых пациентов, 10-30% случаев ДКМП обусловлены мутациями в гене *TTN*. Частота мутаций в гене *TTN*, особенности проявлений и их прогностическое значение в детском возрасте изучены не были.

Целью работы было определение частоты мутаций в гене *TTN* у детей с ДКМП и оценка актуальности включения этого гена в протокол ДНК-диагностики при педиатрических формах ДКМП.

**Методы:** Полное клиническое и инструментальное обследование 25 пациентов с ДКМП было выполнено в специализированных кардиологических центрах. Молекулярно-генетическое исследование включало секвенирование последовательностей кодирующей и прилегающих последовательностей главной сердечной изоформы N2BA гена *TTN* методом полупроводникового секвенирования на платформе IonTorrent™ (для 20 изолированных случаев) и полноэкзомное секвенирование в формате trio на платформе Illumina (для 5 семейных случаев).

**Результаты:** В группу были включены 25 пробандов, у которых диагноз ДКМП был установлен в возрасте до 17 лет (средний возраст – 6,5 лет). Соотношение полов (М:Ж) составило 17:7. Спорадических случаев ДКМП было 20, семейных случаев – 5 (диагноз ДКМП также был поставлен хотя бы одному из родителей и/или сибсу). Ни у одного из пробандов не было выявлено ни одной известной или новой мутации, ведущей к возникновению преждевременного стоп-кодона, либо других потенциально патогенных замен. По-видимому, *TTN*-зависимые формы ДКМП манифестируют позднее, в молодом (но старше 18 лет) или более зрелом возрасте.

**Заключение:** Результаты этого исследования не позволяют рассматривать ген *TTN* как первую линию ДНК-диагностики ДКМП в педиатрической группе, несмотря на публикации о высокой частоте мутаций в этом гене при ДКМП в целом. Необходимы дальнейшие исследования по

сравнению представленности мутаций в гене *TTN* в разных возрастных группах пациентов с ДКМП. Исследование поддержано грантом РФФИ № 16-15-10421.

#### **Д17. Новая мутация в промоторном регионе гена *RMRP* у пациентки с анаукзетической дисплазией**

**М.А. Федяков<sup>1,2\*</sup>, В.М. Кенис<sup>3</sup>, Т.Э. Иващенко<sup>4</sup>, А.М. Сарана<sup>1,5</sup>, С.Г. Щербак<sup>1,5</sup>, О.С. Глолов<sup>1,2,4</sup>**

<sup>1</sup> СПб ГБУЗ «Городская больница № 40», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Лаборатория геномных и протеомных исследований Института трансляционной биомедицины СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБУ «Научно-исследовательский детский ортопедический институт имени Г.И. Турнера», Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Лаборатория пренатальной диагностики ФГБНУ «НИИ АГиР им. Отта», Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> Кафедра последипломного медицинского образования Медицинского факультета СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

\*М.А. Федяков +7 (981)-837-46-19, fedyakovma@mail.ru

**Мотивация и цели:** Анаукзетическая дисплазия – редкая аутосомно-рецессивная форма спондилеметаэпифизарной хондродисплазии. Причина развития заболевания – гомозиготные и компаунд-гетерозиготные мутации в гене нетранслируемой РНК-субъединицы митохондриальной рибонуклеазы *RMRP*. Проводилось молекулярно-генетическое тестирование пациентки с клиническим диагнозом анаукзетическая дисплазия.

**Материалы и методы:** Выделение ДНК проводилось сорбентным методом из лимфоцитов периферической крови. Анализ ДНК пациента был проведен на секвенаторе нового поколения HiSeq Illumina методом парно-концевых чтений. Прямое автоматическое секвенирование единственного экзона и фланкирующих областей гена *RMRP* проводилось на приборе ABI 3500x.

**Результаты:** В ходе секвенирования нового поколения в 1 экзоне гена *RMRP* была выявлена делеция/инсерция 2х нуклеотидов – n.91\_92delinsGC (rs387906533) в гетерозиготном состоянии. Второй мутации найдено не было.

Проводилось прямое автоматическое секвенирование 1 экзона и фланкирующих последовательностей гена *RMRP* у пробанда. Было подтверждено наличие мутации n.91\_92delinsGC в гетерозиготном состоянии. В промоторной области гена была выявлена ранее неописанная в литературе замена n.-6\_-5insTCTCAGCTTCAC (chr9:g.35658020-35658021insTCTCAGCTTCAC). Делеции, дупликации и инсерции в этом районе приводят к пониженной транскрипции кодируемой рибонуклеазы. Анализ гена *RMRP* у родителей выявил мутацию n.-6\_-5insTCTCAGCTTCAC в гетерозиготном состоянии у отца, мутацию n.91\_92delinsGC в гетерозиготном состоянии – у матери.

**Заключение:** У пациентки с анаукзетической дисплазией были выявлены 2 мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии, в том числе новая мутация в промоторной области гена *RMRP*. Несмотря на многочисленные преимущества метода высокопроизводительного секвенирования, выявить вторую мутацию на первичном этапе исследования не удалось, что подтверждает необходимость индивидуального подхода к молекулярно-генетической диагностике наследственных заболеваний.

## Д18. Новые мутации в генах саркомерных белков при гипертрофической кардиомиопатии у пациентов из Беларуси

Н.Н. Чакова<sup>1\*</sup>, С.С. Ниязова<sup>1</sup>, С.М. Комиссарова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

<sup>2</sup> Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь

\*n.chakova@igc.by

**Мотивация и цели:** Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) – генетически гетерогенное наследственное заболевание миокарда. Спектр мутаций при ГКМП характеризуется определенной популяционной спецификой. Генотипирование пациентов с ГКМП из ранее необследованных популяций приводит к выявлению новых мутаций, этиологически связанных с развитием данного заболевания, и расширению представлений о его патогенезе. Целью исследования являлось изучение спектра мутаций в генах, кодирующих саркомерные белки, у пациентов с ГКМП в Беларуси, включая обнаружение новых мутаций.

**Методы:** В исследование были включены 60 пациентов с ГКМП. Генотипирование осуществляли с использованием панели генов TruSight Cardio Sequencing Kit (Illumina) на приборе MiSeq (Illumina).

**Основные результаты:** У 63,3% (38 из 60 пациентов) были обнаружены замены, не встречающиеся в популяционных выборках, у 8,3% пациентов (5 из 60) – двойные мутации. Большинство выявленных диагностически-значимых мутаций – 95,5% (21 из 22) находились в гене *MYH7* (45,5%), отвечающим за синтез тяжелой цепи бета-миозина, и в гене *MYBPC3* (45,5%), кодирующем миозин-связывающий белок С. Одна мутация обнаружена в гене *MYL3*. Дважды встретились мутации: p.Arg403Trp (rs3218714) и p.Arg663Cys (rs397516127) в гене *MYH7*; p.Trp1214Arg, p.Gln1233\* (rs397516037) и комбинация мутаций p.Glu1265Val (rs730880607) и p.Cys1266Arg (rs730880608) в гене *MYBPC3*. Были также установлены редкие замены с неустановленной клинической значимостью: 53,8% (7 из 13) мутаций находились в гене *MYBPC3*; 15,4% (2 из 13) – в гене *MYH7* и 4 мутации в генах *ACTC1* (2 замены), *TNNC1*, *TPM1*.

В гене *MYBPC3* были выявлены две новые делеции c.3019delT (p.Trp1007fs) и 3412delC (p.Arg1138fs), приводящие к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона в случае мутации p.Trp1007fs. Впервые нами обнаружена и нонсенс-мутация c.3129C>A (p.Tyr1043\*) в этом же гене.

**Заключение:** Выявлены 3 новых мутации в гетерозиготном состоянии в гене *MYBPC3* у пациентов с ГКМП из Беларуси: c.3019delT (p.Trp1007fs), c.3129C>A (p.Tyr1043\*) и 3412delC (p.Arg1138fs). Все три мутации ассоциированы с ранней манифестацией заболевания и развитием внезапной сердечной смерти.

## Д19. Определение причин потери беременности методом экзомного анализа эмбрионов

М.А. Андрианова<sup>1,2</sup>, С.К. Гарушанц<sup>1,2\*</sup>, Е.Р. Набиева<sup>1,2</sup>, Е.Р. Капушев<sup>3</sup>, Д.А. Яроцкий<sup>3</sup>, Г.А. Базыкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Равный вклад авторов

<sup>2</sup> Центр системной биомедицины и биотехнологий, Сколковский институт науки и технологии, Москва, Россия

<sup>3</sup> Центр CDISE, Сколковский институт науки и технологии, Москва, Россия

\*s.garushyants@skoltech.ru

Лишь треть зачатий у человека приводит к рождению ребенка. Однако генетическая основа эмбриональной летальности зуплоидных эмбрионов в основном остается неизвестной. Мы раз-

работали биоинформатический пайплайн для поиска унаследованных и *de novo* вариантов, могущих внести вклад в эмбриональную летальность, по данным полноэкзомного секвенирования троек мать-отец-абортированный продукт зачатия. Мы приоритезируем кандидатные варианты на основании клинической значимости, популяционных частот, предсказываемого влияния на функцию белка и уровня экспрессии гена в плоде. Отдельную сложность для биоинформатического анализа представляет контаминация эмбрионального материала материнской тканью. Мы разработали вычислительный метод оценки доли примеси материнской ДНК в образце эмбриональной ДНК. Анализ нескольких троек экзотов выявил ряд кандидатных вариантов, в том числе составных гетерозигот и мутаций *de novo*.

## Д20. Опыт интерпретации соматических мутаций в опухолях: о чем не пишут в руководствах

Е. Веселовский<sup>1</sup>, Е.Игнатова<sup>2</sup>, А. Касьянов<sup>1</sup>, А. Ковтун<sup>1</sup>, И. Володин<sup>3</sup>, В. Стрельников<sup>3</sup>, В. Милейко<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> ООО «Онкодиагностика Атлас»

<sup>2</sup> ФГБНУ НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

\*mileyko@atlas.ru

**Мотивация и цели.** NGS-анализ опухолевой ДНК открывает широкие диагностические возможности, однако многие подходы остаются нестандартизованными и требуют создания специализированных решений.

**Методы.** Проспективно проанализировано 133 образца пациентов с метастатическим раком различных локализаций. NGS-анализ выполнен на платформе Ion Torrent и Ion S5 с использование таргетных панелей AmpliSeq. Анализ данных производился с помощью проприетарного ПО «Соло-Репортер».

**Результаты.** Анализ опухолевых генетических профилей потребовал разработки собственных алгоритмов процессинга данных, в том числе реализованных в составе биоинформатического ПО.

Одна из ключевых проблем: различать в данных секвенирования опухолевой ткани соматические мутации от наследственных вариантов. Был разработан алгоритм, позволяющий в отсутствии данных о нормальной ткани, предсказывать соматическую природу мутаций с учетом встречаемости в базах соматических и наследственных вариантов, а также доли мутантного аллеля. Это позволило решать ряд клинически важных задач: интерпретация потенциально таргетируемых мутаций онкогенов, направление пациента на верификацию мутаций, связанных с наследственными синдромами, а также для вычисления мутационной нагрузки.

Мутационная нагрузка вычислялась в соответствии с алгоритмом, описанном для панели MSK-IMPACT и была в 100% (4 из 4) конкордантна с высокой микросателлитной нестабильностью.

Наряду с однонуклеотидными и индел-вариантами, использованный алгоритм позволил обнаруживать амплификации отдельных генов. Так в 6 случаях были обнаружены амплификации гена *EGFR*, один из которых относился к плоскоклеточному раку шейки матки. Пациентке было назначено лечение ERBB-ингибитором афатинибом – достигнут полный клинический ответ.

**Заключение.** Специализированные биоинформатические алгоритмы позволяют предсказывать наследственный статус мутаций, а также вычислять более сложные биомаркеры: такие как изменение числа копий генов и мутационную нагрузку.

### Д21. Опыт использования диагностической таргетной панели при лобно-височной деменции

Ю.А. Шпилюкова<sup>1\*</sup>, Е.Ю. Федотова<sup>1</sup>, Н.Ю. Абрамычева<sup>1</sup>, А.С. Ветчинова<sup>1</sup>, В.В. Устинова<sup>2</sup>, С.Н. Иллариошкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научный центр неврологии»; Россия, 125367 Москва, Волоколамское шоссе, 80

<sup>2</sup> ФГБНУ ВНИИ СБ; Россия, 127550 Москва, Тимирязевская, 42

\*jshpilyukova@gmail.com

**Мотивация и цели:** Лобно-височная деменция (ЛВД) – клинически и нейропатологически гетерогенная группа расстройств поведения, личности или речи, сопровождаемая фокальной дегенерацией лобной и/или височных долей. ЛВД – вторая по частоте причина деменции с ранним началом после болезни Альцгеймера. До 40% пациентов с ЛВД имеют положительный семейный анамнез, около 10% аутосомно-доминантный паттерн наследования. В настоящее время идентифицировано более 20 генов, мутации в которых ассоциированы с ЛВД и которые позволяют поставить молекулярный диагноз в 60-70% семейных случаев.

**Методы:** Таргетное секвенирование на основе NGS проводилось на базе ЦКП «Биотехнология» ФГБНУ ВНИИ СБ на секвенаторе Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA, USA) с использованием собственной таргетной панели разработанной в ФГБНУ НЦН. Анализ проводился для пациентов, у которых раннее исключена гексануклеотидная экспансия в гене *C9orf72*. Все патогенные варианты подтверждены секвенированием по Сенгеру.

**Результаты:** Выявлено 3 ранее не описанных варианта. В первом случае однонуклеотидная замена в 1 экзоне гена *SQSTM1* в гетерозиготном состоянии с.136C>T, р.(R46W) у пациента с клинической картиной семантического варианта первичной прогрессирующей афазии. Во втором случае делеция в 10 экзоне гена *GRN* с.945\_946del, р.(C315fs) у пациентки с поведенческим вариантом ЛВД. В третьем случае однонуклеотидная замена в 6 экзоне гена *TARDBP*, приводящая к образованию стоп-кодона с.736G>T, р.E246\* у пациента с синдромом паркинсонизма. Все пациенты имеют положительный семейный анамнез. Все три найденных варианта оценены по критериям интерпретации вариантов (Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования, 2017) и являются патогенными.

**Заключение:** Учитывая большое клиническое и генетическое разнообразие ЛВД технологии NGS могут быть полезными в постановке молекулярного диагноза с целью медико-генетического консультирования наследственноотягощенных семей.

### Д22. Опыт использования NGS в диагностике и изучении молекулярной основы наследственных вариантов гипогонадотропного гипогонадизма

М.В. Наумова, В.М. Петров, Е.В. Васильев, А.Н. Тюльпаков

ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России

В сообщении представлены современные взгляды на этиопатогенез наследственных вариантов гипогонадотропного гипогонадизма (ГГ). Обобщен собственный опыт использования NGS при обследовании более 300 пациентов с ГГ. Обсуждаются особенности наследственного ГГ, сочетающегося с дефицитом других тропных гормонов аденогипофиза (дефекты гена *PROP1*), а также изолированных вариантов ГГ (дефекты генов *KAL1*, *FGFR1*, *GNRHR* и др.). Представлены случаи ГГ, в основе которых по результатам NGS можно предположить дигенное или олигогенное наследование. На примере нескольких семейных случаев с неуточненной этиологией заболевания обсуждаются перспективы полноэкзомного секвенирования для выявления новых генов, задействованных в этиопатогенезе ГГ.

### Д23 (в рамках круглого стола). Опыт популяционного скрининга наследственных опухолевых синдромов методом NGS

А.А. Тихонов<sup>1</sup>, А.А. Афанасьев<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Генетическая лаборатория «Розалинд», Москва

<sup>2</sup> Биоинформатическая компания «iBinom», Москва

\*andrei.afanasiev@gmail.com

**Мотивация и цели:** Общепринятый подход к диагностике наследственных опухолевых синдромов подразумевает проведение генетического тестирования пациентов с подозрением на конкретный синдром: онкобольных или пациентов с семейным онкологическим анамнезом. Неполная пенетрантность синдромов, сложности диагностики наследственных форм рака и незнание семейного анамнеза приводят к гиподиагностике опухолевых синдромов, что дополнительно осложняется недостатком информации о мутационном профиле российской популяции. Технология NGS позволяет решить проблему гиподиагностики с помощью популяционного скрининга. Однако, при трактовке результатов исследования здоровых людей без семейного анамнеза возникает ряд проблем, требующих обсуждения.

**Методы:** Для скрининга носительства опухолевых синдромов провели секвенирование кодирующих последовательностей и прилежащих интронных участков 42 генов на платформе MiSeq. Интерпретацию вариантов проводили согласно рекомендациям Scherloc и ACMG. На основе результатов тестирования и анализа семейного анамнеза были составлены рекомендации по диагностике и профилактике рака.

**Результаты:** Исследованы 22 человека. Семейный анамнез собран у 12 человек. Из них 2 человека подходят под критерии NCCN для направления на ДНК-диагностику. Всего был обнаружен 1 патогенный вариант, 6 вариантов с неопределенной клинической значимостью (VUS) и 1 вариант – фактор риска развития рака. Рекомендации по диагностике и профилактике рака, отличные от общих рекомендаций ACS, были составлены в трех случаях: в одном случае на основании обнаружения патогенного варианта и в двух случаях на основании семейного анамнеза.

**Заключение:** Популяционный скрининг выявил патогенный вариант у пациента, не подходящего под текущие критерии направления на ДНК-диагностику. Большое количество обнаруженных VUS требует обсуждения подходов к представлению результатов анализа. Для повышения пользы тестирования необходимо проводить сбор семейного анамнеза.

