



NGS в медицинской генетике

Пятая международная научно-практическая конференция

Научная программа

Тезисы конференции

Суздаль
28-30 апреля 2021

Золотые спонсоры

ThermoFisher
SCIENTIFIC



Серебряные спонсоры



Спонсоры



Организатор конференции: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова»

Даты проведения: 28-30 апреля 2021 г.

- Заезд участников конференции: 28 апреля
- Регистрация участников: 28 апреля, 10:00-12:00
- Работа выставки конференции: 28-29 апреля

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

Питание

- Завтраки включены в стоимость номера (ресторан «На Пинаихе»)
- Обеды и ужин 28.04 включены в стоимость пакета участника (ресторан «На Пинаихе»)
- Кофе-брейки (на территории конференции и выставки)
- Банкет по приглашениям 29 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: 28 апреля от ж/д вокзала г. Владимира в 09:00
- После закрытия конференции: 30 апреля из «Пушкарской слободы» до ж/д вокзала г. Владимира в 17:00

Сайт конференции: ngs.med-gen.ru

Контакты оргкомитета: mngns@med-gen.ru



WorkShop представляет собой форму публичного обсуждения или освещения каких-либо вопросов по определенной 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 – 40-60 минут.

WorkShop 1.

Применение компьютерных алгоритмов в практике врача-генетика

Ведущий – Н.А. Семенова

В последнее время возрастает роль компьютерных диагностических программ в клинической практике врача-генетика. Разрабатываются и внедряются компьютерные системы, позволяющие установить диагноз на основе комплекса клинических и биометрических данных пациента. «Face2gene» – один из автоматизированных алгоритмов, предназначенный для «портретной диагностики» наследственных болезней, способен упростить работу врача-генетика в установлении заболевания у пациента с особенностями фенотипа. Точный клинический диагноз позволит выбрать оптимальную подтверждающую диагностическую тактику. Будет представлен опыт применения этого и некоторых других компьютерных программ в работе клинического генетика, и также анализ их эффективности. Может ли компьютерный алгоритм заменить работу врача?

WorkShop 2.

Как применять данные генетических тестов в лечении пациентов с эпилепсией и нарушением развития (neurodevelopmental disorders) на практике

Ведущий – А.А. Шарков

Зачем делать генетику, если семья не планирует детей? От генотипа к лечению, и от лечения к генотипу: когда знание клиники приводит к неожиданным результатам генетики. Не таблеткой единой (not by drug alone): что можно предложить пациенту из немедикаментозного лечения. Bench to bedside: от пробирки к постели больного. Генная терапия и будущие перспективы. На сессии будут разобраны разные модели выбора терапии для пациентов с эпилепсией и двигательными нарушениями, изменение алгоритма лечения с учетом данных генетического тестирования, а также много клинических случаев и интерактивное голосование.

WorkShop 3.

Переанализ NGS данных

Ведущий – Ф.А. Коновалов

Кто из врачей не получал «пустое» заключение по результатам секвенирования или результат с неподходящими вариантами? Сколько раз не подтверждалась патогенность даже интересных находок? Каждому знакома эта ситуация: в генетической природе патологии нет особых сомнений, однако молекулярная причина так и не найдена. Иногда перед тем, как двигаться дальше, имеет смысл сделать повторный анализ данных секвенирования: например, он может проводиться другими специалистами, по прошествии времени или при заметном уточнении клинической картины. На нашем воркшопе мы обсудим роль такого переанализа, его задачи и возможности.

В последний день конференции традиционно пройдет несколько круглых столов на различные темы. Столы – это место для дискуссий самых актуальных вопросов. Результатом этих обсуждений становятся формирование профессиональных сообществ, выработка рекомендаций и многое другое.

№1. Руководство для врачей клинических специальностей по использованию геномных данных

Ведущий – А.О. Боровиков

«Рекомендована консультация врача генетика» – знакомая фраза? Хотя методы NGS диагностики уже стали рутинными в работе врачей клинических специальностей, отсутствует единый подход к анализу вариантов нуклеотидной последовательности и клинической картины пациентов при обратном фенотипировании. Иногда варианты могут получать кардинально отличающуюся оценку значимости разными специалистами, а пациенты могут наблюдаться с неверным диагнозом или «терять» верно установленные. В рамках круглого стола приглашенные докладчики представят сложные клинические случаи с последующим обсуждением необходимости создания рекомендаций для клиницистов по оценке вариантов нуклеотидной последовательности от лица профессионального врачебного сообщества.

№2. Руководство по интерпретации NGS данных в онкологии

Ведущий – Д.С. Михайленко

Уже не первый год NGS широко используется для диагностики наследственных онкологических синдромов и профилирования соматических мутаций в онкологии. Несмотря на это, вопросов к интерпретации NGS-тестов меньше не становится. Специфика NGS в онкологии – это большое количество впервые выявленных мутаций с разной степенью патогенности, особенно, если дело касается соматических мутаций в опухолевом материале. Пока биоинформатики спорят о подходах к реклассификации VUSov и оценке патогенности генетических вариантов, лабораторные генетики ломают голову над тем, что написать в заключении онкологу и пациенту. Может быть, с чистой совестью указать все, что нашли, выделив сперва патогенные мутации и снабдив заключение в конце большой таблицей VUSov? Но такое заключение нередко проблемно консультировать врачу, и оно может быть неверно истолковано пациентом. Удариться в другую крайность: указать только известные патогенные мутации и только при данном патоморфологическом типе опухоли, и в ряде случаев получить заключение типа «при секвенировании экзона опухоли мутации не выявлены»? Тоже не годится.... В формате круглого стола ведущие эксперты-онкогенетики расскажут о современных подходах к оценке патогенности мутации, формировании диагностического заключения по NGS-анализам, поделятся проблемными клиническими случаями из своей практики и обсудят недавно опубликованные рекомендации.

№3. Руководство по интерпретации NGS данных в медицинской генетике

Ведущий – О.П. Рыжкова

С внедрением NGS секвенирования в клиническую практику, возникла необходимость разработки единых правил классификации вновь выявляемых вариантов, первые из которых были предложены в 2013 году американским сообществом медицинских генетиков (ACMG). Они лежат в основе руководств, принятых в большинстве стран мира. Однако, эти рекомендации все еще претерпевают изменения и актуализируются. Делаются попытки не только определять патогенность варианта, но и его причинность в каждом конкретном случае. Наиболее кардинальными являются предложения, выдвинутые на съезде европейского общества медицинских генетиков (ESHG). Насколько они применимы при написании заключений и стоит ли их внедрять в практику обсудим на круглом столе?

С течением времени накапливаются сведения не только о «целевых» вариантах, предположительно приводящих к патологии у конкретного больного, но и вариантах, ассоциированных с заболеваниями, которых нет в направительном диагнозе («вторичные находки»). Какие из них выявляются и как часто? Достаточен ли список генов, информацию о вариантах в которых необходимо выносить в заключение? Помогает ли знание о них на практике – еще один важный аспект обсуждения.

28 апреля, среда Зал «Романовский»

10:00 – 12:00	Регистрация	
Сателлитный симпозиум компании Thermo Fisher Scientific		
12:00 – 13:00	Открытие симпозиума. Представление коммерческого партнера – компании «Аламед»	<i>Е. Чеховских</i>
	Определение мутационной нагрузки с помощью панели Opcomine: исследование рака мочевого пузыря и обзор современных публикаций	<i>Д.С. Михайленко</i>
	Выявление возможных транслокаций у супружеских пар по результатам исследований хромосомного профиля клеток трофэктодермы, выполняемых методом NGS (полупроводниковое секвенирование) в программах ЭКО с ПГТ-А	<i>Н.Э. Скобликов</i>
	Опыт применения таргетных NGS-панелей AmpliSeq и панелей для кПЦР OpenArray в диагностике наследственных нарушений липидного обмена	<i>А.Н. Мешков</i>
	Хромосомный микроматричный анализ: новая платформа – новые возможности	<i>И.В. Канивец</i>
	Вопросы, закрытие симпозиума	
13:00 – 14:00	Обед	
NGS – подведение итогов 6 лет <i>Модераторы: М.Ю. Скоблов, А.В. Лавров</i>		
14:00 – 14:05	Открытие конференции	<i>М.Ю. Скоблов, А.В. Лавров, С.И. Куцев</i>
14:05 – 14:30	Современный ландшафт молекулярных методов в диагностике наследственных болезней	<i>А.В. Лавров</i>
14:30 – 14:55	Анализ экзомных и геномных данных в диагностике наследственных заболеваний: опыт, наблюдения и тенденции	<i>Ф.А. Коновалов</i>
14:55 – 15:20	Жизнь после NGS	<i>М.Ю. Скоблов</i>
15:20 – 15:35	Перерыв	
Клиническая генетика <i>Модераторы: Е.В. Заклязьминская, Н.А. Семенова</i>		
15:35 – 15:55	Один пациент – один генетический диагноз – уходящая концепция?	<i>Е.В. Заклязьминская</i>
15:55 – 16:10	Опыт применения технологии мономолекулярного секвенирования для поиска мутаций при гипертрофической кардиомиопатии	<i>М.В. Голубенко</i>
16:10 – 16:25	Дифференциальная диагностика СМА и врожденных миопатий с использованием таргетной MPS панели	<i>П.А. Чаусова</i>

16:25 – 16:35	Применение метода NGS в диагностике дистрофического типа буллезного эпидермолиза	<i>Ю.Ю. Коталевская</i>
16:35 – 16:50	Применение секвенаторов DNBSEQ в клинической диагностике	<i>Д. Хачин</i>
16:50 – 17:30	WorkShop 1. Применение компьютерных алгоритмов в практике врача-генетика. Приглашенные участники: Е.В. Заклязьминская, Д.М. Гусева	<i>Н.А. Семенова</i>
17:30 – 18:00	Кофе-брейк	
Новые подходы в онкодиагностике методами NGS <i>Модераторы: А.Е. Друй, В.А. Милейко</i> Спонсор секции 000 «Кайджен Рус»		
18:00 – 18:15	Разработка подходов на основе дуплексного секвенирования ДНК для анализа частоты и спектра соматических мутаций в нормальных и опухолевых тканях	<i>Н.В. Митюшкина</i>
18:15 – 18:30	Анализ генных перестроек методом таргетного высокопроизводительного секвенирования в диагностике рака щитовидной железы	<i>В.Д. Якушина</i>
Минутки (короткие сообщения)		
18:30 – 18:37	Младенческая печеночная недостаточность, обусловленная мутациями в гене <i>TRMU</i> , описание клинического случая	<i>Т.Ю. Лесниченко</i>
18:37 – 18:44	Опыт применения NGS для определения соматических мутаций у детей с опухолями головного мозга (ОГМ)	<i>А.В. Пунько</i>
18:44 – 18:51	Оценка вклада генетических факторов в развитие первично множественных злокачественных новообразований с использованием высокопроизводительного секвенирования	<i>И.С. Абрамов</i>
18:51 – 18:58	Применение результатов NGS и искусственного интеллекта для оценки генетической предрасположенности к плоскоклеточному раку головы и шеи	<i>И.В. Узаров</i>
18:58 – 19:05	Роль генетических факторов в формировании клинического типа у пациентов с нейрофиброматозом II типа: результаты пилотного исследования	<i>Е.С. Манашова</i>
19:05 – 19:12	Поиск маркеров эффективности терапии ингибиторами тирозинкиназ при хроническом миелоидном лейкозе на этапе диагностики заболевания	<i>Э.П. Адильгереева</i>
19:15 – 21:00	Ужин и отдых	
21:00 – 23:00	Приветственный фуршет и постерная сессия	

29 апреля, четверг Зал «Романовский»

8:00-9:00	Завтрак	
	Клиническая генетика Модераторы: Е.Ю. Захарова, О.А. Щагина	
9:00 – 9:20	Моногенные и не очень: сочетание двух наследственных болезней	Е.Ю. Захарова
9:20 – 9:30	Клинико-генетическая характеристика больных с нейродегенерацией с накоплением железа в головном мозге 4 типа	П.А. Спарбер
9:30 – 9:40	Исследование частот наследственных нейропатий, обусловленных мутациями в генах <i>GDAP1</i> и <i>SH3TC2</i> , в РФ	А.Ф. Муртазина
9:40 – 9:50	Молекулярно-генетическая диагностика синдрома Барде-Бидля и выявление частого патогенного варианта в гене <i>BBS7</i> у российских пациентов	М.Д. Орлова
9:50 – 10:00	Спектр мутаций у детей с врожденными пороками развития мочеполовой системы результатам исследования, полученные методом NGS	В.А. Румянцева
10:00 – 10:40	WorkShop 2. Как применять данные генетических тестов в лечении пациентов с эпилепсией на практике Приглашенные участники: А.О. Боровиков, Е.С. Макашова	А.А. Шарков
10:40 – 11:10	Кофе-брейк Многоликий NGS Модераторы: О.С. Глотов, М.В. Голубенко Спонсор секции ООО «Рош Диагностика Рус»	
11:10 – 11:25	Эффективность NGS диагностики для разных заболеваний	О.С. Глотов
11:25 – 11:35	Новый подход к контролю качества данных NGS в области генетической диагностики	М.В. Иванов
11:35 – 11:45	Вклад «выпадения» аллеля (allelic drop-out) в ограничение диагностической эффективности ПЦР-опосредованного секвенирования	А.Г. Шестак
11:45 – 12:00	Возможности НГС в рутинной практике – сегодня и завтра	И.А. Демидова
12:00 – 12:15	NGS – в массы: опыт внедрения и новые перспективы первого зарегистрированного теста в онкологии	Т. Григорьева
	Минутки (короткие сообщения)	
12:15 – 12:22	Клинический случай синдрома Таттон-Браун-Рахман.	Ф.М. Бостанова
12:22 – 12:29	LoF вариант как причина <i>TUBB</i> -ассоциированного расстройства	О.А. Левченко
12:29 – 12:36	Гомозиготные мутации в гене <i>TRIP4</i> как причина врожденной мышечной дистрофии, тип Давиньон-Шове (клинический случай)	С.С. Жилина

12:36 – 12:43	Вариант нуклеотидной последовательности в гене <i>ADNP</i> – причина редкого генетического синдрома Хельсмуртел-ван дер Аа (клинический случай)	Т.В. Кожанова
12:43 – 12:50	Сложные <i>PAX6</i> -ассоциированные фенотипы и возможности диагностики методом NGS	Т.А. Васильева
12:50 – 12:57	Полноэкзомный анализ сперматогенеза в преселектированной выборке из российских мультиэтнических популяций	А.В. Осадчук
12:57 – 13:04	Выявление возможных транслокаций у родительских пар по результатам исследований хромосомного профиля клеток трофэктодермы, выполняемых методом NGS (полупроводниковое секвенирование) в программах ЭКО с ПГТ-А	Т.А. Мараховская
13:05 – 14:00	Обед Биоинформатический анализ данных NGS Модераторы: Ф.А. Коновалов, А.П. Корбут	
14:00 – 14:10	Применение подхода распределенных вычислений к созданию веб-приложения для клинической интерпретации геномных данных	Н.А. Кулемина
14:10 – 14:20	Автоматизация подготовки данных NGS пациентов для интерпретации. Опыт медицинских генетиков	Ю.В. Вяткин
14:20 – 14:30	Биоинформатические подходы к определению пола при анализе данных NGS	Н.А. Зубашенко
14:30 – 14:40	Опыт детекции клинически значимых вариаций числа копий ДНК в данных полноэкзомного секвенирования	А.А. Твеленева
14:40 – 14:50	Диагностика мозаичных CNV с использованием данных таргетного высокопроизводительного секвенирования (NGS)	Н.О. Карандашева
14:50 – 15:05	Технология пространственной транскриптомики в исследованиях неоднородности опухолей от пробоподготовки до анализа и визуализации NGS данных	И. Портнова
15:05 – 15:45	WorkShop 3. Переанализ NGS данных Приглашенные участники: М.В. Шарова, Ф.А. Коновалов	
15:45 – 16:15	Кофе-брейк Поиски новых решений в медицинской генетике Модераторы: М.Ю. Скоблов, А.Н. Тюльпаков	
16:15 – 16:35	Опыт исследования вариантов нуклеотидной последовательности, нарушающих сплайсинг	А.Ю. Филатова
16:35 – 16:55	Функциональный анализ редких вариантов при моногенных формах сахарного диабета	А.Н. Тюльпаков

29 апреля, четверг Зал «Романовский»

16:55 – 17:10	Влияние хромосомной патологии на пространственную организацию генома	<i>П.А. Васильев</i>
17:10 – 17:20	Первый опыт использования обогащенных ЗС-библиотек для геномной диагностики наследственных заболеваний	<i>В.С. Фишман</i>
17:20 – 17:30	Перестройки гена <i>TCF3</i> у детей с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом	<i>Е.А. Зеркаленкова</i>
17:30 – 17:40	Высокопроизводительное HLA-типирование для создания регистров доноров	<i>Т.С. Симакова</i>
Минутки (короткие сообщения)		
17:40 – 17:47	Исследование влияния варианта с.859A>G в гене <i>ADSL</i> на сплайсинг пре-мРНК	<i>К.А. Давыденко</i>
17:47 – 17:54	Семейный случай анемии Даймонда-Блекфена: мутация в сплайс-сайте и неполная пенетрантность	<i>Л.О. Скородумова</i>
17:54 – 18:01	Функциональный анализ однонуклеотидных замен rs2072580 и rs590352, связанных с предрасположенностью к развитию онкологических заболеваний	<i>А.О. Дегтярева</i>
18:01 – 18:10	Групповая фотография. Романовский зал	
18:10 – 19:30	Перерыв	
19:30 – 20:00	Трансфер до Гала-ужина от центрального входа Пушкирки	
20:00 – 23:00	Гала-ужин	

30 апреля, пятница

8:00 – 10:00	Завтрак, Check-out	
	ПГТ	
	<i>Модераторы: М.В. Кречмар, С.А. Авдейчик</i>	
10:00 – 10:20	Применение результатов экзомного/геномного секвенирования в дородовой диагностике	<i>Е. Шубина</i>
10:20 – 10:35	Комплексные генетические тесты на основе NGS с целью тестирования на носительство: между возможностью, ответственностью и реальностью	<i>М.В. Кречмар</i>
10:35 – 10:50	Опыт использования высокопроизводительного секвенирования NGS в дородовой диагностике	<i>Т.И. Янова</i>
10:50 – 11:00	Опыт применения полноэкзомного секвенирования в качестве метода прекоцепционного скрининга носительства рецессивных заболеваний	<i>А.П. Корбут</i>

30 апреля, пятница Зал «Романовский»

11:00 – 11:10	Инновационная тест-система для преимплантационного генетического тестирования (ПГТ)	<i>С.В. Попов</i>
11:10 – 11:20	Сравнительная характеристика структуры хромосомных аномалий в циклах PGT-A среди разных медицинских центров	<i>С.А. Авдейчик</i>
11:20 – 11:35	Секвенирование нового поколения в диагностике и профилактике рождения больного ребенка	<i>Ж.И. Глинкина</i>
11:35 – 11:42	Согласованность результатов генетических методов при неразвивающейся беременности: клинический случай	<i>В.П. Пушкарёв</i>
11:45 – 12:15	Кофе-брейк, Check-out	
	Круглый стол по научно-практическим вопросам	
	<i>Модераторы: А.В. Лавров, М.Ю. Скоблов</i>	
12:15 – 12:45	«Руководство для врачей клинических специальностей по использованию геномных данных» ведет А.О. Боровиков	
	Обсуждение алгоритмов интерпретации результатов диагностики методом NGS для врачей клинических специальностей	<i>А.О. Боровиков</i>
12:45 – 13:25	«Руководство по интерпретации NGS данных в онкологии» ведет Д.С. Михайленко	
	Клиническая интерпретация: когда вариант является патогенным?	<i>О.И. Бровкина</i>
	Клинические примеры неоднозначных интерпретаций	<i>Т.В. Кекеева</i>
	Острые вопросы интерпретации: что вы не найдете ни в одном руководстве	<i>В.А. Милейко</i>
13:25 – 14:05	«Руководство по интерпретации NGS данных в медицинской генетике» ведет О.П. Рыжкова	
	Случайные находки, выявленные при проведении экзомного секвенирования у российских больных	<i>О.Л. Шатохина</i>
	Частота встречаемости и спектр мутаций в генах <i>BRCA1/2</i> , сообщенных в качестве вторичных находок по результатам полноэкзомного/полногеномного секвенирования в выборке из 3000 пациентов	<i>Д.Н. Хмельнова</i>
	Интерпретация выявляемых вариантов с учетом как патогенности, так и каузативности	<i>О.П. Рыжкова</i>
14:05 – 14:10	Закрытие	
14:10 – 15:10	Обед	
17:00	Отъезд автобуса	

ШКОЛА АНАЛИЗА NGS ДАННЫХ MGNGS SCHOOL'21



С 21 по 25 июня 2021 в Москве пройдет долгожданная пятая школа анализа NGS данных «MGNGS School'21»! Основное направление школы – освоение навыков по анализу и интерпретации данных, полученных при NGS секвенировании ДНК пациентов с наследственными заболеваниями. На этой школе 80% времени будет посвящено практической работе: анализ NGS данных, полученных при секвенировании панелей/экзомов/геномов пациентов, поиск и интерпретация патогенных вариантов, изучение баз данных и многое другое. Вся работа построена на детальном разборе и анализе различных случаев моногенных заболеваний. Во время занятий вы не раз пройдете самостоятельно весь путь от анализа NGS-данных и клинической картины пациента до формирования своего собственного заключения. Мы также разберем с вами базовые аспекты технологии пробоподготовки и платформ секвенирования, а также общие принципы первичной обработки данных.

В конце 5-и дневного курса будет экзамен. Успешно сдавшие его слушатели получают сертификаты выпускников Школы. Возрастных или других ограничений для участников нет, но рекомендуем ознакомиться с дополнительной информацией участникам. Количество мест на школу – 35.

Регистрация до 21 мая 2021

Даты проведения: 21-25 июня 2021

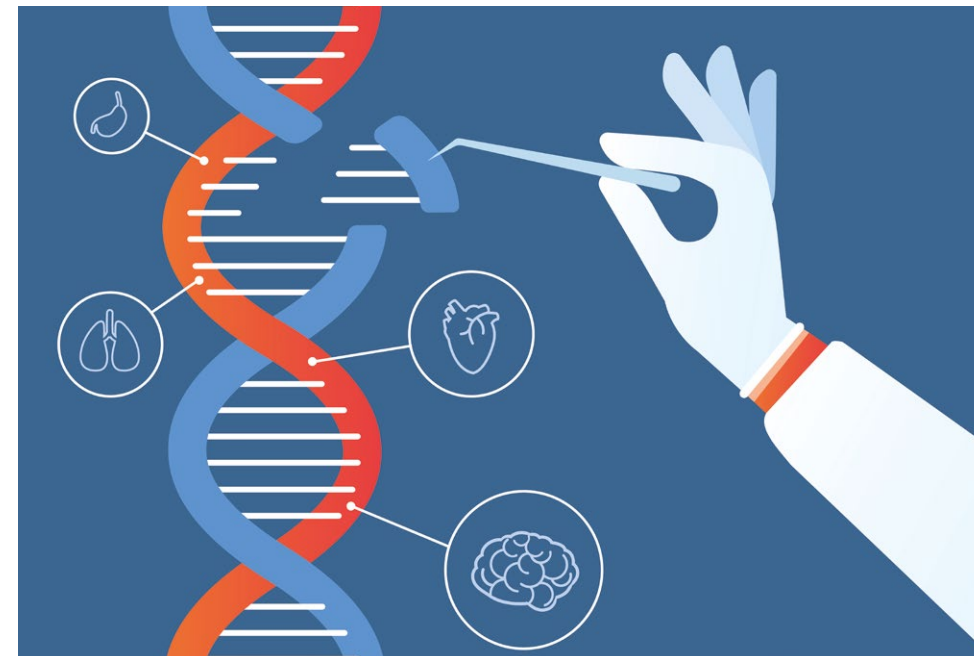
Место проведения: Москва, ул. Нижняя Сыромятническая, д. 10, стр. 12, 5 этаж – учебный центр RMA

Школа проводится очно.

Подробная информация на сайте <http://ngs.med-gen.ru/mgngs-school21/>



ГЕНОМНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ В МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКЕ 2021



1 июля 2021 года в Москве в рамках IX Съезда Российского общества медицинских генетиков состоится Вторая международная научно-практическая конференция «Геномное редактирование в медицинской генетике 2021» – MGEediting'21.

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 ученых, врачей-лаборантов генетиков и других специалистов по разработке методов лечения орфанных заболеваний методами редактирования генома.

Регистрация до 30 июня 2021

Место проведения: Москва, Новый Арбат, д. 36, Здание Правительства Москвы

Конференция проводится очно. Участие бесплатное

Подробная информация на сайте <http://ngs.med-gen.ru/MGEediting20/>





KAPA Target Enrichment System

Возможность анализа различных генетических маркеров в геноме человека методом NGS

KAPA HyperChoice¹

Кастомная система гибридизационных зондов, для таргетного обогащения любых генов или регионов в геноме человека. Выберите только то, что интересно вам.

KAPA HyperExome¹

Оптимизированный экзом человека, общим размером 43 Mb. Глубокий охват кодирующих регионов всех известных генов.

Система KAPA Hyper – это полный комплекс реагентов пробоподготовки образцов с таргетным обогащением, совместимый с платформами Illumina.

ООО «Рош Диагностика Рус»:

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

Тел.: +7 495 229-69-99

Факс: +7 495 229-62-64

<https://diagnostics.roche.com/ru/ru/home.html>

HYPERCHOICE, HYPEREXOME и KAPA являются товарными знаками Рош. Все прочие объекты интеллектуальной собственности принадлежат соответствующим правообладателям.

¹За более подробной информацией о продуктах HyperChoice и HyperExome обратитесь к локальному представителю Рош

ТОЛЬКО ДЛЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ. НЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ.



Свяжитесь с нами:
+7 (495) 614-45-97
info@alamed.ru

Решения в Life Sciences

Все необходимое для каждого этапа секвенирования: от выделения ДНК до секвенирования и получения результатов анализа!



