



NGS в медицинской генетике

Шестая международная научно-практическая конференция

Научная программа

Тезисы конференции

Суздаль
27-29 апреля 2022

Золотой спонсор



АЛЬБИОГЕН
группа компаний Р-Фарм

Серебряные спонсоры



Спонсоры



RUSTECH



SEANA

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

Даты проведения: 27–29 апреля 2022 г.

- Заезд участников конференции: 27 апреля
- Регистрация участников: 27 апреля с 10:00
- Работа выставки конференции: 27–28 апреля

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

Питание

- Завтраки включены в стоимость номера (ресторан «На Пинаихе»)
- Кофе-брейки (на территории конференции и выставки)
- Банкет по приглашениям 28 апреля в 20.00 (Романовский зал)

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: 27 апреля от ж/д вокзала г. Владимира в 09:00
- После закрытия конференции: 29 апреля из «Пушкарской слободы» до ж/д вокзала г. Владимира в 16:35

Сайт конференции: ngs.med-gen.ru

Контакты оргкомитета: mgngs@med-gen.ru



Схема комплекса «Пушкарская Слобода»





1 Служба размещения Reception

РЕСТОРАНЫ
restaurants

- 2 ресторан «Пушкарь»
the «Pushkar» restaurant
- 3 летняя веранда ресторана
«На Пинаимке»
summer terrace «Na Pinaimke» restaurant
- 4 ресторан «На Пинаимке»
the «Na Pinaimke» restaurant
- 5 бар «Fondle» the «Fondle» bar
- 6 ресторан «Улей»
the «Uley» restaurant

КОНФЕРЕНС-ЗАЛЫ
conferences-halls

- 8 «Петровский»
the «Petrovskiy»
- 9 «Романовский»
the «Romanovskiy»
- 10 «Александровский»
the «Aleksandrovskiy»
- 11 «Помоносовский»
the «Ponomarevskiy»
- 12 SPA-центр, Русская баня
SPA-centre, Russian bath

7 Амфитеатр
Amphitheatre

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. Мастер-класс по разработке и использованию таргетных NGS-панелей

И.В. Мерсиянова

Лаборатория молекулярной биологии НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева занимается NGS-диагностикой наследственных заболеваний крови и патологии иммунитета с 2016 года; за это время было выполнено более 3500 исследований. Лаборатория сосредоточена на разработке и применении максимально полной и эффективной таргетной диагностической панели генов. Последняя версия единой иммунологической и гематологической панели включает 935 генов. В панель также включены клинически значимые некодирующие области, выпадающие при секвенировании экзомов, учтены участки, проблемные вследствие высокой гомологии, и составлен список кастомных координат «точек интереса» для известных вариантов, которые могли бы быть потеряны в случае применения стандартных фильтров по частоте и месторасположению варианта. Мы предлагаем обсудить возможность создания общей российской онлайн базы аналогичных курируемых, аннотированных и обновляемых кастомных панелей. Это позволило бы быстрее и качественнее проводить анализ экзомов и учитывать необходимость дополнительных ДНК-исследований лабораториям, не имеющим узкой специализации.

В рамках 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.

Круглый стол №1. Может ли генетика помочь в принятии хирургических решений?

В.А. Румянцева

Как хирург может заподозрить наследственную дисплазию соединительной ткани (НДСТ), куда направить больного? Может ли клинический генетик провести дифференциальную диагностику синдромов НДСТ на приеме, до назначения генетического теста? Как повысить эффективность ДНК-диагностики НДСТ: панели, экзом, геном? Как понять, каузален ли вариант, если стандартные методы (косегрегационный, функциональный анализ) не могут дать точного ответа? Что можно сделать, чтобы результаты ДНК-диагностики НДСТ реально помогли хирургам?

Круглый стол №2. Опыт создания первой в России открытой базы данных генетических вариантов.

Д.Н. Хмелькова

Поговорим в целом о секвенировании больших популяционных когорт, о том, что потом с этими данными можно делать, а что - нельзя, как можно применять эти данные на практике и какие плюсы, минусы и возможности развития есть у подобных проектов в России.

Круглый стол №3. Предварительные результаты проекта по неонатальному скринингу с использованием экзомного секвенирования.

Е.А. Померанцева

В НИИЦ АГП им. Кулакова проводится исследование клинической ценности полноэкзомного секвенирования новорожденных. В рамках проекта секвенирование выполняется всем детям, которые родились в центре, и чьи родители согласились принять участие в исследовании. Новорожденные, которым проводится исследование, разделены на две группы: 1. Без фенотипических особенностей. Им проводится скрининговое исследование, в рамках которого анализируется наличие у них генетических вариантов, которые приведут в будущем к развития моногенных заболеваний; 2. С особенностями фенотипа, семейного анамнеза и развития - этой группе пациентов проводится диагностическое исследование с учетом клинической информации. На секции, посвященной этому проекту, будут доложены предварительные результаты исследования, после чего будут обсуждены вопросы сообщения отдельных вариантов в формате общей дискуссии.

Круглый стол №4. Интерпретация патогенности рецессивных вариантов

О.А. Щагина

Варианты в редких рецессивных генах, как правильно оценить патогенность, какие критерии использовать, выносить или нет в заключение один вариант и можно ли их куда-то перевести из VUS? При интерпретации патогенности вариантов в рецессивных генах возникает целый ряд трудностей: 1) выявление одного варианта в гене с подходящим фенотипом: искать ли второй и как это сделать; 2) вариант в гене для которого описано и доминантное и рецессивное наследование; 3) два неописанных ранее варианта в рецессивном гене – где набрать критериев, чтобы они стали доброкачественными или патогенными; 4) варианты de novo в рецессивных генах: какие критерии можно, а какие нельзя использовать и как определить цис-транс положение; 4) что делать если у пробанда вариантов с признаками патогенности больше чем нужно для развития болезни – как определить самый-самый; 5) можно ли при анализе экзомных данных пропустить самые частые мутации и как этого избежать; 6) есть ли шанс при семейном анализе доказать патогенность VUS в X-сцепленном рецессивном гене, в том числе если пробанд девочка. Эти и другие задачи и способы их решения попробуем успеть обсудить в рамках круглого стола.

27 апреля, среда

с 10:00	Регистрация	
с 10:30 – 12:00	Приветственный кофе	
12:00 – 13:00	Сателлитный симпозиум Альбиоген / Группа компаний Р-Фарм	
13:00 – 13:10	Перерыв	
	Пленарная секция <i>Модераторы: М.Ю. Скоблов, Д.Н. Хмелькова</i>	
13:10 – 13:15	Открытие конференции	<i>С.И. Куцев, М.Ю. Скоблов, А.В. Лавров</i>
13:15 – 13:40	Опыт создания первой в России открытой базы данных генетических вариантов	<i>Д.Н. Хмелькова</i>
13:40 – 14:05	Как открыть новый ген. Опыт международной коллаборации по наследственным оптическим нейропатиям	<i>П.Г. Цыганкова</i>
14:05 – 14:30	Жизнь без комплексов	<i>М.Ю. Скоблов</i>
14:30 – 15:30	Перерыв	
	Новые подходы в онкодиагностике методами NGS <i>Модераторы: А.С. Цуканов, Д.С. Михайленко</i> Спонсор секции ООО «Кайджен Рус»	
15:30 – 15:48	Роль NGS в диагностике синдрома Линча	<i>А.С. Цуканов</i>
15:48 – 16:06	Что можно извлечь из анализа деградированной РНК парафинизированной опухолевой ткани?	<i>М.И. Сорокин</i>
16:06 – 16:24	Применение различных подходов NGS в диагностике и выборе терапии при раке легкого	<i>И.А. Демидова</i>
16:24 – 16:42	Место NGS в диагностике герминальных мутаций при наследственных онкологических синдромах	<i>А.М. Данишевич</i>
16:42 – 17:00	Интерпретация соматических генетических вариантов в детской онкологии	<i>А.Е. Друй</i>
17:00 – 17:15	Онкогеномика QIAGEN – от рутины и КГП до «высокой молекулярной кухни»	<i>А.Ю. Аникаев</i>
17:15 – 17:45	Сравнение новых и ранее опубликованных рекомендаций по интерпретации онкогенности и терапевтической значимости соматических мутаций в опухолях	<i>Д.С. Михайленко</i>
17:45 – 18:15	Кофе-брейк	
	Таргетное секвенирование <i>Модераторы: И.В. Мерсиянова, П.Г. Цыганкова</i> Спонсор секции ООО «БиоХимМак»	
18:15 – 18:35	Сравнительный анализ результатов секвенирования генов саркомерных белков с использованием технологий компаний Illumina и Oxford Nanopore Technology	<i>Р.Р. Салахов</i>

18:35 – 18:45	Оптимизация протокола секвенирования по методу Сенгеру для «сложных» регионов генома	<i>А.В. Смирнова</i>
18:45 – 19:00	Таргетное секвенирование: современные подходы и области применения	<i>И.Ю. Карпова*</i>
19:00 – 19:40	Мастер-класс по разработке и использованию таргетных NGS-панелей Приглашенные участники: Д.В. Пьянков, В.С. Каймонов	<i>И.В. Мерсиянова</i>
19:40 – 21:00	Перерыв	
21:00 – 23:00	Приветственный фуршет и постерная сессия. Романовский зал	

** Ирина Карпова – менеджер по продукции ООО «Рош Диагностика Рус»*

28 апреля, четверг

Медицинская генетика

Модераторы: А.Ф. Муртазина, В.А. Румянцева

9:00 – 9:20	Применение полногеномного секвенирования для выявления редких наследственных заболеваний	<i>Е.С. Кузнецова</i>
9:20 – 9:35	Структура и разнообразие врожденных мышечных дистрофий в Российской Федерации	<i>П.А. Чаусова</i>
9:35 – 9:50	Когда NGS переворачивает диагноз	<i>А.Ф. Муртазина</i>
9:50 – 10:00	Предикторы низкой эффективности полного секвенирования экзона у пациентов с подозрением на наследственные формы эпилепсии	<i>О.Г. Новоселова</i>
10:00 – 10:40	Круглый стол. Может ли генетика помочь в принятии хирургических решений? Приглашенные участники: П.А. Спарбер, И.В. Канивец	<i>В.А. Румянцева</i>

10:40 – 11:00 Кофе-брейк

Биоинформатика NGS

Модераторы: Т.С. Симакова, Ф.А. Коновалов

11:10 – 11:25	Оптимизация процесса биоинформатической обработки полногеномных данных NGS секвенирования	<i>С.Э. Николаев</i>
11:25 – 11:40	«Артефакты» технологии NGS – найти и обезвредить	<i>Т.С. Симакова</i>
11:40 – 11:55	Биоинформатические подходы к контролю качества данных NGS	<i>Н.А. Зубашенко</i>
11:55 – 12:05	Разработка панелей для таргетного секвенирования с учетом неравновесного сцепления	<i>Д.Е. Романов</i>
12:05 – 12:15	Определение фенотипа пациента на основе неполных генетических данных	<i>Д.А. Никогосов</i>
12:15 – 12:25	Хоботница: исследование качества молекулярных сигнатур	<i>Ю.А. Медведева</i>
12:25 – 12:40	Формирование базы данных генетических вариантов, встречающихся у условно-здоровых жителей Российской Федерации	<i>Г.Ю. Зобкова</i>

12:40 – 13:25	Круглый стол. Создание баз данных генетических вариантов. Приглашенные участники: Ф.А. Коновалов, В.Е. Раменский, Е.А. Померанцева	<i>Д.Н. Хмелькова</i>
13:25 – 14:25	Перерыв	
	Многоликий NGS <i>Модераторы: М.В. Голубенко, А.А. Буздин</i>	
14:25 – 14:40	Секвенирование 242 клинически важных генов в российской популяции из Ивановской области	<i>В.Е. Раменский</i>
14:40 – 14:50	Анализ клинико-генетических особенностей пациентов с синдромом удлинённого интервала QT в Сибирском регионе	<i>А.Е. Постригань</i>
14:50 – 15:00	Европейские шкалы полигенного риска артериальной гипертензии: воспроизводимость у жителей Центральной России	<i>А.С. Лимонова</i>
15:00 – 15:10	Оценка уровня метилирования подсемейств ретротранспозона LINE-1: L1HS и L1PA2 в плаценте первого триместра беременности	<i>В.В. Деменева</i>
15:10 – 15:20	Пакет RMetSeq для обработки таргетного чувствительного к метилированию рестрикционного секвенирования	<i>А.А. Зарубин</i>
15:20 – 15:30	Соседние с опухолью «нормальные» ткани наследуют опухолевые экспрессионные сигнатуры	<i>А.А. Буздин</i>
15:30 – 15:37	Полногеномное секвенирование в диагностике наследственного рака молочной железы у российских пациентов	<i>М.В. Макарова</i>
15:37 – 15:44	Генетическая гетерогенность острых лейкозов с перестройкой t(10;11)(p12;q21)/PICALM::MLLT10 у детей	<i>Е.А. Зеркаленкова</i>
15:44 – 15:51	Спектр герминальных мутаций в онкоассоциированных генах у пациентов детского и юношеского возраста с опухолями мозга	<i>В.В. Семенова</i>
15:51 – 15:58	Синдром Фримана-Шелдона вследствие несбалансированной транслокации 46,XX,t(9;20)(q33.3q34.3;p13)	<i>Т.В. Кожанова</i>
15:58 – 16:05	Варианты генетических нарушений у пациентов с синдромом Пейтца-Егерса	<i>Т.И. Янова</i>
16:05 – 16:35	Кофе-брейк	
	Интересные истории <i>Модераторы: О.А. Щагина, М.Ю. Скоблов</i>	
16:35 – 16:55	Функциональная Одиссея: как установить молекулярный механизм нового фенотипа?	<i>П.А. Спарбер</i>
16:55 – 17:10	Если все было так просто, то почему так долго?	<i>М.В. Шарова</i>
17:10 – 17:25	Диагностическая одиссея: комбинированное ЗНО кроветворной ткани (ОМЛ+Т-клеточная лимфома)	<i>Е.А. Зеркаленкова</i>
17:25 – 17:40	Через тернии молекулярно-генетических методов к диагнозу	<i>Ю.В. Вяхирева</i>
17:40 – 17:55	Дорогу осилит идущий: опыт диагностики атипичного синдрома Ретта	<i>А.С. Иванова</i>
17:55 – 18:05	Применение полного секвенирования экзона при привычном невынашивании беременности	<i>С.А. Авдейчик</i>