### Д24 (Workshop). Опыт работы на NovaSeq 6000 (Illumina)

И.В. Миронова\*, И.С. Поволоцкая, Е.А. Померанцева, В.С. Каймонов

ООО «ЦГРМ «ГЕНЕТИКО», Москва, 119333, ул. Губкина, д. 3, корп. 1

\*mironova@genetico.ru

**Мотивация и цели:** Полноэкзомное секвенирование широко используется для диагностики наследственных заболеваний. Качество секвенирования напрямую зависит от подготовки библиотек ДНК. Существует несколько производителей наборов реагентов для создания библиотек для полноэкзомного секвенирования. Целью настоящей работы является сравнение наборов для пробоподготовки двух производителей: Illumina и Agilent.

**Методы:** Библиотеки были получены с помощью наборов «TruSeq Exome Kit» (Illumina) и SureSelectXT Human All Exon V6 +UTR (Agilent). Секвенирование проводилось на платформе NovaSeq 6000 (Illumina). Оценку полученных данных проводили с использованием алгоритмов FastQC, SeqPurge, Sambalster и bedtools.

**Результаты:** Протоколы пробоподготовки образцов ДНК с помощью наборов «TruSeq Exome Kit» (Illumina) и SureSelectXT Human All Exon V6 +UTR (Agilent) занимали 3 и 2,5 дня соответственно. Время ручной работы в протоколе Agilent ниже, чем в протоколе Illumina. С помощью набора от компании Illumina было подготовлено 175 библиотек, набора от компании Agilent 34. По результатам биоинформатического анализа данных, полученных при использовании набора «TruSeq Exome Kit» (Illumina), доля целевых участков с покрытием не менее 10X для образцов составила 94.34%±4.38%. При использовании набора SureSelectXT Human All Exon V6 +UTR (Agilent) доля целевых участков с покрытием 10X составила 99,68%±0.10%.

**Заключение:** По результатам проведенного анализа, библиотеки, полученные с помощью набора от компании Agilent, показали лучшие результаты. Набор позволяет более достоверно покрыть целевые последовательности. Еще одним преимуществом набора реагентов от компании Agilent является меньшее количество времени, необходимое для пробоподготовки. В настоящее время происходит оценка использования олигонуклеотидов от компании IDT для гибридизации с целевыми участками генома в рамках протокола Illumina. Результаты этой части работы на момент написания тезисов неизвестны, но будут представлены на конференции.

#### **Д25. Опыт разработки, внедрения и анализа кастомных гибридизационных панелей разных производителей для диагностики иммунологических и гематологических заболеваний**

**И.В. Мерсиянова\*, М.А. Курникова, А.В. Павлова, В.В. Захарова, С.Г. Манн, Р.Х. Абасов, Е.В. Райкина, М.А. Масчан**

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева», г. Москва

\*imers@mail.ru

**Цель:** Разработка расширенных кастомных гематологических и иммунологических панелей для платформы Illumina в связи с отсутствием на рынке подходящих аналогов.

**Материалы и методы:** кастомные гибридизационные панели: «Приобретенный иммунитет и цитопении» (252 гена, Agilent) – 138 пациентов, «Врожденный иммунитет» (153 гена, Agilent) – 130 пациентов, «Врожденный иммунитет» (155 генов, Roche) – 48 пациентов, «Костно-мозговая недостаточность» (173 гена, Roche) – 72 пациента; секвенаторы MiSeq и NextSeq (Illumina).

**Анализ:** софт Illumina, iBinom, внутрिलाбораторный пайплайн, ANNOVAR.

**Результаты:** В случае генетически гетерогенных заболеваний, имеющих вариативные и частично перекрывающиеся фенотипы, диагностические панели должны быть составлены по фенотипическому, а не этиологическому принципу. Таргетные панели для скрининга должны включать хорошо изученные и описанные гены. Добавление в панель однократно описанных генов, генов-кандидатов, как и больших некодирующих областей снижает экономическую эффективность панели, затрудняет анализ находок и не увеличивает выход результатов, имеющих практическую пользу для пациента. При создании кастомных панелей для платформы Illumina более надежной оказалась гибридизационная технология обогащения. Главная проблема кастомных панелей – выпадение на этапе пробоподготовки GC-богатых участков – отчасти решается за счет совершенствования протокола, но более эффективно решается производителем за счет оптимизации плотности зондов для сложных участков. Гибридизационные панели производства Roche показали более равномерное покрытие проблемных участков. Мы отказались от доступных готовых решений биоинформатической обработки из-за наблюдавшихся ошибок и пришли к собственному пайплайну.

**Заключение:** Таргетные панели предназначены для решения основной задачи клинической лаборатории: быстрого и дешевого скрининга на генетическую причину заболевания. Эффективность применения разных кастомных панелей в иммунологии и гематологии составила от 11% до 39% (в среднем 24%). Секвенирование экзотов и геномов оправдано как следующий этап, часто выливающийся в исследовательскую работу.

#### **Д26. Особенности инфраструктуры Zenome – платформы для хранения, обработки и обмена генетическими данными на основе технологии блокчейн**

**Н.А. Кулемин\*, А.Ю. Горбачев, В.А. Наумов, А.А. Губина, П.И. Реутов, С.А. Попов**

Zenome.io LTD, Белиз / Россия

\*maveriksvao@gmail.com; nick@zenome.io

Одна из самых существенных проблем, при проведении генетических исследований – наличие структурированной и достоверной информации о генотипах и фенотипах потенциальных испытуемых. Для решения этой проблемы была создана децентрализованная сеть Zenome – платформа для хранения и обработки геномных данных, основанная на технологии блокчейн. Секвенирование ДНК позволяет извлекать генетическую информацию и сохранять ее в электронном виде. На данный момент известно, что генетические вариации могут быть связаны с проблемами со здоровьем или оказывать глубокое влияние на образ жизни человека. Обнаружение сложных и редких генетических эффектов требует наличия большой базы генетических и фенотипических данных, доступных для исследователей Big Data.

Zenome направлен на создание такой базы данных путем поощрения пользователей к проведению генетического тестирования и предоставлению анонимных генетических данных, которые также могут использоваться в текущих научных исследованиях. В свою очередь, пользователи будут постоянно получать персональный генетический анализ на основе последних научных результатов.

Из-за риска генетической дискриминации со стороны злоумышленников конфиденциальная информация сохраняется с помощью технологии блокчейн. Безопасность обмена данными обеспечивается смарт-контрактами и использованием специальных токенов (ZNA). Предполагается, что вместе с генетическими лабораториями и аналитическими центрами по всему миру будет создана единая экосистема Zenome.

#### **Д27. От выбора панелей к полногеномному анализу. Куда движется молекулярно-генетическая диагностика**

**А.В. Лавров**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

Высокопроизводительное секвенирование уверенно вошло в рутинную клиническую практику и зачастую становится основным лабораторным методом молекулярно-генетической диагностики. Ежегодно появляются новые технологии подготовки ДНК-библиотек, наборы и приборы непосредственно для секвенирования. Развиваются и совершенствуются алгоритмы анализа и интерпретации данных. В условиях быстро меняющегося пейзажа технологий, подходов и возможностей трудно уследить за важными обновлениями и внедрять новинки. В докладе рассмотрены различные как устоявшиеся, так и только входящие в практику методы пробоподготовки и секвенирования. Представлен обзор технологий, находящихся на пороге выхода на рынок или более широкого внедрения в клиничко-диагностическую практику. Обсуждается вопрос

– как долго, и какие генетические панели будут оставаться актуальными на фоне снижения стоимости полногеномного секвенирования. Предлагается образ молекулярно-генетической диагностической лаборатории будущего.

### Д28 (в рамках круглого стола). Оценка качества заключений лаборатории преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А) методом секвенирования следующего поколения (NGS)

С.А. Авдейчик\*, С.В. Попов

Медикал Геномикс

\*svet.genetic@gmail.com

Для улучшения работы лаборатории ПГТ необходим мониторинг и оценка качества. ПГТ-А проводилось методом NGS по протоколу Illumina VeriSeq PGS.

Анализ заключений лабораторий ПГТ РФ в сравнении с рекомендациями независимых организаций SEQAS, UK NEQAS: после записи молекулярного кариотипа сразу приводить его письменную расшифровку; для мозаичных эмбрионов не давать рекомендаций, кроме консультации клинического генетика.

Для оценки возможности интерпретации данных NGS деградированной в небольшой степени ДНК была взята контрольная ДНК с известным генотипом. На графике с деградированной ДНК после нарушений условий транспортировки (рис.1) анеуплоидию по хромосоме 4 детектировать невозможно. На рис.2 данные той же ДНК, секвенированной после обычной транспортировки. При сравнениях NGS данных разных частей ТЭ одного эмбриона отмечалось несколько расхождений результатов. Это может быть связано с биологическими факторами: нерасхождением, хромотрипсисом (моносомия/трисомия хромосомы 21, del/dup 6q13-6q27), мозаицизмом (seq(7) x1~2 в биоптате ТЭ и норма в остатке в ВКМ при слепом исследовании образцов, рис.3,4).

При участии во ВОК SEQAS, UK NEQAS в 2017 г. из 53 лабораторий 3 выдали заключение патологии по хромосоме 19 в образцах с другим генотипом. При анализе наших данных мозаицизм по хромосоме 19 встречался у 20% эмбрионов, что расценено как артефакт. Фрагментный анализ библиотек позволил рассчитать необходимую их концентрацию для секвенирования по разработанному совместно с Illumina протоколу, что минимизировало встречаемость артефакта.

Межлабораторные сравнения по анализу разных частей ТЭ некорректны по биологическим причинам. Целесообразно сравнение результатов WGA конкретного образца с известным генотипом. Критично значимо исходное состояние ДНК для корректного анализа данных. Необходимо учитывать особенности и ограничения ПГТ методом NGS из-за биологических и технических факторов. Важны непрерывный внутренний и регулярный внешний контроль качества работы лаборатории ПГТ.

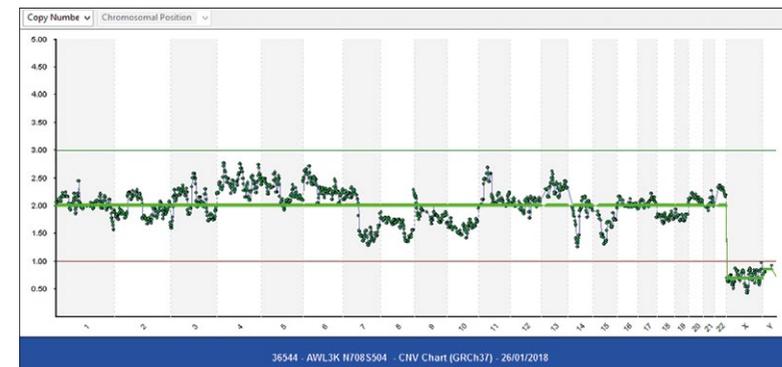


Рисунок 1

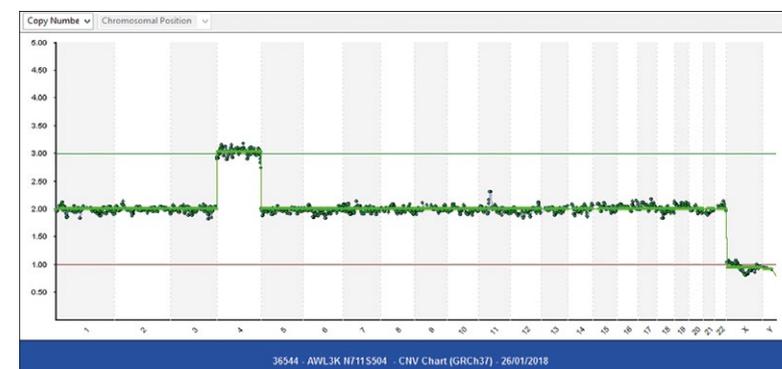


Рисунок 2

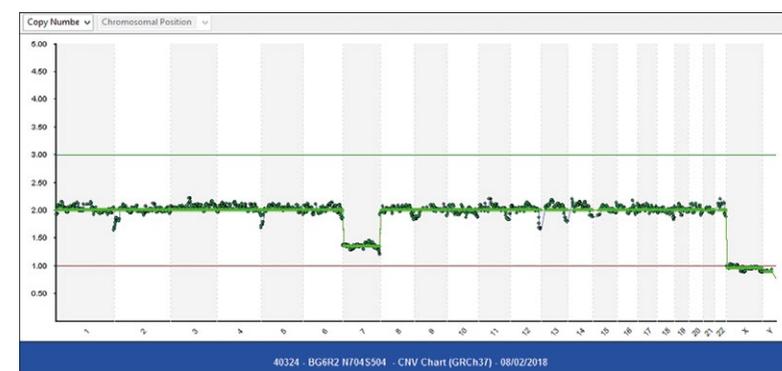


Рисунок 3

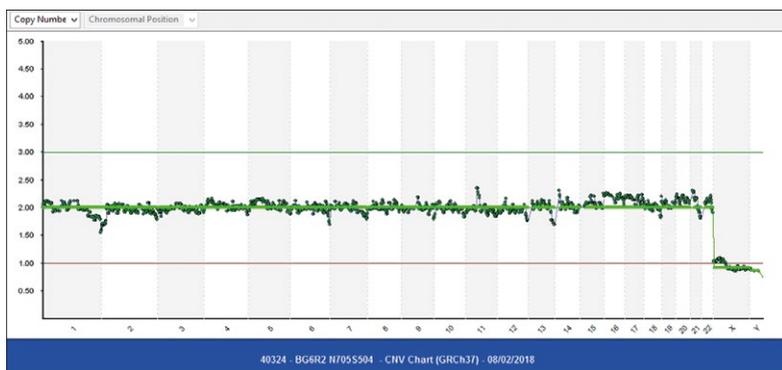


Рисунок 4

### Д29. Патогенный вариант сплайсинга в гене *PALB2* при анемии Фанкони, выявленный с помощью экспрессионного анализа

Ю. Вяхирева<sup>1\*</sup>, Л. Бессонова<sup>1</sup>, Ф. Коновалов<sup>2</sup>, М. Скоблов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

<sup>2</sup> ООО «Геномед», Москва,

<sup>3</sup> Московский физико-технический институт (Государственный университет), Москва

\*yuliya-vyakhireva@yandex.ru

Мы представляем клинический случай анемии Фанкони, осложнившейся медуллобластомой. Для поиска причины заболевания у пробанда было проведено полноэкзомное секвенирование. В результате анализа данных были обнаружены 2 нуклеотидных варианта в гетерозиготном состоянии: chr3: 10107142C>T (ген *FANCD*) and chr16: 23649206GACAA>G (ген *PALB2*, с.172\_175del). Учитывая особенности клинической картины вероятной патологии являются мутации в гене *PALB2*. Вариант *PALB2* с.172\_175del, ранее описанный как патогенный, был обнаружен у матери. Поскольку анемия Фанкони комплементарной группы N наследуется аутосомно-рецессивно, а в ходе секвенирования в отцовском аллеле не было найдено патогенных нуклеотидных вариантов, то для поиска изменений был проведен поиск делеций и дупликаций методом MLPA, также не выявивший патологии. Полученные результаты говорят в пользу наличия в геноме отца либо синонимичных вариантов, фильтруемых при анализе данных секвенирования, либо интронных, которые не покрываются при секвенировании экзона.

Для поиска вариантов нами был проведен анализ структуры мРНК гена *PALB2* в крови отца с помощью ОТ-ПЦР. В ходе анализа была обнаружена изоформа с пропуском 11 экзона, отсутствовавшая в контрольном образце. При секвенировании 11 экзона и прилегающих к нему районов была обнаружена делеция 6 нуклеотидов (chr16:23625423\_23625429del) в интроне 10, затрагивающая консенсусный сайт сплайсинга. Для верификации патогенности обнаруженного варианта был проведен анализ сплайсинга в системе *in vitro*, подтвердивший эффект, наблюдавшийся *in vivo*. Биоинформатический анализ показал, что отсутствие 11 экзона приводит к сдвигу рамки считывания и образованию укороченного на 142 аминокислоты белка (p.(Asn1039Glyfs\*7)). Это укорочение изменяет структуру WD40-повторов. По литературным данным укорочение домена WD-40 приводит к значительному снижению функциональной активности белка.

Таким образом, нами был найден новый интронный нуклеотидный вариант в гене *PALB2* chr16:23625423\_23625429del, приводящий к нарушению сплайсинга, что проявляется пропуском экзона со сдвигом рамки считывания, что изменяет нормальную функциональную активность белка. При наличии другого патогенного варианта в компаунд-гетерозиготном состоянии развивается клиническая картина анемии Фанкони.

### Д30. Поиск генетических факторов риска синдрома Туретта

В. Раменский

Лаборатория геномной инженерии МФТИ

Синдром Туретта (СТ) – генетически обусловленное расстройство центральной нервной системы, которое проявляется в детском возрасте и характеризуется множественными моторными тиками и как минимум одним вокальным тиком. СТ характеризуется высокой наследуемостью, однако генетические факторы риска синдрома до сих пор не установлены. Нами был проведен анализ вариантов числа копий (ВЧК) у 2,434 случаев СТ и 4,093 контролей. У больных СТ по сравнению с контролями наблюдается избыток больших (>1Mб) редких или ранее известных патогенных ВЧК. Было обнаружено, что делеции в локусе гена *NRXN1* и дупликации *CNTN6* существенно повышают риск развития СТ. В независимом исследовании на основе анализа предположительно патогенных *de novo* вариантов в экзонах 511 семейных трио были идентифицированы четыре гена (*WWC1*, *CELSR3*, *NIPBL*, *FN1*), дающих существенный вклад в риск развития синдрома. Установлено, что в целом *de novo* варианты в 400 генах могут быть ответственными за развитие синдрома примерно в 12% случаев.