QIAcuity, QIAGEN



Genexus,
Thermo



First Genetics



LightCycler 96, ROCHE



Magna Pure,
ROCHE



Реагенты Kapa



Qubit Flex,
Thermo



Thermo
SCIENTIFIC



SONY

SERVA
Electrophoresis



www.alamed.ru



QIAseq® Human Exome Kit

Готовый экзом от QIAGEN – пробоподготовка и биоинформатика «под ключ»!

Панель QIAseq Human Exome включает в себя все необходимые компоненты для проведения обогащения экзома человека методом гибридизации и создания библиотек для платформ Illumina и Thermo Fisher Scientific.

- **Оптимальный размер экзома – 33 Mb**

Панель содержит двуцепочечные ДНК-зонды для обогащения экзома, размер которого составляет 33 Mb. В панель включены кодирующие последовательности высококонсервативных генов базы CCDS. Размер обогащаемой области составляет всего 37 Mb. Исключительная гомогенность покрытия снижает до 50% затрат на сиквенс в сравнении с другими экзомными решениями.

- **Быстрый протокол гибридизации – от 30 минут до 4 часов**

Протокол позволяет использовать различное время гибридизации от 30 минут до 4 часов. Возможно проведение реакции в течение ночи. Для исследований, требующих покрытие 100x и менее, рекомендуется 30-ти минутная гибридизация. Сам протокол легко автоматизируется и масштабируется.

- **8 образцов за одну гибридизацию**

Реакция гибридизации может быть от одно- до восьмикратной для достижения максимальной эффективности эксперимента.

- **Полностью готовая обогащенная библиотека всего за 1 день**

Общее время протокола составляет всего 6-9,5 часов, включая гибридизацию.

- **Биоинформатика «под ключ»**

Панель является частью готового решения, которое включает обработку полученных данных и их клиническую интерпретацию. Время обработки «сырых» данных FASTQ с программным обеспечением CLC Genomics Workbench составляет всего 60 минут, включая выравнивание и variant calling. Облачный интерфейс QCI Interpret позволяет за считанные минуты определить клинически значимые варианты и предоставить исчерпывающие литературные данные и гайды по каждому образцу.

Набор QIAseq Human Exome Kit предназначен для применения в молекулярной биологии и не предназначен для диагностики, профилактики или лечения заболеваний. Торговые марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAseq® (QIAGEN Group). Зарегистрированные названия, товарные знаки и т. д., используемые в этом документе, даже если они специально не отмечены как таковые, не должны считаться незащищенными по закону. Copyright © 2021 QIAGEN, все права защищены.

Sample to Insight

qiagenrus@qiagen.com | +7-499-703-15-56 | www.qiagen.moscow

ion torrent

Новый день для вашей лаборатории Новый мир NGS



От образца до отчета за один день,
благодаря полной автоматизации рабочего процесса

Представляем систему Genexus

Система Ion Torrent™ Genexus™ – это первое готовое решение для секвенирования следующего поколения (NGS) с полностью автоматизированным рабочим процессом от образца до отчета, обеспечивающая результаты в течение одного дня, всего в два касания.

Эта чрезвычайно гибкая система позволяет обрабатывать образцы экономически эффективно - даже по одному, по мере их поступления. Ее простота и практичность помогут вам внедрить NGS самостоятельно, независимо от вашего опыта в NGS.

Особенности

- Беспрецедентная автоматизация от образца до отчета и простота использования - всего 10 минут ручного труда и два касания для запуска прибора
- Время от биологического образца до отчета – всего один день
- Возможность экономически эффективно анализировать отдельные образцы, снижая необходимость в их накоплении, а также расширение возможностей для достижения быстрых результатов

Найдите больше
на [thermofisher.com/newday](https://www.thermofisher.com/newday)

ThermoFisher
SCIENTIFIC



Тезисы конференции

ОГЛАВЛЕНИЕ

Устные доклады	27
----------------------	----

Д1. Опыт применения технологии мономолекулярного секвенирования для поиска мутаций при гипертрофической кардиомиопатии.....	27
--	-----------

М.В.Голубенко, Р.Р.Салахов, А.В.Марнов, Н.П.Бабушкина, Н.Р.Валиахметов, А.Ф.Канев, Е.Н.Павлюкова, М.С.Назаренко

Д2. Системный анализ качества секвенирования образцов экзоса человека на платформе MGISEQ-2000	27
---	-----------

В.А.Белова, А.С.Павлова, Р.Н.Афасижев, В.Н.Москаленко, М.Коржанова, А.А.Кривой, В.В.Черанев, Б.А.Никашин, И.А.Булушева, Д.В.Ребриков, Д.О.Коростин

Д3. Применение компьютерных алгоритмов в практике врача-генетика	28
---	-----------

Н.А.Семенова, Д.М.Гусева, Т.В.Маркова, Н.А.Демина

Д4. Разработка подходов для анализа частоты и спектра соматических мутаций в нормальных и опухолевых тканях на основе дуплексного секвенирования ДНК.....	29
--	-----------

Н.В.Митюшкина, М.М.Холматов, И.В.Бизин, Г.А.Янус, А.О.Иванцов, Е.Ш.Кулигина, Е.Н.Имянитов

Д5. Анализ генных перестроек методом таргетного высокопроизводительного секвенирования в диагностике рака щитовидной железы.....	30
---	-----------

В.Д.Якушина, Т.Ф.Авдеева, Т.П.Казубская, Т.Т.Кондратьева, Л.В.Лернер, А.В.Лавров

Д6. Младенческая печеночная недостаточность, обусловленная мутациями в гене <i>TRMU</i>, описание клинического случая	30
--	-----------

Т.Ю.Лесниченко, Н.А.Семенова, П.Г.Цыганкова, Е.Л.Дадали, Т.В.Строкова, Н.Н.Таран, И.А.Кузьмичева

Д7. Опыт применения NGS для определения соматических мутаций у детей с опухолями головного мозга (ОГМ)	31
---	-----------

А.В.Пунько, Т.М.Михалевская, А.А.Мигас

Д8. Оценка вклада генетических факторов в развитие первично множественных злокачественных новообразований с использованием высокопроизводительного секвенирования.....	32
---	-----------

И.С.Абрамов, Т.С.Лисица, А.М.Данишевич, А.О.Хахина, А.Д.Мацвай, Г.А.Шипулин

Д9. Применение результатов NGS и искусственного интеллекта для оценки генетической предрасположенности к плоскоклеточному раку головы и шеи.....	33
---	-----------

И.В.Угаров, В.Б.Черных, Н.В.Иванов, И.В.Шаркова, В.Н.Масленников, Д.К.Остапенко, В.В.Соловей

Д10. Роль генетических факторов в формировании клинического типа у пациентов с нейрофиброматозом II типа: результаты пилотного исследования.....	33
---	-----------

Е.С.Макашова, К.О.Карандашева, С.В.Золотова, Г.В.Данилов, О.В.Абсаямова, А.В.Голанов

Д11. Поиск маркеров эффективности терапии ингибиторами тирозинкиназ при хроническом миелоидном лейкозе на этапе диагностики заболевания	34
--	-----------

Э.П.Адильгереева, А.Г.Никитин, Д.Г.Жегло, О.А.Шухов, С.А.Смирныхина, Е.Ю.Челышева, А.В.Лавров, А.Г.Туркина, С.И.Куцев

Д12. Клинико-генетическая характеристика больных с нейродегенерацией с накоплением железа в головном мозге 4 типа.....	35
---	-----------

П.А.Спарбер, Т.Д.Крылова, С.А.Репина, Н.А.Демина, Г.Е.Руденская, И.В.Шаркова, А.А.Шарков, В.В.Кадышев, И.В.Канивец, С.А.Коростелев, Е.А.Померанцева, М.Е.Иванова, С.В.Михайлова, Е.Ю.Захарова, А.Ю.Филатова, М.Ю.Скоблов

Д13. Исследование частот наследственных нейропатий, обусловленных мутациями в генах <i>GDAP1</i> и <i>SH3TC2</i>, в РФ	36
---	-----------

А.Ф.Муртазина, Н.С.Бескоровайный, М.Д.Орлова, О.П.Рыжкова, А.В.Поляков, О.А.Щагина

Д14. Молекулярно-генетическая диагностика синдрома Барде-Бидля и выявление частого патогенного варианта в гене <i>BBS7</i> у российских пациентов.....	36
---	-----------

М.Д.Орлова, П.Г.Гундарова, А.В.Поляков

Д15. Спектр мутаций у детей с врожденными пороками развития мочеполовой системы результатам исследования, полученные методом NGS.....	37
--	-----------

Е.Г.Шайхаев, В.А.Румянцева, З.Р.Сабирзянова, А.Ю.Павлов, Г.П.Снигирева

Д16. Эффективность NGS диагностики для разных заболеваний	38
--	-----------

О.С.Глотов, М.А.Федяков, А.С.Глотов, А.Е.Шишов, В.В.Цай, Ю.А.Эйсмонт, О.В.Романова, Р.С.Калинин, А.Ю.Рудник, Ю.А.Барбитов, А.В.Предеус, Д.Е.Полев, А.Ю.Лобенская, Т.Э.Иващенко, М.В.Асеев, Е.А.Серебрякова, М.Е.Туркунова, Е.Б.Башина, М.С.Балашова, Н.А.Жученко, С.П.Уразов, А.М.Сарана, С.Г.Щербак, В.С.Баранов

Д17. Вклад «выпадения» аллеля (allelic drop-out) в ограничение диагностической эффективности ПЦР-опосредованного секвенирования	39
--	-----------

А.Г.Шестак, А.А.Букаева, С.Сабер, Е.В.Заклязьминская

Д18. Клинический случай синдрома Таттон-Браун-Рахман	40
---	-----------

Ф.М.Бостанова, Н.А.Семенова, О.А.Левченко, Е.Л.Дадали

Д19. LoF вариант как причина <i>TUBB</i>-ассоциированного расстройства	40
---	-----------

О.А.Левченко, С.Э.Нагиева, Е.Л.Дадали, А.В.Лавров

Д20. Гомозиготные мутации в гене <i>TRIP4</i> как причина врожденной мышечной дистрофии, тип Давиньон-Шове (клинический случай).....	41
---	-----------

С.С.Жилина, Т.В.Кожанова, Т.И.Мещерякова, М.Ю.Шарина, И.Ф.Деменьшин, Г.Г.Прокопьев, И.В.Канивец, В.С.Сухаруков, П.Л.Ануфриев, Т.И.Баранич, А.А.Козина, А.Г.Притыко

Д21. Вариант нуклеотидной последовательности в гене <i>ADNP</i> – причина редкого генетического синдрома Хельсмуртел-ван дер Аа (клинический случай).....	42
--	-----------

Т.В.Кожанова, С.С.Жилина, Т.И.Мещерякова, Е.Г.Лукьянова, К.В.Осипова, С.О.Айвазян, А.Г.Притыко

Д22. Сложные <i>PAX6</i>-ассоциированные фенотипы и возможности диагностики методом NGS	43
--	-----------

Т.А.Васильева, А.В.Марахонов, В.В.Кадышев, Р.А.Зинченко

Д23. Полноэкзомный анализ сперматогенеза в преселектированной выборке из российских мультиэтнических популяций	43
---	-----------

А.В.Осадчук, С.К.Колмыков, Г.В.Васильев, М.А.Клещев, Л.В.Осадчук

Д24. Выявление возможных транслокаций у супружеских пар по результатам исследований хромосомного профиля клеток трофктодермы, выполняемых методом NGS (полупроводниковое секвенирование) в программах ЭКО с ПГТ-А.....	44
<i>Т.А. Мараховская, Е.О. Кузнецов, А.А. Иванченко, М.Ю. Перова, А.Б. Бушковская, О.В. Филиппова, Н.Э.Скобликов</i>	
Д25. Применение подхода распределенных вычислений к созданию веб-приложения для клинической интерпретации геномных данных	45
<i>Н.А.Кулемин, И.В.Федюшина, С.А.Попов, А.Ю.Горбачев</i>	
Д26. Автоматизация подготовки данных NGS пациентов для интерпретации. Опыт медицинских генетиков	46
<i>Ю.В.Вяткин, А.В.Жайворон, М.Ю.Помазной, В.Н.Максимов, Е.Н.Воропаева, С.П.Медведев, Е.В.Тарасенко, Д.Н.Штокало</i>	
Д27. Биоинформатические подходы к определению пола при анализе данных NGS	47
<i>Н.А.Зубашенко, Д.Н.Хмелькова, О.С.Капитонова, В.С.Апухтина, А.А.Еремян, В.С.Каймонов, И.В.Миринова, Е.В.Мусатова</i>	
Д28. Опыт детекции клинически значимых вариаций числа копий ДНК с использованием алгоритма EXCAVATOR в данных полноэкзомного секвенирования	47
<i>А.А.Твеленева, Т.О.Буканова, В.С.Каймонов, И.В.Миринова, В.С.Апухтина, А.П.Корбут, И.Н.Котов, Д.Н.Хмелькова, И.С.Поволоцкая, Е.А.Померанцева, Е.В.Мусатова</i>	
Д29. Диагностика мозаичных CNV с использованием данных таргетного высокопроизводительного секвенирования (NGS)	48
<i>К.О.Карандашева, М.С.Пащенко, А.С.Танас, В.В.Стрельников</i>	
Д30. Важность повторного анализа данных и проведения функционального анализа на примере пациентов с нарушением регуляции реабсорбции фосфатов.....	49
<i>М.В.Шарова, С.В.Папуж, О.А.Левченко, А.Ю.Филатова, М.Ю.Скоблов</i>	
Д31. Опыт исследования вариантов нуклеотидной последовательности, нарушающих сплайсинг	49
<i>А.Ю.Филатова, И.О.Бычков, П.А.Спарбер, К.А.Давыденко, М.В.Фреире, Ю.В.Вяхирева, М.Ю.Скоблов</i>	
Д32. Функциональный анализ редких нуклеотидных вариантов при моногенных формах сахарного диабета.	50
<i>А.И.Мельникова, Т.С.Краснова, Н.А.Зубкова, Е.В.Васильев, В.М.Петров, П.М.Рубцов, А.Н.Тюльпаков</i>	
Д33. Влияние хромосомной патологии на пространственную организацию генома	51
<i>П.А.Васильев, М.Д.Магнитов, С.В.Ульянов, С.В.Разин</i>	
Д34. Первый опыт использования обогащенных ЗС-библиотек для геномной диагностики наследственных заболеваний.....	51
<i>В.С.Фишман, М.М.Гридина, Е.А.Можейко, Э.С.Валеев, Л.П.Назаренко, И.Н.Лебедев, М.Е.Лопаткина, Н.В.Шилова, Ж.Г.Маркова, М.А.Синдеева, О.Л.Кардымон</i>	
Д35. Перестройки гена TCF3 у детей с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом	52
<i>С.Р.Соколова, О.И.Солдаткина, С.А.Лебедева, Ю.В.Ольшанская, Е.А.Зеркаленкова</i>	
Д36. Высокопроизводительное HLA-типирование для создания регистров доноров	53
<i>Т.С.Симанова, М.А.Глушкова, Н.С.Пильщикова, С.С.Мозгов, А.М.Афанасьев, А.В.Слепченко, А.В.Суворова, М.А.Логинова, А.Е.Павлов</i>	

Д37. Исследование влияния варианта с.859A>G в гене ADSL на сплайсинг пре-мРНК	54
<i>К.А.Давыденко, А.Ю.Филатова, А.О.Боровиков, М.Ю.Скоблов</i>	
Д38. Семейный случай анемии Даймонда-Блекфена: мутация в сплайс-сайте и неполная пенетрантность.....	54
<i>Л.О.Скородумова, М.Ю.Скоблов, А.Ю.Филатова, К.А.Давыденко, М.Б.Хаджиева, Е.С.Захарова, В.Д.Гордеева, Н.С.Сметанина, С.С.Ларин</i>	
Д39. Функциональный анализ однонуклеотидных замен rs2072580 и rs590352, связанных с предрасположенностью к развитию онкологических заболеваний	55
<i>А.О.Дегтярева, Е.Ю.Леберфарб, И.И.Брусенцов, Е.В.Антонцева, Т.И.Меркулова</i>	
Д40. Применение результатов высокопроизводительного секвенирования в дородовой диагностике	56
<i>Е.С.Шубина</i>	
Д41. Комплексные генетические тесты на основе NGS с целью тестирования на носительство: между возможностью, ответственностью и реальностью.....	56
<i>М.В.Кречмар</i>	
Д42. Опыт использования высокопроизводительного секвенирования NGS в дородовой диагностике	57
<i>Т.И.Янова, И.В.Канивец, С.А.Коростелев, Д. В.Пьянков, В.Ю.Удалова, К.В.Горгишели, Ю.К.Киевская</i>	
Д43. Опыт применения полноэкзомного секвенирования в качестве метода прекоцепционного скрининга носительства рецессивных заболеваний.....	57
<i>А.П.Корбут, В.С.Апухтина, А.А.Еремян, И.С.Поволоцкая, И.Н.Котов, И.В.Миринова, В.С.Каймонов, Е.А.Померанцева, Е.В.Мусатова</i>	
Д44. Инновационная тест-система для преимплантационного генетического тестирования (ПГТ).....	58
<i>С.В.Попов, А.С.Беляев</i>	
Д45. Сравнительная характеристика структуры хромосомных аномалий в циклах PGT-A среди разных медицинских центров.....	59
<i>С.А.Авдейчик, С.В.Попов, С.С.Ладыгин, В.В.Заварин</i>	
Д46. Место NGS в цепи профилактических мероприятий рождения генетически больного ребенка у супружеских пар с НРФ.....	59
<i>Ж.И.Глинкина, Е.В.Куланова, Я.А.Гохберг, А.В.Чистякова, З.М.Губаева</i>	
Д47. Согласованность результатов генетических методов при неразвивающейся беременности: клинический случай.....	60
<i>В.П.Пушкарев, Е.А.Глазырина, Т.Е.Серебренникова</i>	
Д48. Клиническая интерпретация: когда вариант является патогенным?	61
<i>О.Бровкина, М.Г.Гордиев, Р.Ф.Еникеев, А.Г.Никитин, Д.Д.Сакаева</i>	
Д49. Случайные находки, выявленные при проведении экзомного секвенирования у российских больных.	61
<i>О.Л.Шатохина, П.Г.ундорова, Т.Б.Череватова, А.А.Орлова, В.В.Забненкова, А.Л.Чухрова, А.В.Поляков, О.П.Рыжкова</i>	

Д50. Генокарта: онлайн энциклопедия на русском языке о значимости генетических вариантов человека.....	62
<i>А.Ю.Банулина, Д.Н.Штокало, О.В.Сайн, А.А.Огиенко, Е.В.Тарасенко</i>	
Постерные доклады.....	63
П1. Диагностика наследственного рака молочной железы и рака яичников методом NGS.....	63
<i>Е.И.Новикова, Г.П.Снигирева, Е.Н.Мараховская, Н.Н.Новицкая, Е.Д.Хазинс</i>	
П2. Сдвиг парадигмы: онкогенетическая диагностика для новейших методов лечения рака.....	63
<i>Д.В.Осипов</i>	
П3. Возможность применения метода NGS для анализа свободно-циркулирующей ДНК плазмы крови.....	64
<i>Е.Н.Тельшева, Е.И.Новикова, Н.Н.Новицкая, Е.Д.Хазинс, Г.П.Снигирева</i>	
П4. Генная сеть глиобластомы: реконструкция и компьютерный анализ	65
<i>С.С.Ковалев, Ю.П.Белоусова, А.Д.Панова, Е.Ю.Леберфарб, Ю.Л.Орлов</i>	
П5. Электронное здравоохранение и стандартизация клинического секвенирования в России.....	66
<i>Ю.Л.Орлов, И.А.Шадеркин, А.Д.Панова, Э.Н.Фартушный, Г.С.Лебедев</i>	
П6. Идентификация мутаций с использованием метода полноэкзомного секвенирования у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом.....	66
<i>О.Ч.Мазур, И.В.Шевчук, Е.П.Михаленко, С.В.Байко, О.М.Мальшева, А.В.Кильчевский, А.В.Сукало</i>	
П7. Молекулярно-генетические особенности у курящих и некурящих пациентов с немелкоклеточным раком легкого.....	67
<i>А.Н.Щаюк, Е.П.Михаленко, М.Н.Шепетько, А.В.Кильчевский</i>	
П8. Семейный рак желудка, ассоциированный с мутацией в гене <i>BRCA2</i>	68
<i>Т.С.Лисица, И.С.Абрамов, А.М.Данишевич, А.И.Закморная, Г.А.Шипулин</i>	
П9. Определение мутаций у пациентов с диагнозом дистальный артрогрипоз методом полноэкзомного секвенирования.....	68
<i>А.Д.Слободина, А.Е.Комиссаров, О.Е.Агранович, С.В.Саранцева</i>	
П10. Современные биоинформатические подходы в области прецизионной онкологии.	69
<i>Н.А.Кулемин, С.А.Попов, В.В.Дембровский, Д.А.Коростин, А.Ю.Горбачев</i>	
П11. Незнакомые симптомы хорошо знакомых факоматозов, или как результаты ДНК-диагностики, полученные методом NGS, дают новые подходы к лечению редких заболеваний в хирургии	70
<i>В.А.Румянцева, В.С.Русинова, Г.А.Казарян, Д.В.Базаров, Е.Н.Тельшева, А.Ю.Павлов, Г.П.Снигирева, Е.В.Заклязьминская</i>	
П12. Молекулярно-генетические маркеры синдрома Брука.....	71
<i>А.Е.Комиссаров, А.Д.Слободина, О.Е.Агранович, С.В.Саранцева</i>	

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Д1. Опыт применения технологии мономолекулярного секвенирования для поиска мутаций при гипертрофической кардиомиопатии

М.В.Голубенко^{1*}, Р.Р.Салахов¹, А.В.Марков¹, Н.П.Бабушкина¹, Н.Р.Валиахметов¹, А.Ф.Канев², Е.Н.Павлюкова², М.С.Назаренко¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск;

² Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск

E-mail: maria.golubenko@medgenetics.ru

Мотивация и цели: Методы секвенирования «третьего поколения» были разработаны относительно недавно и характеризуются довольно высоким уровнем ошибок секвенирования. Цель исследования – экспериментальное применение технологии мономолекулярного секвенирования (Oxford Nanopore Technologies) для ДНК-диагностики на примере гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП).

Методы: Исследование было проведено в группе из 12 пациентов с диагнозом ГКМП. В качестве материала для приготовления ДНК-библиотек использовали long-range ПЦР-продукты (длиной до 8 т.п.н.), содержащие последовательность 4 основных генов ГКМП (*MYH7*, *MYBPC3*, *TNNI2*, *TPM1*). Секвенирование выполнено на ячейке Minlon (v9.4.1). Первичный анализ данных и демультимплексирование проводили с помощью программы Guppy v.3.2.2. Выявление вариантов проведено с помощью двух алгоритмов: «Nanopolish» и «Clairvoyante».

Результаты: В результате анализа было выявлено в общей сложности 268 (Nanopolish) и 333 (Clairvoyante) предположительных SNV, из которых около половины составляли делеции или инсерции. Фильтрация миссенс- и нонсенс-вариантов по распространенности в популяциях (<0,01%) позволила выделить 9 кандидатных вариантов, из которых 4 были идентифицированы обоими алгоритмами анализа. После верификации с помощью секвенирования по Сэнгеру были подтверждены три варианта в гене *MYH7* и один – в гене *MYBPC3*. Для этих вариантов была проведена оценка патогенности с помощью критериев, представленных в рекомендациях по интерпретации данных высокопроизводительного секвенирования. По итогам оценки три варианта в гене *MYH7* были отнесены к вероятно патогенным, а вариант в гене *MYBPC3* – к вариантам с неопределенным клиническим значением.

Заключение: Технология мономолекулярного секвенирования может иметь перспективу применения в ДНК-диагностики наследственных заболеваний.

Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации № МК-1093.2020.7.

Д2. Системный анализ качества секвенирования образцов экзоста человека на платформе MGISEQ-2000

В.А.Белова, А.С.Павлова, Р.Н.Афасижев, В.Н.Москаленко, М.Коржанова, А.А.Кривой, В.В.Черанев, Б.А.Никашин, И.А.Булушева, Д.В.Ребриков, Д.О.Коростин*

Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, РНИМУ им. Н.И.Пирогова
E-mail: verusik.belova@gmail.com

Мотивация и цели: Большинство решений для экзомного обогащения разработано под секвенаторы Illumina, нашей целью было тестирование первого оригинального набора

для MGISEQ-2000. Также мы разработали свое решение для обогащения пулов библиотек с использованием зондов Agilent SureSelect All Exon v6. В этой работе мы продемонстрировали, что по качественным и количественным характеристикам наш протокол, называемый RSMU_exome, превосходит кит от MGI Tech.

Материалы и Методы: Мы составили 2 пула из 24 библиотек геномной ДНК (в т.ч. 6 независимых для образца NA12891) – в каждом по 8-12. Оба пула обогащали 3 подходами – по протоколу RSMU_exome с зондами Agilent v6, отдельно с зондами MGIEasy v4 и по стандартному протоколу MGIEasy Exome Capture V4. Секвенирование проводили в режиме PE150 на MGISEQ-2000, получили набор данных, состоящий из 64 пар fastq файлов. Для сравнения протоколов проводили нормализацию данных до 50 М ридов и биоинформатический анализ с помощью программ FastQC, Trimmomatic, BWA, Picard, BCFtools.

Результаты: Нам удалось увеличить количество образцов в пуле до обогащения до 12, при этом снизить количество циклов финальной ПЦР до 7. Сбалансированность получаемых данных на образец в пуле оказалась лучше для протокола RSMU_exome, чем для MGIEasy (3 образца выпало с on-target covered $\times 10 < 95\%$). После нормализации оценили качество WES библиотек NA12891 для 3 подходов. Для RSMU_exome + Agilent v6 получили значения: dup = 5,8%, off-target = 7,6%, on-target cov $\times 10 = 95,81\%$. Для RSMU_exome + MGIEasy v4: dup = 10%, off-target = 11%, on-target cov $\times 10 = 94,96\%$. Для стандартного MGIEasy Exome Capture V4: dup = 10%, off-target = 19%, on-target cov $\times 10 = 91,13\%$. При этом в случае фиксированного сета зондов MGIEasy v4, наш протокол позволяет получить на 2% больше качественных данных variant calling.