18:05 – 18:15	Опыт успешного применения самостоятельного переанализа fastq панели клиницистом	<i>Д.А. Саушев</i>
18:15 – 18:30	Публикация в рейтинговом журнале без вложений и обмана	<i>О.А. Левченко</i>
18:30 – 18:35	Групповая фотография. Романовский зал	
18:35 – 20:00	Перерыв	
20:00 – 23:00	Гала-ужин. Романовский зал, по приглашениям	

29 апреля, ПЯТНИЦА

Функциональный анализ NGS находок

Модераторы: А.Ю. Филатова, И.О. Бычков

10:00 – 10:25	Новая метавселенная патогенных вариантов	<i>А.Ю. Филатова</i>
10:25 – 10:45	Редкие молекулярно-генетические механизмы патогенеза, ассоциированные с мобильными генетическими элементами и структурными перестройками	<i>И.О. Бычков</i>
10:45 – 11:00	Система экспрессии минигенов для оценки патогенности экзонных вариантов, влияющих на сплайсинг в гене <i>DMD</i>	<i>К.А. Давыденко</i>
11:00 – 11:10	Механизмы реализации нонсенс-вариантов гена <i>DMD</i> : так ли все очевидно?	<i>М.Д. Орлова</i>
11:10 – 11:20	Неразрешенный случай с хорошим геном-кандидатом. Новый наследственный синдром?	<i>И.В. Мерсиянова</i>
11:20 – 11:50	Кофе-брейк	

РепроNGS

Модераторы: М.В. Кречмар, В.Б. Черных

11:50 – 12:00	Перспективы геномных исследований в диагностике генетических нарушений репродукции	<i>В.Б. Черных</i>
12:00 – 12:10	Скрининг на носительство: от безграничных лабораторных возможностей к реалиям клинической практики	<i>М.В. Кречмар</i>
12:10 – 12:20	Сравнительный анализ результатов ПГТ-А методом NGS в клетках разных областей трофктодермы	<i>Ж.И. Глинкина</i>
Круглые столы по научно-практическим вопросам		
12:20 – 13:20	Предварительные результаты проекта по неонатальному скринингу с использованием экзомного секвенирования Приглашенные участники: Е. Шубина, А.А. Докшукина, Е.Р. Толмачева	<i>Е.А. Померанцева</i>
13:20 – 14:10	Интерпретация патогенности рецессивных вариантов Приглашенные участники: П.А. Чаусова, О.А. Левченко, М.Ю. Скоблов	<i>О.А. Щагина</i>
14:00 – 14:05	Закрытие	
16:35	Отъезд автобуса	

ШКОЛА АНАЛИЗА NGS ДАННЫХ ONCONGS SCHOOL'22



С 30 мая по 3 июня 2022 в Москве пройдет вторая школа анализа NGS данных в онкогенетике «OncoNGS School'21». Основное направление школы – освоение навыков по анализу и интерпретации данных, полученных при NGS секвенировании ДНК пациентов с различными опухолевыми заболеваниями.

На этой школе 80% времени будет посвящено практической работе: анализу NGS данных, полученных при секвенировании различных панелей генов пациентов, поиску и интерпретации патогенных вариантов, изучению баз данных и многому другому. В школе вы самостоятельно проанализируете около сотни NGS данных реальных случаев пациентов с широким спектром различных опухолевых заболеваний: наследственные опухолевые синдромы; наследственные онкологические синдромы рака молочной железы, яичников и толстой кишки; опухолей детского возраста; рака предстательной железы; рака щитовидной железы.

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 16 мая 2022

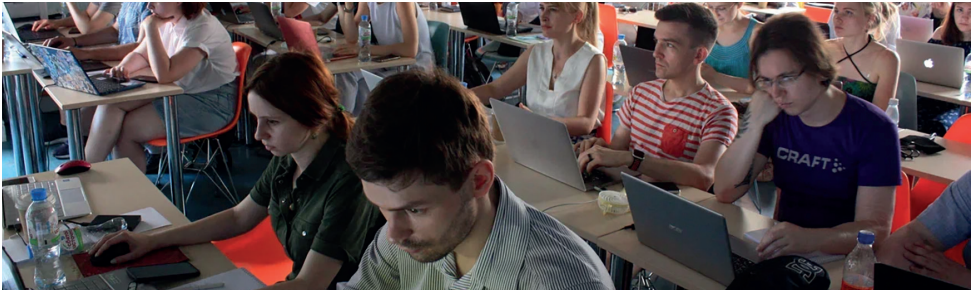
Даты проведения: с 30 мая по 3 июня 2022

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

Школа проводится очно



АНОНСЫ ДРУГИХ МЕРОПРИЯТИЙ



В этом году нами запланировано проведение нескольких школ:

Школа анализа NGS данных моногенных заболеваний - MGNGS School`22

- Это самая первая (а по счёту будет шестая) базовая школа по освоению навыков по анализу и интерпретации данных, полученных при NGS секвенировании ДНК пациентов с наследственными заболеваниями. Приходите.

Школа анализа NGS данных моногенных заболеваний (продвинутый уровень) - MGNGS High School`22

- Те, кто уже был на первой школе или имеет навыки в анализе данных – добро пожаловать на следующий уровень! Школа будет проходить раз в неделю в формате онлайн. Участникам школы будут выдаваться данные сложных случаев: панелей генов, экзомов и геномов. В конце недели будет проводиться совместный разбор и анализ полученных результатов.

Школа анализа NGS данных в онкогенетике - OncoNGS School`22

- Онкогенетика — это отдельное направление медгенетики со своими особенностями опухолевых заболеваний: молекулярного патогенеза, диагностики, лечения. Обо всём этом можно узнать на школе по онкогенетике.

Школа по функциональной геномике в медицинской генетике – School of Functional Genomics`22

- Как оценить патогенность варианта? Как экспериментально доказать его патогенность самостоятельно или с помощью коллег? Что нужно сделать, чтобы исследовать молекулярный патогенез заболевания? Как сделать первые шаги в сторону терапии? Обо всём этом на этой школе.

Время и место проведение этих школ будет объявлено позже. Сейчас вы можете оставить свою заявку на участие в одной из следующих школ, и мы заранее известим вас о планируемых датах, и вы будете иметь приоритетную регистрацию.

Организаторы мероприятий – ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

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



Набор **digitalMLPA** для определения генетических предрасположенностей к раковым заболеваниям



MRC Holland представляет новый набор для определения генетических предрасположенностей к раковым заболеваниям **SALSA digitalMLPA Probemix D001 Hereditary Cancer Panel 1**

Набор позволяет определять делеции или дупликации в экзонах генов, связанных с наследственной предрасположенностью к таким формам рака, как образования опухолей груди, яичников, толстой кишки, желудка, предстательной железы, поджелудочной железы или меланоме.

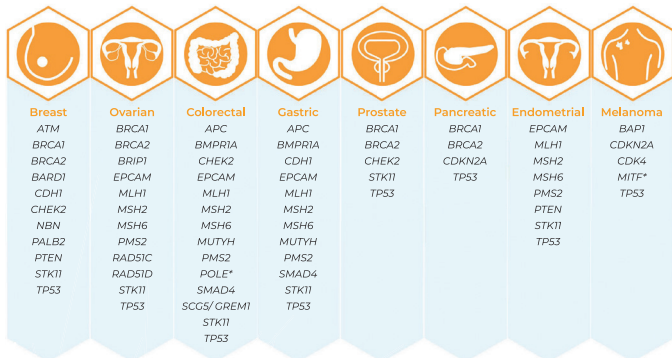
Это первый набор, основанный на технологии MLPA, созданный для исследования методом NGS и совместимый с платформами Illumina.

Набор позволяет проводить определение по 690 мишеням в одном образце:

- 558 мишеней для определения копийности в генах локусов, отвечающих за на-

следственную предрасположенность к раку,

- 5 мишеней для определения мутантных последовательностей,
- 3 мишени для образца дикого типа (отрицательный контроль),
- Определение более 120 мишеней для контроля: включены зонды для идентификации образцов и зонды для обнаружения ошибок или отклонений при выполнении тестов digitalMLPA, таких как примеси и фрагментация образцов ДНК, активность лигазы и полимеразы и степень гибридизации.



Кат. номер	Название	Реакций
D001-025R	SALSA digitalMLPA Probemix D001 Hereditary Cancer Panel 1 – 25 rxn	25
D001-050R	SALSA digitalMLPA Probemix D001 Hereditary Cancer Panel 1 – 50 rxn	50
D001-100R	SALSA digitalMLPA Probemix D001 Hereditary Cancer Panel 1 – 100 rxn	100



ЗАО «БиоХимМак»

119192, Москва, Ломоносовский проспект, дом 29, корпус 1

телефон: (495) 647-27-40; e-mail: pcr@biochemmack.ru

www.biochemmack.ru

Наборы и панели QIAseq®

Биоинформатика

Все решения для NGS,
которые Вам нужны,
от QIAGEN

- Готовые и кастомные таргетные панели
- Мультиомодальные панели (ДНК+РНК)
- Экзомы
- Наборы для полногеномных библиотек, в том числе из единичных клеток и внеклеточной ДНК
- Адаптеры и индексы для различных NGS-секвенаторов
- Панели для эпигенетики и метагеномики

**Анализ данных, базы
знаний и клиническая
интерпретация:**

CLC Genomics
GeneGlobe
HGMD
HSMD
COSMIC
QCI Interpret

Узнайте больше здесь:



Sample to Insight



Заказ и техническая поддержка: qiagenrus@qiagen.com | +7 499-703-15-56

ООО «Кайджен РУС», Москва, Пресненская наб., д.6, стр.2, оф. 5001 | сайты: qiagen.moscow, qiagen.com



АЛЬБИОГЕН
группа компаний Р-Фарм

Решения для медицинской практики

Приборы и реагенты для секвенирования
нового поколения (NGS)



NextSeq 550 Dx

№ РЗН 2021/13216



MiSeq Dx

№ РЗН 2014/1568



**Наборы реагентов
для секвенирования**

№ РЗН 2020/13097, № РНЗ 2020/13162,

№ РНЗ 2020/13165

Генетическая диагностика онкологических, редких,
наследственных и других видов заболеваний

albiogen.ru

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ. ПРОКОНСУЛЬТИРУЙТЕСЬ СО СПЕЦИАЛИСТОМ



Тезисы конференции

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Опыт создания первой в России открытой базы данных генетических вариантов	21
<i>Хмелькова Д.Н., Барбитов Ю.А., Померанцева Е.А., Слепченков А.В., Зубашенко Н.А., Миронова И.В., Каймонов В.С., Предеус А.В.</i>	
Оптимизация протокола секвенирования по методу Сенгеру для «сложных» регионов генома	21
<i>Смирнова А.В., Ларина Д.А., Жикревецкая С.О., Цибульская Д.С., Щербакова Н.В. Поволоцкая И.С.</i>	
Применение полногеномного секвенирования для выявления редких наследственных заболеваний.....	22
<i>Кузнецова Е.С., Зобнова Г.Ю., Беленикин М.С., Криницына А.А., Грознова О.С., Сагайдак О.В., Баранова Е.Е.</i>	
Структура и разнообразие врожденных мышечных дистрофий в Российской Федерации	23
<i>Чаусова П.А., Рыжкова О.П., Чухрова А.Л., Гундорова П., Забненкова В.В., Шатохина О.Л., Череватова Т.Б., Орлова А.А., Щагина О.А., Бескорвайный Н.С., Поляков А.В.</i>	
Предикторы низкой эффективности полного секвенирования экзона у пациентов с подозрением на наследственные формы эпилепсии	23
<i>Новоселова О.Г., Клестова В.С., Поволоцкая И.С., Биканов Р.А.</i>	
Оптимизация процесса биоинформатической обработки полногеномных данных NGS секвенирования.....	24
<i>Николаев С.Э., Хатъков И.Е., Бодунова Н.А., Сараджев В.В.</i>	
Биоинформатические подходы к контролю качества данных NGS	25
<i>Зубашенко Н.А., Корбут А.П., Капитонова О.С., Широкова Н.А., Миронова И.В., Каймонов В.С., Хмелькова Д.Н.</i>	
Разработка панелей для таргетного секвенирования с учетом неравновесного сцепления	25
<i>Романов Д.Е., Скобликов Н.Э.</i>	
Определение фенотипа пациента на основе неполных генетических данных	26
<i>Никогосов Д.А., Данилов К.А.</i>	
Формирование базы данных генетических вариантов, встречающихся у условно-здоровых жителей Российской Федерации.....	26
<i>Зобнова Г.Ю., Зеленова Е.А., Беленикин М.С., Баранова Е.Е., Сагайдак О.В., Альберт Е.А.</i>	
Секвенирование 242 клинически важных генов в российской популяции из Ивановской области.....	27
<i>Раменский В.Е., Ершова А.И., Зайченко М., Киселева А.В., Жаринова А.А., Вяткин Ю.В., Сотникова Е.А., Ефимова И.А., Дивашук М.Г., Курилова О.В., Скорко О.П., Муромцева Г.А., Белова О.А., Рачкова С.А., Покровская М.С., Шальнова С.А., Мешков А.Н., Драпкина О.М.</i>	
Анализ клинико-генетических особенностей пациентов с синдромом удлинённого интервала QT в Сибирском регионе	28
<i>Постригань А.Е., Свинцова Л.И., Жалсанова И.Ж., Сивцев А.А., Зарубин А.А., Скрыбин Н.А.</i>	
Европейские шкалы полигенного риска артериальной гипертензии: воспроизводимость у жителей Центральной России	28
<i>Лимонова А.С., Ершова А.И., Мешков А.Н., Киселева А.В., Сотникова Е.А., Покровская М.С., Куценко В.А., Жаринова А.А., Раменский В.Е., Драпкина О.М.</i>	