### Д31 (Workshop). Применение руководства по интерпретации данных на практике

А.В. Марахонов<sup>1,2\*</sup>, М.Ю.Скоблов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

<sup>2</sup> Московский физико-технический институт, Долгопрудный

\*marakhonov@generesearch.ru

Высокопроизводительное секвенирование (ВПС) — мощный и экономически эффективный инструмент для анализа генетической основы наследственных заболеваний человека. Его внедрение в клиническую практику врача-генетика произвело революцию в диагностике. Все более активное использование ВПС позволило выявить новые ассоциации между заболеваниями и мутациями в ранее неописанных генах и способствовало решению многих диагностических загадок.

Тем не менее, одним из основных источников как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов в диагностике с использованием методов ВПС являются ошибки в интерпретации значимости выявленных вариантов нуклеотидной последовательности. Основой для принятия решения о роли того или иного варианта в развитии заболевания, наблюдаемого у пациента, являются критерии Американского колледжа медицинской генетики и Ассоциации молекулярной патологии, в том числе их локально адаптированные версии. Несмотря на свою простоту и ясность, они зачастую применяются неверно, что порождает ошибочно поставленный диагноз для пациента, а также отсутствие указаний на продолжение диагностического поиска для врача. Противоположной ситуацией бывает недооценка значимости выявленного у пациента варианта нуклеотидной последовательности, что может приводить к его обращению

за проведением дорогостоящего функционального анализа, который в таком случае может быть избыточным с клинической точки зрения.

На семинаре будут разобраны несколько примеров ошибочного применения критериев оценки патогенности выявленных вариантов нуклеотидной последовательности с помощью методов ВПС у пациентов с наследственной патологией, вероятные причины их возникновения, а также даны практические рекомендации их применения.

### **Д32 (Workshop). Проблема чувствительности и специфичности выявления генетических вариантов методами NGS**

**К.О. Карандашева**

Не все генетические варианты, выявленные при помощи NGS, являются истинными и подтверждаются альтернативными методами молекулярно-генетического анализа. С другой стороны, далеко не для всех пациентов удастся найти молекулярно-генетическое подтверждение клинического диагноза. Чем обусловлены данные проблемы? Как можно повысить чувствительность и специфичность при анализе данных NGS? Все ли возможности исчерпаны? Постараемся найти ответы на примерах анализа данных NGS.

### **Д33. Проект “Российские геномы” – референсная популяционная база данных геномной варибельности для медицинской генетики**

**А.В. Горбунова<sup>1,2\*</sup>, В.Б. Брюхин<sup>1</sup>, Д.В. Жернакова<sup>1,3</sup>, С.В. Малов<sup>1,4</sup>, С.Ф. Кливер<sup>1</sup>, Н.А. Черкасов<sup>1</sup>, Г.С. Тамазян<sup>1</sup>, М.С. Роткевич<sup>1</sup>, К.В. Крашенинникова<sup>1</sup>, И.В. Евсюков<sup>1</sup>, С.И. Сидоров<sup>1</sup>, Е.Н. Черняева<sup>1</sup>, А.К. Шевченко<sup>1</sup>, А.С. Комиссаров<sup>1</sup>, С.А. Симонов<sup>1</sup>, А.А. Логачев<sup>1</sup>, Д.Е. Полев<sup>1</sup>, А.Г. Новожилов<sup>1</sup>, С.Д. О’Брайен<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> University of Groningen, University Medical Center Groningen, Department of Genetics, Groningen, the Netherlands

<sup>4</sup> Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет, Санкт-Петербург

\*a.gorbunova@spbu.ru

**Мотивация и цели:** Для клинической интерпретации геномных вариантов, обнаруженных у пациентов с наследственной патологией, важную роль играют данные о частоте встречаемости варианта в популяции здоровых людей. Как правило, в клинической практике источником информации являются крупные международные проекты, ни в одном из которых не представлены российские популяции, поэтому при анализе геномных данных пациентов есть риск ошибочной оценки патогенной роли исследуемого геномного варианта. Проект «Российские геномы», инициированный Санкт-Петербургским государственным университетом, призван составить подробный каталог генетической варибельности этнических групп, проживающих на территории Российской Федерации, что позволит достичь значительно более высокого уровня достоверности результатов анализа индивидуальных геномных данных российских пациентов.

**Методы:** Полногеномное секвенирование ДНК с покрытием минимум 30x осуществляется на приборе HiSeq 4000 (Illumina) в Научном парке СПбГУ.

**Результаты:** Завершена пилотная стадия проекта, включающая полногеномный анализ 60 образцов, представляющих три популяции – западных русских из Псковской и Новгородской областей и якутов из республики Саха (Якутия). Полученные результаты позволили охарактеризовать генетические отличия между этими этническими группами и получить данные о частоте

распространенных геномных вариантов. В настоящее время проект перешел в следующую стадию, на которой планируется создание базы данных генетической варибельности на основе 3500 геномов, что позволит оценить частоту редких генетических вариантов.

**Заключение:** Реализация проекта «Российские геномы» позволит сделать доступной для исследователей и специалистов в области медицинской генетики информацию о популяционной генетической варибельности населения России. Исследование выполняется при финансовой поддержке СПбГУ в рамках проекта № 1.52.1647.2016 и РФФИ № 17-54-330051\17.

### **Д34. Размерно-селективное разделение нуклеиновых кислот на основе карбоксил-функционализованных магнитных частиц**

**В.О. Натаров<sup>1\*</sup>, В.Л. Сурвило<sup>1</sup>, И.А. Гоптарь<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> АО «ГенТерра», ул. Годовикова 9/1, г. Москва, Россия

<sup>2</sup> ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, ул. Новогиреевская 3а, г. Москва, Россия

\*v.natarov@genterra.ru

В связи с внедрением методов высокопроизводительного секвенирования в практику медицинской диагностики, возникает потребность в совершенствовании методик пробоподготовки большого количества образцов перед анализом, в частности методик размерно-селективного выделения нуклеиновых кислот (НК). Для этих целей на сегодняшний день активно используются коммерческие магнитные сорбенты, например, AMPure® и Sera-MagTM. Согласно описанию, данные сорбенты представляют собой частицы оксида железа, покрытые полимерной оболочкой с иммобилизованными на поверхности карбоксильными группами. Получение полимерных частиц сопряжено с рядом трудностей таких как высокая токсичность и взрывоопасность используемых в синтезе мономеров, трудности их очистки, что, в свою очередь, обуславливает высокую стоимость коммерческих сорбентов для размерно-селективного выделения НК.

С целью получения материала пригодного для размерно-селективного выделения НК, ранее полученный магнитный сорбент ExtraGenTM был модифицирован путём контролируемого гидролиза APTES. Затем реакцией иммобилизованных аминокрупп с двухосновной карбоновой кислотой удалось получить карбоксил-функционализованные нанокомпозитные частицы.

Для испытаний полученного материала смешивали маркер молекулярных масс с суспензией частиц в разных соотношениях от 1:2 до 1:0,4 и проводили выделение фрагментов НК по стандартному протоколу. Фрагменты НК с низкой молекулярной массой (менее 300 п.о.) отделяются при объемном отношении раствора НК и суспензии магнитных частиц равном 1:0,75. Очищенные НК пригодны для дальнейшей подготовки ДНК-библиотек. По эффективности применения разработанные магнитные частицы сопоставимы с коммерческими аналогами. Результаты размерно-селективного разделения НК представлены на рисунке 1.

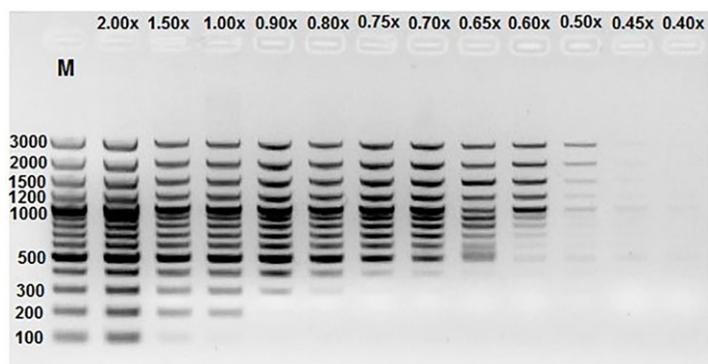


Рисунок 1. Электрофореграмма смеси маркеров после размерно-селективного разделения на магнитных частицах (указаны объемные отношения НК и суспензии частиц)

Таким образом нами был разработан простой и эффективный способ получения карбоксил-модифицированных магнитных сорбентов пригодных для размерно-селективного сепарирования НК.

### Д35. Ранняя эпилептическая энцефалопатия, ассоциированная с мутацией в гене *GABRB3*

Т.В. Кожанова<sup>1,2\*</sup>, С.С. Жилина<sup>1,2</sup>, Т.И. Мещерякова<sup>1</sup>, Е.Г. Лукьянова<sup>1</sup>, Е.С. Большакова<sup>1</sup>, К.В. Осипова<sup>1</sup>, С.О. Айвазян<sup>1</sup>, А.Г. Притыко<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ «НПЦ спец.мед.помощи детям ДЗМ», Москва, Россия

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва, Россия

\*TatyanaVK84@gmail.com

**Мотивация и цели:** описание клинического случая ранней эпилептической энцефалопатии (ЭЭ) у пациента с *de novo* мутацией в гене *GABRB3*, выявленной методом экзомного секвенирования (NGS)

**Материалы и методы:** клиническое обследование пациентки с криптогенной фокальной эпилепсией, серийным течением приступов, синдромом двигательных нарушений, задержкой темпов психомоторного и предречевого развития. Проведено экзомное секвенирование генов в лаборатории CENTOGENE (Германия).

**Результаты:** На сегодняшний день некоторые генетически обусловленные формы эпилепсии связаны с вариантами в генах, кодирующие субъединицы рецептора ГАМКА - *GABRA1*, *GABRB3*, *GABRD* и *GABRG2*. Ген *GABRB3* кодирует б3-субъединицу рецептора ГАМКА. В литературе описаны несколько случаев ЭЭ, ассоциированной с мутациями в *GABRB3*. В отделении психоневрологии наблюдался мальчик, 8 мес. с криптогенной фокальной эпилепсией, задержкой психомоторного и предречевого развития. Из анамнеза: ребенок от 5 беременности, протекавшей с угрозой прерывания в 1 и 3 триместрах, гестозом. Роды 2, экстренные оперативные в связи с преэклампсией и рубцом на матке. Оценка по шкале Апгар 7/8 баллов. Масса при рождении 2930г., длина 50 см. Дебют заболевания в 3 мес., когда появились пароксизмальные состояния, сопровождающиеся установкой взора по центру, или отведением взора вправо, с легким тоническим компонентом в руках, оральными автоматизмами. В дальнейшем приступы приобрели статусное течение. Проводился подбор противосудорожной терапии – б/эффекта. При проведении экзомного секвенирования генов выявлен ранее не описанный у больных вариант нукле-

отидной последовательности в 7 экзоне гена *GABRB3* в гетерозиготном состоянии, приводящий к замене аминокислоты в 253 позиции белка (p.Pro253Ser). *De novo* патогенные мутации в гене *GABRB3* в гетерозиготном состоянии описаны у пациентов с ранней ЭЭ, тип 43 (OMIM: #617113). Данный вариант не зарегистрирован в контрольных выборках «1000 геномов», ESP6500 и ExAC, алгоритмы предсказания патогенности расценивают данный вариант как вероятно патогенный - (SIFT, Polyphen2\_HDIV, Polyphen2\_HVAR, MutationTaster, PROVEAN). Выявленная мутация валидирована методом секвенирования по Сэнгеру у пробанда. Секвенирование 7 экзона гена *GABRB3* показало отсутствие такой же мутации у родителей ребенка.

**Заключение:** Собственное клиническое наблюдение показывает, что мутации в гене *GABRB3*, могут быть причиной ранней эпилептической энцефалопатии и демонстрирует важность проведения ДНК-диагностики с использованием метода экзомного секвенирования с целью поиска молекулярного дефекта.

### Д36 (в рамках круглого стола). Рекомендации по интерпретации данных, полученных методами высокопроизводительного секвенирования

О.П. Рыжкова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

«Руководства по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS).» («Руководства») – документ, разработанный для стандартизации и улучшения качества поиска вариантов, приводящих к развитию моногенной патологии, и выдачи лабораториями результатов анализов, полученных с использованием методов NGS.

Впервые данный документ был представлен широкому кругу научных сотрудников, врачей лабораторных генетиков, а также врачей генетиков на международной конференции MGNGS в г. Суздаль в 2016 году. В 2017 году доработанная версия данного документа была опубликована в журнале «Медицинская генетика» [1]. В основу «Руководств» легли существующие протоколы по интерпретации результатов массового параллельного секвенирования (ACMG, CAP, ESHG и FDA [2, 3, 4, 5]), которые были отредактированы в согласии с предложениями специалистов, внесёнными на общем обсуждении и утверждёнными экспертным советом.

В связи с бурным развитием как технологических платформ, так и биоинформатических средств обработки данных, а также их широким использованием технологий NGS в лабораторной практике, было принято решение о пересмотре и доработке данных руководств каждый год. На конференции «NGS в медицинской генетике 2018» в г.Суздаль будут представлены изменения, предложенные после обсуждения на конференциях Международная научно-практическая конференция «NGS в медицинской генетике 2017» (MGNGS 2017) и 2-й всероссийской научно-практической конференции «Новые технологии диагностики наследственных болезней», рассмотрены предложения, поступившие в течение года, а также пройдет обсуждение и внесение новых поправок.

1. «Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS)». Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., Коновалов Ф.А., Масленников А.Б., Степанов В.А., Афанасьев А.А., Заклязьминская Е.В., Костарева А.А., Павлов А.Е., Голубенко М.В., Поляков А.В., Куцев С.И. // Медицинская генетика. 2017 (7): 4-17.
2. «ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing», Genetics in medicine, V. 15, Number 9, September 2013, p. 733-747
3. «College of American Pathologists' Laboratory Standards for Next-Generation Sequencing

- Clinical Tests», Arch Pathol Lab Med. 2015;139:481–493
4. «Guidelines for diagnostic next-generation sequencing», European Journal of Human Genetics (2016) 24, 2–5
  5. «Use of Standards in FDA Regulatory Oversight of Next Generation Sequencing (NGS)-Based In Vitro Diagnostics (IVDs) Used for Diagnosing Germline Diseases», Document issued on July 8, 2016

### Д37. Семейный случай синдрома Лойса-Дитца 2 типа

И.В. Анисимова\*, М.С. Петухова, Н.А. Семенова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

**Введение:** Синдром Лойса-Дитца 2 типа относится к числу наследственных заболеваний соединительной ткани, характерными признаками которых являются предрасположенность к аневризмам артерий, расщепленный небный язычок, деформация грудной клетки, арахнодактилия, плоскостопие, гипермобильность суставов.

**Методы:** Представлен семейный случай синдрома Лойса-Дитца 2 типа у отца и дочери. Впервые дочь направлена ортопедом на консультацию генетика на 11 сутки жизни с подозрением на синдром Марфана. Родилась с врожденным вывихом правого бедра, подвывихом правой стопы. В фенотипе отмечалась долихоцефалическая форма головы, выступающий лоб, арахнодактилия, воронкообразная деформация грудной клетки. ЭХО-КГ без признаков патологии. На момент генетической диагностики девочке 1 г. 5 мес. Психомоторное, речевое развитие соответствует возрасту. У отца 36-ти лет отмечается гиперэластичная кожа, воронкообразная грудная клетка. При проведении ЭХО-КГ патологии не обнаружено. Дочери проведено исследование – NGS-панель «Заболевания соединительной ткани».

**Результаты:** Выявлена ранее не описанная мутация в 1 экзоне гена *SMAD3* (chr15:67358575A>G), приводящая к замене аминокислоты в 28 позиции белка (p.Glu28Gly, NM\_005902.3). Выявленная замена валидирована методом секвенирования по Сэнгеру у дочери и отца.

**Заключение:** Описывая семейный вариант синдрома Лойса-Дитца 2 типа, показано проявление неполной пенетрантности, когда клинические проявления заболевания у отца выражены гораздо слабее, нежели у дочери.

### Д38. Таргетное секвенирование нового поколения генов *BRCA1* и *BRCA2* для выявления редких мутаций при наследственном раке молочной железы и раке яичников

Л.Х. Шигапова<sup>1</sup>, О.И. Бровкина<sup>2</sup>, М.Г. Гордиев<sup>3\*</sup>, М.О. Дружков<sup>3</sup>, Е.И. Шагмарданова<sup>1</sup>, Р.Ф. Еникеев<sup>3</sup>, Г.К. Мухамедьярова<sup>3</sup>, Д.С. Ходырев<sup>2</sup>, А.Г. Никитин<sup>2</sup>, В.В. Питкау<sup>4</sup>, Д.Д. Сакаева<sup>5</sup>, Р.Р. Фаисханова<sup>5</sup>, А.Ф. Насретдинов<sup>5</sup>, Ю.К. Моляка<sup>6</sup>, Е.Г. Овчинникова<sup>7</sup>, И.С. Шумская<sup>8</sup>, О.А. Гусев<sup>1,9</sup>

<sup>1</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань

<sup>2</sup> Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва

<sup>3</sup> Государственное автономное учреждение здравоохранения «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства Здравоохранения Республики Татарстан», г. Казань

<sup>4</sup> Государственное Бюджетное Учреждение Здравоохранения Свердловской Области «Свердловский областной онкологический диспансер», г. Екатеринбург

<sup>5</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Республиканский клинический онкологический диспансер» Министерства здравоохранения, г. Уфа

<sup>6</sup> Государственное Бюджетное Учреждение Здравоохранения «Клинический онкологический диспансер №1» г. Краснодар

<sup>7</sup> Государственное Бюджетное Учреждение Здравоохранения Нижегородской Области «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер» г. Нижний Новгород

<sup>8</sup> Медицинский Центр «МЕДИС» г. Нижний Новгород

<sup>9</sup> 4RIKEN, г. Йокогама, Япония.