Заключение: Мы продемонстрировали, что для получения одинакового по полноте покрытия экзона в случае использования протокола обогащения RSMU_exome требуется меньшее количество ридов на образец, чем для оригинального MGIEasy.

Д3. Применение компьютерных алгоритмов в практике врача-генетика

Н.А.Семенова*, Д.М.Гусева, Т.В.Маркова, Н.А.Демина

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

E-mail: semenova@med-gen.ru

Мотивация и цели: в последнее время возрастает роль компьютерных диагностических программ в клинической практике врача-генетика. «Face2gene» один из автоматизированных алгоритмов, предназначенных для «портретной диагностики» наследственных заболеваний. Проведено исследование оценки эффективности данного алгоритма.

Методы: все пациенты были консультированы врачами-генетиками МГНЦ. Законные представители пробандов дали устное и письменное согласие на проведение фотосъемки и исследование. С помощью компьютерной программы «Face2gene», предназначенной для диагностического поиска нозологии по фото, проведен анализ 32 пациентам с установленным диагнозом. В исследование были включены больные с наследственными заболеваниями, характеризующимися специфическим лицевым фенотипом. Проведено сравнение предполагаемых «Face2gene»-алгоритмом диагнозов с подтвержденными нозологиями.

Результаты: у исследуемых пациентов совпадений предиктивных и подтвержденных диагнозов было 17, что составило 53,1%. Все пациенты, в зависимости от степени вероятности предполагаемого алгоритмом диагноза, были разделены на 3 группы: с низкой, средней и высокой вероятностью. Из группы с низкой вероятностью диагноза количество совпадений составило

36,8% (7/19), средней – 66,7% (4/6), высокой – 85,7% (6/7). Среди синдромов, обусловленных хромосомными аномалиями общее количество совпадений составило 66,7% (4/6), среди моногенных заболеваний – 50% (13/26).

Заключение: Использование данного диагностического алгоритма показало значимую эффективность в случае высокой предиктивной вероятности диагноза. Применение компьютерных программ с целью диагностики наследственных заболеваний, характеризующихся специфическим фенотипом, может позволить врачу-генетику оптимизировать дифференциально-диагностический поиск.

Д4. Разработка подходов для анализа частоты и спектра соматических мутаций в нормальных и опухолевых тканях на основе дуплексного секвенирования ДНК

Н.В.Митюшкина^{*1}, М.М.Холматов¹, И.В.Бизин¹, Г.А.Янус^{1,2}, А.О.Иванцов^{1,2}, Е.Ш.Кулигина^{1,2}, Е.Н.Имянитов^{1,2}

¹НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

E-mail: nmmail@inbox.ru

Мотивация и цели: Мутации в генах, отвечающих за репарацию ДНК, часто лежат в основе наследственных опухолевых синдромов, однако непосредственное выявление таких мутаций не всегда возможно. Маркером наличия дефектов в системе репарации ДНК может быть накопление избыточного количества соматических мутаций в нормальных тканях. Одна из целей данного исследования – разработка способа оценки количества соматических мутаций в нормальных тканях человека при помощи NGS. Разрабатываемые методики могут быть также использованы для выявления опухолей с гипермутабельным фенотипом.

Методы: В основе предлагаемых подходов лежит принцип дуплексного секвенирования ДНК [Schmitt M.W. et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2012; 109(36):14508-14513], использование которого позволяет с высокой точностью выявлять даже единичные (не клональные) соматические мутации, при условии одновременного прочтения последовательностей обеих цепей двухцепочечных фрагментов ДНК NGS-секвенатором.

Результаты: Нам удалось значительно повысить точность оригинальной методики дуплексного секвенирования за счет использования фермента нуклеазы P1 в процессе репарации концов ДНК вместо ДНК-полимеразы. Благодаря этому, мы смогли разработать способ выявления опухолей с выраженной гипермутабельностью, основанный на дуплексном секвенировании ДНК, выделенной из фиксированных формалином, заключенных в парафин тканей. Оригинальная методика дуплексного секвенирования требует прочтения множества копий одних и тех же фрагментов для построения консенсусных последовательностей, что делает данный подход экономически неэффективным. Для того чтобы решить эту проблему, мы приступили к разработке нового метода, который должен позволить проводить секвенирование обеих цепей фрагментов ДНК библиотеки вместе, в составе единой молекулы.

Заключение: Разрабатываемые методики могут стать новым инструментом для оценки функциональной активности систем репарации ДНК в нормальных и опухолевых тканях. Работа поддержана грантом РФФ 19-15-00312.

Д5. Анализ генов перестроек методом таргетного высокопроизводительного секвенирования в диагностике рака щитовидной железы

В.Д.Якушина^{1*}, Т.Ф.Авдеева², Т.П.Казубская^{3,4}, Т.Т.Кондратьева^{3,4}, Л.В.Лернер⁴, А.В.Лавров¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

² Московская городская клиническая больница им. В.М.Буянова

³ ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» Минздрава России

⁴ ООО «ПреМед», Москва, Российская Федерация

E-mail: vdyakushina@gmail.com

Выявляемость известных точечных драйверных мутаций при раке щитовидной железы не превышает 40-60%. Предполагается что внедрение анализа расширенного спектра перестроек позволит повысить чувствительность дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований, а также дополнить терапевтические подходы ингибиторами тирозинкиназ.

Методом таргетного высокопроизводительного секвенирования выполнено исследование точечных мутаций, изменения копийности и перестроек в злокачественных (64 образца) и доброкачественных (16 образцов) образованиях щитовидной железы, и нормальной ткани (12 образцов). Секвенирование выполнено на платформе Illumina NextSeq (для точечных мутаций и CNV) и MiSeq (для перестроек). Подготовка библиотек выполнена по технологии AmpliSeq. Перестройки определялись по наличию фьюжин-транскрипта. Дизайн панели праймеров на предполагаемые пары генов выполнен в Ion AmpliSeq Designer RNA Fusion, отсутствующие в AmpliSeq Designer пары включены с помощью сервиса White Glove. Панель праймеров позволяет анализировать 157 наиболее распространенных перестроек в 13 эффекторных генах.

Известные драйверные мутации в генах *BRAF*, (*K-,N-*)*HRAS* выявлены в 62% образцов. Предполагаемые драйверные мутации в генах *PIK3CA*, *PPM1D*, *PDGFRA*, *KMT2A*, *KDR* выявлены в 7% образцов, не несущих другие драйверные мутации. Перестройки определены в 12% образцов, наиболее распространенные – *CCDC6-RET* (3 образца) и *PAX8-PPARG* (2 образца), перестройки *TPM3-NTRK1*, *ETV6-NTRK3*, *STRN-ALK* – по одному случаю. В образцах с выявленными перестройками отсутствовали другие драйверные мутации, определение включенных в дизайн перестроек повышает чувствительность диагностики рака щитовидной железы на 12% по сравнению с методами ограниченными точечными мутациями. Суммарная выявляемость драйверных мутаций с помощью разработанной панели – 81%.

Финансирование: ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (442ГС2/9119 СЗ-40846); РНФ (19-75-00053).

Д6. Младенческая печеночная недостаточность, обусловленная мутациями в гене *TRMU*, описание клинического случая

Т.Ю.Лесниченко^{1*}, Н.А.Семенова², П.Г.Цыганкова², Е.Л.Дадали², Т.В.Строкова³, Н.Н.Таран³, И.А.Кузьмичева⁴

¹ ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва;

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва;

³ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии и безопасности пищи», Москва;

⁴ ГБУЗ КО «Калужская областная клиническая больница», Калуга

E-mail: toma.lesni4enko@yandex.ru

Мотивация и цели: Транзиторная младенческая печеночная недостаточность (ТМПН; OMIM:613070), обусловленная биаллельными мутациями в гене *TRMU* – редкое наследственное заболевание, с частотой <1:1000000. Сходство клинической картины заболевания с другими наследственными болезнями обмена, в том числе с гликогенозами, затрудняет дифференциальную диагностику на клиническом этапе. Прослеживается генофенотипическая корреляция тяжести заболевания: от самопроизвольного выздоровления до летального исхода в зависимости от типа мутаций. Нонсенс-варианты в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии ассоциированы с более тяжелым течением вплоть до летального исхода. Более того, предложена патогенетическая терапия L-цистином, эффективность которой требует подтверждения.

Методы: Представлен случай ТМПН, обусловленной мутациями гена *TRMU*. Молекулярно-генетическая диагностика осуществлялась после смерти ребенка. Анализ ДНК проведен методом NGS-секвенирования с использованием кастомной панели, включающей 47 генов, ассоциированных с наследственными гепатопатиями. Найденные варианты валидированы секвенированием по Сенгеру, подтверждено их трансположение.

Результаты: Девочка с фенотипом по типу кушингоидного, матронизмом, гепатомегалией, гипогликемией. В анализе крови: цитозид до 3 норм, гипогликемия, холестаза, дислипидемия, гипокальциемия. Гиперкортицизм исключен. При жизни установлен гликогеноз 1 типа. Смерть ребенка наступила в возрасте 10 месяцев от полиорганной недостаточности на фоне респираторного заболевания. Методом NGS-секвенирования было выявлено два, ранее описанных, варианта с.706-1G>A и с. 835G>A (p.Val279Met) в гене *TRMU*. Первый описан у пациента, с летальным исходом, второй – в гомозиготном состоянии при транзитном течении.

Заключение: Диагностика наследственных гепатопатий с использованием NGS-секвенирования позволит своевременно назначить патогенетическую терапию, а также осуществить медико-генетическое консультирование в семье, планирующей деторождение.

Д7. Опыт применения NGS для определения соматических мутаций у детей с опухолями головного мозга (ОГМ)

А.В.Пунько*, Т.М.Михалевская, А.А.Мигас

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии

E-mail: punkoaspasp@gmail.com

Мотивация и цели: Определение молекулярно-генетических изменений с помощью метода NGS у пациентов с ОГМ дополняет обычную рутинную диагностику и помогает выделить группы пациентов с агрессивными опухолями, для которых подходит максимально возможная по интенсивности терапия, и группы пациентов, которые могли бы выжить с менее токсичной и менее интенсивной адъювантной терапией.

Методы: Поиск соматических мутаций в опухолевом материале осуществляли методом NGS на приборе MiSeq (Illumina, США). Пробоподготовка библиотеки осуществлялась с помощью панели QIAseq Targeted DNA HC Panel (Qiagen, Германия). В данную панель включены 280 генов, ассоциированных с опухолями головного мозга. В ходе работы апробирован конвейер по обработке данных секвенирования, который основан на использовании таких программ как FastQC, Trimmomatic, BWA, SAMtools, утилит Picard (SortSam, FixMateInformation, MarkDuplicates), GATK (BaseRecalibrator, PrintReads, DepthOfCoverage, DiagnoseTargets, MuTect2), и скрипта на языке программирования Bash. Аннотация вариантов была выполнена с использованием программы Annovar.

Результаты: На данном этапе работы акцент был сделан на оценке возможностей программы MuTest2, используемой для обнаружения соматических мутаций, которая одновременно обрабатывает образцы опухолевой ДНК и нормы, выделенной из крови. Найденные мутации сравнивались с мутациями ОГМ из баз данных COSMIC, Clinvar, OMIM. Информацию о частоте мутации получали на основе данных проекта 1000 Genomes и консорциума ExAC. При фильтрации аннотированных данных исключались синонимичные замены, замены в интронах, а также варианты, частота в популяции которых более 1%.

Заключение: Применение вышеописанного биоинформатического конвейера позволит осуществить скрининг соматических мутаций у пациентов с ОГМ, который приведет к повышению точности диагностики и выявлению пациентов, потенциально подходящих для проведения таргетной терапии.

Д8. Оценка вклада генетических факторов в развитие первично множественных злокачественных новообразований с использованием высокопроизводительного секвенирования

И.С.Абрамов^{1*}, Т.С.Лисица¹, А.М.Данишевич², А.О.Хахина¹, А.Д.Мацвай¹, Г.А.Шипулин¹

¹ ФГБУ «ЦСП» ФМБА России;

² ГБУЗ МКНЦ имени А.С.Логонова ДЗМ, г.Москва, Россия

E-mail: abriv@bk.ru

Введение: доля первично множественных злокачественных новообразований (ПМЗН) в структуре онкологической заболеваемости составляет 8-9%. Около 25-30% ПМЗН являются синхронными. Причиной развития нескольких опухолей в течение жизни могут служить неблагоприятные факторы внешней среды, воздействие химиотерапии или лучевой терапии при лечении первой опухоли, а также генетическая предрасположенность.

Цель: провести оценку вклада генетических факторов в развитие вторых первичных опухолей у пациентов на основании генетического тестирования на наличие наследственных мутаций, ассоциированных с опухолевыми синдромами.

Материалы и Методы: в исследование вошли 36 пациентов с диагнозом ПМЗН, в том числе, пациенты с раком молочной железы, раком яичника, раком маточной трубы, раком тонкой и толстой кишки, раком желудка, раком поджелудочной железы, раком щитовидной железы, раком слюнных желез, раком почки, меланомой кожи, базалиомой, лимфомой Ходжкина, саркомой Юинга, лейомиосаркомой. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической. Высокопроизводительное секвенирование проводили на платформе MiSeq (Illumina). Подготовку библиотек ДНК осуществляли с использованием кастомной панели зондов KAPA Hyper (Roche).

Результаты: у 8 пациентов были выявлены 10 патогенных или вероятно патогенных вариантов нуклеотидной последовательности, относящихся к кодирующим областям генов *BRCA1*, *BRCA2*, *MSH6*, *MUTYH*, *PALB2*, *TP53*. У одной пациентки с диагнозом рак щитовидной железы, рак молочной железы, рак маточной трубы выявлены 2 мутации с.5503C>T, p.Arg1835Ter, rs41293465 в гене *BRCA1* и с.172_175del, p.Gln60ArgfsTer, rs180177143 в гене *PALB2*, ранее описанные как патогенные. Также, у пациентки с диагнозом рак молочной железы и рак эндометрия, выявлены 2 мутации с.1421_1422dupGT, p.Gln475CysfsTer, rs63750854 в гене *MSH6* и с.7879A>T, p.Ile2627Phe, rs80359014 в гене *BRCA2*, ранее описанные как патогенные.

Выводы: молекулярно-генетическое тестирование панели генов позволяет наиболее полно оценивать вклад генетических факторов в развитие вторых первичных опухолей. Накопление знаний в данной области поможет оценивать риск и проводить профилактику развития вторых опухолей, в первую очередь, за счет выявления мутаций, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами.

Д9. Применение результатов NGS и искусственного интеллекта для оценки генетической предрасположенности к плоскоклеточному раку головы и шеи

И.В.Угаров^{1*}, В.Б.Черных^{1,2}, Н.В.Иванов¹, И.В.Шаркова^{1,2}, В.Н.Масленников¹, Д.К.Остапенко¹, В.В.Соловей¹

¹ ООО «эксДжен Сайбернетикс», г. Москва

² ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

E-mail: iugarov@yandex.ru

Рак головы и шеи (HNSC) – многофакторное заболевание с тяжелыми инвалидизирующими последствиями и высокой смертностью, занимает 6 место среди онкологических заболеваний по распространенности в мире. Рост заболеваемости у людей до 40 лет, частое диагностирование в продвинутой стадии требует разработки мер профилактики данного заболевания.

Строгие пороги значимости GWAS приводят к возникновению неполной наследуемости. В тоже время отсутствие информации о патогенности генетических вариантов, не описанных в литературе и базах данных и подхода для оценки суммарного риска многофакторной патологии. Следовательно, разработка подходов к анализу результатов NGS, лишенных этих недостатков является актуальной задачей.

Цель работы: разработка подхода выявления паттернов в результатах NGS, характерных для пациентов с многофакторными онкологическими заболеваниями и создание генетической панели для скрининга на предрасположенность к HNSC.

Материалы и Методы: Для создания панели генов выполнен анализ зарубежных научных статей по следующим ключевым словам: плоскоклеточный рак головы и шеи, предрасположенность, полиморфизм. На основе данных TumorPortal (<http://www.tumorportal.org/>) и The Cancer Genome Atlas сформированы две группы: пациенты с HNSC (n=384) и пациенты с другими нозологиями, выступающая в качестве контрольной группы (n=6362).

Результаты работы: Разработан метод, который позволяет выявить скрининговые паттерны многофакторных состояний с учетом полигенной природы заболеваний и неопределенности патогенного эффекта отдельных генетических вариантов.

Математическая модель, созданная на основе метода, показывает чувствительность 42% и специфичность более 90%. Скрининговые паттерны охватывают все высокозначимые мутированные гены по данным Tumorportal. Поскольку на данный момент отсутствуют решения для оценки генетической предрасположенности к HNSC, то применение предложенного подхода позволит повысить эффективность выявления групп риска, имеющих характерные генетические варианты и планировать доклиническую профилактику.

Д10. Роль генетических факторов в формировании клинического типа у пациентов с нейрофиброматозом II типа: результаты пилотного исследования

Е.С.Макашова^{1,2*}, К.О.Карандашева³, С.В.Золотова¹, Г.В.Данилов¹, О.В.Абсалямова¹, А.В.Голанов¹

¹ ФГАУ НМИЦ нейрохирургии им. Н.Н.Бурденко МЗ РФ

² ГБУЗ МКНЦ им. А.С.Логонова ДЗМ

³ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова»

E-mail: emakashova@nsi.ru

Мотивация и цели: Нейрофиброматоз II типа (НФ II) – редкое наследственное заболевание из группы фактоматозов. В основе заболевания лежит мутация в гене *NF2*, кодирующего синтез белка-онкосупрессора мерлина. Выделяют два клинических типа НФ II: умеренный или среднетяжелый тип Гарднера и тяжелый тип Вишарта. Согласно данным литературы известно,

что клинический тип зависит от типа герминальной мутации, при этом нонсенс и фреймшифт мутации в экзонах 2-13 ассоциированы с наиболее тяжелым течением заболевания.

Цель исследования: определить комплекс факторов, влияющих на формирование клинического типа у пациентов с НФ II.

Материалы: В исследование были включены 35 пациентов (6 мужчин и 29 женщин) с нейрофиброматозом II типа. У всех пациентов проводилось секвенирование гена *NF2* в периферической крови

Результаты: Большую часть составили случаи *de novo* (29 пациентов; 82,8%). Средний возраст клинического дебюта составил 15,5 лет; средний возраст получения первого лечения – 21 год. В 4-х случаях на момент исследования была начата таргетная терапия бевацизумабом. 13 пациентов на момент клинического дебюта имели более 5 интра- и экстракраниальных опухолей. 28 случаев были обусловлены нонсенс и фреймшифт-мутациями, 5 – мутациями сайта сплайсинга, 1 – миссенс мутацией, 1 – инсерцией. Не было найдено статистически значимых корреляций между типом мутации и возрастом клинического дебюта или возрастом получения первого лечения. При этом получена прямая зависимость между количеством опухолей на момент клинического дебюта и локализацией герминальной мутации (до 10 экзона) ($p=0,043$).

Заключение: Изучение клинико-генетических корреляций у пациентов с нейрофиброматозом II типа – важнейший этап для понимания биологии мерлина и его функционирования как опухолевого супрессора. Полученные нами данные могут свидетельствовать о значительной роли FERM-домена мерлина (1-10 экзоны), в патогенезе НФ II и реализации противоопухолевой активности мерлина.

Д11. Поиск маркеров эффективности терапии ингибиторами тирозинкиназ при хроническом миелоидном лейкозе на этапе диагностики заболевания

Э.П.Адилгереева^{1*}, А.Г.Никитин², Д.Г.Жегло¹, О.А.Шухов³, С.А.Смирнихина¹, Е.Ю.Чельшева³, А.В.Лавров¹, А.Г.Туркина³, С.И.Куцев¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова»

² НИИ Пульмонологии ФМБА России

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

E-mail: Elmira5376@gmail.com

Мотивация и цели: Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – частое онкогематологическое заболевание, главной патогенетической особенностью которого является экспрессия химерного белка BCR/ABL, обладающего тирозинкиназной активностью. Существующая терапия ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) обладает высокой эффективностью, однако около 20-40% пациентов резистентны к первой линии терапии. В связи с чем, целью нашего исследования является выявление прогностических маркеров эффективности терапии ИТК.

Методы: В исследование включены 60 пациентов с цитогенетически и молекулярно-генетически подтвержденным диагнозом ХМЛ. Секвенирование экзона опухолевых клеток до начала терапии ИТК выполнено на платформе Illumina NextSeq[®] 550 Sequencing System. Согласно критериям ELN2013, в группу с оптимальным ответом на терапию ИТК вошли 30 пациентов, 18 больных – группа пациентов с предостерегающими признаками резистентности и 12 пациентов – группа резистентных к терапии ИТК. Биоинформационный анализ проводили, используя SpnEff (анализ всех транскриптов), ANNOVAR (анализ частот аллелей в ExAC, 1000G и ESP6500, алгоритмы проверки функциональной значимости SIFT, PolyPhen2, MutationTaster, FATMM, CADD, DANN, REVEL и M-CAP) и Alamut Batch (влияние на сплайсинг, базы данных dbSNP, ClinVar, COSMIC, HGMD Professional).

Результаты: Удалось обнаружить варианты, приводящие к потере функции (LoF), в генах *ASXL1* и *DNMT3A* у 33% пациентов в группе резистентных к ИТК, которые не встречались у пациентов других групп. Ген *ASXL1* кодирует белок, участвующий в ремоделировании хроматина. Ген *DNMT3A* кодирует фермент ДНК-метилтрансферазу 3-альфа, который участвует в метилировании ДНК. В гемопоэтических стволовых клетках паттерны метилирования, установленные *DNMT3A*, способствуют дифференцировке в различные типы клеток крови.

Заключение: В результате проведенной работы можно предположить, что выявленные варианты генов *ASXL1* и *DNMT3A* могут являться прогностическими маркерами эффективности терапии ИТК на этапе диагностики заболевания.

Д12. Клинико-генетическая характеристика больных с нейродегенерацией с накоплением железа в головном мозге 4 типа

П.А.Спарбер^{1*}, Т.Д.Крылова¹, С.А.Репина¹, Н.А.Демина¹, Г.Е.Руденская¹, И.В.Шаркова¹, А.А.Шарков^{2,3,4}, В.В.Кадышев¹, И.В.Канивец², С.А.Коростелев², Е.А.Померанцева⁵, М.Е.Иванова⁶, С.В.Михайлова⁷, Е.Ю.Захарова¹, А.Ю.Филатова¹, М.Ю.Скоблов¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

² Медико-генетический центр «Геномед», Москва

³ НИКИ педиатрии имени академика Ю.Е.Вельтицева ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова МЗ России, Москва

⁴ Институт биологии гена РАН, Москва

⁵ Центр Генетики и Репродуктивной Медицины «Genetiko», Москва

⁶ «Офтальмик», Москва

⁷ Российская детская клиническая больница ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России, Москва

E-mail: psparber93@gmail.com

Мотивация и цели: Термин нейродегенерация с накоплением железа в головном мозге объединяет под собой группу редких неврологических синдромов, общим клиническим признаком которых является МРТ картина накопления железа в базальных ганглиях головного мозга. Гомозиготные и компаунд-гетерозиготные патогенные варианты в гене *C19orf12*, приводят к развитию нейродегенерации с накоплением железа 4 типа, так же известной как MPAN (mitochondrial membrane protein-associated neurodegeneration). На данный момент описаны лишь небольшие группы пациентов. Частота заболевания и спектр патогенных вариантов остается малоизученным.

Методы: Выявление больных с MPAN осуществлялось на основании внутренних баз данных ФГБНУ МГНЦ, отделения медицинской генетики РДКБ, медико-генетического центра «Геномед» и центра генетики и репродуктивной медицины «Genetiko». Функциональный анализ варианта *c.193+5G>A* был проведен с использованием плазмидных векторов, экспрессирующих минигены. Поиск патогенных вариантов в гене *C19orf12* был проведен с использованием прямого автоматического секвенирования по Сенгеру, геномной ДНК пациентов, выделенной из периферической венозной крови. Оценка частоты заболевания проводилась с использованием закона Харди-Вайнберга.

Результаты: Было выявлено 16 больных с MPAN из России и ближайших зарубежных стран. Было выявлено 3 ранее неописанных патогенных варианта. Функциональный анализ показал, что вариант *c.193+5G>A* приводит к пропуску второго экзона с формированием преждевременного стоп-кодона. Поиск патогенных вариантов у трех больных с МРТ признаками накопления железа, подтвердил диагноз у еще одного пациента. Расчетная частота заболевания составила 1:600,000. Были выявлены больные с нетипичной клинической картиной.

Заключение: в результате работы была собрана 3 по размеру выборка больных с МРАН в мире. Впервые была оценена расчетная частота заболевания. Была проведена подробная клинико-генетическая характеристика больных с МРАН.

Д13 Исследование частот наследственных нейропатий, обусловленных мутациями в генах *GDAP1* и *SH3TC2*, в РФ

А.Ф.Муртазина*, Н.С.Бескорвайный, М.Д.Орлова, О.П.Рыжкова, А.В.Поляков, О.А.Щагина
ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва
E-mail: aysylumurtazina@gmail.com

Мотивация: Мутации в генах *SH3TC2* и *GDAP1* являются самыми частыми причинами наследственных моторно-сенсорных нейропатий с аутосомно-рецессивным типом наследования (*AP-НМСН*) в мире.

Цель: Создать и применить систему детекции мутаций в генах *SH3TC2* и *GDAP1* для оценки вклада данных форм в структуру НМСН у российских больных.

Методы: Проведен ретроспективный анализ данных полноэкзомного секвенирования 1034 образцов ДНК больных, обратившихся за секвенированием экзона с диагнозом, отличным от НМСН, путем формирования единого VCF-файла. Разработана система детекции мутаций в генах *SH3TC2* и *GDAP1*, основанная на MLPA. Проведено исследование образцов ДНК пробандов из выборки 1596 больных.