Оценка уровня метилирования подсемейств ретротранспозона LINE-1: L1HS и L1PA2 в плаценте первого триместра беременности.....	29
<i>Деменева В.В., Толмачева Е.Н., Васильева О.Ю., Жигалина Д.И., Саженова Е.А., Никитина Т.В., Ермолина Е.А., Фонова Е.А., Лебедев И.Н., Васильев С.А.</i>	
Пакет RMetSeq для обработки таргетного чувствительное к метилированию рестрикционного секвенирования	30
<i>Зарубин А.А., Сивцев А.А., Жалсанова И.Ж., Скрыбин Н.А.</i>	
Полногеномное секвенирование в диагностике наследственного рака молочной железы у российских пациентов	30
<i>Макарова М.В., Немцова М.В., Баранова Е.Е., Сагайдак О.В., Беленикин М.С., Крилицына А.А., Бяхова М.М., Семенова А.Б., Галкин В.Н., Бодунова Н.А., Воронцова М.В., Данишевич А.М., Хатьков И.Е., Каннер Д.Ю., Савелов Н.А., Шабунин А.В., Греков Д.Н., Лебедев С.С., Проценко Д.Н., Межуева А.О., Мищенко А.В., Привезенцев А.С.</i>	
Генетическая гетерогенность острых лейкозов с перестройкой t(10;11)(p12;q21)/PICALM::MLLT10 у детей.....	31
<i>Зеркаленкова Е.А., Борковская А.Н., Волчков Е.В., Казакова А.Н., Солдаткина О.И., Матвеев Е.В., Казанов М.Д., Ольшанская Ю.В.</i>	
Спектр герминальных мутаций в онкоассоциированных генах у пациентов детского и юношеского возраста с опухолями мозга.....	32
<i>Семенова В.В., Козлова В.М., Харчиков Д.В., Мирошникова А.С., Лисица Т.С., Жуковская Е.В., Наседкина Т.В.</i>	
Синдром Фримана-Шелдона вследствие несбалансированной транслокации 46,XX,t(9;20)(q33.3q34.3;p13).....	33
<i>Кожанова Т.В., Жилина С.С., Мещерякова Т.И., Прокопьева Н.П., Притыко А.Г.</i>	
Варианты генетических нарушений у пациентов с синдромом Пейтца-Егерса	33
<i>Янова Т.И., Бодунова Н.А., Данишевич А.М., Полякова В.В., Логинова А.Н., Цуканов А.С.</i>	
Дорогу осилит идущий: опыт диагностики атипичного синдрома Ретта.....	34
<i>Иванова А.С., Сивицкая Л.Н., Куликова С.Л., Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г.</i>	
Новая метавселенная патогенных вариантов.....	35
<i>Филатова А.Ю., Ревензук И.В., Пяткова М.А., Бессонова Д.И., Кузьякова О.Ю., Демакова В.В., Романишин А.О., Фишман В.С., Иманмалик Е.Н., Чеканов Н.Н., Скитченко Р.К., Барбитов Ю.А., Кардымон О.Л., Скоблов М.Ю.</i>	
Система экспрессии минигенов для оценки патогенности экзонных вариантов, влияющих на сплайсинг в гене DMD	36
<i>Давыденко К.А., Филатова А.Ю., Скоблов М.Ю.</i>	
Механизмы реализации нонсенс-вариантов гена DMD: так ли все очевидно?	36
<i>Орлова М.Д., Бескоровайный Н.С., Рыжкова О.П.</i>	
Неразрешенный случай с хорошим геном-кандидатом. Новый наследственный синдром?.....	37
<i>Мерсиянова И.В., Кондрашова З.А., Курникова М.А., Донюш Е.К., Райкина Е.В.</i>	
Скрининг на носительство: от безграничных лабораторных возможностей к реалиям клинической практики	38
<i>Кречмар М.В.</i>	

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

Сочетание двух патогенных вариантов в генах, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами у одного человека.....	39
<i>Хахина А.О., Абрамов И.С., Лисица Т.С., Шагина А.Д., Шипулин Г.А.</i>	
Молекулярно-генетические нарушения у пациентов с диагнозом рак яичников	39
<i>Шагина А.Д., Лисица Т.С., Хахина А.О., Шипулин Г.А., Абрамов И.С.</i>	
Исследование гена <i>RPE65</i> у больных пигментной дегенерацией сетчатки и врожденным амаврозом Лебера в России.....	40
<i>Степанова А.А., Кадышев В.В., Щагина О.А., Полянов А.В.</i>	
Разработка системы для преимплантационного генетического тестирования хромосомных анеуплоидий (ПГТ-А) методом массового параллельного секвенирования.....	41
<i>Игнатов К.Б., Анисименко М.С., Гаранин А.Ю., Борисова М.А., Помазной М.Ю., Штокало Д.Н., Коваленко С.П.</i>	
Оценка эффективности секвенирования экзома в клинической практике медико-генетической консультации г. Сургута (ХМАО-Югра).....	41
<i>Донников М.Ю., Папанов С.И., Ложкин Д.А., Колбасин Л.Н., Коваленко Л.В.</i>	
Ассоциация варианта с.470Т>С гена <i>CHEK</i> с риском развития рака молочной железы	42
и рака яичников	
<i>Виноградов К.С., Лисица Т.С., Хахина А.О., Абрамов И.А., Шипулин Г.А.</i>	
ОпсобохPD: база данных 51672 молекулярных путей человека с веб-сервисом визуализации и расчета активации по экспрессионным данным	42
<i>Золотовская М.А., Ткачев В.С., Гурьянова А.А., Симонов А.М., Раевский М.М., Ефимов В.В., Секачева М.И., Гаража А.В., Борисов Н.М., Кузьмин Д.В., Сорокин М.И., Буздин А.А.</i>	
Экзомное секвенирование в комплексной диагностике генетически обусловленных форм мужского бесплодия.....	43
<i>Соловова О.А., Рыжкова О.П., Опарина Н.В., Черных В.Б.</i>	
Сервис по поиску распространенных фармацевтических препаратов по известным соматическим маркерам в солидных и гемопоэтических опухолях	44
<i>Кулемин Н.А., Федюшкина И.В., Горбачев А.Ю., Шегай П.В., Каприн А.Д.</i>	
Анализ путей, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом и условиями гипоксии, у пациенток с карциномой молочной железы.....	45
<i>Бровкина О.И., Юсубалиева Г.М., Ходырев Д.С., Никитин А.Г.</i>	
Реконструкция генной сети шизофрении для поиска генов-мишеней лекарственных воздействий	45
<i>Дохолян А.Ю., Глущенко М.В., Орлов Ю.Л.</i>	

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Опыт создания первой в России открытой базы данных генетических вариантов

Хмелькова Д.Н.^{1*}, Барбитов Ю.А.^{2,3}, Померанцева Е.А.¹, Слепченко А.В.³, Зубашенко Н.А.¹, Миронова И.В.¹, Каймонов В.С.¹, Предеус А.В.³

¹АО «ЦГРМ «Генетико», Москва

²ООО «Сербалаб», Санкт-Петербург

³Институт биоинформатики, Санкт-Петербург

E-mail: khmelkova@genetico.ru

Мотивация и цели: Несмотря на успехи в реализации масштабных международных проектов по созданию популяционных баз данных, данные по частоте вариантов в популяции РФ на крупных выборках до сих пор не были опубликованы.

Методы: В выборку вошло 6096 образцов, секвенированных в рамках полного/клинического экзоста (4819/1277 образцов) в лабораториях Генетико (4075 образцов) и Сербалаб (2021 образец). 5276 образцов было получено от пациентов с подозрением на моногенное заболевание, 820 образцов – от условно здоровых доноров.

Результаты: Анализ данных по образцам, секвенированным в двух лабораториях, был осуществлен с помощью единого биоинформатического пайплайна. Была осуществлена фильтрация образцов по глубине покрытия, параметрам качества и вероятной степени родства. В результате фильтрации в выборке осталось 5268 образцов. Фильтрация вариантов осуществлялась также по показателям покрытия и качества. Суммарно было выявлено 2 092 456 вариантов, из них 509 409 – новые, ранее не описанные варианты. Были выявлены патогенные и вероятно патогенные варианты в морбидных генах, частота которых статистически значимо превышала частоту в контрольной популяционной выборке gnomAD.

Заключение: База данных генетических вариантов и их популяционных частот в российской популяции была опубликована в открытом доступе по адресу ruseq.ru.

Оптимизация протокола секвенирования по методу Сенгеру для «сложных» регионов генома

Смирнова А.В.^{1*}, Ларина Д.А.¹, Жикрвецкая С.О.¹, Цибульская Д.С.¹, Щербакова Н.В.¹
Поволоцкая И.С.¹

¹Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева, Москва

E-mail: dudko.a@pedklin.ru

Мотивация и цели: Валидация генетических вариантов с помощью секвенирования по методу Сенгера является одним из наиболее важных шагов при уточнении патогенности варианта. Целью нашей работы стала разработка оптимального протокола секвенирования по методу Сенгера, для валидации тех вариантов, обнаруженные при анализе/переанализе данных NGS, которые располагаются в сложных регионах генома.

Методы: Среди множества генетических вариантов, представленных для валидации секвенированием по методу Сенгера в нашей лаборатории были отобраны варианты в генах *CDKN1C*, *FOXG2*, *KCNH2*, последовательности которых характеризуются высоким значением GC-состава (70% и выше), наличием больших участков повторов и полинуклеотидных трактов.

Результаты: При поиске праймеров отбирались пары с более высокой температурой отжига, в диапазоне 69-83 ° (In-Silico PCR). При этом игнорировались вторичные структуры олигонуклеотидов, предсказанные компьютерными алгоритмами (OligoAnalyzer Tools). Также проводился

поиск оптимальной модификации реакционной смеси амплификации путем добавления специальных компонентов (формамид, бетаин, DMSO и др), а также варьированием значений концентраций данных компонентов. Программа ПЦР для наработки интересующего участка включала 5 мин денатурации при 95°, этап отжига праймеров - 40 сек при индивидуальной расчетной температуре для каждой пары праймеров и этап элонгации, в течении 1 мин при 72°. Протокол терминирующей ПЦР включал этап иницирующей денатурации (1 мин при 95°), далее 36 циклов денатурации - 30 сек при 96°, отжиг праймеров - 30 сек при 50° и этап элонгации при 60°, 4 минуты. В результате далее были получены фореграммы с последовательностью интересующих регионов. **Заключение:** С трудностями валидации мутаций в сложных регионах сталкиваются множество лабораторий. Это может приводить к тому, что вывод о сегрегации данных вариантов с заболеванием сделать невозможно в полной мере, что в свою очередь приводит к потере потенциально каузативных вариантов. Однако, модификации протокола секвенирования по методу Сенгера позволяют продолжить исследования интересных, неописанных ранее вариантов в сложных регионах генома.

Применение полногеномного секвенирования для выявления редких наследственных заболеваний

Кузнецова Е.С.^{1*}, Зобкова Г.Ю.¹, Беленикин М.С.¹, Криницына А.А.¹, Грознова О.С.², Сагайдак О.В.¹, Баранова Е.Е.^{1,3}

¹Медико-генетическая лаборатория «Эвоген», г. Москва, Российская Федерация

²НИКИ педиатрии им. акад. Ю.Е.Вельтищева ГБОУ ВО РНИМУ им. НИ Пирогова

³Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Российская Федерация

E-mail: e.kuznetsova@evogenlab.ru

Мотивация и цели: Оценить вклад полногеномного секвенирования в выявление причин наследственных заболеваний пациентов, у которых ранее генетические тестирования не позволили выявить генетические варианты, связанные с заболеванием.

Методы: Пациентам и их родственникам проведено полногеномное секвенирование (на платформе BGI). Секвенирование по Сэнгеру и хромосомный микроматричный анализ использовали для валидации результатов.

Результаты: В исследовании приняли участие 458 пациентов с подозрением на наследственное заболевание (нервно-мышечные заболевания, кардиомиопатии, умственная отсталость, расстройства аутистического спектра, эпилепсии и др.) и 82 их кровных родственника для проведения сегрегационного анализа. Всем пациентам ранее проводились генетические исследования (включая панели на частые мутации и полноэкзомное секвенирование), которые не позволили установить диагноз.

У 371 (81%) из 458 пациентов найдено 644 генетических варианта, являющихся вероятной причиной заболевания: 142 патогенных и 83 вероятно патогенных варианта, 410 варианта с неизвестной клинической значимостью. Также обнаружены 3 клинически значимых варианта и 6 структурных вариантов, не связанных с основным диагнозом. У 87 (19%) пациентов генетические варианты, связанные с основным заболеванием, не найдены. Патогенные и вероятно патогенные варианты, не относящиеся к основному диагнозу, вынесены в заключение согласно рекомендациям ACMG.

Заключение: Полногеномное секвенирование позволило выявить генетические варианты, являющиеся вероятной причиной редких наследственных заболеваний, у 81% пациентов, которым ранее при помощи других генетических тестов не удалось установить диагноз.

Структура и разнообразие врожденных мышечных дистрофий в Российской Федерации

Чаусова П.А.^{1*}, Рыжкова О.П.¹, Чухрова А.Л.¹, Гундорова П.¹, Забненкова В.В.¹, Шатохина О.Л.¹, Череватова Т.Б.¹, Орлова А.А.¹, Щагина О.А.¹, Бескоровайный Н.С.¹, Поляков А.В.¹

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

E-mail: zay85@mail.ru

Мотивация и цели: Провести генетический анализ структуры ВМД на основании исследования выборки больных, проживающих на территории РФ. В России подобные исследования ранее не проводились, и полученные данные будут представлены впервые.

Методы: Методом MPS, с использованием целевых панелей и экзомного секвенирования, исследована выборка неродственных больных с направляющим диагнозом «Врожденная мышечная дистрофия/миопатия (286 пациентов с манифестацией заболевания в возрасте от 0 до 2 лет).