\*gaijin.ru@gmail.com

**Введение:** В настоящее время в мире известно более 3000 мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* [1]. Распространенность мутаций генов *BRCA1* и *BRCA2* значительно варьирует в зависимости от принадлежности к этническим группам и географическому региону. Особенность спектра мутаций в России заключается в преобладании пяти частых мутаций (с.5266dupC, с.181T>G, с.66\_67delAG, с.4035\_4035delA, с.1961\_1961delA), которые охватывают до 90% всего спектра. С наибольшей частотой у женщин, проживающих в достаточно отдаленных друг от друга регионах России, встречается одна из этих мутаций — с.5266dupC в экзоне 20 гена *BRCA1* (от 68 до 90%) [2]. На основе этих данных разработаны и внедрены в клиническую практику коммерческие наборы на основе метода ПЦР для детекции наиболее частых мутаций генов *BRCA1* и *BRCA2*. Однако на настоящий момент такой подход не является оптимальным, так как в этом случае не учитываются редкие мутации и этническая принадлежность пациента. В данной работе мы проанализировали частоту мутаций генов *BRCA1* и *BRCA2* у пациенток с синдромом наследственного рака молочной железы (PMЖ) и рака яичников (РЯ) и дали характеристику редким мутациям перечисленных генов.

**Материалы и методы:** Методом секвенирования нового поколения (NGS) были проанализированы гены *BRCA1* и *BRCA2* в 633 образцах крови от пациенток с наследственным PMЖ и РЯ, проходивших обследование в различных учреждениях онкологического профиля РФ в 2014–2018 гг. и подписавших информированное согласие на проведение исследования. Критерии включения были следующими: молодой возраст возникновения PMЖ (до 40 лет), отягощенный семейный анамнез (наличие одного и более PMЖ или РЯ у родственниц первой или второй линии родства).

ДНК из лейкоцитов периферической крови выделяли с помощью набора DNeasy Blood & Tissue Kit («Qiagen»). Концентрация ДНК была измерена на спектрофотометре NanoVue Plus («GE Healthcare») и составляла 30–50 нг/мкл. Подготовка библиотек для секвенирования осуществлялась с помощью NimbleGen SepCapEZ Choice («Roche»). Секвенирование проводилось на приборе Illumina MiSeq («Illumina»). Картирование прочтений на референсную последовательность генома человека (hg19) проводилось при помощи алгоритмов BWA-MEM, качество исходных данных, выравнивания, обогащения и покрытия целевых регионов проверялось с помощью FastQC, BAMQC и NGSrich.

Поиск нуклеотидных вариаций выполнялся с помощью GATK HaplotypeCaller, Samtools, FreeBayes. Полученные VCF-файлы всех комбинаций алгоритмов выравнивания и поиска вариаций объединялись методом опорных векторов, что увеличивало общие показатели чувствительности и специфичности при выявлении мутаций.

Консенсусный VCF-файл обрабатывался с помощью программы SnpSift (глубина прочтения более 10) и аннотировался с помощью SnpEff (анализ всех транскриптов), ANNOVAR (анализ частот аллелей в ExAC, 1000G и ESP6500, алгоритмы проверки функциональной значимости SIFT, PolyPhen2, MutationTaster, FATMM, CADD, DANN, Eigen) и Alamut Batch (влияние на сплайсинг, базы данных dbSNP, ClinVar, HGMD Professional).

Среднее покрытие составило 473x, доля корректно картированных прочтений – 99,6%, доля целевых регионов с покрытием выше 100x – 96,2%.

**Результаты и обсуждение:** В результате секвенирования 633 образцов пациенток с наследственным РМЖ и РЯ было выявлено 175 патогенных и 14 предположительно патогенных мутаций. Мутации, встречаемость в выборке которых больше двух, представлены в таблице 1. Самой частой мутацией, как и ожидалось, оказалась NM\_007300.3:c.5329dup (21% всех мутаций). Суммарная доля мутаций, считающихся частыми и представленными в коммерческих наборах на основе ПЦР, составила 30%. Таким образом, для большинства пациенток (70%) из выборки результаты анализа ПЦР методом будут неинформативными.

Второй по частоте встречаемости оказалась мутация NM\_000059.3:c.7544C>T гена *BRCA2*, которая на настоящий момент не входит в ПЦР панели диагностических тестов. Возможно, такая высокая частота мутации объясняется преобладанием пациенток татарского этноса. Подобное предположение говорит в пользу версии о различии мутаций генов *BRCA1* и *BRCA2* в разных этнических группах и необходимости анализа всей области гена *BRCA1* и гена *BRCA2* [3].

34% пациенток в выборке имели редкие мутации, встречаемость которых в выборке не более одного раза. Это сравнительно большое количество носительниц мутаций, которое можно выявить только методом NGS.

Таблица 1.

Ген	Координата	Транскрипт:кДНК	Белок	Количество
<i>BRCA1</i>	chr17:41209079	NM_007300.3:c.5329dup	p.Gln1777Profs*74	40
<i>BRCA2</i>	chr13:32930673	NM_000059.3:c.7544C>T	p.Thr2515Ile	12
<i>BRCA1</i>	chr17:41258504	NM_007300.3:c.181T>G	p.Cys61Gly	11
<i>BRCA1</i>	chr17:41215382	NM_007300.3:c.5224C>T	p.Gln1742*	8
<i>BRCA2</i>	chr13:32972745	NM_000059.3:c.10095_10096insT	p.Ser3366*	6
<i>BRCA2</i>	chr13:32906576	NM_000059.3:c.965_966dup	p.Val323Lysfs*2	5
<i>BRCA2</i>	chr13:32913562	NM_000059.3:c.5070A>C	p.Lys1690Asn	4
<i>BRCA1</i>	chr17:41209095	NM_007300.3:c.5314C>T	p.Arg1772*	4
<i>BRCA1</i>	chr17:41243844	NM_007300.3:c.3700_3704del	p.Val1234Glnfs*8	4
<i>BRCA1</i>	chr17:41245587	NM_007300.3:c.1961del	p.Lys654Serfs*47	3
<i>BRCA1</i>	chr17:41226348	NM_007300.3:c.4738G>A	p.Glu1580Lys	3
<i>BRCA2</i>	chr13:32950929	NM_000059.3:c.8754+1G>A	Splice site	3
<i>BRCA1</i>	chr17:41215969	NM_007300.3:c.5138-1G>A	Splice site	3
<i>BRCA2</i>	chr13:32900279	NM_000059.3:c.468dup	p.Lys157*	2
<i>BRCA2</i>	chr13:32907409	NM_000059.3:c.1796_1800del	p.Ser599*	2
<i>BRCA2</i>	chr13:32968950	NM_000059.3:c.9381G>A	p.Trp3127*	2
<i>BRCA2</i>	chr13:32911298	NM_000059.3:c.2808_2811del	p.Ala938Profs*21	2
<i>BRCA1</i>	chr17:41243513	NM_007300.3:c.4035del	p.Glu1346Lysfs*20	2
<i>BRCA1</i>	chr17:41234451	NM_007300.3:c.4327C>T	p.Arg1443*	2
<i>BRCA2</i>	chr13:32907434	NM_000059.3:c.1819A>T	p.Lys607*	2
<i>BRCA1</i>	chr17:41244145	NM_007300.3:c.3403C>T	p.Gln1135*	2
<i>BRCA1</i>	chr17:41245197	NM_007300.3:c.2351C>A	p.Ser784*	2

**Выводы:** В результате NGS анализа образцов от 633 пациентов было выявлено 175 патогенных и 14 предположительно патогенных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Большинство из этих мутаций не входит в ПЦР панель коммерческих наборов для выявления наследственных мутаций РМЖ и РЯ. Вторая по частоте встречаемости оказалась мутация NM\_000059.3:c.7544C>T гена *BRCA2*. С появлением все большего массива данных о встречаемости и представленности наследственных мутаций РМЖ и РЯ возрастает необходимость использования NGS для секвенирования генов *BRCA1* и *BRCA2*.

[1] "NHGRI: Breast Cancer Information Core." [Online]. Available: <https://research.nhgri.nih.gov/bic/>. [Accessed: 25-Jul-2016].

[2] Е. Н. Имянитов, "Наследственный рак молочной железы," Практическая онкология, vol. 11, no. 4, pp. 258–266, 2010.

[3] А. И. Хасанова, М. Г. Гордиев, Е. Ю. Ратнер, В. В. Жаворонков, Р. Ш. Хасанов, and А. Г. Никитин, "BRCA-ассоциированный рак молочной железы у представительниц татарской национальности на примере клинического случая," Приволжский онкологический вестник, vol. 24, no. 2, pp. 104–108, 2016.

### Д39. Функциональный анализ вариантов нуклеотидной последовательности, нарушающих сплайсинг, при менделирующих заболеваниях

А.Ю. Филатова<sup>1\*</sup>, А.В. Марахонов<sup>1,2</sup>, Ю.В. Вяхирева<sup>1</sup>, П.А. Спарбер<sup>1</sup>, В. Фрейре<sup>1</sup>, М.Ю. Скоблов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный, Россия

\*maacc@yandex.ru

**Мотивация и цели:** Несмотря на успехи полноэкзомного секвенирования в диагностике менделирующих заболеваний, на сегодняшний день ~50–75% пациентов не получают молекулярно-генетического диагноза. Одна из причин кроется в сложности биоинформатического выявления патогенных вариантов нуклеотидной последовательности, особенно в некодирующих областях генома. Известно, что мутации сплайсинга могут являться причиной развития генетических заболеваний. Однако из-за сложности регуляции процесса сплайсинга трудно предсказать точное влияние конкретных нуклеотидных вариантов на образующуюся структуру РНК. В нашей работе мы сосредоточились на функциональном анализе мутаций, нарушающих сплайсинг, при различных менделирующих заболеваниях.

**Методы:** Для экспериментального определения влияния на сплайсинг каждого варианта нуклеотидной последовательности мы использовали 2 подхода: (1) ОТ-ПЦР РНК, выделенной из доступных образцов тканей пациентов; (2) использование системы минигена *in vitro*. Для различных случаев мы использовали один или оба подхода.

**Результаты:** Мы проанализировали более 30 ранее не охарактеризованных вариантов нуклеотидной последовательности в 12 генах, связанных с развитием различных менделирующих заболеваний. Данные варианты локализуются как в интронах, так и в экзонах и во многих случаях были классифицированы как варианты с неизвестным клиническим значением (VUS). Мы экспериментально определили влияние этих мутаций на структуру мРНК, что позволило нам реклассифицировать большинство из них в патогенные, а также сделать предположения о механизмах, участвующих в молекулярном патогенезе заболевания (нонсенс-опосредованная деградация РНК, нарушение структуры белка).

**Заключение:** Известно, что мутации сплайсинга могут приводить к развитию менделирующих заболеваний, однако их вклад в структуру заболеваемости на сегодняшний день недооценен

из-за несовершенства диагностических процедур. Поэтому для подтверждения патогенности таких мутаций часто необходимо проводить функциональный анализ.

#### **Д40. Функциональный анализ интронных вариантов нуклеотидной последовательности в гене KIAA1109 при синдроме Алкурая-Кучинскас**

**В. Фрейре<sup>1\*</sup>, А.Ю. Филатова<sup>1</sup>, Ф.А. Коновалов<sup>2</sup>, Л.А. Бессонова<sup>1</sup>, М.Ю. Скоблов<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

<sup>2</sup> Лаборатория молекулярной патологии «Геномед», Москва

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Москва  
\*fm216@mail.ru

**Мотивация и цели:** Синдром Алкурая-Кучинскас (OMIM #617822) – это тяжелое аутосомно-рецессивное расстройство, характеризующееся множественными пороками развития, внутриутробной или перинатальной смертностью больных, вызванное мутациями в гене KIAA1109. В случае пациентки с третьей неудавшейся беременностью, прерванной на 14 неделе, после исключения хромосомной патологии, в ходе секвенирования ДНК плода были выявлены интронные варианты нуклеотидной последовательности (NG\_015813.1:c.1932-3A>G и NG\_015813.1:c.2613+1G>A) в гене KIAA1109 в гетерозиготном состоянии. Целью данной работы было установление отношения найденных вариантов к фенотипу плода. Для этого мы определяли положение данных вариантов (цис- или транс-), а также влияние их носительства структуру мРНК KIAA1109.

**Методы:** Носительство исследуемых вариантов нуклеотидной последовательности определяли при помощи амплификации интересующего локуса геномной ДНК пациентов и последующим секвенированием по Сенгеру. Для анализа влияния исследуемых замен на структуру мРНК проводили ОТ-ПЦР анализ тотальной РНК, выделенной из мононуклеаров периферической крови пациентов.

**Результаты:** Пациентка и её супруг являются гетерозиготными носителями вариантов, обнаруженных у плода (с.1932-3A>G и с.2613+1G>A соответственно). У матери были выявлены две изоформы РНК гена KIAA1109: нормальная и абберрантная (с удлинением 5'-конца экзона 17 на 2 нуклеотида). Появление второй изоформы является результатом возникновения нового акцепторного динуклеотида AG в интроне 16. Такое изменение структуры мРНК приводит к сдвигу открытой рамки считывания и синтезу нефункционального белка. У отца также обнаружили две изоформы мРНК данного гена: нормальная и укороченная (с пропуском экзона 20). Присутствие короткой изоформы может быть объяснено разрушением канонического динуклеотида донорного сайта сплайсинга интрона 20. На белковом уровне это приведет к пропуску 46 аминокислот в белке без сдвига открытой рамки считывания.

**Заключение:** Описание новых менделирующих заболеваний и выявление новых связей фенотипа с генотипом – непрекращающийся динамичный процесс. Так, описание синдрома Алкурая-Кучинскас, впервые опубликованное в 2018 году во время проведения данного функционального анализа, помогло подтвердить патогенность выявленных вариантов согласно критериям ACMG (с.1932-3A>G: Ia (PVS1, PS3, PM2) и с.2613+1G>A: IIIa (PS3, PM2, PM3, PM4)), изначально классифицированных как варианты с неизвестным клиническим значением.

#### **Д41. Экспертная система анализа и интерпретации больших омиксных данных**

**А.Г. Шлихт\*, Н.В. Краморенко**

Дальневосточный федеральный университет

\*schliht@mail.ru

**Мотивация и цели:** Для использования омиксных данных в задачах медицинской диагностики необходимо создание соответствующих автоматизированных информационных систем для хранения, анализа и интерпретации биоинформатических данных. Целью работы является создание экспертной системы (ЭС) с эффективным форматом представления данных и знаний.

**Методы:** В создаваемой системе для хранения омиксных данных о геноме, транскриптоме, протеоме, метаболоме используется формат баз данных и знаний. Это позволило перейти от традиционного текстового формата (например, FASTA) и процедурных языков программирования (R, Python, Perl) к индексированному представлению и высокоуровневым языкам баз данных и знаний. Первичные данные для баз данных и знаний берутся с мировых порталов (NCBI, EBI, KEGG, HGNC и др.) с последующей реструктуризацией и формализацией.

**Результаты:** Разработана ЭС анализа и интерпретации омиксных данных, которая позволяет получить эффективный доступ: к любому нуклеотиду в ДНК, хромосомах, генах, экзонах, интронах; к любой аминокислоте в пептидах, протеинах; к реакциям и метаболическим путям, в которых участвуют ферменты, на базе исследуемых протеинов. ЭС позволяет также анализировать мутации в генах и протеинах и проследить путь мутаций в биохимических и физиологических процессах вплоть до заболевания. К достоинствам ЭС можно отнести возможность работы в автономном, автоматическом режиме без постоянного доступа к мировым порталам, лишь периодически актуализируя данные. Такой подход на базе реструктуризации, индексации, автономности обеспечивает более высокое быстродействие в отличие от интерактивного режима работы с постоянным доступом к порталам.

**Заключение:** Разработанная ЭС анализа и интерпретации омиксных данных основывается как на глубоких геном-центрированных, биохимических и физиологических знаниях, так и на результатах статистического анализа в системе ГЕНОТИП – ФЕНОТИП, что позволяет использовать ЭС исследователями, врачами, студентами.

#### **Д42. Эффективность полноэкзомного секвенирования для выявления генетических причин аутизма**

**И.С. Поволоцкая\*, Е.А. Померанцева**

ООО «ЦГРМ «ГЕНЕТИКО»

\*povolotskaya@genetico.ru

**Мотивация и цели:** Аутизм – нарушение развития нервной системы, которым, по разным оценкам, страдает 1-2% детей в мире. Существенный вклад в развитие аутизма вносит генетическая компонента: наследуемость этого фенотипа составляет около 70%, а возможная связь с аутизмом описана для более 700 генов. На молекулярном уровне развитие аутизма могут вызывать как короткие (SNP, делеции и инсерции, экспансии STR), так и более масштабные (CNV и хромосомные аномалии) патогенные варианты, многие из которых могут быть выявлены при полноэкзомном секвенировании. Целью данного исследования является оценка эффективности полноэкзомного секвенирования для выявления генетических причин аутизма и построение оптимального алгоритма анализа данных полноэкзомного секвенирования у пациентов с РАС.