Результаты: Анализ VCF-файла по гену *GDAP1* показал 45 отличий от референсной последовательности, из которых 8 патогенных и вероятно патогенных вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП) (каждый на 1 хромосоме из 2068). Расчетная частота *GDAP1-AP-НМСН* составила не менее 0,00001416 (не менее 1 на 70 621 человек). Анализ VCF-файла по гену *SH3TC2* выявил 51 отличие от референсной последовательности, из которых 5 патогенных и вероятно патогенных ВНП (каждый на 1 хромосоме из 2068). Расчетная частота *SH3TC2-AP-НМСН* составила не менее 0,00000557 (не менее 1 на 179 533 человек). Из выявленных ВНП отобраны мутации для включения в MLPA-систему: 1 ВНП гена *GDAP1* (NM_018972.4) с.715С>Т и 4 ВНП гена *SH3TC2* (NM_024577.4): с.3325С>Т, с.1585С>А, с.2860С>Т, с.1972С>Т. В исследованной выборке с.715С>Т (*GDAP1*) обнаружен в гомозиготном состоянии у 5 пробандов и в гетерозиготном – у 13 пробандов, у 9 из которых выявлены вторые ВНП методом секвенирования по Сенгеру. В 4 образцах ДНК выявлены мутации гена *SH3TC2* в гетерозиготном состоянии, у одного больного выявлен второй ВНП.

Заключение: Применение разработанной системы детекции мутаций у пробандов подтвердило, что *GDAP1-AP-НМСН* является одной из самых частых *AP-НМСН* в РФ, и показало, что на территории РФ не произошло накопления мутаций гена *SH3TC2*, в связи с чем *SH3TC2-AP-НМСН* встречается реже других форм *AP-НМСН*.

Д14. Молекулярно-генетическая диагностика синдрома Барде-Бидля и выявление частого патогенного варианта в гене *BBS7* у российских пациентов

М.Д.Орлова*, П.Гундорова, А.В.Поляков
ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва
E-mail: m.d.orlova@ya.ru

Мотивация и цели: Синдром Барде-Бидля – аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся ожирением, пигментной дегенерацией сетчатки, полидактилией, задержкой психоречевого развития и структурными повреждениями почек.

Целью настоящей работы было определение мажорных генов и спектра патогенных вариантов у российских пациентов с клиническим диагнозом «синдром Барде-Бидля».

Были исследованы кодирующие последовательности и прилегающие интронные участки всех генов, ассоциированных с синдромом Барде-Бидля на настоящий момент.

Методы: Были исследованы 40 неродственных пациентов с синдромом Барде-Бидля, осмотренные врачами-генетиками ФГБНУ «МГНЦ». Были исследованы следующие гены: *BBS1*, *BBS2*, *ARL6*, *BBS4*, *BBS5*, *MKKS*, *BBS7*, *TTC8*, *BBS9*, *BBS10*, *TRIM32*, *BBS12*, *MKS1*, *CEP290*, *WDPCP*, *SDCCAG8*, *LZTFL1*, *BBIP1*, *IFT27*, *IFT172*, *C8orf37*.

Результаты: В результате исследования удалось подтвердить диагноз молекулярно-генетическим методом у 40% пациентов (n=16). Патогенные и вероятно патогенные варианты были выявлены в генах *BBS1*, *BBS4*, *BBS7*, *TTC8*, *BBS9*, *BBS10*, *BBS12* и *MKKS*. Наиболее часто у исследуемой группы пациентов были обнаружены патогенные и вероятно патогенные варианты в генах *BBS1*, *BBS7* и *BBS10*. У российских пациентов детектирован частый патогенный вариант с.1967_1968delTAinsC (p.Leu656ProfsTer18) в гене *BBS7*.

Заключение: Согласно литературным данным, мутации в гене *BBS7* встречаются у 1,5–2% больных с синдромом Барде-Бидля из разных популяций, в то время как в группе российских пациентов патогенные и вероятно патогенные варианты в этом гене удалось обнаружить в 19% случаев. Патогенный вариант с.1967_1968delTAinsC в гене *BBS7* оказался самым распространенным в группе исследуемых нами пациентов, наряду с патогенным вариантом с.271dup в гене *BBS10*. Результаты, представленные в работе, показывают значительный вклад патогенных вариантов в гене *BBS7* в заболеваемость синдромом Барде-Бидля в российской популяции.

Д15. Спектр мутаций у детей с врожденными пороками развития мочеполовой системы результатам исследования, полученные методом NGS

Е.Г.Шайхаев¹, В.А.Румянцева^{2*}, З.Р.Сабырзянова³, А.Ю.Павлов³, Г.П.Снигирева¹

¹ ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н.Бурденко» МЗ России, Москва

² ФГБУ «Российский научный центр хирургии имени акад. Б.В.Петровского» МЗ России, Москва

³ ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» МЗ России, Москва

E-mail: eshaikhaev@mail.ru

Врожденные пороки развития мочеполовой системы (ВПРМС) – одна из самых многочисленных групп врожденных аномалий, включающих поражение почек, мочеточников, мочевого пузыря, уретры, а также мужских и женских гениталий. До сих пор многие аспекты этиопатогенеза МУ остаются пока невыясненными, а выбор способа консервативного или хирургического лечения часто затруднен разнообразием причин, симптомов и проявлений. Точная идентификация генетической формы ВПРМС может позволить вносить существенные изменения в тактику проводимого лечения: изменять объем и радикальность хирургического лечения, выбирать консервативные методы лечения, проводить профилактические операции, или включать пациентов в ранний лист ожидания для трансплантации почек.

Цель работы: выявление генетической этиологии развития первичного МУ у детей, изучить частоту и спектр наследственных мутаций для подходов (направление) патогенетического лечения.

Материалы и Методы: В исследование были включены 25 пациентов с МУ в возрасте от 1.5 до 16 лет с дебютом заболевания в первый год жизни, и в последующем наблюдающиеся в детском урологическом отделении РНЦПР. NGS исследование проводили на приборе MiSeq (Illumina, США).

Результаты: У трех пациентов были выявлены патогенные мутации, не имеющие прямого отношения к основному заболеванию: с.5329dupC в гене *BRCA1* – ассоциирована с высоким риском развития рака молочной и рака яичника, с.5951G>A (p.Arg1984Gln) в гене *NSD1* – является причиной Синдрома Сотоса и мутация с.727C>T (p.Arg243Trp) в гене *TP63*, которая является причиной синдромов эктодермальной дисплазии, заячьей губы, эктродактилии и ADULT синдрома. У пяти пациентов были выявлены мутации ассоциированные с врожденными аномалиями почек и мочевыводящих путей. Выявлена мутация с.1006C>G (p.His336Asp) в гене *HNF1B*, которая характеризуется как вероятно патогенная и ассоциирована с развитием синдрома мультикистозной дисплазии почек. Обнаружена мутация с.865G>T (p.Asp289Tyr) с неизвестным клиническим значением в гене *EYA1*. Мутации в гене *EYA1* ассоциированы с брахио-ото-ренальным синдромом, который характеризуется аномалиями со стороны различных органов и систем, в том числе и мочеполовой системы. Выявлена мутация с неизвестным клиническим значением в гене *MYLK*, имеющая возможное отношение к потере тонуса гладких мышц мочеточника и мочевого пузыря. Обнаружены неизвестные мутации в генах *MYH9* и *KIF17*, имеющие возможное отношение к развитию поликистозной болезни почек.

Д16. Эффективность NGS диагностики для разных заболеваний

О.С.Глотов^{1,2*}, М.А.Федяков¹, А.С.Глотов^{1,2,3}, А.Е.Шиков^{1,3}, В.В.Цай¹, Ю.А.Эйсмонт¹, О.В.Романова¹, Р.С.Калинин¹, А.Ю.Рудник¹, Ю.А.Барбитов^{2,3,4}, А.В.Предеус⁴, Д.Е.Полев⁵, А.Ю.Лобенская⁵, Т.Э.Иващенко², М.В.Асеев^{2,5}, Е.А.Серебрякова^{1,2}, М.Е.Туркунова⁶, Е.Б.Башнина⁶, М.С.Балашова⁷, Н.А.Жученко⁷, С.П.Уразов¹, А.М.Сарана³, С.Г.Щербак^{1,3}, В.С.Баранов^{2,3}

¹ СПб ГБУЗ «Городская больница №40», Санкт-Петербург

² ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О.Отта», Санкт-Петербург

³ ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург,

⁴ Институт биоинформатики, Санкт-Петербург

⁵ ООО «Сербалаб», Санкт-Петербург

⁶ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Минздрава России, Москва

⁷ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М.Сеченова Минздрава России, Москва

E-mail: olglotov@mail.ru

Технологии геномного и экзомного секвенирования уже стали стандартным подходом к диагностике наследственных заболеваний. Данные о частоте аллелей из крупных проектов секвенирования экзома и генома, таких как база данных секвенирования генома (gnomAD), имеют решающее значение для интерпретации данных секвенирования. Тем не менее, частоты аллелей могут существенно отличаться в слабо изученных популяциях, таких как население России, не включенных в масштабные мировые проекты. Нами показан широкий спектр ранее не зарегистрированных генетических вариаций, которые имеются в российской популяции, причем до 12% вариаций экзома не представлены в современных базах данных, таких как dbSNP (Barbitoff et al., 2019). Выявлено статистически значимое представление «патогенных» вариантов для различных заболеваний, включая синдром Элерса-Данлоса, болезнь Вильсона-Коновалова, фенилкетонурию и многих других рецессивных патологий в нашей популяции по сравнению с мировыми данными. При анализе носительства моногенных заболеваний выявлено, что около 30% «услов-

но здоровых» людей имеют в своем геноме варианты, ассоциированные с моногенными заболеваниями. Таким образом, клинические примеры демонстрируют необходимость более широкого внедрения технологий экзомного секвенирования в медико-генетическую практику.

Ранее нами показано, что применение NGS секвенирования повышает эффективность диагностики различных моногенных заболеваний в сравнении с другими методами молекулярной биологии. Так для моногенных форм диабета эффективность диагностики возрастает до 55% (Glotov et al., 2019), для болезни Вильсона-Коновалова до 96% (Balashova et al., 2019). Таким образом, благодаря экзомным данным, мы можем оценить распространенность моногенных заболеваний в нашей популяции, подтвердить заболевание и правильно и своевременно подобрать терапию. Учитывая высокую частоту (около 30%) носительства моногенных заболеваний уже сегодня становится актуальным предварительное тестирование супругов на носительство моногенных заболеваний с последующим планированием беременности, используя в том числе метод NGS.

Д17. Вклад «выпадения» аллеля (allelic drop-out) в ограничение диагностической эффективности ПЦР-опосредованного секвенирования

А.Г.Шестак^{1*}, А.А.Букаева¹, С.Сабер², Е.В.Заклязьминская¹

¹ ФГБНУ Российский научный центр хирургии имени академика Б.В.Петровского, Москва

² Иранский Университет медицинских наук, Тегеран, Иран

E-mail: anna.shestak87@gmail.com

Мотивация и цели: Allelic dropout (ADO, «выпадение» аллеля) – распространенное явление в ПЦР-опосредованных методах секвенирования: NGS, прямого секвенирования по Сенгеру. ADO приводит к селективной амплификации аллелей в ходе ПЦР, что представляет потенциальную проблему корректной ДНК-диагностики. Цель данного исследования – демонстрация случаев обнаружения ADO, снижающего эффективность ДНК-диагностики первичных кардиомиопатий (КМП) с использованием NGS (панели генов) и прямого секвенирования по Сенгеру. **Методы:** Проведение ДНК-диагностики больным с КМП осуществляли методом NGS на платформе IonTorrent с использованием 3 AmpliSeq панелей, дизайн олигопраймеров для которых был проведен с помощью онлайн-ресурса AmpliSeqDesigner®. В сумме исследуемая область генов фланкируется 1049 парами праймеров (37 генов), 153 kb. Каждый образец ДНК из 232 образцов ДНК пациентов был проанализирован на не менее чем одну целевую панель генов. Все архивные хроматограммы прямого секвенирования по Сенгеру были использованы для отслеживания случаев потенциального ADO. Для выявления причин ADO, были проанализированы сайты связывания праймеров с использованием базы данных Genome Aggregation Database. Для исключения амплификации только одного аллеля, ампликоны со случаями потенциального ADO были ре-секвенированы с альтернативной пары праймеров.

Результаты: Мы обнаружили 6 случаев ADO как в результатах NGS (3 случая), так и на хроматограммах прямого секвенирования по Сенгеру (3 случая). Причина возникновения ADO была выявлена во всех случаях. Все случаи ADO были вызваны частыми или редкими однонуклеотидными генетическими вариантами (SNVs, single nucleotide variations) в местах отжига олигопраймеров и были обнаружены из-за наличия «маркерных» SNVs в целевом фрагменте ДНК. Мы определили, что ПЦР-опосредованное секвенирование нового поколения сопряжено с риском возникновения ADO, что требует обязательного подтверждения результатов NGS методом прямого секвенирования по Сенгеру. Мы предполагаем, что дизайн олигопраймеров без учета ADO может влиять на эффективность амплификации до 0,77% ампликонов.

Заключение: Все ПЦР-опосредованные методы секвенирования имеют риск возникновения ADO, приводящего к снижению диагностической эффективности генетического тестирования. Реальная частота ADO остается неизвестной и зависит от количества пар праймеров. Требуется программное обеспечение для обнаружения случаев потенциального ADO. Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №16-15-10421.

Д18. Клинический случай синдрома Таттон-Браун-Рахман

Ф.М.Бостанова*, Н.А.Семенова, О.А.Левченко, Е.Л.Дадали

* ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

E-mail: fatima1893@mail.ru

Мотивация и цели: Синдром Таттон-Браун-Рахман (СТБР; OMIM:602769) – редкий моногенный синдром, впервые описанный в 2014 году, обусловленный гетерозиготными мутациями в гене *DNMT3A*. Большинство известных мутаций – нонсенс-мутации. Синдром характеризуется пост-натальной макросомией с умственной отсталостью, лицевым дисморфизмом и повышенным риском миелоидного лейкоза. Установление диагноза крайне необходимо, поскольку это позволит оптимизировать тактику наблюдения и лечения таких пациентов.

Материалы и Методы: Мы представили клиническое описание и результаты молекулярно-генетических исследований российского пациента с синдромом Таттон-Браун-Рахман. Пробанд-мальчик 10 лет, с макросомией (рост 146 см (90ц), вес 44 кг (97ц)), макрокранией (окружность головы 56 см (>97ц)), лицевым дисморфизмом (легкий антимонолоидный разрез глаз, эпикант, сходящееся косоглазие, крупные, диспластичные, ротированные кзади ушные раковины, тонкая верхняя губа, выступающие резцы, кучный рост зубов) и задержкой психоречевого развития. Диагноз был установлен методом полноэкзомного секвенирования. Найденная мутация подтверждена секвенированием по Сенгеру, установлен ее статус de-novo.

Результаты: По результатам полноэкзомного секвенирования обнаружен ранее не описанный вариант нуклеотидной последовательности в 12 экзоне гена *DNMT3A* (chr2:25468920 C>A; p.Tyr481Ter, NM_175629) в гетерозиготном состоянии. Сегрегационный анализ выявленного варианта методом секвенирования по Сенгеру позволил присвоить ему статус de novo. Клинические особенности нашего пациента с мутацией в гене *DNMT3A* полностью соответствует фенотипу при данном синдроме.

Заключение: Представленные данные вносят вклад в понимание особенностей клинико-генетических характеристик синдрома СТБР. Мы дополнили своим новым клиническим случаем молекулярно-генетическую информацию об этом синдроме.

Д19. LoF вариант как причина TUBB-ассоциированного расстройства

О.А.Левченко^{1*}, С.Э.Нагиева², Е.Л.Дадали¹, А.В.Лавров¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

² Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова, Москва

E-mail: olevchenko@med-gen.ru

Мотивация и цели: *TUBB* кодирует один из девяти белков бета-тубулина и широко экспрессируется во всех тканях, особенно в развивающемся мозге. В димерном комплексе с альфа-тубулином, бета-тубулин является частью структурных компонентов микротрубочек, необходимых для многих клеточных процессов, включая внутриклеточный транспорт, сегрегацию хромосом в митозе и клеточную миграцию. Патогенные миссенс-варианты в гене *TUBB* ассоциированы с двумя фенотипами: кортикальная дисплазия в комплексе с другими пороками развития мозга

(OMIM: 615771) и симметричные круговые кожные складки (OMIM: 156610). Оба заболевания являются аутосомно-доминантными и сопровождаются нарушением интеллектуального развития. На данный момент описано 10 патогенных миссенс-вариантов и ни одного, приводящего к прекращению синтеза белка (LoF).

Методы: Полное секвенирование экзона (WES) проводили с использованием IlluminaTruSeq® ExomeKit, IDT xGen® Exome Research Panel и Illumina NextSeq 500.

Результаты: Под наблюдением находился мужчина 38 лет. Родился от доношенной беременности с массой 2600 г, длиной 48 см. Моторное развитие с задержкой: сидит с 10 мес, ходит с 1 года 8 мес. Речи нет. При осмотре: росто-весовые показатели в пределах нормы, кифоз в грудно-поясничном отделе, страбизм, глазной гипертелоризм, короткий фильтр, выступающая нижняя челюсть, очаговой неврологической симптоматики не выявлено. При кариотипировании выявлен синдром полиY, анализ метилирования промотора *FMR1* не выявил изменений характерных для синдрома Мартина-Белл. При проведении WES выявлен вариант неизвестного клинического значения (p.Tyr208fs) в гене *TUBB* (NM_178014). При сегрегационном анализе в семье методом секвенирования по Сенгеру подтвержден статус de novo. Клинические особенности пробанда пересекаются с описанными ранее фенотипами.

Заключение: Таким образом, принимая во внимание небольшое количество описанных пациентов, мы предполагаем, что LoF варианты гена *TUBB* могут являться причиной *TUBB*-ассоциированного расстройства.

Д20. Гомозиготные мутации в гене TRIP4 как причина врожденной мышечной дистрофии, тип Давиньон-Шове (клинический случай)

С.С.Жилина^{1,2*}, Т.В.Кожанова^{1,2}, Т.И.Мещерякова¹, М.Ю.Шорина¹, И.Ф.Деменьшин¹, Г.Г.Прокопьев¹, И.В.Канивец³, В.С.Сухоруков⁴, П.Л.Ануфриев⁴, Т.И.Баранич^{2,4}, А.А.Козина², А.Г.Притыко^{1,2}

¹ ГБУЗ «НПЦ спец мед помощи детям ДЗМ», Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «РНМУ им. Н.И.Пирогова» МЗ РФ, Москва, Россия

³ ООО «Геномед», Москва

⁴ ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

E-mail: szhylina@mail.ru

Мотивация и цели: представляется клинический случай редкой формы врожденной мышечной дистрофии, ассоциированной с гомозиготной мутацией в гене *TRIP4* у пациента с дыхательной недостаточностью, неврологической симптоматикой, мышечной гипотонией, множественными врожденными пороками развития опорно-двигательной системы (контрактуры и деформации).

Материалы и Методы: клиническое обследование, полноэкзомное секвенирование.

Результаты: В ОПИТ для новорожденных детей наблюдалась девочка, 2 мес., доношенный ребенок от 1 беременности, протекавшей у матери (19 лет) с отягощенным анамнезом, первых своевременных оперативных родов в тазовом предлежании в 39 неделе путем кесарева сечения. Состояние при рождении тяжелое, обусловлено дыхательной недостаточностью, неврологической симптоматикой в виде синдрома угнетения за счет церебральной депрессии. Фенотипические особенности: ограничение ротации в правой и левой руке, недоразвитие плечевого пояса, ограничение сгибания рук в локтевых суставах, контрактуры в локтевых, коленных суставах, в тазобедренных суставах. Низко посаженные ушные раковины, арахнодактилия, гипертелоризм, готическое небо, краниостеноз, плагиоцефалия. В области лопатки мягкотканое образование (фибромиома). В период бодрствования ребенок переводится на самостоятельное дыхание, но при засыпании сатурация снижается и параметры ИВЛ ужесточаются.

Заключение: МВГР. Синдром фетальной акинезии. Нейрогенный артрогрипоз. В результате проведения полноэкзомного секвенирования выявлен ранее не описанный вариант нуклеотидной последовательности в гене *TRIP4* в гомозиготном состоянии, приводящий к остановке синтеза полнофункционального белка (chr15:64686179, с.136С>Т, р.Arg46Ter, NM_016213.4). Мутация в гене *TRIP4* была валидирована методом секвенирования по Сэнгеру у ребенка и исследовано ее происхождение. Мать и отец девочки являются носителями гетерозиготного варианта в гене *TRIP4*. Ребенок умер в возрасте 6 мес. по данным патолого-анатомического вскрытия в результате резвившейся полиорганной недостаточности. Проведена световая микроскопия поперечно-полосатой скелетной мышечной ткани (диафрагма) и спинного мозга (парафиновые срезы: окраска гематоксилиномэозином, по Ван Гизону, PAS).

Заключение: Выражены признаки центральноядерной врожденной миопатии. Диффузный отек участка спинного мозга на фоне расстройства гемодинамики.

Заключение: Выявление генетической причины этой редкой формы нервно-мышечного заболевания может быть полезно не только с целью определения тактики медицинского сопровождения пациента, и медико-генетического консультирования семьи, но и в качестве модельной парадигмы для изучения новых факторов и механизмов, которые контролируют массу скелетных мышц и их физиологию.

Д21. Вариант нуклеотидной последовательности в гене *ADNP* – причина редкого генетического синдрома Хельсмуртел-ван дер Аа (клинический случай)

Т.В.Кожанова^{1,2*}, С.С.Жилина^{1,2}, Т.И.Мещерякова¹, Е.Г.Лукьянова¹, К.В.Осипова¹, С.О.Айвазян¹, А.Г.Притыко^{1,2}

¹ ГБУЗ «НПЦ спец.мед.помощи детям ДЗМ», Москва

² ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова МЗ РФ, Москва

E-mail: TatyanaVK84@gmail.com

Мотивация и цели: впервые в России представляется клиническое наблюдение пациента с криптогенной генерализованной эпилепсией, задержкой психомоторного и речевого развития, нарушением поведения и выявленной мутацией в гене *ADNP*.

Материалы и Методы: клиническое обследование, таргетное экзомное секвенирование панели генов «Наследственные эпилепсии».

Результаты: Девочка, 3 лет, с диагнозом эпилепсия криптогенная генерализованная, задержка психомоторного и речевого развития. Ребенок от 1 беременности, протекавшей без особенностей, вес при рождении 4550 г., рост 53 см, Апгар 8/9 баллов. Дебют заболевания в 3 месяца эпилептическими приступами по типу тонических спазмов и регрессом психомоторного развития. У пациентки осмысленный контакт затруднен, гиперактивна, поведение полевое, фон настроения чаще повышен, действует по собственной мотивации, речи нет, формируется жестовый диалог, навыков самообслуживания и опрятности нет, гипотония. Фенотипические особенности – клиновидный рост волос на лбу, низкий рост волос в области висков, выступающие надбровья, нависающие веки, короткие глазные щели, эпикант, миндалевидный удлинённый разрез глаз, короткий широкий нос, вздернутый кончик носа, утолщенные ноздри, короткий фильтр, вздернутая верхняя губа, опущенные книзу углы рта, пухлые губы и щеки, утолщенные ушные раковины, пухлые кисти с удлинёнными конусовидными пальцами. При генетической исследовании выявлена мутация в гене *ADNP* в гетерозиготном состоянии (р.A1a1017fs). При повторном осмотре в возрасте 5 лет – речи нет, стереотипии, элементы подражания. Действует по собственной мотивации. Простые команды выполняет после многократного повтора и показа. Гиперактивна. Навыков опрятности и самообслуживания нет.

Заключение: Впервые в России представлен клинический случай редкого генетического синдрома Хельсмуртел-ван дер Аа. Мутации в гене *ADNP* могут быть причиной РАС у 0,17% пациентов. Целесообразно, при интерпретации данных NGS у пациентов с эпилепсией, РАС и характерным фенотипом учитывать, что ген *ADNP* относится к ключевым генам эмбрионального нейроразвития.

Д22. Сложные *PAX6*-ассоциированные фенотипы и возможности диагностики методом NGS

Т.А.Васильева*, А.В.Марахонов, В.В.Кадышев, Р.А.Зинченко

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

E-mail: vasilyeva_debbie@mail.ru

Миссенс-мутации в гене *PAX6* имеют сложно прогнозируемые последствия. С ними могут быть ассоциированы несколько разных врожденных патологий глаза: врожденная аниридия, изолированные гипоплазия зрительного нерва и гипоплазия центральной ямки, микрофтальм. Методом выбора для определения молекулярной основы сложных глазных фенотипов может быть высокопроизводительное секвенирование (NGS).

В МГНЦ обратились две семьи: первая – с ахроматопсией, атрофией глиального слоя сетчатки, нарушенной структурой пигментного эпителия, гипоплазией макулы, вторая – с изолированной гипоплазией зрительных нервов. Проведено офтальмологическое и молекулярно-генетическое исследование методом NGS.

В обоих случаях обнаружены миссенс мутации в гене *PAX6* в гетерозиготном состоянии: NM_000280.4(*PAX6*):с.177G>Т, р.(Arg59Ser) и с.214G>А, р.(Gly72Ser). Обе несинонимичные замены приходятся на домен парного бокса.

В базе HGMD в гене *PAX6* зарегистрировано 85 миссенс мутаций, 37 ассоциированы с «неаниридийными» фенотипами, 48 – с «классической» аниридией. Большая часть известных несинонимичных замен (67,8 %) сосредоточена в парном домене.

Не все миссенс-мутации одинаково влияют на функцию белка *PAX6*. Биоинформатический анализ показал, что большинство миссенсов, приходящихся на домен парного бокса, приводит к потере функции (LoF) из-за потери стабильности или способности связываться с ДНК. Т. е., большинство миссенсов являются LoF мутациями и приводят к аниридии. Однако, согласно функциональному анализу и предсказанию *in silico*, миссенс мутации, найденные при гипоплазии фовеа, не влияют на стабильность структуры парного домена и белка в целом, но изменяют специфичность связывания с ДНК.