Результаты: Были обнаружены патогенные/вероятно патогенные варианты, являющиеся молекулярно-генетической причиной заболевания, в следующих генах, ответственных за развитие ВМД: *COL6A1* (14 случаев), *COL6A2* (6 случаев), *COL6A3* (7 случаев), *LAMA2* (10 случаев), *SEPN1* (в 3 случаях), *POMGNT1* (2 случая), *FKRP* (1 случай), *GMPPB* (1 случай), *LMNA* (1 случай). Данное распределение показывает, что на первом месте по распространённости в Российской Федерации находится группа коллагенопатий, связанная с дефицитом коллагена VI типа. На втором и третьем местах находятся мерозин - дефицитная мышечная дистрофия и α-дистрогликанопатии. Так же были найдены патогенные/вероятно патогенные варианты, являющиеся молекулярно-генетической причиной заболевания в генах, ответственных за развитие миопатий: *RYR1* (7 случаев), *FKBP14* (7 случаев), *DNM2* (5 случаев), *TPM2* (2 случая), *MTM1* (1 случай), *PLOD1* (1 случай), *STAC3* (1 случай), *KLHL40* (1 случай), *MYH2* (1 случай). Что указывает на затруднение диагностики ВМД из-за схожести клинических проявлений с другими врожденными нервно-мышечными заболеваниями.

Заключение: Преобладающей формой ВМД на территории РФ являются коллагенопатии, связанные с дефицитом коллагена VI типа. Что отличается от результатов, опубликованных в мировой литературе, характерных для других стран. Наиболее оптимальным методом исследования ВМД является поиск патогенных вариантов методами MPS.

Предикторы низкой эффективности полного секвенирования экзома у пациентов с подозрением на наследственные формы эпилепсии

Новоселова О.Г.^{1,2*}, Клестова В.С.³, Поволоцкая И.С.^{3,4}, Биканов Р.А.¹

¹АО «Ферст Генетикс», Москва

²Детская городская клиническая больница им. Н.Ф. Филатова, Москва

³ООО «Диджитал Дженомикс», Москва

⁴Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

E-mail: lgnovoselova@gmail.com

Мотивация и цели: Определить предикторы неэффективности полного секвенирования экзома при диагностике эпилепсии.

Методы: Анализ клинических данных и результатов ДНК-диагностики методом массового параллельного секвенирования 324 пациентов с подозрением на генетически детерминированную эпилепсию. Учитывался возраст на момент диагностики и дебюта приступов, наличие ремиссии, психоневрологических нарушений (задержка развития, умственная отсталость, когнитивный дефицит, аутизм), пороков развития и других поражений головного мозга, тип эпилепсии.

Результаты: Общая группа состояла из 51 взрослого (15,8%) и 272 (84,2%) детей, средний возраст $9,8 \pm 10,0$ ($0,1 \div 55,2$), соотношение по полу $M(1,0)$: $Ж(1,1)$. Генетическая причина заболевания не установлена в 119 (36,7%) случаях, выявлена в 68 (21,0%), из них: 9 (13,5%) - вариации числа копий генов, 59 (86,8%) – однонуклеотидные замены (28 ранее не описанные). В 71,2% - варианты с доминантным типом наследования в 28 генах (в 23,8% в гене *SCN1A*); 17,2% - рецессивным (*ADAM22*, *ARSA*, *DOCK7*, *DPYS*, *KCTD7*, *KIAA1109*, *MTHFR*, *PAH*, *PIGO*, *TPP1*), 9,4% - X-сцепленным (*CDKL5*, *FLNA*, *MECP2*, *PCDH19*). В 137 случаях (42,3%) - варианты с неизвестным значением, из них 16 (4,9%) - в генах с неполной пенетрантностью, унаследованные от родителей. В 121 случае (35,9%) обследование не завершено. Среди пациентов с установленной генетической причиной эпилепсии выше доля случаев с дебютом приступов до 3 лет (89,1%) и психоневрологическими нарушениями (57,4%), в сравнении с группой с отрицательным результатом ДНК-диагностики: 51,2% ($p < 0,001$, $OR = 7,795$; 95%CI $0,483 \div 3,023$) и 25,2% ($p < 0,001$, $OR = 3,990$; 95%CI $2,116 \div 7,522$) соответственно. Доля подростков и взрослых выше в группе с неустановленной причиной эпилепсии - 48,7%, чем среди пациентов с ДНК-верифицированным диагнозом - 8,8% ($p < 0,001$).

Заключение: Можно ожидать низкую эффективность полного секвенирования экзона при диагностике эпилепсии у подростков и взрослых с нормальными когнитивными способностями и возрастом дебюта эпилептических приступов после 3 лет.

Оптимизация процесса биоинформатической обработки полногеномных данных NGS секвенирования

Николаев С.Э.^{1*}, Хатьков И.Е.¹, Бодунова Н.А.¹, Сараджев В.В.¹

¹ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А. С. Логинова ДЗМ», Москва

E-mail: s.nikolaev@mknc.ru

Мотивация и цели: Оценить прирост производительности программного обеспечения, используемого для обработки данных NGS секвенирования за счет параллелизации вычислений и настройки Java Virtual Machine (JVM).

Методы: Для исследования были выбраны данные полногеномного секвенирования с медианным покрытием 30X. В сравнительный анализ были включены BWA-MEM, Picard MarkDuplicates и приложения пакета GATK: BQSR, HaplotypeCaller, GenotypeGVCFs. Результаты указаны в минутах и процентном снижении времени выполнения.

Результаты: По результатам сравнительного анализа, MarkDuplicates показал снижение времени обработки с 130.2 минут до 109.9 (15.6%) за счет оптимизации JVM. Время выполнения BQSR сократилось с 380.2 минут до 93.0 (75.5%). Самое значительное различие наблюдалось в случае с HaplotypeCaller: время обработки сократилось с 2372.4 минут до 405.0 (82.9%). В случае с GenotypeGVCFs, время анализа снизилось с 47.4 минут до 10.8 (77.2%).

Заключение: В данном исследовании было показано, что использование параллельных вычислений и оптимизация биоинформатических алгоритмов позволяют повысить эффективность обработки данных NGS секвенирования при неизменности технических характеристик используемого оборудования.

Биоинформатические подходы к контролю качества данных NGS

Зубашенко Н.А.^{1*}, Корбут А.П.¹, Капитонова О.С.¹, Широкова Н.А.¹, Миронова И.В.¹, Каймонов В.С.¹, Хмелькова Д.Н.¹

¹АО «ЦГРМ «ГЕНЕТИКО», Москва

E-mail: zubashenko@genetico.ru

Мотивация и цели: Одним из важных элементов внедрения метода NGS в рутинную клиническую практику служит проработка контроля качества исследования, в т.ч. на уровне биоинформатической обработки данных. Цель данного исследования - разработка пайплайна оценки качества данных NGS.

Методы: С целью разработки алгоритма контроля качества образцов были изучены и протестированы различные готовые биоинформатические решения, из которых были выбраны наиболее эффективные и удобные в использовании. Алгоритм был валидирован на выборке >5000 образцов, секвенированных в рамках полного экзема.

Результаты: В результате проделанной работы был разработан поэтапный пайплайн, включающий в себя оценку глубины и ширины покрытия, процента нецелевых (офф-таргет) прочтений, вероятности контаминации образца чужеродной ДНК, определение пола и степени гетерозиготности образца и другие метрики. После валидации на выборке образцов пайплайн был внедрен в рутинную практику в лаборатории.

Заключение: Разработка биоинформатического пайплайна контроля качества образцов, включающего в себя инструменты, базирующиеся на различных подходах, позволила значительно упростить как оценку качества образцов, так и выявление нестандартных кейсов, требующих особого внимания на стадии интерпретации.

Разработка панелей для таргетного секвенирования с учетом неравновесного сцепления

Романов Д.Е.^{1,2*}, Скобликов Н.Э.^{1,3}

¹ООО «СЛ МедикалГруп», Краснодар

²Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

³Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар

E-mail: rdme@ya.ru

Мотивация и цели: В исследованиях GWAS, как правило, рассматриваются полиморфизмы, демонстрирующие наибольшую степень ассоциации. Такие лидирующие полиморфизмы могут выступать прокси-вариантами, в то время как каузальные полиморфизмы оказываются сцеплены с ними.

Целью исследования было определение границ геномных локусов для создания панелей к COVID-19 с учетом неравновесного сцепления.

Методы: Исходные данные в виде vcf-файлов были извлечены из набора данных 1000 Genomes 30x on GRCh38 (Byrská-Bishop et al., 2021), содержащего 3202 образца из 26 популяций.

Карты неравновесного сцепления были построены с помощью LDBlockShow (Dong et al., 2021). Для каждого подобранного локуса были получены снимки геномного браузера UCSC с позициями генов и других геномных элементов с целью уточнения границ локуса.

Полученные изображения были объединены с помощью консольных утилит ImageMagick.

Результаты: Были изучены геномные окрестности 21 полиморфизма, демонстрировавшего ассоциацию с тяжестью течения COVID-19 или восприимчивостью к SARS-CoV-2 (COVID-19 HGI, 2021; Mousa et al., 2021).

Под окрестностью полиморфизма понимался участок ± 100000 н.п. от позиции полиморфизма. Границами локусов для создания панели выступали границы блоков неравновесного сцепления, содержавших соответствующий полиморфизм.

Общая длина отобранных для создания панели локусов составила 441000 н.п.

Блоки неравновесного сцепления для объединенной группы популяций, европейской группы (EUR) и центрально-европейской группы (CEU) показали высокую степень сходства друг с другом. Методика, примененная в исследовании, может быть использована для разработки новых панелей таргетного секвенирования с учетом неравновесного сцепления.

Заключение: Неравновесное сцепление может выступать в качестве дополнительного параметра оценки корректности секвенирования отобранных локусов.

Для уточнения границ локусов можно также использовать степень консерватизма последовательности.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда и ООО «СЛ МедикалГруп» в рамках научного проекта МФИ-П-20.1/10.

Определение фенотипа пациента на основе неполных генетических данных

Никогосов Д.А.^{1*}, Данилов К.А.¹

¹ООО «Атлас», Москва

E-mail: nikogosov.d@gmail.com

Мотивация и цели: Зачастую в результате обработки данных NGS удается получить информацию о генотипах не всех интересующих SNV. Неполнота генетических данных может снижать точность интерпретации или делать ее невозможной.

Мы поставили себе цель найти способ получения однозначной интерпретации по неполным генетическим данным пациента.

Методы: На примере фармакогенетики клопидогрела были изучены математические свойства цепочки этапов интерпретации, приводящих к рекомендации. Далее проводился анализ этих свойств с целью найти те, которые позволяют получить однозначную рекомендацию в условиях неполноты генетических данных пациента.

Результаты: Мы обнаружили, что если цепочка этапов интерпретации (от списка генотипов до рекомендации) — это последовательность сюръективных функций, то даже при отсутствии части генотипов пациента можно получить однозначный результат на одном из следующих этапов расчета — от предсказания активности цитохрома P450 2C19 до выбора рекомендации по стартовой дозировке клопидогрела. Этот подход был реализован программно и запатентован (https://new.fips.ru/registers-doc-view/fips_servlet?DB=RUPAT&DocNumber=2754884).

Заключение: Определенные математические свойства интерпретации генотипов пациента позволяют получить однозначное заключение даже в случае неполноты генетических данных.

Формирование базы данных генетических вариантов, встречающихся у условно-здоровых жителей Российской Федерации

Зобкова Г.Ю.^{1*}, Зеленова Е.А.¹, Беленикин М.С.¹, Баранова Е.Е.¹, Сагайдак О.В.¹, Альберт Е.А.²

¹ ООО «Эвоген», Москва

² Московский физико-технический институт, Москва

E-mail: zobkova.dna@gmail.com

Мотивация и цели: Базы данных генетических вариантов, основанные на полногеномных исследованиях жителей Российской Федерации, отсутствуют. Цель – определение частот генетических вариантов на основании собственной базы данных.

Методы: Полногеномное секвенирование образцов ДНК, выделенной из периферической крови 8.000 условно-здоровых жителей Российской Федерации. Материал – периферическая кровь. Обработка данных – пайплайн GATK. Обработка vcf файлов для подсчета частот – программа Plink.

Результаты: База данных охарактеризована на основе информации из опросных листов, содержащих вопросы о здоровье и месте жительства участников и их родственников. В результате проведенного исследования за период с 2019 – 2022 год определены частоты более 100 млн. генетических вариантов. При поиске различий частот с европейскими данными (gnomAD v3.1.2) особое внимание уделялось патогенным вариантам, вероятно патогенным и вариантам с неопределенной клинической значимостью для генов, ассоциированных с наиболее частыми наследственными заболеваниями. Отмечены различия в частотах некоторых патогенных и вероятно патогенных вариантов для генов *PAH* rs62642945 (0.00001470 и 0.0006037), *BRCA1* rs80357906 (0.00005879 и 0.0017247), *BLM* rs200389141 (0.0003676 и 0.0021559) – частоты в европейской популяции и базе данных Evogen, соответственно.

Заключение: Планируется регулярное обновление и доработка базы данных с учетом увеличения количества участников исследования. Установление частот генетических вариантов условно-здоровых жителей Российской Федерации позволит повысить эффективность диагностики широкого спектра наследственных заболеваний.

Секвенирование 242 клинически важных генов в российской популяции из Ивановской области

Раменский В.Е.^{1,2*}, Ершова А.И.¹, Зайченко М.³, Киселева А.В.¹, Жарикова А.А.^{1,2,4}, Вяткин Ю.В.^{1,5}, Сотникова Е.А.¹, Ефимова И.А.¹, Дивашук М.Г.⁶, Курилова О.В.¹, Скирко О.П.¹, Муромцева Г.А.¹, Белова О.А.⁷, Рачкова С.А.⁷, Покровская М.С.¹, Шальнова С.А.¹, Мешков А.Н.¹, Драпкина О.М.¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины Минздрава РФ, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет), Москва, Россия

⁴Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия

⁵Новосибирский государственный Университет, Новосибирск, Россия

⁶Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева, Москва, Россия

⁷Кардиологический диспансер, Иваново, Россия

E-mail: ramensky@gmail.com

Мотивация и цели: На сегодняшний день опубликовано очень немного исследований, описывающих редкие или болезнетворные варианты в российской популяции.