**Методы:** На настоящий момент обследовано 66 пациентов с PAC из планируемых 200. Пробо-подготовка образцов ДНК выполнялась с помощью наборов «TruSeq DNA Exome», полноэкзомное секвенирование проводилось на платформе NovaSeq 6000. Биоинформатический анализ данных NGS проводился с помощью автоматизированного алгоритма, включающего в себя идентификацию SNP, инсерций и делеций и CNV. Поиск клинически значимых вариантов производился по сформированному списку генов, ассоциированных с аутизмом.

**Результаты:** Для 10 пациентов из 65 (15%) выявлены патогенные или вероятно патогенные, согласно критериям ACMG, варианты. Большая часть выявленных вариантов встретились de novo (>50%). Для одного пациента диагноз поставлен по результатам CNV анализа. У 20 пациентов (31%) выявлены варианты с неопределенной клинической значимостью.

**Заключение:** Полноэкзомный анализ позволяет выявить большой процент патогенных вариантов и является эффективным средством молекулярной диагностики моногенных форм аутизма.

#### Д43. Эффективность экзомов и панелей в различных группах пациентов и вклад анализа CNV в диагностическую ценность метода

**Ф.А. Коновалов**

Медико-генетический центр «Геномед», лаборатория клинической биоинформатики

На примере выборки лаборатории «Геномед» (более 5000 случаев) будут показаны текущие данные о выявляемости вероятных причин заболеваний в основных группах пациентов, разделенных по направлению диагноза. Особый акцент в докладе будет сделан на анализе вариаций числа копий, обеспечивающем определенную долю положительных результатов. Чего ожидать при направлении на анализ пациента с тем или иным диагнозом? Какие причины заболеваний встречаются чаще, а с чем лаборатория и биоинформатик не ожидают столкнуться? Что может быть упущено при анализе? Будут подробно освещены эти и многие другие вопросы, волнующие практиков клинической диагностики на основе NGS.

#### Д44. NGS в детекции эпигенетических механизмов неполной пенетрантности микроделеционных синдромов

**Н.А. Скрябин<sup>1\*</sup>, С.А. Васильев<sup>1</sup>, Е.Н. Толмачева<sup>1</sup>, О.Ю. Васильева<sup>1</sup>, А.А. Кашеварова<sup>1</sup>, Л.П. Назаренко<sup>1</sup>, А.Р. Шорина<sup>2</sup>, И.Н. Лебедев<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН

<sup>2</sup> Новосибирский областной детский клинический психоневрологический диспансер, Новосибирск

\*nikolay.skryabin@medgenetics.ru

**Мотивация и цели:** Хромосомные болезни, обусловленные вариабельностью числа копий ДНК (copy number variation, CNV), характеризуются неполной пенетрантностью, однако механизмы ее реализации остаются практически неизученными. Одним из таких механизмов могут являться эпигенетические модификации генома, в частности метилирование ДНК.

**Методы:** Нами был проведен анализ статуса метилирования CpG-островков в промоторных участках генов *IMMP2L*, *METTL4*, *ACAD10*, *GEMIN4*, *SMCHD1*, *KDM5A* и *GRPEL2* в 8 семьях с умственной отсталостью. Выбранные гены были локализованы в участках с вероятно патогенными унаследованными CNV.

После бисульфитной конвертации ДНК была проведена амплификация участков 300-800 п.н. в составе CpG-островков в промоторных регионах выбранных генов с помощью ПЦР. Присоединение адаптеров и индексов осуществлялось с помощью набора Nextera XT (Illumina, США).

Секвенирование проводилось на секвенаторе MiSeq с помощью набора MiSeq Reagent Nano Kit v2 (Illumina, США). Для цитозина в составе CpG-пар оценивался индекс метилирования (отношение числа ридов с C/T).

**Результаты:** Наиболее интересные результаты были получены при анализе двух семей с унаследованной делецией 7q31.1, затрагивающей единственный ген *IMMP2L*. Показано что CNV в данном гене приводят к аномалиям развития нервной системы. В обеих семьях делеции были унаследованы от клинически здоровых матерей. При анализе статуса метилирования ДНК в CpG-сайтах, локализованных в гене, было идентифицировано гипометилирование у матерей по отношению к детям и отцам. Снижение метилирования гена *IMMP2L* у матери может приводить к увеличению его экспрессии и компенсации делеции, тогда как у больного такой компенсации не происходит, что приводит к фенотипическому проявлению делеции *IMMP2L*.

**Заключение:** Таргетная оценка индекса метилирования промоторов отдельных генов с помощью NGS позволила выявить один из возможных эпигенетических механизмов неполной пенетрантности CNV.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 16-15-10229.

#### Д45. NGS в изучении и диагностике наследственных опухолевых синдромов

**В.М. Козлова<sup>1\*</sup>, Е.А. Алексеева<sup>2</sup>, Т.П. Казубская<sup>1</sup>, В.В. Стрельников<sup>2</sup>, Т.Л. Ушакова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ г. Москва,

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», г. Москва.

\*valentina-mk2011@yandex.ru

В каждой нозологической форме опухоли встречаются как наследственные, так и ненаследственные ее варианты. Наиболее высокая частота наследственных форм отмечается при ретинобластоме (РБ) и первично-множественных злокачественных опухолях (ПМЗО) у детей.

Цель: анализ генетических факторов, лежащих в основе клинических особенностей проявления РБ и ПМЗО, с применением новых медицинских технологий комплексной ДНК-диагностики (NGS, MLPA).

Все билатеральные РБ (БРБ) и около 20% монолатеральных форм (МРБ) имеют аутосомно-доминантный тип наследования. Раннее выявление ретинобластомы имеет решающее значение для достижения лучших результатов лечения не только для сохранения жизни, но и зрения пациента. Нами обследовано 103 семьи (БРБ – 30, МРБ – 73). Наследственные формы выявлены в 40,5% случаев (46/103), среди БРБ – 93,3% (28/30), среди МРБ – 24,6% (18/73). Метод позволил выявить у 5 пробандов (10,2%) мозаичные мутации гена, которые предыдущими методами не выявлялись. Методом MLPA выявлены протяженные внутригенные делеции у 6 пациентов (13%). Обнаружены клинико-генетические корреляции: при нонсенс-мутациях преобладали БРБ, метакхронность поражения, а в случае МРБ преобладали мозаичные нонсенс-мутации; при мутации сайта сплайсинга клиническая картина была разнообразна: встречались как моно-, билатеральное, метакхронное поражение глаз, неполная пенетрантность мутации, нередко отмечена поздняя клиническая манифестация опухоли (7, 8, 36 лет); при миссенс-мутациях чаще встречаются неполная экспрессивность и пенетрантность РБ; при мутациях сдвига рамки отмечена неполная пенетрантность и мозаичность мутаций. Всего случаев с неполной пенетрантностью РБ было 4 (8,7%), причём здоровыми носителями мутаций во всех случаях были отцы. При ПМЗО методы NGS и MLPA позволили понять этиологию, особенности течения онкологического процесса, ответа на противоопухолевую терапию и диагностировать синдромы Ли-Фрау-

мени, синдром Тюрко. У ребенка с ПМЗО методами секвенирования по Сэнгеру гена *TP53* и NGS клинического экзона мутаций не обнаружено, но методом MLPA выявлена редкая мутация – протяженная делеция экзона 10 гена *TP53*: (1195+1\_1196-1)\_(1302+1\_1303-1)del, p.(11e332Profs Ter14). Был диагностирован синдром Ли-Фраумени с ярко выраженным агрессивным течением (шестикратное появление неоплазий с 4-х до 16 лет). У ребенка с типичной клиникой синдрома Тюрко и у его здоровой матери 37 лет методом NGS выявлена нонсенс-мутация в 11 экзоне гена *PMS2*: с.A1939T, p.K647\* в гетерозиготном состоянии, у отца аналогичного изменения в гене *PMS2* не обнаружено. Методом MLPA протяженных делеций в гене *PMS2* не выявлено. В некоторых случаях неспособность обнаружить мутацию может быть связана с другими необычными изменениями ДНК, мРНК, требующими других методов.

#### Д46. NGS сближает онкологию с медицинской генетикой

**В.В. Стрельников**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», г. Москва.  
vstrel@list.ru

Генетическая природа рака не вызывает сомнений уже на протяжении нескольких десятилетий. Тем не менее, изучение генетики онкозаболеваний до последнего времени относилось к области скорее молекулярной биологии, чем медицинской генетики. Основной причиной этого послужила своеобразная хронология исследования повреждений геномов в злокачественных опухолях. Исторически генетическая теория рака выросла из вирусогенетической, в связи с чем на протяжении многих лет основным предметом интересов онкогенетиков были протоонкогены, нарушения структуры и функции которых, в свою очередь, далеки от объяснения причин наследственных онкологических синдромов, семейное накопление которых наблюдают врачи-онкологи. С открытием антионкогенов (генов супрессоров опухолевого роста), мутации которых наследуются в семьях и фатально повышают риск развития онкологических заболеваний, появилась возможность изучения материальной основы семейного накопления опухолей, и началось сближение онкогенетики и медицинской генетики. Однако, в отличие от многих генетических заболеваний, картирование генов наследственных опухолевых синдромов осложнено неполной пенетрантностью мутаций, которые в большинстве случаев значительно повышают риск, но не обязательно приводят к возникновению опухоли у конкретного индивида. Современные возможности масштабного секвенирования геномов, возникшие в результате широкого внедрения методов NGS в практику исследований и диагностики, уже обеспечили обнаружение новых генов супрессоров опухолевого роста, мутации в которых объясняют семейное накопление опухолей. С другой стороны, появившаяся техническая возможность одновременного секвенирования полных кодирующих и регуляторных последовательностей уже известных генов, и уход от тактики выявления только частых, ранее описанных мутаций, вносит значительные коррективы в наши представления как о спектрах и частотах самих мутаций, так и об эпидемиологии наследственных опухолевых синдромов. Развитие этого направления исследований с помощью NGS позволит в ближайшее десятилетие выявить генетические причины семейного накопления злокачественных новообразований, что будет способствовать эффективному проведению медико-генетического консультирования родственников больных, сближая онкологию с классической медицинской генетикой.

## ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

### П01. Гомозиготная мутация в гене *ARL6IP1* – причина редкой наследственной спастической параплегии с ранним началом

**А.Л. Чухрова\***, **И.А. Акимова**, **О.А. Щагина**, **В.А. Кадникова**, **О.П. Рыжкова**, **А.В. Поляков**  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр».  
\*achukhrova@yandex.ru

**Мотивация и цели:** Наследственные спастические параплегии (НСП) – клинически и генетически гетерогенная группа болезней, для которой известно более 80 локусов и 58 генов, что осложняет постановку точного диагноза. Во многих генах выявлены единичные патогенные варианты. Поэтому полноэкзомное секвенирование зачастую становится основным методом ДНК-диагностики.

**Методы:** Анализ ДНК пробанда проведен на платформе IlluminaNextSeq 500 методом парно-концевого чтения (2x75п.о.) с помощью набора IlluminaTruSeq® ExomeKit, для обработки данных использован стандартный автоматизированный алгоритм (<https://basespace.illumina.com>).

Верификация выявленного варианта проводилась прямым секвенированием по Сэнгеру.

**Результаты:** У пробанда и его старшего брата, рожденных в близкородственном браке, наблюдались признаки ранней, осложненной НСП: мышечная слабость, гипотония, спастический тетрапарез, высокие коленные и локтевые рефлексы, значительная задержка моторного и психоречевого развития, регресс с трех лет, периодические вздрагивания с миоклониями рук. На МРТ выявляются диффузные корково-подкорковые изменения вещества мозга с редукцией объема белого вещества в теменных регионах, вторичная атрофическая вентрикуломегалия при компенсированной ликвородинамике.

В результате полноэкзомного секвенирования выявлен вариант нуклеотидной последовательности в экзоне 2 гена *ARL6IP1* в гомозиготном состоянии, приводящий к миссенс-замене (с.92T>C/p.Leu31Pro, NM\_015161.1), не зарегистрированный в контрольной выборке gnomAD, вероятно патогенный по алгоритмам предсказания патогенности (SIFT, PolyPhen2, UMD-Predictor, PROVEAN, MutationTaster).

Секвенирование по Сэнгеру подтвердило наличие выявленного варианта в гомозиготном состоянии у пробанда и его брата и в гетерозиготном – у родителей.

**Заключение:** В гене *ARL6IP1*, ответственном за развитие SPG61 (OMIM: 615685), до настоящего времени был описан один патогенный вариант. Нами описан и подтвержден молекулярно-генетически второй в мире и первый в России случай SPG61.

### П02. Диагностика редкого наследственного синдрома с помощью экзомного секвенирования нового поколения

**И.В. Шаркова\***, **И.А. Акимова**, **О.В. Хлебникова**, **Е.Л. Дадали**  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва  
\*sharkova-inna@rambler.ru

**Цель:** представить описание клинико-генетических характеристик редкого наследственного синдрома, сопровождающегося задержкой психомоторного и речевого развития.

**Материалы и методы:** секвенирование экзона проводилось на платформе IlluminaNextSeq 500 с применением методики таргетного обогащения ДНК TruSightOne V1.1. и обработкой полученных данных в лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ.

**Результат:** При поведении экзомного секвенирования нового поколения у мальчика 1 года 8 месяцев с грубой задержкой психомоторного и речевого развития выявлена ранее не описанная мутация в гене *ITPR1* в гетерозиготном состоянии с.1865T>C, приводящая к аминокислотной замене в 622 позиции белка (p.Leu622Pro). Мутации в этом гене ответственны за развитие трех клинических фенотипов, в том числе, синдрома Гиллеспи (OMIM206700), характерными особенностями которого являются гипоплазия радужки, врожденная гипотония, задержка психомоторного развития, атаксия, гипоплазия мозжечка. В клинической картине у ребенка отмечены трудность общения, снижение уровня познавательной деятельности, отсутствие речи. Расходящееся альтернирующее косоглазие, отсутствие конвергенции, ослабление аккомодации. Голову держит, поворачивается на живот и обратно. Других моторных навыков нет. Мышечный тонус умеренно диффузно снижен с элементами дистонии в конечностях. Сгибательные установки в коленных и лучезапястных суставах. Гипермобильность в тазобедренных суставах. Аддукто-варусная установка стоп при попытке дать опору. Сухожильные рефлексы живые. При захвате игрушки легкая дисметрия. На МРТ головного мозга признаки гипоплазии мозжечка, субатрофии больших полушарий и перивентрикулярной лейкопатии. При осмотре офтальмолога выявлена гипоплазия радужки и макулярной области, нарушение формирования пигментной зрочковой каймы.

**Заключение:** использование экзомного секвенирования нового поколения позволяет уточнить диагноз на молекулярно-генетическом уровне и в значительной степени облегчает диагностику редких генетических синдромов.

### П03. Диагностика синдрома Senior-Loken1 (SLSN1) с подтверждением методом NGS

В.А. Галкина<sup>1\*</sup>, Ф.А. Коновалов<sup>2</sup>, А.В. Марахонов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

<sup>2</sup> «МЦ» ГЕНОМЕД, лаборатория молекулярной патологии

\*vgalka06@rambler.ru

Синдром «почечная дисплазия с аплазией сетчатки» (Синдром Senior-Loken1; SLSN1) относится к редким синдромам множественных врожденных пороков развития. Сочетание генетически обусловленной патологии почек, как правило, это проявления нефронофтиса, с различными формами патологии сетчатки. Минимальные диагностические критерии – патология почек (морфология нефронофтиса) с развитием ювенильного нефронофтиса, почечной недостаточности, полиурии, полидипсии, отмечается повышение креатинина в рове и анемия. В детстве, как правило, диагностируется ретинопатия, приводящая к слепоте. Раннее психомоторное развитие не страдает, с возрастом может быть заметной умственная отсталость.

История заболевания нашего пациента (мальчик Р. 17-ти лет): акушерский анамнез без особенностей, выписан без замечаний, но уже в 1,5–2 месяца родители отметили нарушение фиксации взора, ребенок не следил за предметом. Офтальмологи диагностировали частичную атрофию зрительного нерва, но вскоре характер патологии глаз был уточнен, состояние сетчатки определялось как врожденный порок развития – аплазия сетчатки, это подтверждается и отсутствием прогрессирования патологии глаз, зрение не снижалось в течение жизни. Моторное и психоречевое развитие не страдало.

В 2014 г мальчик впервые проконсультирован нефрологом б-цы им. Филатова по поводу биохимических показателей хронической болезни почек 2 стадии. Тогда же впервые обнаружены очень мелкие кисты почек, морфологические изменения, отмечаемые при нефронофтисе<sup>1</sup>.

Клиническая диагностика синдрома дисплазия почек- аплазия сетчатки достаточно сложна из-за наличия 8-ми фенотипических комплексов, обусловленных мутациями в 8-ми генах (генетическая гетерогенность имеет место). Возможно, ряд этих состояний в будущем найдут свое место в классификации наследственных болезней, так как их фенотипы в ряде случаев имеют свои особенности, отличные от симптомокомплекса SLSN1. Так, по данным популяционных исследований, распространенность нефронофтиса<sup>1</sup> оценивается как 1/100 000 и только у одного из 10 больных почечная патология сочетается с патологией сетчатки, которая обосновывает предположение об обсуждаемом синдроме.