При том, что ассоциация LoF мутаций в гене *PAX6* с ярким фенотипом врожденной аниридии привела к одной из самых ярких и успешных историй исследования гаплонедостаточности функции генов, реализация миссенс мутаций в том же гене все еще представляет собой загадку.

Финансировано грантом РФФИ 19-015-00122 и госзаданием Минобрнауки России.

Д23. Полноэкзомный анализ сперматогенеза в преселектированной выборке из российских мультиэтнических популяций

А.В.Осадчук*, С.К.Колмыков, Г.В.Васильев, М.А.Клещев, Л.В.Осадчук

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

E-mail: osadchuk@bionet.nsc.ru

Мотивация и цели: Глобальный тренд снижения репродуктивного потенциала мужского населения, наблюдаемый во многих странах мира, в том числе и в России, ставит задачу выяснения ее генетических и этнических механизмов. Мы представляем здесь первое российское WES исследование с целью идентификации новых генов, связанных с сперматогенезом.

Методы: Экспериментальный 3x2 дизайн WES-исследования основан на анализе 157 образцов ДНК от трех этнических групп – славян, бурят и якутов и двух контрастных по качеству спермы групп – патозооспермии и нормоспермии. Образцы ДНК секвенировались на платформе Illumina NextSeq 550. Создание экзомных библиотек осуществлялось с помощью Illumina TruSeq DNA Library Prep for Enrichment с XGen® Exome Research Panel v1.0, а секвенирование – с помощью NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5. Последующие этапы генотипирования и фильтрации полиморфизмов выполнялись в соответствии с рекомендациями GATK Best Practices. На этапе генотипирования образцы объединялись в четыре когорты: три набора соответствовали трем этническим группам, а четвертый – содержал все 157 экзотов. Для каждой из полученных когорт был проведен полноэкзомный поиск ассоциаций.

Результаты: Отобраны десять потенциальных SNP-маркеров восьми генов *FAM71F1*, *PPP1R15A*, *TEX11*, *TRIM45*, *PRAME*, *RBM47*, *WDFY4* и *FSIP2*, которые экспрессируются в семенниках и играют важную роль в клеточной пролиферации, мейозе и апоптозе. Для каждого SNP с помощью анализа ANOVA установлена координированная и аддитивная межаллельная изменчивость ключевых показателей сперматогенеза: концентрации, общего количества, подвижности и частоты морфологически нормальных сперматозоидов.

Заключение: Анализ результатов полно-экзомного секвенирования, основанного на преселекционированной выборке мужчин, позволил обнаружить новые гены как с общими, так и этноспецифическими эффектами, детерминирующими не только нарушения сперматогенеза, но и его повышенную активность. Исследование поддержано грантом РНФ № 19-15-00075.

Д24. Выявление возможных транслокаций у супружеских пар по результатам исследований хромосомного профиля клеток трофэктодермы, выполняемых методом NGS (полупроводниковое секвенирование) в программах ЭКО с ПГТ-А

Т.А. Мараховская^{1,5*}, Е.О. Кузнецов², А.А. Иванченко², М.Ю. Перова^{2,3}, А.Б. Бушковская³, О.В. Филиппова², Н.Э. Скобликов^{1,4}

¹ ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», Краснодар

² ООО «СЛ МедикалГруп», Краснодар

³ ООО «Окси-центр», Краснодар

⁴ ФГБНУ КНЦЗВ, Краснодар

⁵ Академия биологии и биотехнологии, Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону

E-mail: tmarakhovskaya@mail.ru

Мотивация и цели: Преимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии (ПГТ-А) клеток трофэктодермы эмбрионов, проводимое методом WGS, позволяет выявить не только анеуплоидии, но и хромосомные aberrации. Выявление идентичных сочетанных (делеция + дупликация) aberrаций у нескольких эмбрионов от одной пары позволяет предположить наличие возможных реципрокных транслокаций у одного из родителей.

Методы: Было исследовано 17 хромосомных профилей образцов трофэктодермы эмбрионов от 4-х супружеских пар, в которых у одного из родителей было предварительно установлено наличие реципрокной транслокации по результатам цитогенетического исследования. Исследование ПГТ-А проводили методом WGS на платформе Ion Torrent с использованием набора ReproSeq™ PGS Kit.

Результаты: У каждой пары в большинстве (у 11 из 17) проанализированных образцов выявлены сочетанные aberrации в транслоцированных участках хромосом.

Случай 1: кариотип родителя – 46,XY,t(1;3)(q31;p12). У всех 5 из 5 образцов выявлены aberrации (1q31.3q44),(3p26.3p12.3).

Случай 2: кариотип родителя – 46,XY,t(2;3)(q23;p25). У 4 из 6 образцов выявлена aberrация (2p25.3q31.1).

Случай 3: кариотип родителя – 46,XX,t(2;7)(q23;q32). У 1 из 2 образцов выявлены aberrации (2q23.1q37.3),(7q35q36.3).

Случай 4: кариотип родителя – 46,XY,t(1;10)(q21;q11.2). У 1 из 4 образцов выявлены aberrации (1p36.33p11.2),(10p15.3p11.1).

Заключение: ПГТ-А может служить не только для скрининга хромосомных анеуплоидий у эмбриона, но и для расширения диагностического поиска в отношении самих родителей. Воспроизводимое обнаружение идентичных сочетанных aberrаций может быть основанием для подозрения на наличие возможной транслокации у одного из родителей. При их случайном выявлении в рамках ПГТ-А следует рекомендовать паре провести цитогенетическое исследование, позволяющее верифицировать диагноз родителя и сделать прогностическое заключение по дальнейшей стратегии применения ВРТ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда и ООО «СЛ МедикалГруп» в рамках научного проекта МФИ-П-20.1/10, а также при финансовой поддержке РФФИ и Краснодарского края в рамках научного проекта № 19-44-230040-р_а.

Д25. Применение подхода распределенных вычислений к созданию веб-приложения для клинической интерпретации геномных данных

Н.А. Кулемин^{1,2*}, И.В. Федюшкина², С.А. Попов¹, А.Ю. Горбачев¹

¹ Zenome.io LTD

² ФГБУ ФНЦЦ ФХМ ФМБА России (Москва)

E-mail: nick@zenome.io

Мотивация и цели: Технологии высокопроизводительного секвенирования все шире внедряются в клиническую практику. В настоящее время секвенирование экзотов и полных геномов используется при диагностики редких заболеваний: решается задача поиска каузативных (предположительно являющихся причиной заболевания) геномных вариантов. Существует множество баз данных и открытых инструментов для аннотации и приоритизации геномных вариантов (Annotvar, VEP, dbNSFP, gnomAD etc.). Кроме того, международным сообществом разработаны руководства и стандарты в области классификации геномных вариантов (ACMG Standards and Guidelines). Однако, несмотря на значительные успехи в данной области, все еще существует проблема классификации геномных вариантов с целью определения их патогенности/доброкачественности (VUS challenge). Значительная доля геномных вариантов (до 40% в индивидуальном геноме) вариантов классифицируется как варианты с неопределенной клинической значимостью (VUS)). В результате чего примерно в 40% случаев (для экзота) и в 20-30% (для генома) генетический анализ не может выявить каузативный вариант.

Методы: Для решения проблемы классификации геномных вариантов мы использовали концепцию виртуальных генных панелей, а также собственный калькулятор патогенности.

Результаты: Мы разработали веб-приложение Zenome Varianter которое позволяет быстро и точно классифицировать геномные варианты, с возможностью работать как с небольшими панелями и экзотами, так и с полными геномами с любого устройства без необходимости отдельно хранить или пересылать геномные файлы. Использование концепции виртуальных ген-

ных панелей позволяет значительно ускорить процесс поиска каузативных вариантов, а автоматическая система классификации и последующей экстракции данных – значительно снизить время ручного труда специалиста в области интерпретации этих данных. В перспективе планируется разработать такой интерфейс веб-приложение, который позволял бы использовать генетические данные не только врачам-генетикам, но и врачам других специальностей для принятия ежедневных клинических решений.

Д26. Автоматизация подготовки данных NGS пациентов для интерпретации. Опыт медицинских генетиков

Ю.В.Вяткин^{1,2*}, А.В.Жайворон², М.Ю.Помазной², В.Н.Максимов³, Е.Н.Воропаева³, С.П.Медведев⁴, Е.В.Тарасенко², Д.Н.Штокало^{2,5}

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск

²ООО «Новые Программные Системы», Санкт-Петербург

³Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск

⁴Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

⁵Институт систем информатики им. А.П.Ершова СО РАН, Новосибирск

E-mail: shtokalod2@gmail.com

Мотивация и цели: Биоинформатическая обработка данных NGS, фильтрация и приоритезация предваряет интерпретацию медицинским генетиком вариантов нуклеотидной последовательности, являющихся вероятной причиной заболевания пациента. Конечные выводы мед. генетика не менее чем на 20% в среднем зависят от способа предшествующей технической обработки. При этом врач не всегда имеет возможность контролировать этот процесс. Также на практике возникают трудности с получением актуальной референсной информации и с обменом данными о клинических прецедентах. Целью нашей работы является разработка простого в обращении облачного приложения NGS Wizard (ru.genomenal.com), который бы позволил врачу обрабатывать данные без технических задержек и при желании даже без помощи биоинформатика. **Материалы и Методы:** NGS Wizard представляет собой веб-приложение с графическим интерфейсом, созданное на платформе Java. Пайплайны оснащены умными алгоритмами подбора параметров с протоколированием шагов обработки данных. Процесс максимально автоматизирован. Процедуры придерживаются лучших практик, рекомендованных мировым сообществом. **Результаты:** В NGS Wizard успешно обработаны десятки российских и зарубежных проектов с данными WES и WGS. В опухолевой ткани пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой выявлены рекуррентная мутация MYD88 (p.Leu273Pro) и другие патогенные aberrации в генах *TP53*, *PIM1*, *CD79B*, *MSH2*, *CARD11*, *NOTCH1*, *SMARCA4*, *KMT2D* и *EP300*. В когорте больных кардиомиопатией нашлась патогенная мутация *MYBPC3* (p.Q1233X). В когорте пациентов с болезнью Паркинсона обнаружены мутации в генах *LRRK2* (p.A419V) и *PINK1* (p.M318L). В опухолях глиобластомы обнаружены соматические aberrации, включая точечную мутацию *EGFR* (p.R315K) ранее не упоминавшуюся в связи с этой болезнью. В экзомах взрослых мужчин, умерших внезапной сердечной смертью в возрасте до 45 лет, обнаружены мутации в генах каналопатий и кардиомиопатий.

Заключение: Апробация NGS Wizard медицинскими генетиками показала его удобство и эффективность. Приложение упрощает процесс для пользователя и сокращает время на обработку данных в несколько раз при сохранении качества. Разрабатываются шаблоны специализированных отчетов по конкретным видам заболеваний и база данных прецедентов. Работа поддержана Фондом содействия инновациям, ERA-RUS-41151, 0042013.

Д27. Биоинформатические подходы к определению пола при анализе данных NGS

Н.А.Зубашенко*, Д.Н.Хмелькова, О.С.Капитонова, В.С.Апухтина, А.А.Еремян, В.С.Каймонов, И.В.Миринова, Е.В.Мусатова

ООО «ЦГРМ «ГЕНЕТИКО», Москва

E-mail: zubashenko@genetico.ru

Мотивация и цели: Аккуратность определения пола образца с помощью биоинформатических методов анализа данных NGS может влиять на решение различных задач. К числу таких задач могут относиться, в частности, один из этапов контроля над перепутыванием образцов, а также выявление отклонений от нормального количества половых хромосом у пациентов. Биоинформатическое определение пола образца может базироваться на различных подходах, включая оценку глубины покрытия по X- и Y-хромосомам, а также степень гетерозиготности SNV на X-хромосоме. В ходе рутинной работы над анализом и интерпретацией данных NGS пациентов мы разработали алгоритм биоинформатического определения пола образцов, включающий в себя комбинацию нескольких программ, базирующихся на различных подходах к определению пола, и валидировали его на выборке как нормальных с точки зрения кариотипа, так и «нестандартных» образцов.

Методы: С целью разработки алгоритма определения пола образца были изучены и протестированы различные готовые биоинформатические решения, из которых были выбраны наиболее эффективные и удобные в использовании. Далее был разработан поэтапный алгоритм использования выбранных биоинформатических программ. Алгоритм был валидирован на выборке образцов: нормальных с точки зрения кариотипа; пациентов с кариотипом XXX и XXY; пациентов с участками потери гетерозиготности вследствие близкородственного брака родителей; а также на образце с предположительным химеризмом (XX/XY).

Результаты: В результате проделанной работы был разработан поэтапный пайплайн с применением ряда биоинформатических программ, включая Xyalign, SEXCMD, samtools idxstats. После валидации на выборке образцов пайплайн был внедрен в рутинную практику в лаборатории.

Заключение: Разработка пайплайна, включающего в себя несколько биоинформатических программ, базирующихся на различных подходах к определению пола образца, позволила значительно упростить биоинформатическую обработку нестандартных с точки зрения половых хромосом образцов.

Д28. Опыт детекции клинически значимых вариаций числа копий ДНК с использованием алгоритма EXCAVATOR в данных полноэкзомного секвенирования

А.А.Твеленева*, Т.О.Буканова¹, В.С.Каймонов¹, И.В.Миринова¹, В.С.Апухтина¹, А.П.Корбут¹, И.Н.Котов¹, Д.Н.Хмелькова¹, И.С.Поволоцкая^{1,2}, Е.А.Померанцева¹, Е.В.Мусатова¹

¹ООО «ЦГРМ «ГЕНЕТИКО»;

²ОСП НИКИ педиатрии им. академика Ю.Е.Вельтищева ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И.Пирогова МЗ РФ

E-mail: tveleneva@genetico.ru

Мотивация и цели: Для анализа вариаций числа копий ДНК (CNV-Copy Number Variation) используют широкий спектр методов с различной разрешающей способностью. «Золотым» стандартом для детекции CNV является хромосомный микроматричный анализ (ХМА). В последнее время особое место занимает исследование CNV методами высокопроизводительного секвенирования. Полноэкзомное секвенирование (WES) повсеместно признано надежным и экономически выгодным подходом для поиска каузативных однонуклеотидных вариантов и коротких инсер-

ций/делеций в кодирующей области генома. Используя данные полноэкзомного секвенирования как для анализа точечных вариантов, так и для поиска клинически значимых CNV, возможно увеличить диагностический выход и ускорить процесс выявления каузативных вариантов.

Методы: Высокопроизводительное секвенирование проводилось на платформе Illumina NovaSeq6000. Хромосомный микроматричный анализ осуществляли с использованием олигонуклеотидных микроматриц Agilent SurePrint G3 CGH+SNP Array Kit 4x180K.

Результаты: Выборку составила группа пациентов (n=215), направленных на ХМА и WES. По результатам ХМА у 36 пациентов идентифицировали 41 CNV, классифицируемые как патогенные, вероятно патогенные и варианты неизвестного клинического значения. Используя алгоритм EXCAVATOR, как инструмент детекции CNV в данных WES, у 6 пациентов были идентифицированы CNV, классифицируемые как патогенные и вероятно патогенные (5/41) и вариант неизвестного клинического значения (1/41). Стоит отметить, что, сравнивая заключения по ХМА и WES, 14 каузативных CNV, выявленных методом ХМА, не были вынесены в заключения WES. Таким образом, был предложен повторный таргетный анализ CNV по данным WES для выявленных на ХМА клинически значимых вариантов. Остальные варианты (21/41), обнаруженные ХМА, были классифицированы как варианты с неизвестной клинической значимостью и так же отсутствовали в заключениях по данным WES.

Заключение: Анализ CNV по данным WES, служит чрезвычайно важным и полезным дополнительным инструментом для выявления клинически значимых CNVs. Однако использование алгоритма EXCAVATOR, основанного на данных глубины покрытия, все же не всегда эффективно применимо к данным целям.

Д29. Диагностика мозаичных CNV с использованием данных таргетного высокопроизводительного секвенирования (NGS)

К.О.Карандашева*, М.С.Пашенко, А.С.Танас, В.В.Стрельников

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

E-mail: christinavader@gmail.com

Мотивация и цели: Поиск мозаичных изменений копийности участков ДНК (CNV) является нетривиальной задачей, так как и экспериментальные, и биоинформатические подходы обладают ограниченной чувствительностью в отношении генотипов с малой представленностью альтернативного аллеля. Целью данной работы является создание алгоритма поиска мозаичных CNV, предназначенного для работы с данными таргетного высокопроизводительного секвенирования ДНК, полученных с использованием небольших панелей праймеров (<200 таргетных регионов).

Методы: Программное обеспечение (ПО) было разработано с использованием языка программирования python, алгоритм поиска CNV основан на статистических и биоинформатических подходах. Популяционные частоты генетических вариантов приведены на основании базы данных Genome Aggregation Database (gnomAD). Тестирование алгоритма проведено на данных высокопроизводительного секвенирования ДНК лимфоцитов периферической крови (Ion S5, Ion AmpliSeq) пациентов с клиническим диагнозом нейрофиброматоз 1 типа (n=1500), панель праймеров включала экзоны генов *NF1*, *NF2* (183 таргетных региона). Для поиска и валидации CNV использовали мультиплексную лигаза-зависимую амплификацию зондов (Salsa MLPA Probemix P081, P082, P122, P044). При необходимости валидации точечных генетических вариантов использовали гетеродуплексный анализ и секвенирование по Сенгеру.

Результаты: Разработано программное обеспечение для поиска мозаичных микроделеций с использованием данных NGS. Выявлены гаплотипы *NF1*, распространенные в российской популяции. Диагностировано 11 пациентов с мозаичными микроделециями, затрагивающими гены *NF1* и *NF2*.

Заключение: Использование предлагаемого подхода позволило выявить мозаичные CNV, которые не были выявлены с использованием MLPA. Включение биоинформатического поиска мозаичных CNV в протокол ДНК-диагностики позволит повысить эффективность подтверждения диагноза.

Д30. Важность повторного анализа данных и проведения функционального анализа на примере пациентов с нарушением регуляции реабсорбции фосфатов

М.В.Шарова¹*, С.В.Папиз², О.А.Левченко¹, А.Ю.Филатова¹, М.Ю.Скоблов¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

² Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е.Вельтищева

E-mail: rsharova221195@gmail.com

Мотивация и цели: Работа показывает, важность переанализа геномных данных и проведения функционального анализа для постановки диагноза.

Методы: Три пациента с диагнозом гипофосфатемического рахита были направлены для проведения молекулярно-генетического исследования. Пациентам П.1 и П.2 проведено полногеномное секвенирование с последующим переанализом геномных данных, для П.3 проведен переанализ данных NGS-панели. Проверка влияния вариантов на сплайсинг была проведена с помощью минигенных конструкций и с помощью анализа РНК.

Результаты: У П.1 в результате первичного анализа генома были выявлены два патогенных варианта: в гене *SLC34A1* (NM_003052.4) p.Trp538* и в гене *SLC34A3* (NM_080877.2) p.Tyr462* в гетерозиготном состоянии. При переанализе данных выявлена описанная ранее патогенная делеция p.91_97del в гене *SLC34A1*. У П.2 в результате первичного анализа генома выявлен вариант в гене *SLC34A3* (NM_080877.2) p.S192L. При переанализе данных выявлена делеция p.91_97del в *SLC34A1* и вариант неопределенного значения c.1449G>A. В результате анализа c.1449G>A установлено, что он приводит к образованию нового сайта сплайсинга и укорочению 13 экзона гена *SLC34A1* на 34 нуклеотида и сдвигу рамки считывания с образованием преждевременного стоп-кодона. У П.3 при первичном анализе NGS-панели не было выявлено вариантов, ассоциированных с фенотипом. При переанализе данных выявлена патогенная делеция в гене *SLC34A3* c.1304delG и миссенс-вариант в последнем нуклеотиде 8 экзона c.846G>A. Вариант c.846G>A описан у пациентов с гипофосфатемическим рахитом с гиперкальциурией, но патогенность варианта не была подтверждена. В результате РНК-анализа установлено, что вариант приводит к потере донорного сайта сплайсинга и пропуску 8 экзона гена *SLC34A3*. **Заключение:** Трем пациентам поставлен окончательный молекулярно-генетический диагноз после переанализа геномных данных. Подтверждена патогенность вариантов c.1449G>A в *SLC34A1* и c.846G>A в *SLC34A3* у двух пациентов.

Д31. Опыт исследования вариантов нуклеотидной последовательности, нарушающих сплайсинг

А.Ю.Филатова*, И.О.Бычков, П.А.Спарбер, К.А.Давыденко, М.В.Фреире, Ю.В.Вяхирева, М.Ю.Скоблов

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

E-mail: MAACC@yandex.ru

Мотивация и цели: В последние годы накопилось большое количество данных о роли мутаций сплайсинга в развитии наследственных заболеваний. Такие мутации могут быть расположены как в интронах, так и в экзонах и затрагивать канонические сайты или регуляторные участки сплайсинга. Существует набор *in silico* алгоритмов, нацеленных на предсказание влияния нуклеотидных вариантов на сплайсинг, но, несмотря на это, экспериментальное подтверждение такого влияния остается необходимым этапом диагностики пациентов. Разработаны несколько подходов к оценке влияния вариантов на сплайсинг и каждый из них связан со своими ограничениями и трудностями проведения анализа. В представленной работе мы рассмотрим наиболее частые проблемы, с которыми мы сталкивались при анализе мутаций сплайсинга и продемонстрируем пути их решения.

Методы: Для *in silico* анализа вариантов использовали алгоритмы: HSF, MaxEntScan, SpliceAI. Для экспериментального исследования применяли 2 подхода с различными модификациями: (1) ОТ-ПЦР РНК, выделенной из доступных образцов тканей пациентов; (2) использование системы экспрессии минигена.

Результаты: Нами было исследовано более сотни вариантов, предположительно влияющих на сплайсинг, в различных генах. В ряде случаев мы сталкивались с трудностями в создании тест-систем и для их преодоления проводили ряд модификаций используемых методов: (1) была разработана линейка векторных конструкций для клонирования минигенов с различными интронами/промоторами и оптимизирована сама последовательность минигена; (2) мы сравнивали результаты анализа минигенов в различных клеточных моделях; (3) для увеличения информативности ОТ-ПЦР анализа мы применяли метод ингибирования NMD, а также исследовали влияние варианта на сплайсинг в различных биологических образцах.

Заключение: Для экспериментального анализа многих вариантов сплайсинга подходит использование стандартного протокола. Однако из-за сложности регуляции сплайсинга на геномном уровне в ряде случаев необходимо модифицировать методики для успешного проведения анализа.

Д32. Функциональный анализ редких нуклеотидных вариантов при моногенных формах сахарного диабета

А.И.Мельникова^{1,2}, Т.С.Краснова², Н.А.Зубкова¹, Е.В.Васильев¹, В.М.Петров¹, П.М.Рубцов², А.Н.Тюльпаков^{3*}

¹ ФГБУ НМИЦ эндокринологии МЗ РФ

² Институт молекулярной биологии имени В.А.Энгельгардта РАН

³ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

Секвенирование следующего поколения становится рутинным методом в диагностике наследственных заболеваний, включая моногенные формы сахарного диабета. Между тем, интерпретация результатов может быть затруднительна и нередко требует проведения функциональных исследований. Нами были проанализированы результаты обследования 1130 пациентов с клиническими проявлениями MODY (maturity-onset diabetes of the young). Панель для таргетного секвенирования (Ion Ampliseq™) включала 28 генов: *ABCC8*, *AKT2*, *BLK*, *CEL*, *EIF2AK3*, *FOXP3*, *GCG*, *GCGR*, *GCK*, *GLIS3*, *GLUD1*, *HNF1A*, *HNF1B*, *HNF4A*, *INS*, *INSR*, *KCNJ11*, *KLF11*, *NEUROD1*, *PAX4*, *PDX1*, *PPARG*, *PTF1A*, *RFX6*, *SCHAD*, *SLC16A1*, *WFS1*, *ZFP57*. Среди выявленных изменений в гене *GCK* было отобрано 20 новых или редких (MAF<0.001) интронных или синонимичных вариантов, эффект которых на сплайсинг был оценен *in silico* (HSF, SPIDEX), а также *in vitro* (экспрессия минигена). *In vitro* эффект на сплайсинг был подтвержден для 9 из 20 вариантов (в т.ч., 2 синонимичных). Результаты анализа *in silico* и *in vitro* совпадали приблизительно в 50%

случаев. Полученные данные подчеркивают важность оценки патогенности интронных и синонимичных вариантов. В сообщении представлены также данные функционального анализа новых и редких вариантов в генах *PAX4* и *GCCR*.

Д33. Влияние хромосомной патологии на пространственную организацию генома

П.А.Васильев^{1,2*}, М.Д.Магнитов², С.В.Ульянов^{2,3}, С.В.Разин^{2,3}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

² Институт биологии гена РАН, Москва

³ МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва

E-mail: Vasiluev1993@yandex.ru

Мотивация и цели: Полиплоидия и анеуплоидия – сравнительно мало изученные хромосомные патологии в контексте проблем генетического дисбаланса. Ранее, для всей хромосомной патологии единственной причиной считалось влияние дозы отдельных генов. Однако в последнее время все чаще исследуется влияние дополнительного генетического материала на пространственную организацию генома и ее роль в патогенезе тех или иных генетических заболеваний. Целями данной работы было определить, как анеуплоидии влияют на организацию хроматина в ядре, приводит ли наличие дополнительной хромосомы к изменению профиля межхромосомных контактов и взаимосвязаны ли эти изменения с размерами хромосом. Все эти данные помогут нам лучше понять молекулярные основы патогенеза заболеваний, связанных с грубой хромосомной патологией.