Методы: Было проведено таргетное секвенирование с большой глубиной покрытия 242 генов в выборке 1685 жителей Ивановской области, подготовленной в рамках многоцентрового наблюдательного исследования «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации» (ЭССЕ-РФ). Выбранные гены ответственны за развитие наследственных атерогенных дислипидемий, ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, ишемического инсульта, кардиомиопатий и каналопатий.

Результаты: Примерно 11% из 11,876 обнаруженных вариантов не описаны ранее, большинство таких аллелей наблюдаются в одной или двух копиях. Мы обнаружили два доминантных и восемь рецессивных известных болезнетворных вариантов, перепредставленных в российской популяции по сравнению с европейской. Для 28 генов из списка ACMG59 была получена оценка частоты встречаемости известных и предполагаемых болезнетворных вариантов, которая

составила примерно 1.4%. Для этих вариантов на основе имеющихся клинических и биохимических данных было произведена проверка наличия клинических проявлений фенотипов. Нами также были описаны три новых укорачивающих белок варианта в гене APOB и один в MYH7, наблюдаемых у лиц с гипобетапопротеинемией и гипертрофической кардиомиопатией.

Заключение: Полученные результаты являются ценным ресурсом для клинической интерпретации в российской популяции.

Анализ клиничко-генетических особенностей пациентов с синдромом удлинненного интервала QT в Сибирском регионе

Постригань А.Е.^{1*}, Свинцова Л.И.², Жалсанова И.Ж.¹, Сивцев А.А.¹, Зарубин А.А.¹, Скрыбин Н.А.¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск

²Научно-исследовательский институт кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск
E-mail: postriган.anna@medgenetics.ru

Мотивация и цели: Синдром удлинненного интервала QT – наследственное заболевание, причина которого – мутации в генах, кодирующих субъединицы ионных каналов. Генетический анализ СУИQT важен, так как дальнейшая тактика лечения зависит от типа мутации и гена, в котором она локализована. Целью работы являлся поиск патогенных генетических вариантов в генах *KCNQ1*, *KCNH2* и *SCN5A* у пациентов с СУИQT.

Методы: Генетический анализ проводился 48 пациентам с диагнозом СУИQT и членам их семей с помощью NGS. Проанализировано три гена, связанных с наиболее частыми типами СУИQT – *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*. Обогащение кодирующих регионов проводилось с использованием набора SureSelectXT. Обработка данных секвенирования проведена с использованием GATK. Оценка клинической значимости выявленных вариантов проводилась на основании российских рекомендаций для интерпретации данных, полученных методами NGS.

Результаты: Патогенетически значимые генетические варианты были обнаружены у 21 человека. Всего было выявлено 16 вариантов: 9 из них расположены в гене *KCNQ1*, 4 – в гене *KCNH2*, 3 – в гене *SCN5A*. 77% обнаруженных вариантов – миссенс, 15% – приводящие к сдвигу рамки считывания, 8% – в сайтах сплайсинга. Основным клиническим проявлением синдрома у носителей патогенных вариантов было удлинение интервала QT на ЭКГ, в то же время, у носителей двух и более вариантов отмечены также синкопальные состояния, приступы судорог и аритмии. Было также проведено сравнение продолжительности интервала QT у двух групп пациентов. В первую группу (15 человек) вошли пациенты, у которых в результате молекулярно-генетического анализа были обнаружены мутации. Во вторую группу (11 человек) вошли пациенты с диагнозом СУИQT (или подозрением на него), у которых мутаций выявлено не было. Было показано, что продолжительность интервала QT в группе с выявленной мутацией статистически значимо больше, чем у пациентов, у которых мутация не обнаружена ($p < 0,05$).

Заключение: Показана эффективность использования массового параллельного секвенирования генов *KCNQ1*, *KCNH2* и *SCN5A* для молекулярно-генетической диагностики СУИQT.

Европейские шкалы полигенного риска артериальной гипертензии: воспроизводимость у жителей Центральной России

Лимонова А.С.^{1*}, Ершова А.И.¹, Мешков А.Н.¹, Киселева А.В.¹, Сотников Е.А.¹, Покровская М.С.¹, Куценко В.А.¹, Жарикова А.А.¹, Раменский В.Е.¹, Драпкина О.М.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

E-mail: limonova-alena@yandex.ru

Мотивация и цели: Цель исследования – изучить воспроизводимость шкал генетического риска (ШГР) артериальной гипертензии (АГ), разработанных на европейских выборках, на представителях российской популяции.

Методы: Молекулярно-генетический анализ проведён с помощью Nextseq 550 (Illumina, США) с применением панели включающей 975 ВНП, ассоциированных с АГ. Результаты секвенирования анализировали с помощью GATK 3.8 Статистический анализ проводили в среде R 3.6.1 с помощью методов регрессионного анализа.

Результаты: По результатам анализа литературы отобраны пять ШГР АГ: Ehret et al, 2011 (29 вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП); Ehret et al, 2016 (66 ВНП); Evangelou et al, 2018 (901 ВНП); Warren et al, 2017 (146 ВНП); Pazoki et al, 2018 (314 ВНП). Воспроизводимость ШГР оценена с помощью представительной выборки эпидемиологического исследования ЭССЕ-Иваново (1682 чел. 49 [39;56] лет). ШГР АГ, включенные в анализ, с поправкой на пол, возраст и гипотензивную терапию, продемонстрировали низкую предсказательную способность в отношении развития АГ. Из пяти шкал максимальный результат получен для ШГР Warren et al, которая объясняет не более 0,85% вариабельности значений систолического артериального давления.

Заключение: ШГР АГ, разработанные на европейских выборках, не рекомендуется использовать без предварительной валидации, ввиду их низкой предсказательной способности для АГ у представителей российской популяции.

Оценка уровня метилирования подсемейств ретротранспозона LINE-1: L1HS и L1PA2 в плаценте первого триместра беременности

Деменева В.В.^{1*}, Толмачева Е.Н.¹, Васильева О.Ю.¹, Жигалина Д.И.¹, Саженова Е.А.¹, Никитина Т.В.¹, Ермолина Е.А.¹, Фонова Е.А.¹, Лебедев И.Н.¹, Васильев С.А.¹

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

E-mail: vikki.frizzy@gmail.com

Мотивация и цели: Анализ профиля метилирования в отдельных сайтах и подсемействах ретротранспозона LINE-1 в ворсинах хориона спонтанных абортусов (СА) на фоне повышения среднего индекса метилирования LINE-1.

Методы: Индекс метилирования 19 CpG-сайтов в LINE-1 оценивали в ворсинах хориона медицинских абортусов (МА) (n=30) и СА с трисомией (n=75), моносомией X (n=36), нормальным кариотипом (n=128) с помощью таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования с анализом отдельных локусов LINE-1.

Результаты: Индекс метилирования LINE-1, проанализированный в среднем по геному, был выше в ворсинах хориона СА как у образцов с трисомией ($44,2 \pm 4,7\%$), так и с моносомией X ($42,1 \pm 5,1\%$) по сравнению с МА ($39,9 \pm 2,4\%$) ($p < 0,05$). Для подсемейств L1HS (характерное только для человека) и L1PA2 (распространенное у гоминид) индекс метилирования LINE-1 был проанализирован в 32 хромосомоспецифичных локусах, выделенных биоинформатически по специфическим однонуклеотидным полиморфизмам. Между семействами L1HS и L1PA2 данный показатель не отличался в группе МА (L1HS= $25,3 \pm 10,9$ и L1PA2= $21,3 \pm 12,8$), но во всех трех группах СА индекс метилирования элементов из подсемейства L1HS был значимо выше по сравнению с подсемейством L1PA2: нормальный кариотип ($28,3 \pm 8,5$ и $22,2 \pm 10,7$), трисомии аутосом ($28,4 \pm 9,2$ и $23,1 \pm 11,9$), моносомии X ($26,9 \pm 10,6$ и $21,3 \pm 10,5$) ($p < 0,05$).

Заключение: Выявленное ранее повышение индекса метилирования LINE-1 в группах CA связано в первую очередь с эволюционно более молодыми элементами LINE-1 из подсемейства L1HS. Это может приводить к нарушению работы генов, расположенных вблизи локусов LINE-1, аномалиям развития и гибели эмбриона.

Работа поддержана грантом РФФ № 19-74-10026.

Пакет RMetSeq для обработки таргетного чувствительное к метилированию рестрикционного секвенирования

Зарубин А.А.^{1*}, Сивцев А.А.¹, Жалсанова И.Ж.¹, Скрыбин Н.А.¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск

E-mail: aleksei.zarubin@medgenetics.ru

Мотивация и цели: MRE - seq-один из методов определения метилирования ДНК, имеет ряд недостатков, что мешает его широкому распространению. Мы предлагаем новый подход к планированию экспериментов и анализу данных MRE-seq, позволяющий интегрировать этот анализ со стандартным NGS-секвенированием кастомных или экзомных панелей с зондовым обогащением, без значительного роста затрат на секвенирование.

Методы: ДНК, обрабатывали ультразвуком в режимах 300 и 500 п.н. После этого половину каждого образца обрабатывали HpaII. Все образцы были обогащены с помощью зондов SureSelect Custom DNA Target Enrichment Probes (включающие экзомы 37 генов общей длиной 168497 нуклеотидов) и секвенированы с использованием секвенатора MiSeq. Генотипирование проводили с использованием GATK4. Уровень метилирования оценивали с помощью пакета RMetSeq, опубликованного на github.com/alekseizarubin/RMetSeq.

Результаты: В результате доля целевой области с охватом более 50x составил 95,9% и 95,7% для необработанных и обработанных рестриказой образцов (при среднем покрытии 289 и 314 п.н.). Объединение этих образцов и моделирование с покрытием в 300 п.н. показало долю области с охватом более 50x, 96,4%. В исследуемом регионе идентифицированы 573 сайта рестрикции с более чем 50-кратным покрытием. В которых был определён уровень метилирования, который изменялся от 0 до 100% с медианным значением 0.95%, что соответствует ожидаемому значению, поскольку большая часть зондов захватывает регионы экзотов.

Заключение: Таргетная MRE-seq и пакет RMetSeq позволяют одновременно определять уровень метилирования ДНК без ущерба для качества генотипирования при стандартном секвенировании с зондовым обогащением.

Полногеномное секвенирование в диагностике наследственного рака молочной железы у российских пациентов

Макарова М.В.¹, Немцова М.В.¹, Баранова Е.Е.^{1,2}, Сагайдак О.В.¹, Беленикин М.С.¹, Криницына А.А.¹, Бяхова М.М.³, Семенова А.Б.³, Галкин В.Н.³, Бодунова Н.А.⁴, Воронцова М.В.⁵, Данишевич А.М.⁴, Хатьков И.Е.⁴, Каннер Д.Ю.⁶, Савелов Н.А.⁶, Шабунин А.В.⁷, Греков Д.Н.⁷, Лебедев С.С.⁷, Проценко Д.Н.⁸, Межуева А.О.⁸, Мищенко А.В.⁹, Привезенцев А.С.⁹

¹ООО «Эвоген», Москва

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

³ГБУЗ «Городская клиническая онкологическая больница № 1 ДЗМ», Москва

⁴ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А. С. Логинова ДЗМ»

⁵ФГБУ «НИИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

⁶ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница № 62 ДЗМ»

⁷ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С. П. Боткина ДЗМ»

⁸ГБУЗ «Городская клиническая больница № 40 ДЗМ», Москва

⁹ГБУЗ «Городская клиническая больница им. Д. Д. Плетнева ДЗМ», Москва

E-mail: makarova@evogenlab.ru

Мотивация и цели: Патогенные герминальные варианты генов *BRCA1* и *BRCA2* обуславливают развитие только 15% всех наследственных случаев рака молочной железы (РМЖ). Выявление всех клинически значимых генетических вариантов (не только генов *BRCA1/2*), ассоциированных с наследственным РМЖ, включая редкие и ранее не описанные, позволяет повысить выявляемость наследственных случаев РМЖ.

Методы: С 01.02.2021 по 01.09.2021 обследовано 280 пациентов с подозрением на наследственный РМЖ методом полногеномного секвенирования (MGI, Китай). Выявленные генетические варианты валидированы методом секвенирования по Сэнгеру по стандартному протоколу с использованием специфических праймеров. Оценка патогенности вариантов проводилась согласно критериям ACMG.

Результаты: У 104 из 280 (37%) пациентов выявлено носительство 129 потенциально клинически значимых генетических вариантов, ассоциированных с канцерогенезом, из них 73 — патогенных, 27 — вероятно патогенных и 29 — с неопределенной клинической значимостью. Наибольшее количество вариантов выявлено в генах *BRCA2*, *BRCA1*, *CHEK2*, *ATM*, *BLM*. 11 из 129 генетических вариантов ранее не описаны, из них 4 — патогенные: ROS1 chr6:117357996G>T, MSH6 chr2:47799947T>A, AKAP9 chr7:92097163C>T, PTCH1 chr9:95480536C>A, 7 — вероятно патогенные: BRCA2 chr13:32355112del, BRCA2 chr13:32371074-32371075del, EZH2 chr7:148832695del, FANCM chr14:45189241-45189242del, POLG chr15:89333247del, EGFR chr7:55174768T>C, BIVM-ERCC5 chr13:g.102862924-102862926delTCCinsAAGCATCTA (hg38).

Заключение: Применение полногеномного секвенирования у пациентов с предполагаемым наследственным РМЖ позволяет расширить возможности выявления и изучения потенциально клинически значимых генетических вариантов в российской выборке пациентов. Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства Москвы.