Для заболевания Синдром Сениора-Локена 1 известен аутосомно-рецессивный тип наследования, мутация находится в гене нефронофтиса1 (*NPHP1*), картированного на 2-й хромосоме (q13). В лаборатории молекулярной патологии МЦ «Геномед» пациенту было проведено секвенирование ДНК (клиническое секвенирование экзома) с целью поиска патогенных мутаций, ассоциированных с пигментным ретинитом, амаврозом Лебера, поликистозом почек, синдромом Жубера и со сходными фенотипическими проявлениями. Значимых изменений, соответствующих критериям поиска, не было обнаружено. Но по итогам анализа покрытия (избыточного прочтения) секвенированных генов получены данные в пользу наличия гетерозиготной делеции участка хромосомы 2 с приблизительными границами 107021000-112787000 п.о., захватывающей 9 генов, в том числе и ген *NPHP1*. Для гена *NPHP1* получены данные в пользу гомозиготной делеции. Гомозиготные делеции гена *NPHP1*, как и гомозиготные и компаунд гетерозиготные мутации данного гена описаны у пациентов с ювенильным нефронофтисом тип 1, синдромом Жубера тип 4 и синдромом Сениора-Локена тип1. Caridi et al в 1998г. описали у больного с синдромом SLSN1 гомозиготную делецию в гене *NPHP1*.

Исследование ДНК пациента по методу Сенгера обнаружило у него отсутствие копий в гене *NPHP1* (гомозиготная делеция), у его мамы присутствует лишь одна копия гена. Так впервые у пациента с патологией почек и сетчатки глаз методом NGS был уточнен клинический диагноз SLSN1.

### П04. Изменение диагноза наследственного заболевания после проведения NGS (клинический экзом)

А.А. Козина<sup>1\*</sup>, К.Ю. Цуканов<sup>1</sup>, П.А. Шаталов<sup>1,2</sup>, Е.Г. Окунева<sup>1</sup>, А.Ю. Красненко<sup>1</sup>, В.В. Ильинский<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ООО «Генотек»

<sup>2</sup> Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

\*doctor@genotek.ru

Пациентка 13 лет наблюдалась у ортопеда и генетика с диагнозом: спондилоэпифизарная дисплазия, юношеский идиопатический сколиоз, кифоз, врожденный вывих бедра с укорочением правой конечности на 7 см. Для исключения мукополисахаридоза проводился анализ мочи на ГАГИ – норма.

Было проведено экзомное секвенирование (клинический экзом). Секвенирование проводилось на геномном анализаторе HiSeq2500 (Illumina) с использованием парных прочтений длиной 100 нуклеотидов. Биоинформатическая обработка выполнена собственным программным решением компании Genotek.

Выявлена миссенс-мутация с.850G>A в гене *COL6A1*, ранее описана в OMIM и dbSNP как патогенная, подтверждена прямым автоматическим секвенированием по Сенгеру. Родители на носительство мутации не обследованы.

В результате диагноз поменялся с наследственного заболевания скелета на врождённую мышечную дистрофию Уллриха, тип 1 (MIM 254090). Изменение диагноза в данном случае подразумевает другое наблюдение и лечебно-реабилитационные мероприятия.

#### **П05. Использование NGS-панели для идентификации редких мутаций при гиперфенилаланинемии**

**И.А. Кузнецова\*, П. Гундорова, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

\*Iradris@yandex.ru

**Введение:** Гиперфенилаланинемия (ГФА) подразделяется на фенилкетонурию (ФКУ), вызываемую мутациями в гене фенилаланингидроксилазы (*PAH*), и на ВН4-дефицитные формы ГФА, которые обусловлены мутациями в генах белков, участвующих в метаболизме тетрагидробиоптерина (ВН4). Больным с ГФА необходимо своевременно начинать лечение для предотвращения задержки умственного и психического развития. Для подбора индивидуальной и эффективной терапии необходимо получить данные о генотипе пациентов. В настоящее время диагностика ГФА в России включает в себя поиск 25 частых мутаций в гене *PAH*, суммарная аллельная частота которых составляет 86,1%.

**Материалы и методы:** Исследование проводилось на выборке 92 неродственных пробандов с входящими диагнозами ФКУ и ГФА, которым ранее проводился поиск 25 частых мутаций в гене *PAH*. У 59 пробандов была выявлена одна мутация, еще у 33 мутаций обнаружено не было. Поиск мутаций осуществлялся методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) с использованием кастомной панели, включающей гены *PAH*, *PTS*, *GCH1*, *PCBD1*, *QDPR* и *SPR*.

**Результаты:** Среди 59 пациентов с одной выявленной мутацией, вторая мутация нашлась в 49 (83,1%) случаях. Все ранее выявленные частые мутации были подтверждены методом NGS. Из 33 пациентов, не имевших мутаций, две мутации в гене *PAH* были найдены у 11 (33,3%) пациентов, две мутации в гене *PTS* у 3 (9,1%). Одна мутация в гене *PAH* была обнаружена у 7 (21,2%) пациентов, одна мутация в гене *PTS* - у 2 (6,1%), и у 10 (30,3%) пациентов мутаций не обнаружено. У 60 пациентов был подтвержден диагноз ФКУ, еще у 3 - ВН4-дефицитная гиперфенилаланинемия типа А.

**Заключение:** Проведенное исследование позволяет определить эффективный и экономичный способ диагностики ГФА с использованием высокопроизводительного секвенирования.

#### **П06. Использование NGS-секвенирования для подтверждающей диагностики и раннего выявления аминокислотопатий, органических ацидурий и дефектов β-окисления жирных кислот**

**Ю.А. Чурюмова<sup>1,2\*</sup>, С.В. Шляга<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> СПбГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)»

<sup>2</sup> ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»

\*chury.yuliya@gmail.com

В группе моногенных болезней особое место занимают наследственные болезни обмена веществ (НБО), насчитывающие около 500 нозологических форм. Наследственные нарушения метаболизма аминокислот, органических кислот и дефекты митохондриального β-окисления представляют одну из обширных групп НБО. При низкой частоте отдельных форм заболеваний их суммарная частота довольно высока и составляет 1:2000 – 1:3000. Большинство заболева-

ний из этой группы манифестируют в раннем детском возрасте, характеризуются острым течением и часто сопровождаются поражением нервной системы. При этом около 20 форм поддаются лечению, эффективность которого во многом зависит от сроков установления диагноза. Для ранней диагностики этих заболеваний успешно применяется метод tandemной масс-спектрометрии (ТМС). Метод позволяет определять метаболиты, накапливающиеся при ферментативной недостаточности, характерной для конкретной формы НБО. Клиническая диагностика НБО очень сложна в связи с многообразием и неспецифичностью симптомов. Необходимость подтверждающей диагностики – главная проблема селективного биохимического скрининга. Совместно с лабораторией ParSeq нами была разработана таргетная панель для генетической диагностики 3 групп врожденных нарушений метаболизма: аминокислотопатий, органических ацидурий и нарушений β-окисления жирных кислот, которая предполагает исследование 33 генов для диагностики 32 клинических форм заболеваний. По типу таргетных регионов панель является смешанной. Гены, ассоциированные с аминокислотопатиями, включены в виде кодирующей области, за исключением генов, ассоциированных с развитием гиперфенилаланинемии – ввиду низкой частоты данной нозологии в панель включены только хотспоты. Гены, ассоциированные с развитием органических ацидурий и нарушением обмена жирных кислот, включены также в виде хотспотов. В панель не включены нетранслируемые области. Для дизайна панели были использованы открытые генетические базы данных – ClinVar и OMIM. Общее количество локусов по обеим базам составило 1676, общее количество вариантов – 2069. Размер таргетной панели составляет 107,5 т.п.н. Панель покрывает все целевые CDS области и 2066 из 2069 клинически значимых вариантов. В настоящее время осуществляется пилотный проект внедрения указанной панели в качестве подтверждающего этапа в алгоритм проводимого селективного скрининга аминокислотопатий, органических ацидурий и дефектов β-окисления жирных кислот.

#### **П07. Метод МПС (NGS) для оценки генетического статуса эмбрионов – поиск равновесия между технологическими возможностями и клиническим прогнозом**

**М.В. Кречмар\*, С.В. Вяткина, М.А. Стрижова, Р.В. Васильев, Н.В. Корнилов**

Клиника репродукции и генетики NGC, Санкт-Петербург

NGC Research lab, Санкт-Петербург, Россия

\*krechmar.mv@mail.ru

**Мотивация:** Метод полногеномного анализа на основе МПС (NGS) применяется в ВРТ-ЭКО для оценки числа хромосом эмбрионов. Исследование клеток трофэктодермы кроме анеуплоидий показывает мозаичность, а так же делеции и дупликации. Интерпретация статуса каждого эмбриона требует понимания технологических особенностей NGS и клинического прогноза по развитию плода и ребенка.

**Цель:** определить границы возможностей клинического прогноза при различных анеуплоидиях, частичных нарушениях в одной хромосоме и мозаичных вариантах, выявленных методом NGS.

**Методы:** Высокопроизводительное секвенирование проводилось с помощью набора VeriSeq PGS Kit на MiSeq System «Illumina», обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения BlueFuse Software. Медико-генетическое заключение составлено на каждого эмбриона.

**Результаты:** Исследованы образцы трофэктодермы 5.283 эмбрионов 5 дня развития в группах пациенток и доноров ооцитов. Средний материнский возраст - 38,5 лет. В 58% образцов были выявлены отклонения, в 8% - мозаичные. Анализ генетического статуса проведен в два этапа — лабораторном и клиническом. Введена градация прогноза по степени рисков на этапы онтогенеза

— от эмбрионального, плодного до постнатального. Прогноз определен по статусу каждой хромосомы и ее участков, показавших отклонения. В 0,7% при установленной анеуплоидии эмбрион рекомендован к подсадке. В 4,7% случаев установлены делеции/дупликации участков хромосом, в 1,3% - в мозаичном варианте, что усложнило прогноз. Установленный статус «множественные анеуплоидии» может рассматриваться как вариант динамического развития эмбриона.

**Заключение:** Исследование эмбрионов методом МПС (NGS) требует комплексной оценки с учетом возможностей и ограничений технологии, митотической активности клеток с последующей клинической интерпретацией. Медико-генетический прогноз дается на все этапы развития плода и ребенка с учетом потенциала вовлеченных хромосом и роли каждой в онтогенезе.

#### **П08. Молекулярно-генетические причины хронического панкреатита**

**К.Ф. Хафизов<sup>1\*</sup>, А.А. Айгинин<sup>1</sup>, А.Д. Мацвай<sup>1</sup>, Е.В. Пимкина<sup>1</sup>, А.С. Сперанская<sup>1</sup>, Д.С. Бордин<sup>2</sup>, Е.А. Дубцова<sup>2</sup>, Л.В. Винокурова<sup>2</sup>, К.А. Никольская<sup>2</sup>, Н.А. Бодунова<sup>2</sup>, М.В. Волкова<sup>3</sup>, Г.А. Шипулин<sup>1</sup>, М.М. Литвинова<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup> ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

<sup>2</sup> ГБУЗ МНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ, Москва

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

\*khafizov@cmd.su

**Мотивация и цели:** Хронический панкреатит представляет собой важную медико-социальную и экономическую проблему. Доказано, что в развитии панкреатита генетические причины играют существенную роль, но до сих пор в России спектр мутаций в генах, связанных с патогенезом панкреатита, был изучен недостаточно. В настоящей работе была проведена оценка вклада генетических факторов в риск развития хронического панкреатита.

**Материалы и методы:** На основе анализа мировой литературы и результатов исследований, посвященных изучению генетических причин панкреатита, с использованием различных баз данных была сформирована генетическая панель для выявления генетических причин панкреатита, в которую вошли гены *CFTR*, *PRSS1*, *CTRC*, *SPINK1*, *CPA1*, *PRSS2*. Проведено секвенирование всей кодирующей последовательности перечисленных генов, кроме *PRSS2*, в котором анализировалось наличие одного протективного фактора rs61734659. Эксперимент проводился на платформе Ion S5. Для исследования на первоначальном этапе было отобрано 49 пациентов с манифестацией панкреатита в возрасте до 40 лет (среднее – 30 лет).

**Результаты:** В результате проведенного анализа у 12 из 49 пациентов выявлены генетические факторы, потенциально предрасполагающие к развитию панкреатита. У 5 из 49 больных обнаружены мутации в гене *CFTR* (R75Q, с.2620-6T>C, E217G, Q151K). У 4 из 49 пациентов выявлены известные патогенные мутации в генах *CTRC* (R254W) и *SPINK1* (с.194+2T>C, N34S, с.56-37T>C). У 5 из 49 обследуемых оказались носителями варианта A208T гена *CPA1*. У одного из пациентов был обнаружен вариант гена *PRSS1* R122H. Все варианты генов были обнаружены в гетерозиготной форме.

**Выводы:** Созданная генетическая панель может применяться для выявления генетических причин панкреатита. Для определения вклада различных генетических изменений в структуру панкреатита требуются дальнейшие исследования. Углубленное изучение данного вопроса в перспективе будет способствовать индивидуализированному подходу к лечению и профилактике данного вида патологии.

#### **П09. Оправданность применения NGS в случае сочетания синдрома трёхфалангового большого пальца и полисиндактилии с врождённым пороком сердца**

**О.В. Мельник\*, А.М. Злотина, Т.С. Лоевец, Т.Л. Вершинина, Ю.В. Фомичева, Е.С. Васичкина, Т.М. Первунина, А.А. Костарева**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

\*orangelove@yandex.ru

**Мотивация и цели:** изолированный синдром трёхфалангового большого пальца и полисиндактилии (ТРТ-ПС) – аутосомно-доминантное расстройство, ассоциированное с патогенными вариантами в гене *LMBR1*. Однако в сочетании с врождённым пороком сердца (ВПС) описан только один случай синдрома, при котором в дополнение была обнаружена делеция 22q11.21. В данной работе представлен клинический случай сочетания асимметричного синдрома трёхфалангового большого пальца и ВПС (двойное отхождение магистральных сосудов от правого желудочка со стенозом лёгочной артерии). Из анамнеза известно, что со стороны матери в 5 поколениях у 10 членов семьи наблюдается ТРТ-ПС, случаев врожденных пороков сердца зарегистрировано не было. Целью работы было уточнение этиологии сочетанного порока развития с применением новейших методов молекулярно-генетического анализа.

**Методы:** Исследование было одобрено локальным этическим комитетом. Генетическое тестирование проводилось с помощью секвенирования по Сэнгеру, сравнительной геномной гибридации (array-CGH) на основе платформы Agilent 60K и полноэкзомного секвенирования с применением набора Sure Select (Agilent) на приборе Illumina HiSeq.

**Результаты:** Таргетное секвенирование гена *TBX5* позволило исключить синдром Холта-Орама, секвенирование гена *NKX 2-5* и 5 интрона гена *LMBR1* не выявило вариантов. Методом array-CGH была идентифицирована дупликация 7q36.3 (~ 277 kb), включающая ген *LMBR1*. Для исключения моногенной причины формирования врожденного порока сердца был сформирован список патогенных и вероятно-патогенных вариантов в генах с высокой степенью экспрессии в миокарде, выявленных посредством полноэкзомного секвенирования.

**Заключение:** В случае сложных множественных пороков развития с нетипичными клиническими проявлениями оправдано одновременное применение нескольких высокоинформативных подходов генетического анализа (секвенирование по Сэнгеру, экзомное секвенирование и array-CGH) для установления точной генетической причины заболевания.

#### **П10. Опыт применения таргетного секвенирования для исследования молекулярных причин мышечной дистрофии Дюшенна/Беккера**

**М.В. Булах\*, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», г.

Москва

\*bmw\_999\_05@mail.ru

Мышечная дистрофия Дюшенна/Беккера (МДД/Б) – тяжелое X-сцепленное заболевание, являющееся самой частой формой миопатии среди мальчиков. МДД/Б обусловлена мутациями в гене *DMD*, при этом большинство случаев вызваны делециями (60%-70%) и дупликациями (5%-10%) одного или нескольких экзонов. На долю «точковых» мутаций (Single Nucleotide Variants) приходится 15%-25% всех вариантов этого гена. Вследствие большой протяженности гена *DMD* (79 экзонов) детекция этих вариантов методом секвенирования по Сэнгеру всегда

была экономически и трудозатратна. Целью работы стала разработка эффективной и относительно недорогой методики для детекции «точковых» мутаций гена *DMD* с помощью методов массового параллельного секвенирования (MPS). Материалом для работы послужили образцы ДНК 139 неродственных больных мужского пола с направляющим диагнозом «МДД/Б», у которых ранее не было выявлено протяженных делеций и дупликаций гена *DMD*, а также частых патогенных вариантов в генах, ответственных за частые в РФ формы пояснично-конечностных мышечных дистрофий (ПКМД): ПКМД 2А (*CAPN3*: c.550delA,c.598\_612del15), ПКМД 2I (*FKRP*: c.826C>A,c.229C>A) и ПКМД 2D (*SGCA*: c.229C>T,c.271G>A,c.850C>T). Поиск мутаций осуществлен с помощью кастомной таргетной NGS-панели, разработанной на базе технологии Ion AmpliSeq и включающей ген *DMD*, а также 14 генов, ответственных за миопатии, фенотипически схожие с МДД/Б. В результате патогенные и вероятно патогенные варианты были выявлены у 93 больных в 4 генах. Варианты гена *DMD* обнаружены у 87 пациентов (94% случаев), 44 из них не были описаны в литературе. Среди этих пациентов нонсенс-варианты выявлены в 51.7% случаев, 26.4% приходится на варианты, приводящие к сдвигу рамки считывания, оставшиеся 21.9% – на варианты, влияющие на сплайсинг. Также у 3 пациентов выявлены варианты в гене *LMNA*, у 2 – в гене *CAPN3*, и в одном случае выявлен вариант гена *SGCD* в гомозиготном состоянии. Следовательно, с помощью примененной MPS-методики удалось выявить причину заболевания в 67% случаев.