Методы: В работе использован высокопроизводительный метод определения конформации хромосом (Hi-C), основанный на лигировании хроматиновых фрагментов, расположенных близко друг от друга в пространстве ядра, с последующей детекцией продуктов лигирования высокопроизводительным секвенированием на платформе Illumina. Данные Hi-C позволяют определить как пространственную конфигурацию отдельных хромосом, так и профиль межхромосомных контактов, для чего используются Hi-C карты низкого разрешения. Проанализированы линии фибробластов человека со следующими кариотипами: 47,XY+21; 47,XX+18; 48,XXX+21; 48,XXXX, и 46,XX в качестве контроля.

Результаты: Выявлены многочисленные изменения профиля межхромосомных контактов, наиболее выраженные в кластере малых хромосом, среди которых наиболее аффецированными являются хромосомы 17–22. Кроме того, анализ карт межхромосомных контактов выявил более интенсивные изменения в образцах, имеющих трисомию больше чем по одной хромосоме.

Заключение: анеуплоидия значимо влияет на профиль межхромосомных контактов, особенно для малых хромосом (17–22). В ряде случаев происходит изменение средней частоты контактов между кластерами больших и малых хромосом.

Д34. Первый опыт использования обогащенных ЗС-библиотек для геномной диагностики наследственных заболеваний

В.С.Фишман^{1,2,3*}, М.М.Гридина¹, Е.А.Можейко¹, Э.С.Валеев^{1,2}, Л.П.Назаренко⁴, И.Н.Лебедев⁴, М.Е.Лопаткина⁴, Н.В.Шилова⁵, Ж.Г.Маркова⁵, М.А.Синдеева³, О.Л.Кардымон³

¹ Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск

² Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск

³ Лаборатория по искусственному интеллекту ПАО «Сбербанк», Москва

⁴ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск

⁵ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

E-mail: minja-f@ya.ru

Мотивация и цели: методы экзомного и геномного секвенирование совершили революцию в генетической диагностике, позволив с высокой точностью идентифицировать однонуклеотидные полиморфизмы в индивидуальных геномах. Однако существующие подходы обладают недостаточной чувствительностью и точностью для поиска структурных перестроек. Мы предположили скомбинировать технологию захвата конформации хромосом (3C), позволяющую исследовать трехмерные контакты хроматина, с экзомным обогащением, для одновременного поиска структурных перестроек в масштабах всего генома и вариантов в экзомах.

Результаты: оптимизация протокола приготовления 3C-библиотек позволила обеспечить равномерное покрытие генома, улучшить соотношение сигнал-шум при детекции 3D-контактов хроматина, а также снизить стоимость и время приготовления геномных библиотек. Используя оптимизированную методику были получены 3C-библиотеки для десяти пациентов с различными врожденными патологиями. Гибридизационное обогащение библиотек позволило повысить покрытие в экзомных регионах, однако уровень обогащения (2-12X) существенно уступает стандартным экзомным библиотекам. В то же время, все клинически-значимые однонуклеотидные варианты, выявленные в экзомных районах, были подтверждены секвенированием по Сэнгеру. Анализ 3D-контактов хроматина линии клеток человека K562 показал, что предложенный метод эффективен для детекции транслокаций. С использованием разработанного метода, мы смогли установить с точностью около 1 000 п.о. границы сбалансированной транслокации в геноме пациента с недифференцированной задержкой развития. На основе анализа 3D-контактов хроматина мы предложили новый молекулярный механизм, лежащий в основе развития этой патологии.

Заключение: созданный нами метод может стать эффективным способом генетической диагностики, однако требует оптимизации для увеличения эффективности экзомного обогащения и разработки новых биоинформационных подходов для систематического поиска хромосомных перестроек.

Д35. Перестройки гена *TCF3* у детей с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом

С.Р.Соколова, О.И.Солдаткина, С.А.Лебедева, Ю.В.Ольшанская, Е.А.Зеркаленкова*

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

E-mail: eazerkalenkova@gmail.com

Мотивация и цели: Острые лимфобластные лейкозы из В-предшественников (В-ОЛЛ) являются наиболее часто встречающимися новообразованиями у детей. В патогенез В-ОЛЛ в ряде случаев вовлечен ген *TCF3* (transcription factor 3), запускающий процесс перестройки генов тяжелых цепей иммуноглобулинов. Перестройки *TCF3* определяют тяжесть заболевания, а также прогноз лечения. Целью данной работы явился анализ спектра перестроек гена *TCF3*.

Методы: В исследование вошли 169 пациентов в возрасте от 0 до 18 (медиана 5,0 лет) в соотношении 1,23:1 (мальчики:девочки). Всем пациентам было проведено стандартное кариотипирование и FISH-анализ с пробами к различным перестройкам *TCF3* (CytoCell, Великобритания). Экспрессию *TCF3-PBX1* и *TCF3-HLF* определяли методом ОТ-ПЦР. Образцы с неизвестной перестройкой *TCF3* исследовали методом мультиплексной якорной ПЦР (МЯ-ПЦР) с подготовкой библиотек ArcherDX FusionPlex Myeloid (ArcherDX, CO, USA) и высокопроизводительным секвенированием на приборе Illumina MiSeq (Illumina, США).

Результаты: Самой распространенной перестройкой *TCF3* оказалась t(1;19)(q23;p13.3), выявленная у 120 пациентов (71,01%). Исследование методом МЯ-ПЦР также позволило выявить редкий вариант химерного транскрипта *TCF3-PBX1* с нетипичной точкой разрыва в экзоне 4 *PBX1*. Самой редкой явилась t(17;19)(q21-q22;p13.3)/*TCF3-HLF*, диагностированная у 4 пациентов (2,37%). Данная транслокация имеет сложный характер – во всех случаях имело место формирование химерного экзона с вовлечением фрагментов интронов и участками нематричного синтеза. Рамка считывания при этом сохранялась. T(12;19)(p13;p13.3) обнаружилась у 11 пациентов (6,5%). По данным МЯ-ПЦР был выяснен однородный характер этой перестройки, а также локализацию точки разрыва *TCF3*, отличную от таковой при t(1;19)(q23;p13.3) и t(17;19)(q21-q22;p13.3).

Заключение: В ходе работы был проанализирован спектр перестроек гена *TCF3* у детей с В-ОЛЛ. Однако у 34 (20%) пациентов ни один из методов не позволил установить характер перестройки *TCF3*.

Д36. Высокопроизводительное HLA-типирование для создания регистров доноров

Т.С.Симакова^{1*}, М.А.Глушкова¹, Н.С.Пильщикова¹, С.С.Мозгов¹, А.М.Афанасьев¹, А.В.Слепченков¹, А.В.Суворова¹, М.А.Логинова², А.Е.Павлов¹

¹ Parseq Lab, Санкт-Петербург

² Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства, Киров

E-mail: tsimakova@parseq.pro

Мотивация и цели: Эффективным методом терапии ряда онкологических, гематологических, аутоиммунных и наследственных заболеваний является трансплантация стволовых клеток костного мозга от гистосовместимого донора, поиск которого, при отсутствии родственного донора, осуществляется в специализированных регистрах. Регистр должен содержать данные HLA генотипов сотен тысяч потенциальных неродственных доноров в разрешении, обеспечивающем высокую эффективность поиска. В данной работе представлены результаты разработки высокопроизводительной тест-системы для HLA-генотипирования высокого разрешения в интересах создания национального регистра.

Методы: Таргетное обогащение методом LR-PCR в мультиплексном формате в 1 пробирке, ферментативная фрагментация, лигирование адаптеров и индексирующая ПЦР по протоколу Parseq Lab. Секвенирование на платформе Illumina MiSeq с набором MiSeq Reagent Kit v2 (300). Полностью автоматический анализ данных с помощью ПО Parseq Lab с системой поддержки принятия решений.

Результаты: Тест-система обеспечивает анализ 192 образцов за цикл по 5 локусам HLA (-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1) с разрешением 2-fields. Тест-система валидирована на выборке из 3000 образцов, апробирована на выборке более 5000 образцов, зарегистрирована в качестве медицинского изделия на территории РФ. Оценочная производительность – 20 000 исследований в год на 1 приборе.

Заключение: Разработанная, зарегистрированная и внедренная в практическое здравоохранение высокопроизводительная тест-система для HLA типирования с полностью автоматическим анализом данных – эффективный инструмент создания национального регистра доноров костного мозга.

Д37. Исследование влияния варианта с.859A>G в гене *ADSL* на сплайсинг пре-мРНК

К.А.Давыденко*, А.Ю.Филатова, А.О.Боровиков, М.Ю.Скоблов
 ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва
 E-mail: xeerox2008@gmail.com

Мотивация и цели: В ходе секвенирования панели генов у пациента с мультифокальной эпилепсией было выявлено два варианта в гене *ADSL*, находящихся в транс-положении. Вариант с.340T>C был ранее описан и патогенность его была подтверждена функциональными исследованиями. Второй вариант, с.859A>G является миссенс вариантом с неизвестной клинической значимостью. Биаллельные варианты в гене *ADSL* ранее были описаны у пациентов эпилептической энцефалопатией. Целью данной работы являлось исследование патогенности варианта с.859A>G в гене *ADSL*.

Методы: Для *in silico* анализа вариантов использовали алгоритмы: HSF, MaxEntScan, SpliceAI. Для анализа мРНК пациента использовали RT-PCR с последующим секвенированием по Сэнгеру. *In vitro* анализ сплайсинга выполнялся с использованием системы экспрессии минигена. Для этого были созданы плазмиды, содержащие участок гена *ADSL* как дикого типа, так и с вариантом с.859A>G. После их трансфекции в клетки линии *HEK293T* была выделена тотальная РНК и проведена RT-PCR с последующим секвенированием по Сэнгеру.

Результаты: Биоинформатический анализ показал, что вариант с.859A>G может приводить к образованию нового донорного сайта сплайсинга и укорочению экзона 8 гена *ADSL* на 4 п.н. Анализ мРНК пациента в совокупности с *in vitro* анализом сплайсинга показали, что вариант с.859A>G приводит к появлению двух типов aberrантных транскриптов: первый, появляющийся в результате образования нового донорного сайта сплайсинга, содержит делецию 4-х п.н., что приводит к сдвигу рамки считывания – р.Ile287A1afs*24. Данный транскрипт образуется примерно в 70% случаев, подвергается NMD и не используется для синтеза белка. Однако, примерно в 30% используется донорный сайт дикого типа, что приводит к появлению полноразмерной мРНК с миссенс мутацией Ile287Val, патогенность которой должна быть подтверждена дальнейшими исследованиями.

Заключение: Полученные данные могут стать основой для дальнейшего функционального исследования патогенности миссенс-варианта Ile287Val.

Д38. Семейный случай анемии Даймонда-Блекфена: мутация в сплайс-сайте и неполная пенетрантность

Л.О.Скородумова^{1,2*}, М.Ю.Скоблов³, А.Ю.Филатова³, К.А.Давыденко³, М.Б.Хаджиева¹, Е.С.Захарова¹, В.Д.Гордеева^{2,3}, Н.С.Сметанина¹, С.С.Ларин¹

¹ НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева, Москва

² ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, Москва

³ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

E-mail: lo.skorodumova@gmail.com

Мотивация и цели: Анемия Даймонда-Блекфена (ДБА) – это синдром костно-мозговой недостаточности с избирательным нарушением эритропоэза. В настоящее время каузальными считаются мутации в генах рибосомальных белков, *GATA1*, *TSR2* и *EPO*. Однако мутации в этих генах обнаруживаются только в 70% случаев ДБА, также известны бессимптомные носители. Эти факты свидетельствуют о том, что патогенетический механизм развития ДБА до конца не ясен и требует дальнейших исследований. Данная работа была направлена на выявление генетических и функциональных предпосылок фенотипически разного течения в семейном случае анемии Даймонда-Блекфена.

Методы: Семья состояла из отца, матери и двух сыновей. У сыновей была диагностирована ДБА. При этом у отца отсутствовали симптомы ДБА. Для всех членов семьи было проведено полноэкзомное секвенирование с помощью панели TargetSeq на приборе Ion Proton. Для функционального анализа проводили *in vitro* анализ сплайсинга с использованием минигенной векторной конструкции. Влияние исследуемого варианта на экспрессию белка оценивали посредством исследования активности люциферазы.

Результаты: В ходе молекулярно-генетического исследования у сыновей и отца был обнаружен вариант с неизвестной клинической значимостью с.19+1(G>T) в донорном сайте сплайсинга первого некодирующего экзона гена *RPS7* (Smetanina N.S. et al., 2015). По результатам анализа количества копий с помощью EXCAVATOR и валидации с помощью ПЦР в реальном времени, не было выявлено кандидатных регионов вариаций копийности. Было выявлено, что вариант с.19+1(G>T) приводит к нарушению донорного сайта сплайсинга с последующей активацией криптических сайтов сплайсинга и удержанию части интрона 1 гена *RPS7*, что, в свою очередь значительно снижало люциферазную активность репортерного гена.

Заключение: Таким образом, *in vitro* были получены результаты, свидетельствующие в пользу патогенности выявленного варианта с.19+1(G>T) в гене *RPS7*. В дальнейшем планируется изучение сплайсинга гена *RPS7* в образцах РНК членов данной семьи.

Д39. Функциональный анализ однонуклеотидных замен rs2072580 и rs590352, связанных с предрасположенностью к развитию онкологических заболеваний

А.О.Дегтярева^{1*}, Е.Ю.Леберфарб^{1,2}, И.И.Брусенцов¹, Е.В.Антонцева¹, Т.И.Меркулова^{1,3}

¹ ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск,

² ФГБОУ ВО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Новосибирск

³ ФГБОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск

E-mail: degtyareva_rso@mail.ru

Мотивация и цели: Ранее в лаборатории регуляции экспрессии генов ИЦиГ СО РАН был разработан биоинформатический подход для выявления регуляторных полиморфизмов (rSNPs), основанный на анализе полногеномных данных по аллель-асимметрии как связывания белков хроматина и транскрипционных факторов (ТФ), так и экспрессии генов [Korbolina E.E. et al, Hum Mutat, 2018]. С использованием данного подхода был отобран ряд rSNPs. Оказалось, что rs2072580 (T>A), расположенный в промоторной области генов *SART3* и *ISCU*, связан с повышенным риском развития рака молочной железы в случае аллеля А. Тогда как аллель G для rs590352 (G>C) (экзон 1 гена *ATXN7LB*) связан с пониженным риском развития колоректального рака у мужчин. В связи локализацией данных rSNPs в регуляторно-значимых областях, представляется важным изучение влияния этих замен на связывание ТФ с районами их расположения, и как следствие, на изменение уровня экспрессии генов. Цель работы – экспериментальное подтверждение функциональности rs2072580 и rs590352.

Методы: Метод задержки ДНК-зондов белками ядерного экстракта (клеточных линий HepG2, Saso2, K562) был использован для изучения влияния однонуклеотидных замен на связывание с ТФ. Для оценки влияния данных замен на уровень генной экспрессии была использована люциферазная репортерная система. В качестве векторов использовали плазмиды pGL3-Basic и pGL4.23[luc2/minP]. Для трансфекции использовали клеточную линию HepG2.

Результаты: Показано, что замены rs2072580 и rs590352 изменяют связывание ДНК-зондов с белками ядерного экстракта всех клеточных линий. Также показано, что уровень экспрессии гена люциферазы достоверно повышен в случае аллеля А rs2072580 и в случае двойной и трой-

ной вставок с аллелем G rs590352. Также, используя портал GTEx (<https://www.gtexportal.org/>), было установлено, что данные полиморфизмы связаны с изменением уровня экспрессии нескольких генов в ряде тканей.

Заключение: Таким образом, было показано аллель-специфичное влияние данных полиморфизмов на связывание белков ядерного экстракта и на уровень экспрессии люциферазы. Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-29-09041.Д40.

Д40. Применение результатов высокопроизводительного секвенирования в дородовой диагностике

Е.С.Шубина

ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава России

E-mail: e_shubina@oparina4.ru

Мотивация и цели: Молекулярно-генетические исследования пациентов с наследственными заболеваниями часто проводятся не только с целью уточнения диагноза и прогноза больного, но и для определения рисков повторного рождения детей с наследственными заболеваниями.

Методы: При наличии у родителей подтвержденного носительства моногенного заболевания в ряде случаев возможно проведение ПГТ-М, если используются ВРТ или пренатальной диагностики при самостоятельно наступившей беременности.

Результаты: В случае обращения пациентов для проведения дородовой диагностики возникает вопрос о том в каких случаях проведение диагностики допустимо. Согласно рекомендациям по интерпретации данных можно проводить дородовую диагностику в случаях, когда у родителей определены патогенные и вероятно патогенные мутации, вызывающие заболевание. При этом нередко возникают ситуации, когда пациентам рекомендуют проведение дородовой диагностики при определении у них носительства вариантов неясной значимости, кроме того, никак не регламентируется относительно каких заболеваний возможно проведение исследования.

Заключение: Необходима доработка нормативной документации и согласование друг с другом рекомендаций по преимплантационной и пренатальной диагностике.

Д41. Комплексные генетические тесты на основе NGS с целью тестирования на носительство: между возможностью, ответственностью и реальностью

М.В.Кречмар

ООО «Василюстровская клиника репродукции и генетики», СПб ГКУЗ МГЦ. Санкт-Петербург.

E-mail: krechmar.mv@mail.ru

Мотивация и цели: Развитие технологий детекции мутаций значительно расширило их применение не только с целью поиска причины патологии, но и в профилактическом аспекте – тестирование носительства. Именно в этой области есть значительные сложности и в интерпретации результатов и в выстраивании алгоритма клинической реализации полученных результатов. Отмечается дистанция и различие в представлении специалистов лабораторной генетики, ведущих семью врачей-генетиков, врачей других специальностей и самих пациентов.

Методы: проведен анализ клинических примеров, выявляющих эти проблемы, вплоть до травматизации пациентов и отказа от заявленных целей.

Результаты и заключение: Назрела необходимость стандартизации клинических подходов на дотестовом и посттестовом консультировании и оценки рисков на основе NGS-тестирования

носительства. А так же определение критериев репродуктивного выбора, показаний для назначения ПГД и отбора эмбрионов при ВРТ и дальнейших пренатальных исследований в разных группах семей, а так же доноров программ ВРТ с целью эффективной профилактики рождения детей с тяжелой генетической патологией на основе современных технологий ДНК тестирования.

Д42. Опыт использования высокопроизводительного секвенирования NGS в дородовой диагностике

Т.И.Янова^{1*}, И.В.Канивец¹, С.А.Коростелев^{1,2}, Д. В. Пьянков¹, В.Ю.Удалова¹, К.В.Горгишели¹, Ю.К.Киевская¹

¹Медико-генетический центр «Геномед», Москва, Россия

²ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М.Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия

E-mail: yanova.tania@gmail.com

Мотивация и цели: На сегодняшний день актуальными методами, используемыми в пренатальной диагностике являются кариотипирование, флуоресцентная полимерная цепная реакция (QF-PCR), хромосомный микроматричный анализ (ХМА). Целью работы была оценка эффективности секвенирования нового поколения (NGS) для выявления причин пороков развития плода, что в свою очередь важно для определения тактики ведения беременности и прогноза.

Методы: Нами была проанализирована ДНК 60 плодов по технологии секвенирования нового поколения методом парноконцевого чтения. Анализ панелей генов был проведен для 78% образцов, для 12% – секвенирование всего экзозома, для 10% – секвенирование генома. Анализ данных секвенирования проводился с использованием собственного биоинформатического алгоритма. Информация о клинической картине была получена из медицинских документов, предоставленных вместе с информированными согласиями на исследование.

Результаты: Патогенные варианты, являющиеся причиной аномалий развития были найдены у 71% плодов. Из них у 41 плода были найдены однонуклеотидные варианты, у 2 плодов по результатам анализа покрытия секвенированных генов получены данные в пользу наличия вариаций числа копий ДНК (CNVs). У одного плода с УЗИ-признаками поликистоза обеих почек гетерозиготная делеция участка 17 хромосомы захватывала ген *HNF1B*, а у другого, с признаками скелетной дисплазии, гемизиготная делеция участка X хромосомы захватывала ген *ARSE*.

Заключение: В результате анализа 60 образцов, для 43 из которых выявили релевантные варианты, диагностическая эффективность составила 71%. Таким образом, NGS может быть рекомендован как метод выявления причин аномалий развития плода при беременности. Выявление клинически значимых вариантов позволяет определить тактику ведения текущей беременности и риск рождения больного ребенка при следующей.

Д43. Опыт применения полноэкзомного секвенирования в качестве метода преконцепционного скрининга носительства рецессивных заболеваний

А.П.Корбут^{1*}, В.С.Апухтина¹, А.А.Еремян¹, И.С.Поволоцкая^{1,2}, И.Н.Котов¹, И.В.Миронова¹, В.С.Каймонов¹, Е.А.Померанцева¹, Е.В.Мусатова¹

¹ЦГРМ «Генетико», Москва

²НИКИ педиатрии имени ак. Ю.Е.Вельтищева, Москва

E-mail: korbut@genetico.ru

Мотивация и цели: Развитие технологии NGS и большой объем получаемых данных позволяют рассматривать полноэкзомное секвенирование как метод выбора для преконцепционного скрининга носительства рецессивных заболеваний (в комплексе со специфическими тестами).

Цели данного исследования – охарактеризовать распределение количества и характеристики сообщаемых пациентам вариантов и оценить эффективность данного метода скрининга.

Методы: В нашей лаборатории был проведен прекоцепционный скрининг носительства рецессивных заболеваний у 78 человек методом секвенирования полного экзона на платформе Illumina NovaSeq6000. Из всех обследуемых у 4 пар ребенок имел подтвержденный генетический диагноз, в нескольких случаях личный или семейный анамнез был отягощен.

Результаты: Во всей выборке было вынесено в заключение 218 вариантов, 200 – без учета вариантов, связанных с фенотипом или отягощенностью родословной, в том числе 136 известных (68%) и 64 (32%) ожидаемо патогенных варианта. Среднее количество сообщенных одному пациенту вариантов составило 2.5 без учета вариантов, связанных с фенотипом, и 2.8 с их учетом; оно варьировало от 0 до 7.

Показания к преимплантационному генетическому тестированию были выявлены у 4 пар, в том числе уже известные показания были подтверждены у 3 пар, планирующих беременность.

Заключение: Полноэкзомное секвенирование, в отличие от других методов, позволяет выявить большое количество ранее не описанных ожидаемо патогенных вариантов (32% от общего числа сообщенных вариантов). Несмотря на небольшой размер и специфическую структуру выборки, широкий спектр выявленной клинически значимой генетической вариации свидетельствует в пользу того, что в настоящее время полноэкзомное исследование рационально рассматривать в качестве метода первой линии для прекоцепционного скрининга.

Д44. Инновационная тест-система для преимплантационного генетического тестирования (ПГТ)

С.В.Попов^{1*}, А.С.Беляев²

¹ НМИЦ Эндокринологии Минздрава РФ, Москва

² LLC AB Vector, San Diego, CA, USA

E-mail: swpopov73@gmail.com

Мотивация и цели: Разработана и валидирована упрощенная технология ПГТ, отличающийся меньшим числом стадий, новым методом полногеномной амплификации (AB-WGA) с обширным случайным праймингом ДНК матрицы уже на первых двух циклах, сокращением числа циклов, что уменьшает bias и увеличивает охват генома. Одного биоптата трофэктодермы (ТЕ) достаточно для проведения ПГТ на анеуплоидии (ПГТ-А) и на моногенные заболевания (ПГТ-М). В 2020 году поступил на рынок набор AB-PGT™ (AB-Vector, LLC), охватывающий всю цепочку подготовки библиотек и анализ данных секвенирования с помощью программного обеспечения (ПО) CNVector™ для детекции copy number variation (CNV).

Материалы и Методы: ДНК экстрагировалась из 3-10 клеток биопсийного материала ТЕ и амплифицировалась с помощью AB-WGA. Секвенирование осуществлялось на платформах Illumina Miseq и Nextseq 500/550 с использованием Miseq Reagent Kit V3 (150 cycles) и High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles). Биоинформатический анализ и генерация геномных профилей осуществлялись с использованием ПО CNVector™, включающего основные параметры секвенирования и статическую обработку данных.

Результаты: В разных лабораториях проанализированы CNV профили более 5000 биоптатов ТЕ. Контрольные образцы фрагментированной геномной ДНК с заранее известным кариотипом были предварительно секвенированы с использованием набора VeriSeq-PGS. Проанализированные профили образцов, полученных с помощью наборов Illumina VeriSeq-PGS и AB-PGT™ показали 100% совпадение.

Заключение: Валидирован метод подготовки библиотек с использованием набора AB-PGT™ и секвенированием на платформах Miseq, Nextseq 500/550 для ПГТ-А. Дальнейшая валидация необходима для оценки эффективности метода для ПГТ-М, а также регистрации набора AB-PGT™ для последующего применения в репродуктивной генетике.

Д45. Сравнительная характеристика структуры хромосомных аномалий в циклах PGT-A среди разных медицинских центров

С.А.Авдейчик^{1*}, С.В.Попов¹, С.С.Ладыгин², В.В.Заварин¹

¹ Генетическая лаборатория «Медиал Геномикс»

² Сеть клиник репродукции и генетики «Клиника Фомина»

E-mail: svet.genetic@gmail.com

Мотивация и цели: Известным фактом является влияние качества преаналитических (эмбриологических и транспортных) процессов на результативность исследований PGT-A методом NGS, проявляющееся в увеличении доли образцов с низкоуровневым хромосомным мозаицизмом, деградацией ДНК и отсутствием амплификации. Возможное влияние преаналитических процессов на структуру хромосомных аномалий остается изученным недостаточно.

Цель: оценить влияние преаналитических процессов на структуру хромосомных аномалий эмбрионов человека по результатам PGT-A среди разных медицинских центров.

Методы: исследовано более 5000 образцов трофэктодермы методом PGT-A NGS (Veriseq, Illumina), полученных от 42 клиник репродукции в рамках сотрудничества с генетической лабораторией. Аналитический этап и интерпретация данных проводились стандартизованно с участием одной группы экспертов.