Генетическая гетерогенность острых лейкозов с перестройкой t(10;11)(p12;q21)/PICALM::MLLT10 у детей

Зеркаленкова Е.А.^{1*}, Борковская А.Н.¹, Волчков Е.В.¹, Казакова А.Н.¹, Солдаткина О.И.¹, Матвеев Е.В.^{1,2}, Казанов М.Д.^{1,2,3}, Ольшанская Ю.В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича Российской академии наук, Москва

³Сколковский институт науки и технологий, Москва

E-mail: eazerkalenkova@gmail.com

Мотивация и цели: Транслокация t(10;11)(p12;q14)/PICALM::MLLT10 является редкой рекуррентной перестройкой при острых лейкозах (ОЛ) с широким спектром линейной принадлежности. Целью данной работы явился анализ молекулярного профиля *PICALM::MLLT10*-ассоциированных ОЛ у детей.

Методы: В исследование вошли 36 пациентов (3-16 лет, медиана 10) с диагнозами Т-ОЛЛ (n=16, м:ж=3:1), ОМЛ (n=16, м:ж=1,29:1) и другими ОЛ (n=4, соотношение м:ж=3:1). Всем пациентам было проведено карiotипирование и FISH. Молекулярное профилирование включало анализ полного транскриптома (NEBNext Ultra II Directional RNA, NEB, США; n=30), полного экзема (Agilent SureSelect Human All Exon V7, Agilent, США; n=23) и клонального репертуара перестроек TCR и IGH (n=24; Komkov et al., 2020).

Результаты: В составе химерного гена *PICALM::MLLT10* точки разрыва *PICALM* лежали в интронах с 17 по 19, в *MLLT10* – в интронах с 3 по 9. Структура *PICALM::MLLT10* была более гетерогенной у ОМЛ, чем у Т-ОЛЛ (6 вариантов транскрипта против 3). При анализе сопутствующих мутаций (n=30) выявили от 1 до 8 патогенных экзонных соматических вариантов на образец, медиана 3. Наиболее часто были затронуты гены RAS-пути (*NRAS*, n=12; *KRAS*, n=1; *HRAS*, n=1), а также JAK-киназы (n=2), *PTPN11* (n=2) и *MTOR*, *PTEN*, *CDKN2A*, *TP53*, *BRCA1* (n=1 каждого). При этом ассоциации спектра дополнительных мутаций с линейной принадлежностью ОЛ не наблюдалось. Клональные перестройки TCR и/или IGH были обнаружены у всех исследованных Т-ОЛЛ (n=12 из 12) и у большинства ОМЛ (n=8 из 12). Практически все образцы с мажорными клонами имели перестройки D-цепи, что говорит об их раннем происхождении.

Заключение: *PICALM::MLLT10*-ассоциированные ОЛ характеризуются высокой гетерогенностью химерного гена, малой мутационной нагрузкой с преимущественным вовлечением RAS-пути, а также наличием клональных перестроек TCR и IGH как в Т-ОЛЛ, так и в ОМЛ. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00367.

Спектр герминальных мутаций в онкоассоциированных генах у пациентов детского и юношеского возраста с опухолями мозга

Семенова В.В.^{1,2,3*}, Козлова В.М.¹, Харчиков Д.В.², Мирошникова А.С.², Лисица Т.С.², Жуковская Е.В.², Наседкина Т.В.^{2,3}

¹НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

²Лечебно-реабилитационный научный центр «Русское Поле» ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

³Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)

E-mail: sulpiridum@yandex.ru

Мотивация и цели: Исследовать спектр герминальных мутаций в онкоассоциированных генах у пациентов детского и юношеского возраста с различными типами опухолей мозга (ОМ).

Методы: Анализ ДНК из лимфоцитов периферической крови проводили на секвенаторах NextSeq500 и NextSeq2000 Illumina с использованием панели зондов Кара HyperChoice (Roche), включающей кодирующие участки 415 онкоассоциированных генов. Для анализа крупных перестроек в гене *NF1* использовали метод MLPA.

Результаты: В исследование вошло 86 пациентов (40 мальчиков и 46 девочек, возраст от 3 до 22 лет). Были выявлены следующие типы ОМ: астроцитомы (n=39), медуллобластомы (n=12), эпиндимома (n=8), глиома низкой злокачественности (n=6), краниофарингиома (n=2), атипичная тераторабдоидная опухоль (n=2), пинеобластома (n=2), плеоморфная клантроастроцитомы (n=2), другие редкие опухоли (n=13). У 10 пациентов были обнаружены клинически значимые мутации в гене *NF1*: 5 делеций, приводящих к сдвигу рамки считывания, 3 миссенс-мутации и 2 мутации, приводящие к образованию стоп-кодона. У носителей мутаций *NF1* диагностированы различные типы опухолей: глиома зрительных путей (n=4), пилоцитарная астроцитомы (n=5), опухоль ствола мозга (n=1). Другие находки включали патогенные и вероятно патогенные ва-

рианты в генах *CHEK2*, *APC*, *MUTYH*, *MLH1*, *SMARCB1*, *SMARCA4*, *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *NF2*, *ATM*, *EML4*, биаллельные мутации в гене *PMS2* у пациента с синдромом Тюрко. Все выявленные варианты были валидированы путем прямого секвенирования по Сэнгеру.

Заключение: Герминальные варианты в онкоассоциированных генах были обнаружены у 26% пациентов. Мутации *NF1* встречались наиболее часто и были ассоциированы с различными типами опухолей. Своевременное выявление *NF1*-ассоциированных ОМ является крайне важной задачей ввиду возможности назначения таргетной терапии.

Синдром Фримана-Шелдона вследствие несбалансированной транслокации 46,XX,t(9;20)(q33.3q34.3;p13)

Кожанова Т.В.^{1,2*}, Жилина С.С.^{1,2}, Мещерякова Т.И.¹, Прокопьева Н.П.¹, Притыко А.Г.^{1,2}

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

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

E-mail: TatyanaVK84@gmail.com

Мотивация и цели: Представляется клинический случай наблюдения пациента с врожденными контрактурами нижних и верхних конечностей, лица, синдромом двигательных нарушений и задержкой психомоторного развития.

Методы: Клиническое обследование, полноэкзомное секвенирование (ПЭС), молекулярно-цитогенетическое исследование (хромосомный микроматричный анализ - ХМА экзонного уровня).

Результаты: Пробанд, девочка, 2007 г.р. от 1 беременности, 1 срочных родов. Вес 2500 г, рост 49 см, Апгар 7/8 б. При рождении выявлены множественные стигмы дизэмбриогенеза, деформация стоп, разгибательная контрактура левого голеностопного сустава. Раннее моторное развитие с задержкой. Фенотипические особенности (возраст 14 лет): осмысленный контакт затруднен. Речи нет. Навыки самообслуживания частично привиты. Узкое лицо. Большие оттопыренные диспластичные ушные раковины. Высокий лоб. Гипотелоризм. Узкий нос с заостренным кончиком носа. Микростомия. Гипоплазия подбородка. Аномальный прикус. Мышечная масса развита слабо. Нарушение осанки. Ограничение подвижности во всех крупных и мелких суставах. Ульнарная девиация кистей. Камптодактилия. Пальцы тонкие, конусовидные. Стопы маленькие. Ограничение подвижности в голеностопном суставе. Укорочение и аномальный рост 4 пальца стопы. При ПЭС мутаций в генах, ассоциированных с синдромом Фримана-Шелдона не обнаружено. При ХМА установлен кариотип: 46,XX.arr[hg38]9q33.3q34.3(127016168_138124666)x3,20p13(259113_1003183)x1. При анализе происхождения выявленного хромосомного дисбаланса установлено, что родители не являются носителями выявленных перестроек.

Заключение: Представлен клинический случай синдрома Фримана-Шелдона у девочки с наличием несбалансированной транслокации. Клиническое наблюдение демонстрирует возможность использования молекулярно-цитогенетических технологий в поиске генетических причин заболевания в случае отсутствие выявления мутаций при ПЭС.

Варианты генетических нарушений у пациентов с синдромом Пейтца-Егерса

Янова Т.И.^{1*}, Бодунова Н.А.¹, Данишевич А.М.¹, Полякова В.В.¹, Логинова А.Н.², Цуканова А.С.²

¹ГБУЗ Московский Клинический Научный Центр имени А. С. Логинова ДЗМ, Москва

²ФГБУ «НМИЦ Колопроктологии Имени А.Н. Рыжих» Минздрава России, Москва

E-mail: t.yanova@mknsc.ru

Мотивация и цели: Несмотря на хорошо изученные клинические особенности синдрома Пейтца–Егерса (СПЕ), ассоциированного с мутациями в гене *STK11*, оценка генотип–фенотип корреляции на сегодняшний день затруднительна.

Методы: Представлены клинические и генетические данные 3 пациентов в возрасте от 21 до 39 лет с клиническими признаками СПЕ, которые обратились за медицинской помощью в ГБУЗ МКНЦ им. А.С.Логонова ДЗМ в 2021 году. Диагноз был подтвержден с помощью ДНК-диагностики гена *STK11* методами NGS и MLPA.

Результаты: Выявлены ранее не описанные в международных базах данных генетические варианты. У одного пациента диагностирован вариант с.921-1G>A сайта сплайсинга 7 интрона, у двух обследованных – протяженные делеции ex1 и ex2-8 в гене *STK11* (NM_000455.5). Данные генетические варианты являются нонсенс-мутациями, что согласно данным литературы, коррелирует с более высоким риском развития рака в сравнении с миссенс-вариантами. У пациента с делецией ex 2-8 отмечалось более тяжелое течение заболевания: дебют заболевания с 11 месяцев, в результате 17 операций удалено более 70 полипов, отягощен семейный анамнез. Всем пациентам рекомендовано периодическое обследование, а также определение выявленных вариантов у родственников 1-2 степени родства.

Заключение: Представленные нами данные позволяют дополнить клинико-генетическую информацию о СПЕ. Оценка корреляции между тяжестью течения СПЕ и молекулярным вариантом в гене *STK11* возможна при проведении большего количества исследований и разработке единого регистра носителей мутаций.

Дорогу осилит идущий: опыт диагностики атипичного синдрома Ретта

Иванова А.С.^{1*}, Сивицкая Л.Н.², Куликова С.Л.³, Даниленко Н.Г.¹, Давыденко О.Г.¹

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск

²Genomed Health Care Centre, Warsaw

³РНПЦ Неврологии и нейрохирургии, Минск

E-mail: a.s.ivanova97@gmail.com

Мотивация и цели: Синдром Ретта – генетическое заболевание, встречающееся преимущественно у девочек и характеризующееся умственной отсталостью, стереотипными движениями рук, утратой разговорной речи и др. Целью работы было исследование пациентки с фармакорезистентной эпилепсией и ретроподобным симптомокомплексом для установления генетических причин заболевания.

Методы: Поиск потенциально патогенных вариантов осуществлялся с помощью секвенирования полного и клинического экзона, MLPA, хромосомного микроматричного анализа, ПЦР.

Результаты: Исследована девочка К. 4-х лет с дебютом эпилепсии в виде генерализованного тонического напряжения в 4 месяца, выраженным нарушением психоречевого и моторного развития и стереотипиями рук. Т.к. в 30% случаев синдрома Ретта пациенты могут соответствовать клинической картине, но демонстрировать не все критерии классического расстройства, у девочки заподозрили атипичную форму синдрома Ретта. Секвенирование клинического и полного экзона не выявило патогенных или вероятно патогенных вариантов нуклеотидной последовательности. После проведения MLPA-анализа у пациентки обнаружена делеция в области экзона 5 гена *CDKL5*, которая, однако, не подтвердилась хромосомным микроматричным анализом (ХМА) экзонного уровня. Для устранения противоречий была проведена количественная ПЦР в реальном времени, в результате делеция экзона была верифицирована, а диагноз впоследствии подтвержден.

Заключение: В данном случае благодаря использованию различных молекулярно-генетических методов у пациентки была обнаружена и верифицирована делеция, размер которой попадает в «серую зону» NGS и ХМА. При диагностике ретроподобных синдромов следует учитывать генетическую гетерогенность заболевания и в случае неинформативных результатов рассматривать возможность применения альтернативных методов для установления молекулярной причины синдрома.

Новая метавселенная патогенных вариантов

Филатова А.Ю.^{1*}, Ревенгук И.В.², Пяткова М.А.^{3,4}, Бессонова Д.И.⁴, Кузякова О.Ю.⁴, Демакова В.В.⁴, Романишин А.О.^{4,5}, Фишман В.С.^{6,7}, Иманмалик Е.Н.⁶, Чеканов Н.Н.⁶, Скитченко Р.К.⁸, Барбитов Ю.А.^{9,10,11}, Кардымон О.Л.⁶, Скоблов М.Ю.¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва ²Лаборатория структурной биологии клетки, Политехническая школа, Париж, Франция

³Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

⁴Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

⁵Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

⁶Институт Искусственного Интеллекта (AIRI), Москва, Россия

⁷ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

⁸Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

⁹Институт биоинформатики, Санкт-Петербург, Россия

¹⁰ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

¹¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: maacc@yandex.ru

Мотивация и цели: Несколько ранее проведенных исследований показали, что варианты в 5'UTR могут приводить к развитию наследственных заболеваний посредством разрушения малых открытых рамок считывания.

Методы: Используя различные типы общедоступных данных (Ribo-seq, mRNA-seq, CAGE data, ранее предсказанные uORFs) мы провели ручную аннотацию сайтов инициации трансляции, находящихся в 5'-нетранслируемых областях ~3'600 генов, упоминаемых в базе данных OMIM. Экспериментальную валидацию проводили с использованием люциферазной системы.

Результаты: В ходе работы мы выявили ~4,4 тыс. малых открытых рамок считывания (uORF) в 5'-нетранслируемых областях (5'UTR) 1730 генов, ассоциированных с развитием заболеваний. Мы провели сравнение нашей аннотации с предыдущими данными и получили список «высоко достоверных uORFs». Используя собственный биоинформатический тул, мы исследовали варианты, локализующиеся в аннотированных рамках, из баз данных HGMD и ClinVar. Данный анализ выявил ранее описанные патогенные варианты, механизм действия которых может быть связан с разрушением uORFs. Для некоторых предсказанных рамок была проведена экспериментальная валидация. Кроме того, мы показали, что распределение групп вариантов, по-разному влияющих на uORF, различается между патогенными вариантами и популяционными вариантами из базы данных gnomAD. Наконец, основываясь на ручную выверенных данных, мы разработали алгоритм машинного обучения, который позволил предсказывать старты инициации трансляции в остальных генах человека.