#### **П11. Оценка уровня метилирования регуляторного региона митохондриальной ДНК в лейкоцитах крови и атеросклеротических бляшках сонных артерий**

**М.В. Голубенко\*, А.В. Марков, А.А. Зарубин, М.С. Назаренко**

НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ

\*Maria.golubenko@medgenetics.ru

**Мотивация и цели:** Целью работы была сравнительная оценка уровня метилирования регуляторного региона (D-петли) мтДНК в лейкоцитах крови и бляшках сонных артерий пациентов с атеросклерозом. Считается, что уровень метилирования мтДНК сравнительно невысок, и цитозины в мтДНК могут быть метилированы не только в CpG-сайтах, но и в любых других позициях. Таким образом, NGS является оптимальным методом исследования метилирования мтДНК, так как позволяет изучить протяженные участки последовательности и оценить низкие значения уровня метилирования (<5%).

**Методы:** Геномную ДНК, выделенную из 12 парных образцов крови и атеросклеротических бляшек, обрабатывали бисульфитом натрия (EZ DNA methylation kit, Zymo Research). Затем проводили ПЦР бисульфит-конвертированной ДНК. ПЦР-продукт (576 п.н.) соответствовал участку 16369-375 мтДНК, содержащему 19 CpG-сайтов. ДНК библиотеки готовили с помощью набора NexteraXT (Illumina). Секвенирование проводили на приборе MiSeq (300-cycle MiSeq Reagent Nano Kit v2). Полученные прочтения после фильтрации по качеству выравнивали на конвертированную референсную последовательность мтДНК. Уровень метилирования оценивали по доле прочтений «С» относительно общего числа прочтений (С+Т) в данной позиции, при условии минимум 200х покрытия.

**Результаты:** Анализ данных показал, что все цитозиновые сайты в D-петли мтДНК имели очень низкий уровень метилирования (около 1%), как в CpG-сайтах, так и вне CpG-сайтов. Лейкоциты крови и ДНК из атеросклеротических бляшек не показали различий в уровне метилирования. Частота ошибок (доля прочтений «С» вместо референсного «Т» и «А» или «G» вместо «Т» или «С») составила в среднем 0,3%.

**Заключение:** Митохондриальная ДНК человека характеризуется низким уровнем метилирования в области D-петли, как в лейкоцитах, так и в области атеросклеротического поражения сосудов. Исследование поддержано грантом РФФИ №16-04-01481-А.

#### **П12. Патогенный вариант сайта сплайсинга при нейродегенерации с накоплением железа 4 типа (NBIA4)**

**П.А. Спарбер<sup>1\*</sup>, А.В. Марахонов<sup>1,2</sup>, А.Ю. Филатова<sup>1</sup>, И.В. Шаркова<sup>1</sup>, М.Ю. Скоблов<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва 115522.

<sup>2</sup> Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва 127473.

<sup>3</sup> Московский физико-технический институт, Московская область, Долгопрудный 141700.

\*psparber93@gmail.com

**Введение:** NBIA4 это наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования проявляющееся экстрапирамидными нарушениями, поведенческими и психиатрическими симптомами, нарушениями походки, атрофией зрительных нервов. NBIA4 развивается при наличии гомозиготных или компаунд-гетерозиготных патогенных вариантов в гене *C19orf12*. Мы описываем клинический случай 11-летнего пациента с признаками нейродегенерации и типичной МРТ картиной, характерной для накопления железа.

**Материалы и методы:** Полноэкзомное секвенирование ДНК пробанда было проведено в лаборатории «Геномед», Москва. Выявленные варианты нуклеотидной последовательности были верифицированы секвенированием по Сенгеру. Геномная ДНК была выделена из периферической крови с помощью фенол-хлороформной экстракции. Анализ изменения сплайсинга *in vitro* был проведен на клетках НЕК293Т трансфицированных миниген вектором, содержащим исследуемый вариант сайта сплайсинга. В качестве контроля был использован миниген вектор, содержащий последовательность дикого типа. ОТ-ПЦР анализ с последующим секвенированием по Сенгеру был проведен для выявления аномальных продуктов сплайсинга.

**Результаты:** В ходе полноэкзомного секвенирования были выявлены два варианта в гене *C19orf12*. Ранее описанная патогенная делеция c.204\_214del11 и ранее не описанный вариант сайта сплайсинга c.193+5G>A во втором интроне. Функциональный анализ *in vitro* показал, что вариант c.193+5G>A приводит к пропуску второго экзона. Отсутствие второго экзона сбивает открытую рамку считывания, в результате чего образуется преждевременный стоп-кодон. Наличие преждевременного стоп-кодона приводит к формированию укороченного белка длина которого составляет меньше 25% от исходной, в результате чего в нем отсутствуют все функционально значимые домены и его функция утрачивается.

**Заключение:** Таким образом, вариант c.193+5G является патогенным и причиной заболевания у нашего пациента. Это первый описанный патогенный вариант сайта сплайсинга при NBIA4.

#### **П13. Применение метода NGS (клинический экзом) для диагностики клинически гетерогенных патогенных вариантов в гене *DYNC1H1***

**Е.Г. Окунева<sup>1\*</sup>, А.А. Козина<sup>1</sup>, К.Ю. Цуканов<sup>1</sup>, П.А. Шаталов<sup>1,2</sup>, А.Ю. Красненко<sup>1</sup>, В.В. Ильинский<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> 000 «Генотек»

<sup>2</sup> Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

\*elokuneva@bk.ru

В настоящее время описаны три заболевания, в значительной мере различающиеся по клинической картине, обусловленные патогенными вариантами в гене *DYNC1H1* (MIM 600112).

Нами были выявлены патогенные варианты в указанном гене у двух пациентов с использованием метода NGS (клинический экзом). Секвенирование проводилось на геномном анализаторе HiSeq2500 (Illumina) с использованием парных прочтений длиной 100 нуклеотидов. Биоинформатическая обработка выполнена собственным программным решением компании Genotek.

1. Пациент 2 г. 10 мес. Выявлена миссенс-мутация с.5882A>T в гене *DYNC1H1*, определённая как вероятно-патогенная, ранее не описана, *de novo*. Подтверждена прямым автоматическим секвенированием по Сенгеру. Клиническая картина соответствовала аутосомно-доминантной умственной отсталости, тип 13 с нарушением нейрональной миграции (MIM 614563).

2. Пациент 16 лет. Выявлена миссенс-мутация с.751C>T в гене *DYNC1H1*, определённая как вероятно-патогенная, ранее не описана, *de novo*. Подтверждена прямым автоматическим секвенированием по Сенгеру. Клиническая картина соответствовала спинальной мышечной атрофии с преимущественным поражением нижних конечностей (MIM 158600).

Применение NGS при клинических и генетически гетерогенных состояниях оптимизирует установление точного диагноза, прогноза и проведение медико-генетического консультирования.

**Аннотация сообщения врача-генетика Козиной Анастасии Александровны, ООО «Генотек»:** Клинический случай. Пациентка 13 лет (2003 г.р.) Клинический диагноз: Спондилоэпифизарная дисплазия. Юношеский идиопатический сколиоз 4-ой степени, грудной кифоз 3-ей степени, врождённый вывих бедра с укорочением правой конечности на 7 см. Наблюдалась у ортопеда и генетика по поводу спондилоэпифизарной дисплазии. Делали анализ мочи на ГАГИ – норма. При проведении экзомного секвенирования (Клинический экзом) была выявлена миссенс-мутация в гене *COL6A1*, определённая как патогенная, ранее описана в OMIM и dbSNP как патогенная. У пациентки наличие мутации подтверждено прямым автоматическим секвенированием по Сенгеру. Родители на носительство мутации не обследованы.

Основная идея – в результате проведённого исследования диагноз поменялся с наследственного заболевания скелета на ULLRICH CONGENITAL MUSCULAR DYSTROPHY 1 (OMIM 254090) с АД типом наследования. Изменение диагноза в данном случае подразумевает другое наблюдение и лечебно-реабилитационные мероприятия.

#### **П14. Разработка метода детекции мутаций при несовершенном остеогенезе с помощью таргетного массового параллельного секвенирования**

**О.Ю. Васильева\*, С.А. Васильев, Л.П. Назаренко, А.А. Агафонова, В.В. Петрова, М.Н. Филимонова, И.Н. Лебедев, Н.А. Скрыбин**

НИИ медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр, г. Томск  
\*vasilyeva.o.yu@gmail.com

**Мотивация и цели:** Несовершенный остеогенез – одно из наследственных заболеваний соединительной ткани. В 85% случаев заболевание вызвано мутациями с аутосомно-доминантным типом наследования в одном из двух генов (*COL1A1*, *COL1A2*), кодирующих коллаген I типа. При этом для данной патологии не характерны частые мутации, в связи с чем при молекулярной диагностике требуется секвенирование всех экзонов генов *COL1A1*, *COL1A2*. Поиск мутаций в этих генах с помощью секвенирования по Сенгеру или массового параллельного секвенирования с использованием коммерчески доступных панелей является трудоемким и не всегда экономически выгодным. В связи с этим нами был разработан метод таргетного массового параллельного секвенирования для выявления мутаций в генах *COL1A1* и *COL1A2*.

**Методы:** В основе предлагаемого подхода лежит обогащение образцов с помощью ПЦР длинных фрагментов с последующим приготовлением ДНК-библиотек с использованием набора Nextera XT (Illumina), массовым параллельным секвенированием на секвенаторе MiSeq (Illumina) и обработкой полученных данных. Для данного подхода отсутствие частых мутаций не является ограничением, поскольку анализируется вся последовательность экзона и интронов генов *COL1A1* и *COL1A2*. Более того, потенциально появляется возможность обнаружения внутригенных CNV с точками разрыва в интронах.

**Результаты:** С помощью разработанного метода были проанализированы образцы ДНК от трех больных с диагнозом несовершенный остеогенез I типа. У всех обследуемых были выявлены мутации в гене *COL1A2* (замена G1000A у двух больных из одной семьи и *de novo* мутация G856A у третьего пациента). Присутствие мутаций подтверждено с помощью секвенирования по Сенгеру.

**Заключение:** разработанный метод таргетного массового параллельного секвенирования позволяет надежно выявлять мутации в генах *COL1A1* и *COL1A2*, менее трудозатратен и более экономически выгоден по сравнению с используемыми в настоящее время альтернативными подходами.

#### **П15. Роль массового параллельного секвенирования в диагностике гетерогенной наследственной патологии на примере наследственных полинейропатий**

**О.А. Щагина\*, О.П. Рыжкова, Т.Б. Миловидова, Е.Л. Дадали, А.В. Поляков**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»  
\*schagina@dnlab.ru

Наследственные периферические нейропатии – это генетически гетерогенная группа менделирующих болезней. По ЭНМГ-критерию – скорости проведения импульса по срединному нерву выделяют аксонопатии (СПИ>38м/с) и миелинопатии (СПИ<38 м/с). Трудности диагностики периферических нейропатий связаны с наличием большого числа генов (на сегодняшний день описано более 70), клинической полиморфностью даже у членов одной семьи, наличием пересекающихся фенотипов со спинальными атрофиями и наследственными параплегиями, наличием фенокопий. Кроме того, в одних и тех же генах, ответственных за полинейропатии описаны патогенные варианты, наследуемые как доминантно, так и рецессивно.

Причиной 79% всех случаев доминантных миелинопатий у российских больных являются мутации генов *PMP22*; *GJB1*; *P0*. Для доминантных аксонопатий мутации гена *MFN2* являются причиной 16% случаев болезни. Вклад других генов мал, на долю каждого из них приходится не более 2%. Вклад AP форм полинейропатий по данным разных авторов не превышает 3%.

МПС представляет лучшим вариантом для ДНК-диагностики наследственных полинейропатий. Однако, при выборе данного метода исследования необходимо учитывать, что: 1) самой частой причиной болезни является не выявляемая МПС дупликация 17p12, 2) Эффективность таргетных панелей сомнительна: все частые гены имеют небольшие размеры и могут быть исследованы с использованием секвенирования по Сенгеру, ежегодно открываются новые гены, клинически трудно различить НМСН, дСМА и ряд других нервно-мышечных заболеваний. Таким образом, на сегодняшний день оптимальным можно считать следующий алгоритм клинико-молекулярно-генетической диагностики полинейропатий: определение ЭМГ типа – поиск частых мутаций при данном типе НМСН – исследование частых генов секвенированием по Сенгеру – секвенирование экзома. Использование такого подхода позволяет не только эффективно проводить диагностику, но и дает новые знания о частых генетических вариантах, позволяющие оптимизировать диагностические алгоритмы.

## П16. Создание и результаты использования кастомной MPS-панели для диагностики наследственной тугоухости

О.Л. Миронович<sup>1\*</sup>, Е.А. Блинец<sup>1</sup>, Т.Г. Маркова<sup>2</sup>, О.П. Рыжкова<sup>1</sup>, А.В. Поляков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

<sup>2</sup> ФГБУН «Российский Научно-Практический Центр аудиологии и слухопротезирования ФМБА», Москва

**Мотивация и цели:** Нарушение слуха – самое распространенное нейросенсорное заболевание, затрагивающее в среднем 1 из 500 новорожденных и в 50% случаев имеющее наследственную природу. До трети выявленных случаев представляют собой несиндромальную форму тугоухости, обусловленную мутациями в гене *GJB2*. Однако помимо упомянутого гена на сегодняшний день известны более 60 генов, ответственных за несиндромальную тугоухость, и более 100 генов, связанных с синдромами с нарушением слуха. При отсутствии мутаций в гене *GJB2* у пациента с тугоухостью или при наличии клинической картины частого синдрома наиболее информативным способом поиска молекулярного дефекта являются методы массового параллельного секвенирования (MPS) экзона/гена. В связи с дороговизной данных методов и сложностью интерпретации полученных результатов, сегодня широко применяется MPS-панелей, включающих несколько десятков или сотен генов. Целью данной работы явилось создание эффективной и экономически выгодной таргетной MPS-панели для диагностики наследственных форм тугоухости.

**Методы:** Образцы ДНК 43 пациентов с диагнозом несиндромальная нейросенсорная тугоухость, без мутаций в гене *GJB2*, и 27 пациентов с различными синдромами (Ваарденбурга, Пендреда, BOP, CHARGE и Альстрема) исследованы с помощью разработанной MPS-панели. Панель включает 29 генов несиндромальной потери слуха, и 11 генов частых синдромальных форм. Секвенирование проводилось на платформе IonTorrent (Life Technologies). Для пробоподготовки использовалась технология AmpliSeq™.

**Результаты:** С использованием разработанной панели генов причину нарушения слуха удалось установить у 10 из 43 пациентов с несиндромальной потерей слуха (23%) и у 16 из 27 пациентов с синдромальными формами (56%).

**Заключение:** Разработанная MPS-панель показала свою эффективность для диагностики наследственных форм нарушений слуха. Информативность панели сопоставима с данными зарубежных коллег по секвенированию панелей генов тугоухости, а также полноэкзомному секвенированию.

## П17. Сочетание X-сцепленной и аутосомно-доминантной форм у пациента с врожденным ихтиозом

Д.А. Алавердян<sup>1\*</sup>, Э.С. Поленикова<sup>2</sup>, Т.Э. Иващенко<sup>3</sup>, А.М. Сарана<sup>1,4</sup>, С.Г. Щербак<sup>1,4</sup>, О.С. Глотов<sup>1,3,5</sup>, М.А. Федяков<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> СПб ГБУЗ «Городская больница № 40», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Центр планирования семьи «Медика», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Лаборатория пренатальной диагностики ФГБНУ «НИИ АГиР им. Отта», Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Кафедра последипломного медицинского образования Медицинского факультета СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup> Лаборатория геномных и протеомных исследований Института трансляционной биомедицины СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия

\*Д.А. Алавердян +7 (911)-231-15-61, ditanka17@gmail.com

**Мотивация и цели:** Наследственные болезни ороговения (ихтиозы) – большая группа клинически и этиологически гетерогенных заболеваний, объединенных общим признаком – тотальным или частичным поражением кожных покровов по типу шелушения/гиперкератоза. Наиболее частые типы ихтиозов – это X-сцепленный рецессивный и вульгарный (аутосомно-доминантный). В связи со схожестью клинической картины этих состояний медико-генетическое консультирование по прогнозу потомства нередко бывает затруднено. Проводилось молекулярно-генетическое тестирование пациента с врожденным ихтиозом для прогноза потомства.

**Материалы и методы:** Выделение ДНК для анализа проводилось сорбентным методом из лимфоцитов периферической крови. Анализ ДНК пациента был проведен на секвенаторе нового поколения «HiSeq» Illumina» методом парно-концевых чтений. Верификация полной делеции гена *STS* проводилась методом ПЦР-ПДРФ. Секвенирование по Сенгеру проводилось на аппарате ABI3500X.

**Результаты:** В ходе секвенирования нового поколения было выявлено отсутствие покрытия в области кодирующей последовательности и фланкирующих участков гена *STS*. Делеция верифицирована методом ПЦР-ПДРФ - было выявлено отсутствие продуктов амплификации 1 и 10 экзонов гена *STS* в образце пробанда в двух повторностях (все контроли – положительные). При дальнейшем анализе данных секвенирования нового поколения была выявлена мутация p.Arg2037Ter в гене *FLG* в гетерозиготном состоянии. В базах данных данная мутация ранее была описана как патогенная.

**Заключение:** Таким образом, пробанд является носителем двух патогенных мутаций, связанных с развитием различных форм наследственного ихтиоза – X-сцепленного рецессивного и аутосомно-доминантного с неполной пенетрантностью. Учитывая сходство клинической картины, рекомендовано проводить молекулярно-генетическую диагностику и гена *STS*, и гена *FLG*, для исключения сочетанных форм заболевания.