Результаты: проведен анализ спектра хромосомных аномалий, мозаицизма и его структуры, доли образцов эуплоидных, а также с деградацией ДНК или отсутствием продуктов амплификации в зависимости от репродуктивного центра. Выявлена статистически значимая разница доли образцов с хромосомными аномалиями и вовлеченности отдельных хромосом в анеуплоидии мейотического и митотического происхождения. Распределение структурных хромосомных аномалий статистически значимо не отличалось между центрами. Исследование также выявило описанные ранее тенденции в различиях доли образцов с низкоуровневым хромосомным мозаицизмом, деградацией ДНК и отсутствием амплификации.

Заключение: стандартизация преаналитического этапа и работа над качеством предоставляемого в генетическую лабораторию материала важны для получения достоверных результатов PGT-A методом NGS, что является значимым для эффективности программ ВРТ.

Д46. Место NGS в цепи профилактических мероприятий рождения генетически больного ребенка у супружеских пар с НРФ

Ж.И.Глинкина^{1*}, Е.В.Кулакова², Я.А.Гохберг², А.В.Чистякова², З.М.Губаева³

¹ ЦГИ «Хайтек Генетикс», Москва

² ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова Министерства здравоохранения РФ, Москва

³ ГБУЗ ГKB им. В.В.Вересаева ДЗМ, Москва

E-mail: janna435@yandex.ru

Преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ) у пациентов программы ВРТ является одним из главных звеньев в цепочке профилактических мероприятий по предотвращению не только рождения больного ребенка, но и предотвращению у них возникновения беременности больным плодом, особенно у пар с измененными кариотипами.

Цель исследования: На платформе Illumina определить частоту и структуру хромосомных нарушений методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) у эмбрионов, полученных в программе ВРТ, а также в клетках неразвивающегося хориона.

Материалы и Методы: Материалом исследования служили клетки трофэктодермы 5 дневных эмбрионов и клетки неразвивающегося хориона.

Полученные данные: ПГТ-А показало, что структура генетической патологии у женщин разного возраста отличалась. Трисомии встречались чаще в группе женщин за 40 (41,2%), а мозаицизм и делеции/дупликации чаще встречались в группах женщин до 40 лет.

Хромосомная патология в клетках хориона была обнаружена в 62%. Анеуплоидия по одной хромосоме имела место в 82,0% наблюдениях, патология с вовлечением 2 хромосом – 5,7%. Наибольшей была доля трисомии хромосом – 76%.

Заключение: Результаты нашего исследования показали, что применение секвенирования нового поколения с использованием платформы компании Illumina, может служить хорошим профилактическим методом в ПГТ.

Метод NGS дает возможность четко диагностировать у эмбрионов не только анеуплоидии, делеции и дупликации, но и мозаицизм и может стать основным звеном в профилактической цепи по рождению не только ребенка с хромосомной патологией, но и наступление беременности больным плодом. Также этот метод может быть успешно применен для исследования причин остановки развития беременности.

Д47. Согласованность результатов генетических методов при неразвивающейся беременности: клинический случай

В.П.Пушкарев*, Е.А.Глазырина, Т.Е.Серебrenникова

Медико-генетический центр «Проген», г. Москва

E-mail: v.p.pushkarev@gmail.com

В лабораторию «Проген» обратилась женщина 1986 года рождения. Акушерско-гинекологический анамнез отягощен бесплодием в течение 10 лет. Последняя беременность наступила естественным путем. НИПТ Veracity (NIPD Genetics, Республика Кипр) на 11-ой неделе показал очень низкий риск для плода по трисомиям 21, 18, 13 хромосом, X/Y анеуплоидиям и микроделеционным синдромам, а также отсутствие Y хромосомы. Регресс беременности наступил на 12 неделе.

Цитогенетическое исследование ворсин хориона, проведенное по месту жительства, выявило кариотип: mos 92,XXX[1]/69,XXY[3]/46,XX[8]/46,XY[4].

В лаборатории медиго-генетического центра «Проген» из крови женщины и 2 разных участков хориона выделили ДНК. Профили образцов ДНК из хориона совпали по всем 19 локусам набора CoDIS Expert (Гордиз, Россия) и содержали аллели пациентки. Вероятность материнства – 99,99999% (априорная вероятность = 0,5). Отсутствовал дисбаланс высот пиков аллелей ДНК хориона. Профиль амелогенина соответствовал X хромосоме. КФ-ПЦР, заключающаяся в одно-временной амплификации 10 маркеров: Амелогенин (Yp11.2 и Xp22.2), X/Y (Yp11.2 и Xp22.2), X/3 (Xq21.1 и Zp24.2), X/16 (Xp11.3 и 16q22.1), Y/1 (Yq11.23 и 1q32.1), SRY (Yp11.2), DYS437 (Yq11.21), DXS6809 (Xq21.33), DXS8377 (Xq28), D19S253 (19p13.12), показала отсутствие маркеров Y хромосомы. Сравнительная геномная гибридизация (aCGH) на чипе GenetiSurePre-Screen Array 8x60K (Agilent, США) не выявила хромосомных нарушений, молекулярный кариотип: arr [hg19] (1-22,X)x2. Таким образом, результаты NGS фетальной ДНК, aCGH и КФ-ПЦР ДНК хориона хорошо согласовались и не соответствовали результатам цитогенетического исследования.

Вывод: для надежного установления генетических причин неразвивающейся беременности необходимо комплексное использование современных молекулярно-генетических методов – NGS, aCGH и КФ-ПЦР. Анализ кариотипа рекомендуется проводить супругам, планирующим беременность, для исключения носительства сбалансированных хромосомных перестроек (транслокаций, инверсий).

Д48. Клиническая интерпретация: когда вариант является патогенным?

О.Бровкина^{1*}, М.Г.Гордиев², Р.Ф.Еникеев³, А.Г.Никитин¹, Д.Д.Сакаева⁴

¹ Федеральное научно-клиническое учреждение «Федеральный медико-биологический центр», Москва, Россия

² Национальный Биосервис, Санкт-Петербург, Россия

³ Кафедра фармакологии, Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

⁴ Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Татарстан, Казань, Россия
E-mail: brov.olia@gmail.com

Возможности метода NGS позволяют найти многочисленное количество нуклеотидных вариантов, отличающихся от референсной последовательности. Однако не все нуклеотидные варианты обладают клинической значимостью. Данный вопрос особенно актуален в онкологии, где вариант может быть как непосредственно причиной развития заболевания, так и служить маркером чувствительности или резистентности к определенной терапии. Целью интерпретации соматических вариантов является в первую очередь определение их терапевтического значения. В рекомендациях по интерпретации соматических вариантов, разработанных нашим коллективом, предлагается сгруппировать биомаркеры по пяти уровням в зависимости от их доказательной базы и терапевтического эффекта. Предлагаемая работа имеет в основе свод стандартов, разработанных Ассоциацией молекулярных патологов, Американским обществом клинической онкологии и Колледжем американских патологов, адаптированный к отечественной клинической практике. Представленные рекомендации разработаны в первую очередь для стандартизации протоколов заключений NGS лабораторий, а также для руководства начинающих диагностических лабораторий в онкологии.

Д49. Случайные находки, выявленные при проведении экзомного секвенирования у российских больных

О.Л.Шатохина*, П.Гундорова, Т.Б.Череватова, А.А.Орлова, В.В.Забненкова, А.Л.Чухрова, А.В.Поляков, О.П.Рыжкова

«Медиго-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова», Москва

E-mail: mironovich_333@mail.ru

Мотивация и цели: При анализе результатов экзомного или геномного секвенирования, помимо вариантов, имеющих отношение к направляющему диагнозу, в поле зрения исследователя попадают так называемые вторичные находки – варианты, являющиеся причиной моногенных заболеваний, не связанных с фенотипом. Американский колледж медицинской генетики и геномики (ACMG) и российское общество медицинских генетиков (РОМГ) рекомендуют сообщать о патогенных и/или вероятно патогенных вариантах в 69 генах, мутации в которых приводят к заболеваниям, поддающимся лечению. Однако до сих пор обнаружение таких результатов вызывает множество споров среди врачей. В данной работе мы оценили долю вторичных находок среди российских больных, направленных на экзомное секвенирование, и обсудили возможность их внесения в лабораторное заключение.

Методы: методами МПС полного и клинического экзоста исследованы образцы ДНК 1285 неродственных больных, направленных в ФГБНУ «МГНЦ», в связи с подозрением на наследственное заболевание.

Результаты: Вторичные находки обнаружены у 3% (36/1285) пациентов. Из них 60% (21/36) – варианты в генах, входящих в рекомендованный список, 40% (15/36) приходится на другие гены. Большинство из выявленных вариантов ответственны за предрасположенность к развитию раковых заболеваний – 36% (*BRCA1*, *BRCA2*, *MSH6*, *RET*, *PMS2*, *RAD50*, *BRIP1*, *CHEK2*) и сердечных патологий 33% (*DSG2*, *SCN5A*, *TNNI3*, *KCNH2*, *KCNQ1*, *TNNC1*, *TTN*). Также обнаружены мутации в генах *RYR1* (злокачественная гипертермия), *LDLR*, *PCSK9* (гиперхолестеринемия) и *MEFV* (средиземноморская лихорадка). Неожиданными находками оказались варианты в генах *EXT2* (множественные экзостозы), *NOTCH3* (артериопатия головного мозга), *SOD1* (БАС), *CACNA1A* (эпизодическая атаксия) и *FGFR3* (ахондроплазия). Вопрос внесения в заключения вариантов, не вошедших в рекомендованный список, остается открытым, поскольку их наличие может быть важным как для определения тактики дальнейшего лечения, так и для консультаций о дальнейшем деторождении.

Д50. Генокарта: онлайн энциклопедия на русском языке о значимости генетических вариантов человека

А.Ю.Бакулина^{1,2*}, Д.Н.Штокало^{2,3,4}, О.В.Сайк^{2,3,5}, А.А.Огиенко^{2,6}, Е.В.Тарасенко³

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск;

²ООО «Руджин», Новосибирск;

³ООО «Новые Программные Системы», Санкт-Петербург;

⁴Институт Систем Информатики им. А.П.Ершова СО РАН, Новосибирск;

⁵Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск;

⁶Институт Молекулярной и Клеточной Биологии СО РАН, Новосибирск

E-mail: shtokalod@gmail.com

Мотивация и цели: Интерпретация вариантов нуклеотидных последовательностей (ВНП) пациентов медицинскими генетиками основывается на сведениях из литературных источников и специализированных баз данных. Источники информации при этом, как правило, англоязычные, а русскоязычные ресурсы находятся в дефиците. Описанные в литературе эффекты и частоты ВНП исследованы в основном на зарубежных популяциях, а значит должны применяться в российской практике с осмотрительностью. В данной работе мы представляем попытку создания информационного ресурса Генокарта (genokarta.ru), ориентированного на Россию, из которого можно было бы получить полные сведения об эффектах ВНП, их частотах, а также о генетических заболеваниях человека и связанных с ними генах.

Материалы и Методы: Ориентация на жителей России, достоверность представленной информации и максимальная доступность являются основными принципами при создании Генокарты. Ее содержание составляют три базы данных. Первая содержит автоматически извлекаемую актуальную информацию из популярных зарубежных источников dbSNP, ClinVar, OMIM, SNPedia, GWAS Catalog. Вторая содержит нормализованные текстовые описания от экспертов о генах, болезнях и фенотипах и их связи с ВНП. Третья база находится в разработке и предназначена для хранения частот ВНП в популяциях народов России.

Результаты: Созданный ресурс Генокарта представляет собой бесплатное веб-приложение. На сайте можно искать и просматривать информацию на русском языке, сообщать об ошибках, узнавать об экспертах, закрепленных за каждой статьей. Информация на сайте регулярно по-

полняется. На начало февраля 2020 г. Генокарта содержала более 520 курируемых статей о генах, болезнях и наследуемых фенотипических признаках, а также более 5.9 млн. статей о ВНП на русском языке, большинство из которых сгенерировано специальным роботом.

Заключение: Генокарта предназначена как для специалистов, так и для людей, заинтересованных в получении знаний о конкретных генетических вариантах. Дальнейшее развитие будет связано с повышением качества и количества статей, с предоставлением информационных сервисов для анализа данных генетического тестирования и сервиса для накопления информации о частотах ВНП в российской популяции.

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

П1. Диагностика наследственного рака молочной железы и рака яичников методом NGS

Е.И.Новикова*, Г.П.Снигирева, Е.Н.Мараховская, Н.Н.Новицкая, Е.Д.Хазинс
ФГБУ «Российский Научный Центр Рентгенодиагностики» Минздрава России, Москва
E-mail: e.novikova.mrcrr@mail.ru

Мотивация и цели: В настоящее время в России для выявления наследственного характера заболевания большинство лабораторий используют стандартные диагностические панели, с помощью которых методом ПЦР можно быстро и относительно недорого выявлять наиболее распространенные в российской популяции мутации в генах предрасположенности *BRCA1* и *BRCA2*, однако это может приводить к некоторому числу ложноотрицательных результатов. Целью исследования являлась оценка спектра и частоты наследственных мутаций у больных РМЖ и РЯ.

Методы: Методом секвенирования «нового поколения» (NGS) с использованием панели «TruSight Cancer» («Illumina»), которая позволяет проанализировать кодирующие области 94 генов, повреждения которых ассоциированы с повышенным риском развития онкологических заболеваний, были обследованы 234 больных раком молочной железы (РМЖ) с клиническими признаками наследственного заболевания, 64 больных раком яичников (РЯ) и 56 пациентов с первично-множественными новообразованиями (РМЖ и РЯ), у которых методом ПЦР не были обнаружены мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*, входящие в стандартные диагностические панели. **Результаты:** В результате молекулярно-генетического исследования у 12,4% больных РМЖ, у 14,1% больных РЯ и у 19,6% пациентов с первично-множественными новообразованиями (РМЖ и/или РЯ) были обнаружены редкие патогенные варианты в генах *BRCA1* и *BRCA2*. У 13,7% больных РМЖ, у 14% больных РЯ и у 16,1% пациентов с первично-множественными новообразованиями (РМЖ и РЯ) выявлены патогенные варианты в генах *CHEK2*, *ATM*, *PALB2*, *BRIP1*, *BLM*, *NBN*, *MUTYH*, *ERCC2*, *ERCC3*, *FANCM*, *FANCC*, *PTCH1*, *MITF*, *NF1*, *HOXB13*, *FLCN*, *WRN* и *TP53*.

Заключение: Использование метода NGS позволило значительно повысить эффективность выявления наследственного характера заболевания у больных РМЖ и РЯ, доказав наличие широкого спектра и высокой частоты редких патогенных мутаций как в генах *BRCA1* и *BRCA2*, так и в других генах предрасположенности к развитию онкологических заболеваний.

П2. Сдвиг парадигмы: онкогенетическая диагностика для новейших методов лечения рака

Д.В.Осипов
CeGaT GmbH, Tübingen
E-mail: odvspb@gmail.com

Мотивация и цели: Доклад знакомит слушателей с современными методами соматической онкодиагностики с помощью NGS и рассказывает как такая диагностика соотносится с передовыми методами лечения онкологических заболеваний.

Методы: Соматическая онкодиагностика в SeGaT выполняется методом NGS на секвенаторах NovaSeq (Illumina) и включает в себя биоинформационный анализ и интерпретацию результатов собственной разработки.

Результаты: Метод, разработанный в компании SeGaT, включает в себя:

- комплексную диагностику всех возможных мутаций (SNV, InDels, CNV, translocations) во всех генах, участвующих в росте опухолей любых типов
- точное измерение индексов TMB и MSI, полученных на основе большого массива данных для решения о применении иммуно-терапии
- секвенирование контрольного образца крови пациента для исключения ложнопозитивных результатов и нахождения наследственных мутаций в онкогенах, что важно для родственников пациента
- рекомендации, какие лекарства (действующие вещества) будут/не будут работать при найденных мутациях и с какой вероятностью, основанной на Level of Evidences
- схема молекулярно-биологического каскада, имеющего отношение к развитию данной опухоли, с указанием потенциальных upstream & downstream целей для терапии

Заключение: Решения о применении современных методов анти-раковой терапии (таргетной или иммунотерапии) невозможны без предварительного генетического анализа опухоли для выявления драйверных и вторичных мутаций и измерения индексов TMB и MSI.

Однако, такая диагностика часто дает неполные или ложнопозитивные.

Результаты: Чтобы избежать этого, SeGaT разработал самый точный и всеобъемлющий тест на сегодняшний день, который является надежным инструментом для онкологов и патологов при принятии решений о стратегии лечения онкологических заболеваний.

П3. Возможность применения метода NGS для анализа свободно-циркулирующей ДНК плазмы крови

Е.Н.Тельшева*, Е.И.Новикова, Н.Н.Новицкая, Е.Д.Хазинс, Г.П.Снигирева
ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, Москва
E-mail: telisheva_k@mail.ru

Мотивация и цель: Анализ молекулярно-генетических маркеров проводится, в основном, на материале опухолевой ткани. Однако при этом есть серьезные препятствия при работе, связанные с получением материала, его обработкой, а также с молекулярной гетерогенностью опухоли. Эти ограничения могут быть преодолены при работе со свободно-циркулирующей ДНК плазмы крови. Целью нашей работы стало исследование возможности применения метода NGS для анализа соматических мутаций в сцДНК плазмы.

Методы: В группу исследования вошли 22 больных колоректальным раком, среди которых с I стадией было 22,7%, со II стадией – 31,8%, с III – 13,7%, с IV стадией – 31,8%. У всех обследованных в опухолевой ткани выявлены мутации в генах, участвующих в патогенезе KPP. Материалом для исследования служила плазма крови, полученная до операции и на 5-й день после хирургического лечения.

Анализ мутаций проводился с использованием панели для подготовки библиотек «GeneRead DNaseq Targeted Panel v2» («Qiagen»).

Результаты: При анализе ДНК ткани первичной опухоли 22 больных было выявлено 58 соматических вариантов в 13 генах. При анализе сцДНК плазмы крови, взятой до операции и после, мутации были выявлены у 16 (73%) и 7 (35%) пациентов, соответственно.

В группе больных с выявленными мутациями в сцДНК плазмы, полученной на 5-й день после операции, у 86% человек было зарегистрировано прогрессирование заболевания. В то время как в группе больных без мутаций плазмы прогрессирование заболевания отмечено у 31% пациентов.

Заключение: Таким образом, по факту наличия или отсутствия мутаций можно судить о степени агрессивности опухолевого процесса и возможном прогрессировании заболевания. Анализ сцДНК плазмы крови, взятой после операции, может быть дополнительным маркером, свидетельствующим о степени радикальности проведенной хирургической операции.

Полученные в нашей работе результаты позволяют надеяться, что метод NGS сможет найти свое достойное место при анализе соматических мутаций в сцДНК плазмы крови.

П4. Генная сеть глиобластомы: реконструкция и компьютерный анализ

С.С.Ковалев^{1,2}, Ю.П.Белюсова³, А.Д.Панова⁴, Е.Ю.Леберфарб^{1,3}, Ю.Л.Орлов^{2,4*}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

² Новосибирский государственный университет (НГУ), Новосибирск

³ Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ), Новосибирск

⁴ Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

E-mail: orlov@d-health.insitute

Мотивация и цели: Первичные опухоли центральной нервной системы (ЦНС) составляют примерно 2% всех онкологических заболеваний. Глиомы представляют собой наиболее распространенную среди взрослого населения гетерогенную группу злокачественных опухолей ЦНС. Заболеваемость глиомами составляет 3-5:100000 взрослого населения. Только 5-10% первичных опухолей головного мозга связаны с наследственными, генетическими нарушениями. Для поиска новых генов мишеней для терапии и анализа молекулярных механизмов возникновения глиомы ставилась задача исследования генной сети глиомы с помощью инструментов биоинформатики.

Методы: Использовались открытые международные базы данных по экспрессии генов (GEO NCBI), по экспрессии в клетках опухолей различных типов (The Cancer Gene Atlas), базы данных белковых взаимодействий, HPRD (<http://hprd.org/>), KEGG, Interactome (<http://interactome.org/>). Рассмотрены данные секвенированных геномов опухолей, в том числе глиом и глиобластом (<https://cghub.ucsc.edu/>), Ivy Glioblastoma Atlas Project (<http://glioblastoma.alleninstitute.org/>). Использовались инструменты реконструкции генных сетей Reactome, GeneMANIA, STRING-DB, GeneCards.

Результаты: Скомпилирован список генов, относящихся к глиоме. Показано, что соматические мутации в следующих генах могут способствовать формированию глиомы: *PTEN*, *BRCA2*, *POT1*, *ERBB*, *ERBB2*, *LG1*, *GAS41*, *GLI*, *DMBT1*, *DH1*, *IDH2*, *BRAF*, *PARK2*, *TP53*, *RB1*, *PIK3CA*. Реконструирована сеть взаимодействия генов, нарушение экспрессии которых связано с развитием глиобластомы. Представлена методика анализа структуры генной сети.

Заключение: Структура генной сети содержит кластеры взаимодействующих генов (белковых продуктов), ядром которых являются гены *TP53*, *PTEN*. Связность сети выше, чем для случайного набора генов, формирующих генную сеть (оценка по STRING-DB). Мутации в известных генах – драйверах развития заболевания, также встречаются чаще. Исследование структуры генной сети позволит выявить мишени для лекарственной терапии.

П5. Электронное здравоохранение и стандартизация клинического секвенирования в России

Ю.Л.Орлов^{1,2*}, И.А.Шадеркин¹, А.Д.Панова¹, Э.Н.Фартушный¹, Г.С.Лебедев¹

¹Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

²Новосибирский государственный университет (НГУ), Новосибирск

E-mail: orlov@d-health.institute

Мотивация и цели: В мире активно развиваются технологии электронного здравоохранения. Медицинские телеконсультации позволяют увеличить доступность медицинской помощи для населения удаленных территорий, пожилых и малоподвижных пациентов. Одной из проблем организации электронного здравоохранения является отсутствие стандартов по клиническому секвенированию.

Методы: Задачи электронного здравоохранения напрямую относятся к приоритетным направлениям науки, должны быть в центре внимания государственных органов. Первый МГМУ им. И.М.Сеченова представляет площадку для обсуждения проблем цифровизации медицины, разработки стандартов, в том числе для удаленных консультаций и интеграции данных.

Результаты: К крупным проектам по цифровизации медицины в России можно отнести платформу диагностики и анализа рисков развития заболеваний BOTKIN AI, датчик Mhealth для пациентов для помощи пациентам с диабетом, платформу для анализа снимков «Третье мнение». Эти разработки предназначены для диагностики и сбора данных о здоровье, для превентивной медицины. Разработана геоинформационная система, предназначенная для консолидации и графического отображения информации о ресурсах здравоохранения, о медицинских организациях, участвующих в реализации территориальных программ. Прорабатываются варианты стандартизации данных клинического секвенирования в электронной карте пациента.

Заключение: Мы рассматриваем также аспекты использования геоинформационной системы в сфере здравоохранения с точки зрения системной биологии. Особую значимость такие телекоммуникационные системы приобретают в связи современными вызовами обществу, такими как эпидемии (коронавирус), требующими оперативного реагирования, информационной поддержки, мониторинга заболеваемости в реальном времени. В целом, разрабатываемые меры и технологии электронного здравоохранения поднимают ряд качественно новых задач превентивной медицины и цифровых технологий.

П6. Идентификация мутаций с использованием метода полноэкзомного секвенирования у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом

О.Ч.Мазур^{1*}, И.В.Шевчук², Е.П.Михаленко¹, С.В.Байко², О.М.Малышева¹, А.В.Кильчевский¹, А.В.Сукало²

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

E-mail: terezia@mail.ru

Мотивация и цели: Частота развития врожденных аномалий мочевых путей и почек (ВАМП-синдром) составляет 3-6 случаев на 1000 новорожденных. Наибольший вклад в формирование ВАМП-синдрома вносит генетический фактор. Цель исследования: изучить спектр мутаций у пациентов с диагнозом ВАМП: пузырно-мочеточниковый рефлюкс (ПМР).

Методы: В исследование включено 14 пациентов: 4 мальчика (29%) и 10 девочек (71%) с ПМР, получавших лечение и находящихся под наблюдением в УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска. Полноэкзомное секвенирование выполнено с использованием па-

нели Nextera DNA Exome на платформе NextSeq 500 (Illumina). Фильтрацию аннотированных вариантов проводили на основании составленного реестра из 236 генов, ответственных за развитие ВАМП и реестра генов-кандидатов наследственных заболеваний почек (MalaCards).

Результаты: Наиболее часто патогенные варианты встречались в генах *WFS1* – у 3-х пациентов, *KMT2D* – у 2-х пациентов и *PKHD1* – у 2-х пациентов. Все выявленные варианты были гетерозиготами. Учитывая, что ПМР – аутосомно-доминантное заболевание, выявленные варианты могут рассматриваться как причина развития ПМР.

У одного пациента обнаружены две гетерозиготные патогенные мутации (HGMD) в 5-м (p.K193Q) и 8-м (p.L432V) экзонах гена *WFS1*. Сочетание двух гетерозиготных вариантов гена *KMT2D* (p.M2652L и p.D3419G) выявлены у пациента с ПМР и стволковой гипоспадией. У пациента с ПМР, вторичным дефектом межпредсердной перегородки и нарушением речевого развития выявлен вариант неопределенного значения p.G3026S гена *KMT2D* (критерии PM2+BP4), не описанный в базах ExAC, gnomAD, 1000 геномов. Проводится подтверждение обнаруженных вариантов секвенированием по Сэнгеру, а также обследование семей для уточнения клинической значимости выявленных вариантов.

Заключение: Планируется проведение сравнительного анализа результатов полноэкзомного секвенирования у пациентов с изолированным и синдромальным ВАМП.

П7. Молекулярно-генетические особенности у курящих и некурящих пациентов с немелкоклеточным раком легкого

А.Н.Щаюк^{1*}, Е.П.Михаленко¹, М.Н.Шепетько², А.В.Кильчевский¹

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

E-mail: anna.shchayuk@tut.by

Мотивация и цели: Группа немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) включает примерно 85% от всех случаев рака легкого. Важным рисковым фактором развития этого типа рака является курение. Изучение молекулярно-генетических индивидуальных особенностей опухоли необходимо для прогнозирования течения заболевания и обеспечения персонализированного подхода в лечении пациентов. Целью данного исследования было изучить мутационный профиль опухоли НМРЛ в зависимости от статуса курения пациентов.