Заключение: Данная работа подчеркивает важность исследования 5'-нетранслируемой области в ходе проведения ДНК-диагностики пациентов с наследственными заболеваниями, а также предоставляет полезный инструмент для интерпретации таких вариантов.

Система экспрессии минигенов для оценки патогенности экзонных вариантов, влияющих на сплайсинг в гене *DMD*

Давыденко К.А.^{1,*}, Филатова А.Ю.¹, Скоблов М.Ю.¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва

E-mail: xeerox2008@gmail.com

Мотивация и цели: Целью данной работы является создание системы экспрессии минигенов, для оценки патогенности вариантов, влияющих на сплайсинг пре-мРНК в гене *DMD*.

Методы: Биоинформатический анализ был выполнен с использованием инструментов SpliceAI и MaxEntScan. Функциональный анализ с использованием минигенных векторных конструкций был выполнен путем трансфекции плазмид, содержащих исследуемые варианты, в клетки HEK293T с последующим выделением РНК и ОТ-ПЦР.

Результаты: Среди вариантов в гене *DMD*, зарегистрированных в базе HGMD, порядка 8% приходится на варианты, нарушающие сплайсинг. Однако, по современным оценкам, для различных заболеваний число таких вариантов может достигать 30% от всех патогенных вариантов. Такие варианты могут находиться не только в самих сайтах сплайсинга, но и глубоко в интронах, а также в экзонах и, следовательно, быть неправильно проаннотированы.

Для поиска всех возможных вариантов в гене *DMD*, влияющих на сплайсинг, был выполнен глубокий *in silico* мутагенез полной последовательности данного гена. Было предсказано порядка 8000 экзонных и интронных вариантов сплайсинга. Сравнение предсказанных вариантов с вариантами, проаннотированными в HGMD, выявило 90 экзонных и более 300 интронных вариантов, потенциально влияющих на сплайсинг. Мы разработали и протестировали систему из 20 минигенов, экспрессирующих экзоны гена *DMD* и с ее помощью провели функциональный анализ более 30 экзонных вариантов (синонимичных, миссенс и нонсенс), зарегистрированных в HGMD.

Заключение: Было показано, что некоторая часть патогенных экзонных вариантов в гене *DMD* в действительности является вариантами, влияющими на сплайсинг. Применение функционального анализа позволяет правильно проинтерпретировать вариант и установить молекулярный механизм его патогенности.

Механизмы реализации нонсенс-вариантов гена *DMD*: так ли все очевидно?

Орлова М.Д.¹, Бескорвайный Н.С.¹, Рыжкова О.П.¹

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

E-mail: m.d.orlova@yandex.ru

Мотивация и цели: Целью исследования было изучить механизм влияния стоп-кодона на последовательность мРНК.

Методы: Биоинформатическими методами было проанализировано 656 вариантов, приводящих к формированию преждевременного терминирующего кодона из базы данных HGMD Professional версии 2021.4. Были использованы программы предсказания сайтов сплайсинга Splice AI, SPiP и NetGene2.

Результаты: Показано, что из 554 нонсенс-вариантов при мышечной дистрофии Дюшенна 54 нонсенс-варианта предсказывались как влияющие на сплайсинг (9,7%). Из них в 90% случаев предсказывается сдвиг рамки считывания.

Для вариантов, ассоциированных с мышечной дистрофией Беккера, влияющими на сплайсинг было предсказано 7 вариантов из 47 нонсенс-вариантов (14,8%). Для 100% сплайс-вариан-

тов программы предсказывают делеции без сдвига рамки считывания: делеции части экзона или пропуск экзона полностью.

Заключение: Результаты исследования соотносятся с представлением о различиях фенотипов мышечной дистрофии Дюшенна/Беккера и позволяют оценить механизм влияния нонсенс-вариантов на сплайсинг гена *DMD*. Отсутствие предсказаний о влиянии нонсенс-вариантов на сплайсинг требует дальнейшего изучения влияния данных типов вариантов на молекулярный механизм патогенеза мышечной дистрофии Дюшенна/Беккера.

Уточнения/комментарии: Введение: Наиболее частой причиной мышечной дистрофии Дюшенна/Беккера являются протяженные делеции и дупликации, именно этот тип вариантов попадал в поле зрения исследователей и диагностов долгое время. Известно, что мутации со сдвигом рамки считывания приводят к фенотипу мышечной дистрофии Дюшенна, в то время как мутации без сдвига являются более мягкими и приводят к фенотипу мышечной дистрофии Беккера. С возникновением технологии массового параллельного секвенирования стало возможным проводить поиск точковых вариантов последовательности гена *DMD*, которые также могут приводить к развитию заболевания. Однако, механизмы проявления данных типов мутаций не изучены. Одним из механизмов формирования фенотипа является нарушение сплайсинга в гене *DMD*. В настоящее время известно, что оказывать влияние на сплайсинг могут не только мутации в канонических областях, но также миссенс и нонсенс-мутации и варианты, находящиеся глубоко в интроне.

Неразрешенный случай с хорошим геном-кандидатом. Новый наследственный синдром?

Мерсиянова И.В.^{1*}, Кондрашова З.А.², Курникова М.А.¹, Донюш Е.К.², Райкина Е.В.¹

¹НМИЦ Детской Гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва

²Российская детская клиническая больница, Москва

E-mail: imers@mail.ru

Мотивация и цели: Цель работы: Поиск генетической причины нового (?) врожденного синдрома.

Методы: Секвенирование кастомной гибридной панели 813 генов гематологического и иммунологического профиля (NimbleGen SeqCap EZ Choice Probes, Roche), секвенирование экзона («xGen® Exome Research Panel, IDT»), NextSeq 550, Illumina.

Результаты: Пробанд – девочка 16 лет, с задержкой физического и психо-речевого развития (в 16 лет рост 146 см, вес 30 кг), с врожденными пороками развития: лицевые дизморфизмы, килевидная деформация грудной клетки, дисплазия пальцев кистей и стоп, олигодонтия без зачатков коренных зубов, дисплазия почек; на УЗИ, КТ не визуализируются яичники и матка; ВПС (открытое овальное окно, пролапс митрального клапана), первичный гипергонадотропный гипогонадизм, эндемический зоб. С возраста 5 лет замечено снижение в крови эритроцитов, с 12 лет – трехростковая цитопения, в костном мозге – картина аплазии. Выявлен вероятно патогенный (LoF) соматический вариант в гене *PIK3R1*, который обнаруживался в крови и костном мозге, но отсутствовал в образцах ДНК из ногтей и из культивированных мезенхимальных стволовых клеток. Также у пробанда были найдены 2 редких варианта транс-положения в гене *POLR3F*: сдвиг рамки считывания в экзоне 7 и миссенс-вариант p.K146E в экзоне 6 (нет частот в gnomAD, CADD=27.5). Родители девочки являются гетерозиготами по данным вариантам, здоровый старший брат не унаследовал ни один из них. Исследование экзона пробанда не принесло дополнительных находок, объясняющих фенотип.

Заключение: В гене *POLR3F* на сегодня не описаны мутации, связанные с аутосомно-рецессивными заболеваниями человека. Однако биаллельные мутации описаны в генах других субъ-

единиц РНК-полимеразы III (*POLR3A*, *POLR3B*, *POLR3GL*) у пациентов с частично похожим симптомокомплексом.

Уточнения/комментарии: Ищем коллабораторов для проведения функционального анализа.

Скрининг на носительство: от безграничных лабораторных возможностей к реалиям клинической практики

Кречмар М.В.¹

¹ООО «ВКР» Клиника репродукции и генетики, Санкт-Петербург

E-mail: krechmar.mv@mail.ru

Мотивация и цели: Развитие методов анализа ДНК позволило конкретизировать мутации наследственных заболеваний у носителей и перейти от эмпирических рисков к конкретной оценке с целью прогноза. Критерии и объем тестирования МНЗ не регламентированы и зависят от разработок отдельных лабораторий. Клиническая оценка данных не стандартизирована, как и алгоритмы консультирования и протоколы заключений.

Методы: Проведена сравнительная оценка клинической значимости скрининговых тестов на носительство выполненных по разным программам и эффективности консультирования по их результатам. Виды тестов условно разделены на четыре категории - по объему и критериям включения мутаций. Разработан протокол Медико-генетического заключения для разных групп.

Результаты: Медико-генетическое консультирование с целью оценки рисков наследственных заболеваний у потомства проводилось как первичное с последующим назначением тестирования и оценкой рисков, так и по предоставленным результатам по разным технологиям и из разных лабораторий. Выделены четыре основные группы обследованных: неотягощенные семьи; с патологией неуточненного генеза в семейном анамнезе, супруги в кровно-родственном браке, доноры в программах ВРТ. Степень рисков разделена по условной шкале тяжести заболеваний: требующие детекции мутаций и определения генетического статуса на этапе эмбрионов - ПГД и/или плодов методами пренатальной диагностики; поддающиеся коррекции, эффективной профилактике и реабилитации при подтвержденном генотипе новорожденного; рекомендуемые учитывать особенности организма в разных состояниях на разных этапах онтогенеза. Более строгие критерии оценки рисков применяются для доноров половых клеток в программах ВРТ (ЭКО).

Заключение: Скрининговое тестирование на носительство МНЗ является эффективным методом профилактики. Существующие технологии дают возможность глубокого анализа и масштабного применения. Существующий опыт лабораторных программ тестирования, оценки рисков и медико-генетического консультирования может быть обобщен и стать основой для разработки Руководства для разных групп обследуемых и рекомендован в широких масштабах.

Уточнения/комментарии: Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства Москвы.

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

Сочетание двух патогенных вариантов в генах, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами у одного человека

Хахина А.О.^{1*}, Абрамов И.С.¹, Лисица Т.С.¹, Шагина А.Д.¹, Шипулин Г.А.¹

¹ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, Москва

E-mail: hahina.0506@gmail.com

Мотивация и цели: Оценить возможность наличия двух патогенных герминальных вариантов в генах, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами (НОС) на основании генетического тестирования методом NGS и показать важность своевременной диагностики.

Методы: В исследование вошли две тысячи образцов, полученных от пациентов, имеющих диагнозы рак молочной железы, меланома, лимфома, рак желудка, рак поджелудочной железы и др. ДНК была выделена из лимфоцитов периферической крови. Подготовка библиотек была осуществлена с использованием кастомной панели зондов KAPA Hyper (Roche). Высокопроизводительное секвенирование было проведено на платформе MiSeq (Illumina).

Результаты: У 5 пациентов было выявлено сочетание двух патогенных вариантов нуклеотидной последовательности в генах, ассоциированных с НОС. У трех пациенток с диагнозом рак молочной железы выявлены мутации. У первой с.172_175del, p.Gln60Argfs, в гене *PALB2* и с.5503C>T, p.Arg1835Ter, в гене *BRCA1*. У второй с.1421_1422dup, p.Gln475Cysfs, в гене *MSH6* и с.7879A>T, p.Ile2627Phe, в гене *BRCA2*. У третьей с.1933C>T, p.Gln645Ter, в гене *BLM* и с.321del, p.Phe107Leufs, в гене *BRCA1*. У другой пациентки выявлены мутации с.1592del, p.Leu531Cysfs, в гене *PALB2* и с.206-2A>G, в гене *BRIP1*. Также, обнаружены мутации с.2436-1G>A, в гене *MSH3* и с.5932G>T, p.Glu1978Ter, в гене *ATM*. Важно помнить, что существуют гены, кодирующие белки, которые являются партнерами и обеспечивают репарацию ДНК методом гомологичной рекомбинации.

Заключение: Наличие двух патогенных мутаций влияет на фенотип, поэтому необходимо учитывать это на этапе диагностики и при назначении лечения, а не ограничиваться лишь исследованиями «горячих точек».

Молекулярно-генетические нарушения у пациентов с диагнозом рак яичников

Шагина А.Д.^{1*}, Лисица Т.С.¹, Хахина А.О.¹, Шипулин Г.А.¹, Абрамов И.С.¹

¹ФГБУ «ЦСП» ФМБА России

E-mail: nasya.shagina@gmail.com

Мотивация и цели: Цель исследования - оценить частоту патогенных герминальных вариантов в генах, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами на основании генетического тестирования методом NGS и показать важность ранней диагностики.

Методы: В исследование вошли 101 пациенток с диагнозом рак яичников, в том числе в составе первично-множественных злокачественных новообразований, средний возраст на момент диагностики составил 41,51 лет ($\pm 11,89$). ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови. Подготовку библиотек ДНК осуществляли с использованием кастомной панели зондов KAPA Hyper (Roche). Высокопроизводительное секвенирование проводили на платформе MiSeq (Illumina).

Результаты: У 27 пациентов были выявлены 20 патогенных вариантов нуклеотидной последовательности в генах *BRCA1/2*. У 8 пациентов еще 8 вариантов в генах *ATM*, *MLH1*, *MSH6*, *NTHL1*, *PALB2* и *POLD1*. У одной пациентки была выявлена редкая патогенная мутация с.3159T>A

p.Cys1053Ter гене *DICER1*, который играет ключевую роль в процессах РНК-интерференции.

Заключение: Молекулярно-генетическое тестирование позволяет принять решение о назначении таргетных препаратов, спрогнозировать течение заболевания и развитие вторичных опухолей, а также произвести тестирование родственников пациентов.

Уточнение/комментарий: Введение: более 20% опухолей яичников имеют наследственную природу, 65-85% этих случаев обусловлены наличием патогенных вариантов нуклеотидной последовательности в генах *BRCA1/2*. Однако известны другие гены, также связанные с наследственным раком яичников, в том числе гены системы репарации неспаренных оснований, ген-супрессор опухоли TP53 и некоторые другие: *CHEK2*, *RAD51*, *BRIP1* и *PALB2*. Технологии высокопроизводительного секвенирования позволяют анализировать несколько генов, ассоциированных с наследственным раком яичников, и таким образом помогают в диагностике и персонализации лечения пациентов.