## П18. Спектр мутаций в десмосомных и не-десмосомных генах у пациентов с аритмогенной кардиомиопатией правого желудочка

А.Г. Шестаки<sup>1\*</sup>, А.А. Букаева<sup>1</sup>, О.В. Благова<sup>2</sup>, Ю.А. Лутохина<sup>2</sup>, С.Л. Дземешкевич<sup>1</sup>, Е.В. Заклязьминская<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского

<sup>2</sup> Факультетская терапевтическая клиника им. В.Н. Виноградова Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова

\*anna.shestak87@gmail.com

**Мотивация и цели:** Аритмогенная кардиомиопатия правого желудочка (АКПЖ) – генетически детерминированное заболевание миокарда с высоким риском внезапной сердечной смерти. Скрининг всех известных генов позволяет выявить мутации у 65% больных АКПЖ. Наличие мутации является большим диагностическим критерием заболевания. Цель работы: оценка диагностической эффективности таргетной панели, включающей 16 десмосомных и не-десмосомных генов, и изучение спектра мутаций у российских больных с АКПЖ.

**Методы:** Клиническое обследование проведено 50 пробандам (21М:29Ж, средний возраст 41,9 л.) с достоверным, вероятным или возможным диагнозом АКПЖ, поставленным на основе диагностических критериев [Marcus et al. 2010]. Скрининг генов *PKP2*, *DSG2*, *DSP*, *DSC2*, *JUP*, *TMEM43*, *TGFB3*, *PLN*, *LMNA*, *DES*, *EMD*, *SCN5A*, *LDB3*, *CTNNA3*, *CRYAB*, *FLNC* выполнен на платформе PGM IonTorrent, с секвенированием по Сенгеру непокрытых областей генов. Патогенность выявленных генетических вариантов оценена *in silico* с помощью ресурсов PolyPhen2,

SIFT, NetGen2, BDGP. По запросу семей выполнена ДНК-диагностика родственникам пробандов с выявленными мутациями.

**Результаты:** Среднее покрытие исследуемых генов составило 91,9%. Было выявлено 17 вероятно патогенных вариантов: 5 в гене *PKP2*, 5 - *DSG2*, 3 - *DSP*, 1 - *SCN5A*, 1 - *LMNA*, 1 - *TMEM43* (в 2 неродственных семьях); и VUCSes в генах *PKP2*, *JUP*, *LDB3* и *FLNC*. Генетические варианты со сдвигом рамки считывания или изменением сайтов сплайсинга составили 35%. Соотношение мутация:VUCS 4:1. Явление «выпадения» аллеля выявлено в 3-х экзонах. Проведен анализ выявляемости мутаций в группах с достоверным, вероятным и возможным диагнозами и суммарного вклада генетических данных в диагностику заболевания. ИКД имплантирован 12 больным.

**Заключение:** Диагностический «выход» проведенного скрининга 16 генов составил 34%. Мутации в группе больных с достоверным диагнозом АКПЖ были выявлены у 50% больных, с вероятным – у 25%, с возможным диагнозом – у 17%.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-15-10421

### **П19. X-сцепленная тугоухость у ногайцев Карачаево-Черкесской Республики Российской Федерации**

**Н.Е. Петрина<sup>1\*</sup>, А.В. Марахонов<sup>1,2</sup>, Р.А. Зинченко<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва;

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Долгопрудный;

<sup>3</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва.

\*ninarich5@rambler.ru

**Мотивация и цели:** Врожденное нарушение слуха – одно из частых заболеваний человека, встречается у 1-2 из 1000 новорожденных. Среди наследственных форм изолированная аутосомно-доминантная тугоухость встречается в 10-20% случаев, аутосомно-рецессивная в 70-80%, X-сцепленная форма в 1-2%, митохондриальная – не более 1%.

Обратившийся пробанд (мальчик) с врожденной рецессивной несиндромальной нейросенсорной тугоухостью (ННТ) имеет больного брата. Родители сибсов здоровы. Цель исследования – выявить причину тугоухости данной семьи, определить популяционную частоту найденных мутаций.

**Методы:** Поиск мутаций в генах *GJB2* и *GJB6* методом ПЦР и ПДРФ анализа, секвенированием по Сенгеру проведены пробанду, матери, сибсу. Мутаций не обнаружено.

Образец ДНК пробанда исследован с помощью таргетной MPS-панели, разработанной в лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ». Панель включает 35 генов, ответственных за развитие частых форм несиндромальной потери слуха и синдромов с нарушением слуха. Секвенирование проводилось на платформе IonTorrent (LifeTechnologies, США). Для пробоподготовки использовалась технология AmpliSeq™, представляющая собой мультиплексную ПЦР.

Поиск выявленной на MPS-панели мутации с.907C>T в гене *POU3F4* у остальных пациентов проводился методом ПЦР-ПДРФ анализа.

**Результаты:** Патогенная гемизиготная мутация с.907C>T в гене *POU3F4* (Xq21.1) обнаружена у пробанда и сибса. Мать – здоровый носитель с.907C>T. Носителем замены с.907C>T в гене *POU3F4* в популяции здоровых женщин-ногоек (198хр.) не выявлено.

**Заключение:** В Карачаево-Черкесии выявлен редчайший случай семейной смешанной НТ с X-сцепленным типом наследования. Сибсам из этой семьи рекомендована компьютерная томография височной кости для подтверждения наличия кондуктивного компонента в диагнозе. Популяционная частота мутации с.907C>T в гене *POU3F4* у ногайцев ниже 0,5%.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ 17-15-01051.

### **П20. NGS в диагностике редкого типа синдрома Адамса-Оливера-2**

**Т.В. Маркова\*, И.А. Акимова, А.Л. Чухрова, О.А. Щагина**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

\*markova@med-gen.ru

**Мотивация и цели:** Синдром Адамса-Оливера известен как сочетание врожденной аглазии кожи головы с терминальными поперечными дефектами конечностей, наследующийся преимущественно аутосомно-доминантно. Целью нашей работы явилось описание клинико-генетических характеристик двух пациентов, являющихся сибсами в одной семье, с редким вариантом синдрома Адамса-Оливера-2, наследующимся аутосомно-рецессивно и имеющим неклассические проявления.

**Методы:** ДНК выделялась по стандартной методике. Секвенирование экзона проводилось на секвенаторе Illumina NextSeq 500 с использованием панели, включающей более 20000 генов.

**Результаты:** Пробанд – девочка 1 года с тяжелыми неврологическими нарушениями, включающими микроцефалию, судороги, лейкопатию больших полушарий с заместительной внутренней гидроцефалией, спастический тетрапарез, выраженную задержку психомоторного и речевого развития, атрофию зрительных нервов и нистагм. На ЭХО-КГ – двустворчатый аортальный клапан. При глубоком фенотипическом анализе выявлен маленький очаг аглазии кожи головы размером около 1 см в затылочной области, скрытый в волосах, и сужение концевых фаланг с гипоплазией ногтей 2-5 пальцев кистей и стоп. Сибс – девочка 7 лет, имеет большой очаг аглазии кожи головы размером около 10 см по средней линии в теменно-затылочной области и практически полную аглазию ногтей и концевых фаланг 2-5 пальцев правой кисти, но с сохраненным интеллектом и отсутствием судорог в анамнезе. При проведении NGS выявлен вариант нуклеотидной последовательности в экзоне 26 гена *DOCK6* (Chr19:11333460CAG>C), приводящий к сдвигу рамки считывания, начиная с 1064 кодона, и появлению сайта преждевременной терминации трансляции (p.L1064Vfs\*60, NM\_020812.3) в гомозиготном состоянии. Данная мутация описана ранее в одной статье Lehman A. как патогенная, но в компаунд-гетерозиготном состоянии с другой мутацией. Проведена верификация выявленной мутации в семье: у пробанда подтверждена в гомозиготном состоянии, родители явились гетерозиготными носителями, у сестры выявлен этот же вариант в гомозиготном состоянии.

**Заключение:** Представленный случай демонстрирует эффективность использования NGS в диагностике редкого аутосомно-рецессивного типа синдрома Адамса-Оливера-2, обусловленного новым аллельным вариантом в гене *DOCK6*, в клинической картине которого у пробанда преобладала неврологическая симптоматика (судороги, задержка психоречевого развития), что характерно для аутосомно-рецессивного типа синдрома Адамса-Оливера. Однако отсутствие неврологической симптоматики у его сибса показывает выраженный внутрисемейный клинический полиморфизм, что необходимо учитывать при проведении медико-генетического консультирования.

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абасов Р.Х. Д25	Бордин Д.С. П08	Гундорова П. П05	Казубская Т.П. Д45	Кузнецова И.А. П05	Мухамедьярова Г.К. Д38
Абрамов И.С. Д07	Бровкина О.И. Д38	Гусев О.А. Д38	Каймонов В.С. Д24	Кулемин Н.А. Д26	Набиева Е.Р. Д19
Абрамычева Н.Ю. Д21	Брюхин В.Б. Д33	Давыденко О.Г. Д04	Канивец И.В. Д02	Курникова М.А. Д25	Назаренко Л.П. Д44, П14
Авдейчик С.А. Д28	Букаева А.А. Д16, П18	Дадали Е.Л. Д02, Д05, П15, П02	Каплун А. Д08	Лавров А.В. Д27	Назаренко М.С. П11
Агафонова А.А. П14	Булах М.В. П10	Даниленко Н.Г. Д04	Капушев Е.Р. Д19	Лебедев И.Н. Д44, П14	Наседкина Т.В. Д07
Айвазян С.О. Д35	Быкова Н.А. Д01	Демидов Л.В. Д07	Карандашева К.О. Д32	Левданский О.Д. Д04	Насретдинов А.Ф. Д38
Айгинин А.А. П08	Вайханская Т.Г. Д04	Демина Н.А. Д09	Каретникова Н.А. Д06	Литвинова М.М. П08	Натаров В.О. Д34
Акимова И.А. П01, П02, П20	Васильев Е.В. Д22	Дземешкевич С.Л. Д16, П18	Кашеварова А.А. Д44	Лобанова Н.Н. Д14	Наумов В.А. Д26
Алавердян Д.А П17	Васильев Р.В. П07	Дитковская Л.В. Д14	Кенис В.М. Д17	Логачев А.А. Д33	Наумова М.В. Д22
Алексеева Е.А. Д45	Васильев С.А. Д44, П14	Досовицкая Е.Р. Д14	Ким Л.В. Д06	Лоевец Т.С. П09	Никитин А.Г. Д38
Амплеева М.А. Д02	Васильева О.Ю. Д44, П14	Дружков М.О. Д38	Киселев А.М. Д12	Лукьянова Е.Г. Д35	Никольская К.А. П08
Андрианова М.А. Д19	Васичкина Е.С. П09	Дубинина Т.А. Д14	Кливер С.Ф. Д33	Лутохина Ю.А. П18	Ниязова С.С. Д18
Анисимова И.В. Д9, Д37	Вершинина Т.Л. П09	Дубцова Е.А. П08	Кожанова Т.В. Д35	Малов С.В. Д33	Новожилов А.Г. Д33
Антонец А.В. Д02	Ветчинова А.С. Д21	Евсюков И.В. Д33	Козина А.А. П04, П13	Манн С.Г. Д25	О'Брайен С.Д. Д33
Афанасьев А.А. Д23	Винокурова Л.В. П08	Емельянова М.А. Д07	Козлова В.М. Д45	Марахонов А.В. Д31, Д39, П03, П12, П19	Овчинникова Е.Г. Д38
Базыкин Г.А. Д19	Волкова М.В. П08	Еникеев Р.Ф. Д38	Комарьков И.Ф. Д02	Марков А.В. П11	Окунева Е.Г. П04, П13
Балашова М.С. Д16	Вяткина С.В. П07	Ефимова О.А. Д14	Комиссаров А.С. Д33	Маркова Т.В. П20	Орлова К.В. Д07
Баранов В.С. Д14	Вяхирева Ю.В. Д29, Д39	Жернакова Д.В. Д33	Комиссарова С.М. Д18	Маркова Т.Г. П16	Осипова К.В. Д35
Баранова А. Д29	Галкина В.А. П03	Жикривецкая С. Д29	Коновалов Ф.А. Д02, Д29, Д40, Д43, П03	Масчан М.А. Д25	Павлова А.В. Д25
Барбитов Ю.А. Д12, Д14	Гарушняц С.К. Д19	Жилина С.С. Д35	Корнилов Н.В. П07	Мацвай А.Д. П08	Первунина Т.М. П09
Барков И.Ю. Д06	Глотов А.С. Д12, Д14	Заклязьминская Е.В. Д16, П18	Коробков С. Д29	Мельник О.В. П09	Петрина Н.Е. П19
Бахарев В.А. Д06	Глотов О.С. Д12, Д14, Д17, П17	Зарубин А.А. П11	Коростелев С.А. Д02	Мерсиянова И.В. Д25	Петров В.М. Д22
Башнина Е.Б. Д14	Голубенко М.В. П11	Захарова В.В. Д25	Корытко Т.Е. Д14	Мещерякова Т.И. Д35	Петрова В.В. П14
Берсенева О.С. Д14	Гольцов А.Ю. Д06	Зинченко Р.А. П19	Костарева А.А. Д12, П09	Милейко В.А. Д20	Петухова М.С. Д37
Бескоровайная Т.С. Д13	Гоптарь И.А. Д34	Злотина А.М. П09	Котлукова Н.П. Д16	Миловидова Т.Б. Д13, П15	Пимкина Е.В. П08
Бессонова Л.А. Д29, Д40	Горбачев А.Ю. Д26	Иванова Е.А. Д15	Кочеткова Т.О. Д06	Миронова И.В. Д24	Питкау В.В. Д38
Благова О.В. П18	Горбунова А.В. Д33	Иващенко Т.Э. Д14, Д17, П17	Краморенко Н.В. Д41	Миронович О.Л. Д11, П16	Платонов В.В. Д14
Близнец Е.А. П16	Горгишели К.В. Д02	Иллариошкин С.Н. Д21	Красненко А.Ю. П04, П13	Михайлов В.С. Д16	Поволоцкая И.С. Д10, Д24, Д42
Бодунова Н.А. П08	Гордиев М.Г. Д38	Ильинский В.В. П04, П13	Краснов Г.С. Д07	Моляка Ю.К. Д38	Полев Д.Е. Д12, Д14, Д33
Большакова Е.С. Д35	Губина А.А. Д26	Кадникова В.А. Д03, П01	Крашенинникова К.В. Д33	Мукосей И.С. Д06	Поленникова Э.С. П17
			Кречмар М.В. П07	Мусатова Е.В. Д10, Д29	Полещук О.И. Д12

Поляков А.В. Д03, Д11, Д13,  
Д15, П01, П05, П10, П15, П16

Полянская М.А. Д14

Померанцева Е.А. Д10, Д24,  
Д29, Д42

Попов С.В. Д28

Попов С.А. Д26

Предеус А.В. Д12, Д14

Притыко А.Г. Д35

Пьянков Д.В. Д02

Раджабова Г.М. Д16

Райкина Е.В. Д25

Раменский В. Д30

Реутов П.И. Д26

Романова О.В. Д14

Роткевич М.С. Д33

Руденская Г.Е. Д03

Румянцева В.А. Д16

Рыжкова О.П. Д03, Д11, Д13,  
Д15, Д36, П01, П05, П10, П15,  
П16

Рябая О.О. Д07

Сакаева Д.Д. Д38

Сарана А.М. Д14, Д17, П17

Семенова Н.А. Д09, Д37

Серебрякова Е.А. Д12, Д14

Сивицкая Л.Н. Д04

Сидоров С.И. Д33

Симонов С.А. Д33

Скобелева К.В. Д14

Скоблов М.Ю. Д29, Д31, Д39,  
Д40, П12

Скородок Ю.Л. Д14

Скрябин Н.А. Д44, П14

Спарбер П.А. Д39, П12

Сперанская А.С. П08

Стрельников В.В. Д45, Д46

Стрижова М.А. П07

Ступко О.К. Д06

Сурвило В.Л. Д34

Суркова Е.И. Д02

Тамазян Г.С. Д33

Тетруашвили Н.К. Д06

Тихонов А.А. Д23

Толмачева Е.Н. Д44

Толмачева Е.Р. Д02

Трофимов Д.Ю. Д06

Туркунова М.Е. Д14

Тыртова Д.А. Д14

Тыртова Л.В. Д14

Тюльпаков А.Н. Д22

Устинова В.В. Д21

Ушакова Т.Л. Д45

Фаисханова Р.Р. Д38

Федотова Е.Ю. Д21

Федяков М.А. Д14, Д17, П17

Филатова А.Ю. Д39, Д40, П12

Филимонова М.Н. П14

Фомичева Ю.В. П09

Фреире В. Д39, Д40

Хафизов К.Ф. П08

Хлебникова О.В. П02

Хмелькова Д.Н. Д02

Ходырев Д.С. Д38

Цораева Ф.З. Д14

Цуканов К.Ю. П04, П13

Чакова Н.Н. Д18

Черкасов Н.А. Д33

Черняева Е.Н. Д33

Чурюмова Ю.А. П06

Чухрова А.Л. Д11, П01, П20

Шабанова Е.С. Д14

Шагимарданова Е.И. Д38

Шарков А.А. Д02

Шаркова И.В. П02, П12

Шаталов П.А. П04, П13

Швед Н.Ю. Д14

Шевченко А.К. Д33

Шестак А.Г. П18

Шигапова Л.Х. Д38

Шипулин Г.А. П08

Шитиков С.А. Д01

Шлихт А.Г. Д41

Шляга С.В. П06

Шорина А.Р. Д44

Шпилюкова Ю.А. Д21

Шубина Е. Д06

Шумарина А.О. Д02

Шумская И.С. Д38

Щагина О.А. Д13, П01, П15, П20

Щербак С.Г. Д14, Д17, П17

Щербакова И.В. Д12

Щербатюк Ю. Д29

Яроцкий Д.А. Д19