Материалы и Методы: Образцы ДНК из опухолевой ткани 113 пациентов с НМРЛ были проанализированы с использованием TruSeq Amplicon–Cancer Panel (MiSeq, Illumina). Обработка первичных данных и получение прочтений с дальнейшим выравниванием на исследуемые участки референсного генома (hg19) проводилась с использованием программного обеспечения BaseSpace, последующая фильтрация, аннотирование, верификация и интерпретация вариантов – программных средств VariantStudio, Integrative Genomics Viewer (IGV). Из-за плохого качества прочтений был исключен 1 образец.

Результаты: После проведения фильтрации (исключение всех вариантов с низким качеством: глубина прочтения <50; частота альтернативного аллеля <15%; варианты, не прошедшие PASS-фильтр) получено 79 вариантов мутаций у 58 человек, из которых 34 курящих, 19 некурящих и 5 человек с неизвестным статусом курения. У курящих пациентов выявлено 48 вариантов мутаций, наиболее часто встречались мутации в генах *TP53* (35,4%), *KRAS* (16,7%), *EGFR* (10,4%), *APC* (6,25%), *KDR* (4,2%). Оценка влияния курения на выживаемость пациентов с НМРЛ показала, что курение увеличивает риск летального исхода ($\chi^2=6,69$; $p<0,05$). У некурящих пациентов обнаружено 24 варианта мутаций, чаще в генах *EGFR* (41,6%), *TP53* (16,7%), *KRAS* (8,3%), *PIK3CA* (8,3%).

Заключение: Таким образом, у курящих пациентов преобладают мутации в гене *TP53* у некурящих пациентов – в гене *EGFR*. Кроме того, курение является не только фактором риска развития НМРЛ, но и негативным фактором выживаемости пациентов.

П8. Семейный рак желудка, ассоциированный с мутацией в гене *BRCA2*

Т.С.Лисица^{1*}, И.С.Абрамов¹, А.М.Данишевич², А.И.Закаморная¹, Г.А.Шипулин¹

¹ ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, Москва;

² ГБУЗ МКНЦ имени А.С.Логонова ДЗМ, Москва

E-mail: ttlnsc@gmail.com

Мотивация и цели: Рак желудка (РЖ) занимает второе место в структуре смертности от злокачественных новообразований. Около 10–20% пациентов имеют родственников с диагнозом РЖ, и только у 1–3% пациентов имеют подтвержденную генетическую причину. Цель – обозначить важность исследования панели генов методом массового параллельного секвенирования в диагностике наследственной природы РЖ.

Материалы и Методы: молекулярно-генетическое исследование было выполнено на образцах периферической крови от двух пациентов – матери, с диагнозом диффузный РЖ, канцероматоз брюшины, и дочери, с диагнозом диффузный перстневидноклеточный РЖ. Возраст на момент манифестации заболевания 51 год и 35 лет, соответственно. Секвенирование проводили на платформе MiSeq (Illumina). Для пробоподготовки была использована методика KAPA Hyper (Roche).

Результаты: при исследовании в образцах пациенток выявлен вариант нуклеотидной последовательности c.9253del, p.Thr3085GlnfsTer, rs80359752 в гене *BRCA2* в гетерозиготном состоянии. MAF=0,000008 (TOPMED). Данный вариант описан в базах данных ClinVar, Varsom как патогенный. Патогенные варианты, приводящие к потере функции белка *BRCA2*, являются известной причиной наследственного рака молочной железы и яичников, рака грудной железы у мужчин, рака поджелудочной железы, глиобластомы, медуллобластомы, рака предстательной железы, анемии Фанкони, группа комплементации D1 и опухоли Вильмса. Однако, сегрегация данного варианта с клиническими проявлениями позволяет сделать вывод о возможной причастности мутации в гене *BRCA2* к развитию семейного РЖ.

Выводы: тестирование панели генов методом высокопроизводительного секвенирования является методом выбора. У большинства пациентов с РЖ наследственную причину выявить не удастся. Некоторые наследственные опухолевые синдромы, такие как синдром Линча, синдром Пейтца-Егерса, связаны с РЖ и могут иметь перекрывающиеся фенотипы. Необходимы дополнительные исследования для выявления новых генов и факторов риска РЖ.

П9. Определение мутаций у пациентов с диагнозом дистальный артрогрипоз методом полноэкзомного секвенирования

А.Д.Слободина^{1*}, А.Е.Комиссаров¹, О.Е.Агранович², С.В.Саранцева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии имени Г.И.Турнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Пушкин

E-mail: sashyliklobodina@mail.ru

Мотивация и цели: Дистальный артрогрипоз (ДА) – это врожденное заболевание, характеризующееся контрактурами кистей и стоп, которые в некоторых случаях сочетаются с патологией лицевых костей, а также поражением мышц и спинного мозга. В связи с развитием технологий полноэкзомного секвенирования (ПС) в последние годы были выявлены мутации, приводящие к развитию ДА. Основная цель работы – поиск мутаций, приводящих к развитию различных форм ДА.

Методы: Для поиска мутаций было проведено ПС геномной ДНК детей с диагнозом ДА на платформе HiSeq 2500 (Illumina). У некоторых пациентов было проведено секвенирование по Сэнгеру отдельных фрагментов генов, мутации в которых вызывают различные формы ДА.

Результаты: После проведения ПС у двух пациентов были обнаружены однонуклеотидные замены в гене *TNNT3* (rs121434638 и rs199474721). Данные мутации описаны в базе данных (<http://clinvar.com/>) как патогенные и ассоциированы с ДА типа 2В (ДА2В или синдром Шелдона-Холла).

У пациентов с диагнозом ДА2В было проведено секвенирование по Сэнгеру фрагментов генов *TNNT3* и *TNNI2*. С помощью такого подхода у двух пациентов были обнаружены мутации в гетерозиготном состоянии в гене *TNNT3* (rs121434638 и rs199474721). Обе мутации приводят к замене аминокислоты аргинин в положении 63, которая является консервативной и сохраняется в двух других изоформах тропонина Т человека, а также в гомологичных белках различных организмов.

С помощью секвенирования по Сэнгеру у двух пациентов в гене *TNNI2* были найдены патогенные мутации (rs104894312 и rs104894311) в гетерозиготном состоянии, ассоциированные с ДА2В. Точный механизм, по которому мутации в гене *TNNI2* приводят к появлению контрактур, неясен.

Заключение: Исследование демонстрирует важную роль ПС в поиске мутаций, приводящих к развитию различных форм ДА, в частности ДА2В.

П10. Современные биоинформатические подходы в области прецизионной онкологии

Н.А.Кулемин^{1,2}, С.А.Попов¹, В.В.Дембровский^{1,3}, Д.А.Коростин⁴, А.Ю.Горбачев¹

¹ Zenome.io LTD

² ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России (Москва)

³ Гетингенский университет (Гетинген, Германия)

⁴ РНИМУ им.Пирогова (Москва)

E-mail: nick@zenome.io

Мотивация и цели: Масштабные международные проекты по исследованию молекулярных особенностей опухолей, а также снижение стоимости высокопроизводительного секвенирования способствуют лучшему пониманию механизмов развития онкологических заболеваний, а также делают возможным повысить эффективность лечения рака. Однако сложность интерпретации геномных данных создает препятствия для активного внедрения высокопроизводительных технологий в повсеместную клиническую практику. Одной из основных задач для начала внедрения в клинику является оценка клинической значимости найденных геномных вариантов, а также выбор предпочтительной терапии для конкретного пациента.

Методы: Для отдельных этапов рабочего процесса мы использовали открытые инструменты анализа геномных данных (Strelka2, Varscan, Mutect2, CNVkit и др.). В качестве языка для составления биоинформатических пайплайнов был использован DSL Nextflow. Для масштабирования вычислений была развернута собственная IT-инфраструктура с применением технологий Docker и Kubernetes. Для формирования клинического отчета и работы с открытыми базами данных было разработано собственное программное обеспечение.

Результаты: Для упрощения использования методов точной медицины мы разработали протокол парного анализа экзомных данных пациента, позволяющий определять соматические SNP/Indels, CNV, оценивать мутационную нагрузку опухоли (TMB), определять мутационный профиль (mutational signature). Рабочий процесс реализован таким образом, что он может быть легко масштабирован для большого числа образцов на вычислительном кластере или в облаке. Кроме того, нами было разработано программное обеспечение с интерфейсом командной строки, позволяющее автоматизировать классификацию соматических вариантов и создавать клинические заключения для использования врачами-онкологами с целью внедрений технологий точной медицины в рутинную практику.

П11. Незнакомые симптомы хорошо знакомых факоматозов, или как результаты ДНК-диагностики, полученные методом NGS, дают новые подходы к лечению редких заболеваний в хирургии

В.А.Румянцев^{1*}, В.С.Русинова¹, Г.А.Казарян¹, Д.В.Базаров¹, Е.Н.Тельшева², А.Ю.Павлов³, Г.П.Снигирева², Е.В.Заклязьминская¹

¹ ФГБУ «Российский научный центр хирургии имени акад. Б.В.Петровского» МЗ России, Москва

² ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н.Бурденко» МЗ России, Москва

³ ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» МЗ России, Москва

E-mail: vicrumyan@gmail.com

Мотивация: Многократные хирургические вмешательства у пациентов с факоматозами (ТС, нейрофиброматоз 2 типа, болезнь Гиппель – Линдау), несмотря на доброкачественную природу новообразований, снижают качество и продолжительность жизни пациентов. Диагноз наследственного заболевания обычно не выставляется, несмотря на большое количество осложнений: повторные спонтанные пневмотораксы, хилаторакс, кровотечения. У пациентов с туберозным склерозом (ТС) частота клинических симптомов таких, как лимфангиолейомиоматоз легких (ЛАМ) составляет 30–40%, множественный ангиомиолипomatоз почек (АМЛ) 48–67%. Патология почек и легких прогрессирующая и приводит к формированию хронической почечной/легочной недостаточности, требующей трансплантации органов.

Цель работы: уточнение характера наследственного заболевания у пациенток с ЛАМ и АМЛ, новообразованием средостения для возможного назначения таргетной терапии.

Методы: исследование проводили с помощью панели TruSight Cancer («Illumina», США). Анализ биоптата новообразования на мутацию в гене *BRAF* проведен методом ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру.

Результаты: При медико-генетическом консультировании 4 молодым женщинам, в возрасте от 25 до 45 лет, получающих хирургическое лечение был заподозрен диагноз наследственного заболевания из группы факоматозов. У одной из двух пациенток с рецидивирующим пневмотораксом и ЛАМ выявлена патогенная замена p.Arg694Trp в гене *RET* и назначена терапия сиролimusом, ингибитором mTOR. Пациентке с гигантским новообразованием средостения и с мутацией в гене *NF2* назначена терапия бевацизумабом, после исключения мутаций в гене *BRAF*. У пациентки с АМЛ почек выявлена замена с неизвестным клиническим значением в гене *VHL*, по предикторам возможно патогенная.

Заключение: внедрение в клинические протоколы результатов NGS дает возможность более эффективно выявлять молекулярные маркеры для назначения таргетной терапии.

П12. Молекулярно-генетические маркеры синдрома Брука

А.Е.Комиссаров^{1*}, А.Д.Слободин¹, О.Е.Агранович², С.В.Саранцева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии имени Г.И.Турнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Пушкин

E-mail: tem3650@yandex.ru

Мотивация и цели: Синдром Брука – это аутосомно-рецессивное заболевание, сочетающее в себе черты несовершенного остеогенеза и врожденного множественного артрогрипоза. У пациентов с синдромом Брука как правило, присутствуют множественные контрактуры суставов, а также хрупкость костей, приводящая к множественным переломам. Контрактуры представляют собой преимущественно сгибательные деформации крупных суставов (колени, локти, лодыжки) и в меньшей степени мелких суставов (камптодактилия, приводящий большой палец). По литературным данным, мутации в двух генах, а именно *FKBP10* и *PLOD2*, приводят к развитию синдрома Брука. Цель нашей работы – поиск мутаций в гене *PLOD2* у пациентов с синдромом Брука.

Методы: Было проведено полноэкзомное секвенирование у пациента с синдромом Брука. Секвенирование проводили на платформе HiSeq 2500 (Illumina). С помощью секвенирования по Сэнгеру производили поиск мутаций в гене *PLOD2*, ассоциированном с синдромом Брука.

Результаты: В результате исследования у одного из пациентов были выявлены однонуклеотидные замены rs778254905 и rs121434461 в гене *PLOD2*. По-видимому, выявленные мутации находятся в комплаунд-гетерозиготном состоянии, однако проверить это не представляется возможным из-за отсутствия ДНК родителей пациента. С помощью секвенирования по Сэнгеру у четырех пациентов из второй семьи была обнаружена мутация rs1378540661 в гене *PLOD2*. У больных детей мутация находится в гомозиготном состоянии, а у здоровых родителей мутация находится в гетерозиготном состоянии.

Заключение: Полученные данные могут послужить основой для изучения патогенеза синдрома Брука. Для дальнейших исследований возможна разработка модельного объекта с фенотипическими проявлениями синдрома Брука.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ:

- Абрамов И.С.: Д8, П8;
 Абсаламова О.В.: Д10;
 Авдеева Т.Ф.: Д5;
 Авдейчик С.А.: Д45;
 Агранович О.Е.: П9, П12;
 Адильгереева Э.П.: Д11;
 Айвазян С.О.: Д21;
 Антонцева Е.В.: Д39;
 Ануфриев П.Л.: Д20;
 Апухтина В.С.: Д28, Д27, Д43;
 Асеев М.В.: Д16;
 Афанасьев А.М.: Д36;
 Афасижев Р.Н.: Д2;
 Бабушкина Н.П.: Д1;
 Базаров Д.В.: П11;
 Байко С.В.: П6;
 Бакулина А.Ю.: Д50;
 Балашова М.С.: Д16;
 Баранич Т.И.: Д20;
 Баранов В.С.: Д16;
 Барбитов Ю.А.: Д16;
 Башнина Е.Б.: Д16;
 Белова В.А.: Д2;
 Белоусова Ю.П.: П4;
 Беляев А.С.: Д44;
 Бескоровайный Н.С.: Д13;
 Бизин И.В.: Д4;
 Боровиков А.О.: Д37;
 Бостанова Ф.М.: Д18;
 Бровкина О.: Д48;
 Брусенцов И.И.: Д39;
 Букаева А.А.: Д17;
 Буканова Т.О.: Д28;
 Булушева И.А.: Д2;
 Бушковская А.Б.: Д24;
 Бычков И.О.: Д31;
 Валеев Э.С.: Д34;
 Валиахметов Н.Р.: Д1;
 Васильев Г.В.: Д23;
 Васильев Е.В.: Д32;
 Васильев П.А.: Д33;
 Васильева Т.А.: Д22;
 Воропаева Е.Н.: Д26;
 Вяткин Ю.В.: Д26;
 Вяхирева Ю.В.: Д31;
 Глазырина Е.А.: Д47;
 Глинкина Ж.И.: Д46;
 Глотов А.С.: Д16;
 Глотов О.С.: Д16;
 Глушкова М.А.: Д36;
 Голанов А.В.: Д10;
 Голубенко М.В.: Д1;
 Горбачев А.Ю.: Д25, П10;
 Горгишели К.В.: Д42;
 Гордеева В.Д.: Д38;
 Гордиев М.Г.: Д48;
 Гохберг Я.А.: Д46;
 Гридина М.М.: Д34;
 Губаева З.М.: Д46;
 Гундорова П.: Д14, Д49;
 Гусева Д.М.: Д3;
 Давыденко К.А.: Д31, Д37, Д38;
 Дадали Е.Л.: Д6, Д18, Д19;
 Данилов Г.В.: Д10;
 Данишевич А.М.: Д8, П8;
 Дегтярева А.О.: Д39;
 Дембровский В.В.: П10;
 Деменьшин И.Ф.: Д20;
 Демина Н.А.: Д3, Д12;
 Еникеев Р.Ф.: Д48;
 Еремян А.А.: Д27, Д43;
 Жайворон А.В.: Д26;
 Жегло Д.Г.: Д11;
 Жилина С.С.: Д20, Д21;
 Жученко Н.А.: Д16;
 Забненкова В.В.: Д49;
 Заварин В.В.: Д45;
 Закоморная А.И.: П8;
 Заклязьминская Е.В.: Д17, П11;
 Захарова Е.С.: Д38;
 Захарова Е.Ю.: Д12;
 Зеркаленкова Е.А.: Д35;
 Зинченко Р.А.: Д22;
 Золотова С.В.: Д10;
 Зубашенко Н.А.: Д27;
 Зубкова Н.А.: Д32;
 Иванов Н.В.: Д9;
 Иванова М.Е.: Д12;
 Иванцов А.О.: Д4;
 Иванченко А.А.: Д24;
 Иващенко Т.Э.: Д16;
 Имянитов Е.Н.: Д4;
 Кадышев В.В.: Д12, Д22;
 Казарян Г.А.: П11;
 Казубская Т.П.: Д5;
 Каймонов В.С.: Д27, Д28, Д43;
 Калинин Р.С.: Д16;
 Канев А.Ф.: Д1;
 Канивец И.В.: Д12, Д20, Д42;
 Капитонова О.С.: Д27;
 Карандашева К.О.: Д10, Д29;
 Кардымон О.Л.: Д34;
 Киевская Ю.К.: Д42;
 Кильчевский А.В.: П6, П7;
 Клещев М.А.: Д23;
 Ковалев С.С.: П4;
 Кожанова Т.В.: Д20, Д21;
 Козина А.А.: Д20;
 Колмыков С.К.: Д23;
 Комиссаров А.Е.: П9, П12;
 Кондратьева Т.Т.: Д5;
 Корбут А.П.: Д28, Д43;
 Коржанова М.: Д2;
 Коростелев С.А.: Д12, Д42;
 Коростин Д.А.: П10;
 Коростин Д.О.: Д2;
 Котов И.Н.: Д28, Д43;
 Краснова Т.С.: Д32;
 Кречмар М.В.: Д41;
 Кривой А.А.: Д2;
 Крылова Т.Д.: Д12;
 Кузнецов Е.О.: Д24;
 Кузьмичева И.А.: Д6;
 Кулакова Е.В.: Д46;
 Кулемин Н.А.: Д25, П10;
 Кулигина Е.Ш.: Д4;
 Куцев С.И.: Д11;
 Лавров А.В.: Д5, Д11, Д19;
 Ладыгин С.С.: Д45;
 Ларин С.С.: Д38;
 Лебедев Г.С.: П5;
 Лебедев И.Н.: Д34;
 Лебедева С.А.: Д35;
 Леберфарб Е.Ю.: Д39, П4;
 Левченко О.А.: Д18, Д19, Д30;
 Лернер Л.В.: Д5;
 Лесниченко Т.Ю.: Д6;
 Лишица Т.С.: Д8, П8;
 Лобенская А.Ю.: Д16;
 Логинова М.А.: Д36;
 Лопаткина М.Е.: Д34;
 Лукьянова Е.Г.: Д21;
 Магнитов М.Д.: Д33;
 Имянитов Е.Н.: Д4;
 Макур О.Ч.: П6;
 Манашова Е.С.: Д10;
 Максимов В.Н.: Д26;
 Мальшева О.М.: П6;
 Мараховская Т.А.: Д24;
 Мараховская Е.Н.: П1;
 Марахонов А.В.: Д22;
 Марков А.В.: Д1;
 Маркова Ж.Г.: Д34;
 Маркова Т.В.: Д3;
 Масленников В.Н.: Д9;
 Мацвай А.Д.: Д8;
 Медведев С.П.: Д26;
 Мельникова А.И.: Д32;
 Меркулова Т.И.: Д39;
 Мещерякова Т.И.: Д20, Д21;
 Мигас А.А.: Д7;
 Миронова И.В.: Д27, Д28, Д43;
 Митюшкина Н.В.: Д4;
 Михайлова С.В.: Д12;
 Михалевская Т.М.: Д7;
 Михаленко Е.П.: П6, П7;
 Можейко Е.А.: Д34;
 Мозгов С.С.: Д36;
 Москаленко В.Н.: Д2;
 Муртазина А.Ф.: Д13;
 Мусатова Е.В.: Д27, Д28, Д43;
 Нагиева С.Э.: Д19;
 Назаренко Л.П.: Д1;
 Назаренко М.С.: Д34;
 Никашин Б.А.: Д2;
 Никитин А.Г.: Д11, Д48;
 Новикова Е.И.: П1, П3;
 Новицкая Н.Н.: П1, П3;
 Огиенко А.А.: Д50;
 Ольшанская Ю.В.: Д35;
 Орлов Ю.Л.: П4, П5;
 Орлова А.А.: Д49;
 Орлова М.Д.: Д13, Д14;
 Осадчук А.В.: Д23;
 Осадчук Л.В.: Д23;
 Осипова К.В.: Д21;
 Оссипов Д.В.: П2;
 Остапенко Д.К.: Д9;
 Павлов А.Е.: Д36;
 Павлов А.Ю.: Д15, П11;
 Павлова А.С.: Д2;
 Павлюкова Е.Н.: Д1;
 Папиж С.В.: Д30;
 Пашенко М.С.: Д29;
 Перова М.Ю.: Д24;
 Петров В.М.: Д32;
 Пильщикова Н.С.: Д36;
 Пиволицкая И.С.: Д28, Д43;
 Полев Д.Е.: Д16;
 Поляков А.В.: Д13, Д14, Д49;
 Помазной М.Ю.: Д26;
 Попов С.А.: Д25, П10;
 Попов С.В.: Д44, Д45;
 Предеус А.В.: Д16;
 Пригытько А.Г.: Д20, Д21;
 Прокопьев Г.Г.: Д20;
 Пунько А.В.: Д7;
 Пушкарев В.П.: Д47;
 Пьянков Д.В.: Д42;
 Разин С.В.: Д33;
 Ребриков Д.В.: Д2;
 Репина С.А.: Д12;
 Романова О.В.: Д16;
 Рубцов П.М.: Д32;
 Руденская Г.Е.: Д12;
 Рудник А.Ю.: Д16;
 Румянцева В.А.: Д15, П11;
 Рушинова В.С.: П11;
 Рыжкова О.П.: Д13, Д49;
 Сабер С.: Д17;
 Сабирзянова З.Р.: Д15;
 Сайк О.В.: Д50;
 Сакаева Д.Д.: Д48;
 Салахов Р.Р.: Д1;
 Сарана А.М.: Д16;
 Саранцева С.В.: П9, П12;
 Семенова Н.А.: Д3, Д6, Д18;
 Серебренникова Т.Е.: Д47;
 Серебрякова Е.А.: Д16;
 Симакова Т.С.: Д36;
 Синдеева М.А.: Д34;
 Скобликов Н.Э.: Д24;
 Скоблов М.Ю.: Д12, Д30, Д31, Д37, Д38;
 Скородумова Л.О.: Д38;
 Слепченков А.В.: Д36;
 Слободина А.Д.: П9, П12;
 Сметанина Н.С.: Д38;
 Смирнихина С.А.: Д11;
 Смигирева Г.П.: Д15, П1, П3, П11;
 Соколова С.Р.: Д35;
 Солдаткина О.И.: Д35;
 Соловей В.В.: Д9;
 Спарбер П.А.: Д12, Д31;
 Стрельников В.В.: Д29;
 Строкова Т.В.: Д6;
 Суворова А.В.: Д36;
 Сукало А.В.: П6;
 Сухоруков В.С.: Д20;
 Танаас А.С.: Д29;
 Таран Н.Н.: Д6;
 Тарасенко Е.В.: Д26, Д50;
 Твеленева А.А.: Д28;
 Тельшева Е.Н.: П3, П11;
 Туркина А.Г.: Д11;
 Туркунова М.Е.: Д16;
 Тюльпаков А.Н.: Д32;
 Угаров И.В.: Д9;
 Удалова В.Ю.: Д42;
 Ульянов С.В.: Д33;
 Уразов С.П.: Д16;
 Фартушный Э.Н.: П5;
 Федюшкина И.В.: Д25;
 Федяков М.А.: Д16;
 Филатова А.Ю.: Д12, Д30, Д31, Д37, Д38;
 Филиппова О.В.: Д24;
 Фишман В.С.: Д34;
 Фреире М.В.: Д31;
 Хаджиева М.Б.: Д38;
 Хазин Е.Д.: П1, П3;
 Хахина А.О.: Д8;
 Хмелькова Д.Н.: Д27, Д28;
 Холматов М.М.: Д4;
 Цай В.В.: Д16;
 Цыганкова П.Г.: Д6;
 Чельшева Е.Ю.: Д11;
 Черанев В.В.: Д2;
 Череватова Т.Б.: Д49;
 Черных В.Б.: Д9;
 Чистякова А.В.: Д46;
 Чухрова А.Л.: Д49;
 Шадеркин И.А.: П5;
 Шайхаев Е.Г.: Д15;
 Шарков А.А.: Д12;
 Шаркова И.В.: Д9, Д12;
 Шарова М.В.: Д30;
 Шатохина О.Л.: Д49;
 Шевчук И.В.: П6;
 Шепетько М.Н.: П7;
 Шестак А.Г.: Д17;
 Шиков А.Е.: Д16;
 Шилова Н.В.: Д34;
 Шипулин Г.А.: Д8, П8;
 Шорина М.Ю.: Д20;
 Штокало Д.Н.: Д26, Д50;
 Шульбина Е.С.: Д40;
 Шухов О.А.: Д11;
 Щагина О.А.: Д13;
 Щаюк А.Н.: П7;
 Сухоруков В.С.: Д20;
 Эйсмонт Ю.А.: Д16;
 Якушина В.Д.: Д5;
 Янова Т.И.: Д42;
 Янус Г.А.: Д4.

Научное издание «Медико-генетического научного центра имени академика Н.П.Бочкова»
Тираж 250 экз.

Издательство «Компания «Боргес»
115162, Москва, ул. Хавская, д. 18, к. 2 8 (495) 958 61 77/55/33 info@borges-print.ru