Исследование гена *RPE65* у больных пигментной дегенерацией сетчатки и врожденным амаврозом Лебера в России

Степанова А.А.^{1*}, Кадышев В.В.¹, Щагина О.А.¹, Поляков А.В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва

E-mail: stepanovanna@gmail.com

Мотивация и цели: Целью нашего исследования стало изучение гена *RPE65* у российских больных ПДС и ВАЛ. Воротиген непарвовек — это препарат для генной терапии, одобренный для лечения пациентов с аутосомно-рецессивной дистрофией сетчатки, вызванной биаллельными патогенными вариантами в гене *RPE65*. Поэтому точный молекулярный диагноз имеет решающее значение для одобрения таргетной терапии.

Методы: В нашем исследовании приняло участие 189 неродственных больных с направляющим диагнозом ПДС или ВАЛ. Всем больным проведен анализ генной панели на основе NGS, включающей 211 генов.

Результаты: В различных популяциях мира 0,6-16% причиной ПДС являются патогенные варианты *RPE65*. В России еще не проводилось исследований по оценке частоты *RPE65*-зависимых форм ПДС и ВАЛ.

У 11 больных были выявлены варианты в гене *RPE65* в гомозиготном или сложном гетерозиготном состоянии. Для всех больных варианты были подтверждены секвенированием по Сэнгеру, для 9 семей выполнен сегрегационный анализ и доказана биаллельность вариантов. Т.о., доля *RPE65* – больных в текущем исследовании составила 5,8%.

Нами были выявлены 12 различных вариантов в гене *RPE65*, включая 8 миссенс (с.1024T>C (p.Tyr342His), с.1307G>A (p.Gly436Glu), с.746A>G (p.Tyr249Cys), с.1451G>T (p.Gly484Val), с.272G>A (p.Arg91Gln), с.1451G>A (p.Gly484Asp), с.1340T>C (p.Leu447Pro), с.982C>T (p.Leu328Phe), 2 нонсенс (с.370C>T (p.Arg124*), с.304G>T(p.Glu102*)) и 2 мутации сайта сплайсинга (с.1451-1G>A, с.11+5G>A). Было выявлено 2 варианта, ранее не описанных (с.1024T>C (p.Tyr342His), с.1340T>C (p.Leu447Pro)). Патогенный вариант с.370C>T (p.Arg124*) наиболее часто встречающийся в исследуемой выборке, выявлен на 5 хромосомах (22,7%).

Заключение: Все больные, с подтвержденными биаллельными вариантами в гене *RPE65*, подходят для таргетной терапии.

Разработка системы для преимплантационного генетического тестирования хромосомных анеуплоидий (ПГТ-А) методом массового параллельного секвенирования

Игнатов К.Б.^{1,2}, Анисименко М.С.^{2*}, Гаранин А.Ю.², Борисова М.А.², Помазной М.Ю.³, Штокало Д.Н.³, Коваленко С.П.²

¹Институт общей генетики РАН, Москва

²ООО «ДНК-дисплей», Новосибирск

³ООО «Новые Программные Системы», Новосибирск

E-mail: dna-display@mail.ru

Мотивация и цели: Выбор эмбрионов с учётом ПГТ существенно снижает риск рождения детей с хромосомными патологиями после процедуры ЭКО. Цель работы – создание системы для ПГТ-А, включающей полногеномную амплификацию ДНК, фрагментирование продуктов, введение индексов и адаптеров для секвенирования, анализ данных секвенирования с помощью программного обеспечения с выдачей заключения о результате.

Методы: Полногеномную амплификацию проводили с помощью улучшенной версии ПЦР с выродженными праймерами и SD ДНК-полимеразы. Продукты фрагментировали с помощью ДНКазы I и SD ДНК-полимеразы. Лигировали (T/A) индексы и адаптеры, обогащали. Анализ библиотек проводили на приборе MiSeq (Illumina). Данные секвенирования (fastq-файлы) анализировали с помощью разработанного программного обеспечения NGS Wizard (genomenal.ru).

Результаты: С помощью разработанной системы проведён анализ серии образцов ДНК, полученных от доноров с хромосомными аномалиями, из абортивного материала и из клеток эмбрионов. В результате анализа подтверждено наличие трисомии у доноров (21 хромосома), выявлены трисомии в образцах из абортивного материала (хромосомы 13, 16, 18, 22), моносомии (хромосомы 1, 2, 5, 11, 15, 17) и различные структурные аномалии в образцах клеток эмбрионов.

Заключение: Разработана система для анализа анеуплоидий, включающая полногеномную амплификацию, ферментативную фрагментацию, введение адаптеров с индексами, обогащение полученных библиотек и анализ данных с помощью программного обеспечения.

Оценка эффективности секвенирования экзема в клинической практике медико-генетической консультации г. Сургута (ХМАО-Югра)

Донников М.Ю.^{1,2*}, Папанов С.И.², Ложкин Д.А.^{1,2}, Колбасин Л.Н.^{1,2}, Коваленко Л.В.¹

¹БУ ВО ХМАО-Югры Сургутский государственный университет

²Медико-генетическая консультация БУ ХМАО-Югры «Окружной кардиологический диспансер «Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии»

E-mail: donnikov@gmail.com

Мотивация и цели: Цель исследования – проведение оценки диагностических результатов секвенирования «клинического» экзема (CES), все чаще используемого в практике региональной медико-генетической консультации (МГК).

Методы: CES проводилось на аутсорсинге в авторизованной генетической лаборатории (ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»). Все найденные варианты были подтверждены секвенированием по Сэнгеру. Был проведен ретроспективный анализ всех результатов CES (2019–2021 гг.) для педиатрической когорты пациентов.

Результаты: Молекулярно-генетическая патология была диагностирована у 27% (27/100) детей, что соответствует оценкам результативности в других подобных исследованиях. Количество случаев – 100. Возраст, гг. (медиана, Q1;Q3): 4,7 (1,8; 9,4). Соотношение полов: М:Ж=0,72 (42/58). Диагнозы чаще диагностировались у лиц с аномалиями нервной, костной и дыхатель-

ной систем. Количество выявленных патогенных вариантов – 84; вероятно патогенных – 63; VUCS – 22. Выявлены преимущественно аутосомно-доминантные заболевания (n=19), среди них наиболее частые – нейрофиброматоз (MIM #162200; n=3), несовершенный остеогенез (MIM #166200; n=3), ахондроплазия (MIM #100800; n=2). Количество аутосомно-рецессивной патологии – 7, из них чаще всего – цилиарная дискинезия (MIM #615505; n=2). Выявлен 1 случай X-сцепленной патологии (гемофилия А, MIM #306700). В 17 случаях было выявлено по 1 редкой патологии. Также, анализ семейной сегрегации выявил 5 новых вариантов в генах *TSC1*, *KAT6A*, *ANKRD26*, *ARID1B*, *RPGRIP1* (не внесены в базы данных). Таким образом, эффективность CES составила 27%.

Заключение: С целью своевременной диагностики необходимо в региональных условиях проводить CES как тест первого уровня у детей с подозрением на наследственную патологию. Необходимы дальнейшие функциональные исследования выявленных VUCS, с последующим депонированием информации в генетические базы данных.

Ассоциация варианта с.470T>C гена *CHEK2* с риском развития рака молочной железы и рака яичников

Виноградов К.С.^{1*}, Лисица Т.С.¹, Хахина А.О.¹, Абрамов И.А.¹, Шипулин Г.А.¹

¹ФГБУ «ЦСП» ФМБА России

E-mail: kirillvinogradov1992@gmail.com

Мотивация и цели: За последнее десятилетие ряд исследований показали роль варианта с.470T>C в гене *CHEK2* в развитии злокачественных новообразований (ЗНО), однако эта связь не доказана. Цель оценить зависимость частоты возникновения ЗНО от наличия варианта с.470T>C гена *CHEK2*.

Методы: Были проанализированы данные, полученные в ходе секвенирования образцов ДНК, полученных от 174 пациентов с диагнозом рак молочной железы (РМЖ), 117 пациентов с диагнозом рак яичников (РЯ) и 144 здоровых доноров. Высокопроизводительное секвенирование было проведено с использованием панели зондов KAPA Hyper (Roche) на платформе MiSeq (Illumina).

Результаты: Вариант с.470T>C в гене *CHEK2* в гомозиготной форме выявлен у 1 пациента из группы РМЖ, в гетерозиготной форме выявлен у 7 пациентов из группы РМЖ (Minor allele frequency (MAF)=0,026), 16 пациентов из группы РЯ (MAF=0,068), 12 пациентов из группы здоровых доноров (MAF=0,042). Частоты аллелей среди групп пациентов сравнивали с помощью точного критерия Фишера. Не было выявлено значимой связи частоты минорного аллеля с риском развития РМЖ (OR=0,78, 95% ДИ=0,48-1,28, p=0,28) или РЯ (OR=1,26, 95% ДИ=0,53-1,81, p=0,24).

Заключение: Отсутствие разницы между частотами минорного аллеля у пациентов с РМЖ, пациентов с РЯ и здоровых доноров заставляет нас усомниться в патогенности варианта с.470T>C в гене *CHEK2*, а MAF > 1% относить его к вариантам с неизвестным клиническим значением или вероятно доброкачественным.

ОнсохохPD: база данных 51672 молекулярных путей человека с веб-сервисом визуализации и расчета активации по экспрессионным данным

Золотовская М.А.^{1,2,3*}, Ткачев В.С.², Гурьянова А.А.^{1,4}, Симонов А.М.⁵, Раевский М.М.⁵, Ефимов В.В.⁵, Секачева М.И.⁵, Гаража А.В.², Борисов Н.М.¹, Кузьмин Д.В.¹, Сорокин М.И.^{1,2,4,6}, Буздин А.А.^{1,5,6,7}

¹Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, РФ;

²ООО «Онкобокс», Москва, РФ;

³ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, РФ ;

⁴ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, РФ;

⁵Институт персонализированной медицины, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, РФ;

⁶ФГБУН Институт биорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН;

⁷PathoBiology Group, European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC), Брюссель, Бельгия

E-mail: zolotovskaia.ma@mipt.ru

Мотивация и цели: Создание базы данных, содержащей единообразно классифицированные, функционально аннотированные молекулярные пути с инструментом расчета их активации.

Методы: Данные были собраны автоматически с последующей экспертной курацией. Извлечена и каталогизирована информация о молекулярных участниках пути и их взаимодействиях из следующих баз данных: Biocarta, KEGG, HumanCyc, Qiagen, NCI, Reactome и PathBank.

Результаты: OncoboxPD (<https://open.oncobox.com>) включает в себя 51672 молекулярных пути человека в единообразном формате. Каждый путь представляет собой граф взаимодействий, где вершины - это молекулярные участники, а ребра – это взаимодействия или биохимические реакции между ними. Все молекулярные участники функционально аннотированы с присвоением коэффициента активации/ингибирования (ARR), который характеризует влияние на общий физиологический или молекулярный эффект пути. В дополнение к полноразмерным путям были введены микропути, которые представляли собой подграф существующего пути, содержащий главный эффекторный узел и соседние узлы первого - третьего порядка.

Наличие ARR коэффициентов позволяет вычислять уровни активации путей (PAL) с использованием профилей генной экспрессии. Результаты расчета активации могут быть визуализированы на схеме каждого пути, с цветовой схемой, соответствующей уровню активации каждого гена-участника пути. Также автоматически генерируется график максимально активированных и ингибированных путей. В качестве альтернативы веб-сервису разработана библиотека Python oncoboxlib для использования на локальном компьютере.

Заключение: OncoboxPD - это крупнейшая на настоящий момент структурированная коллекция единообразно обработанных и функционально аннотированных молекулярных путей человека. Формат базы позволяет рассчитать экспрессионную активации путей с визуализацией активности отдельных участников пути.

Экзомное секвенирование в комплексной диагностике генетически обусловленных форм мужского бесплодия

Соловова О.А.¹, Рыжкова О.П.², Опарина Н.В.¹, Черных В.Б.^{2*}

¹ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва

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

E-mail: Olga_pilyaeva@list.ru

Мотивация и цели: Описаны многочисленные CNV и варианты в генах, связанных с мужским бесплодием, что требует использования геномных методов исследования. В связи с этим целью работы являлась оценка эффективности комплексного подхода в молекулярно-генетической диагностике мужского бесплодия, включающего метод массового параллельного секвенирования (МПС).

Методы: В выборку включен 41 пациент с первичным мужским бесплодием, связанным с необструктивной азооспермией (n=39) и тяжелой олигозооспермией (n=2), нормо/гипергонадотропным гипогонадизмом, нормальным кариотипом, отсутствием микроделечий локуса AZF Y-хро-

мосомы и патогенных вариантов в гене CFTR. Секвенирование экзома выполняли на приборе Illumina NextSeq500 со средним покрытием ×80.

Результаты: Варианты нуклеотидной последовательности обнаружены у 15 (36,6%) пациентов в 27 генах (*EP300*, *AR*, *MCM8*, *ANOS1*, *CYP21A2*, *CFTR*, *CATSPER1*, *SOX3*, *LHCGR*, *TEX15*, *DNAH11*, *DNAH17*, *FSIP2*, *FSHB*, *DUSP6*, *HS6ST1*, *SMAD3*, *TEX14*, *VWA2*, *FSIP2*, *CFAP44*, *MEIOB*, *GNRHR*, *RNF216*, *QRICH2*, *PLCZ1*, *CYP11B1*), контролирующих сперматогенез и мужскую фертильность. У каждого пациента обнаружено от 1 до 6 вариантов. У одного пациента выявлена структурная перестройка, захватывающая ген *GNGT1*, регулирующий миграцию первичных половых клеток. Некоторые находки представляли собой гетерозиготные варианты в генах, ответственных за аутосомно-рецессивные формы, а также не сочетались с имеющейся клинической картиной и сперматологическими изменениями. Обнаруженные генные варианты требуют уточнения происхождения (унаследованные или *de novo*) и подтверждения патогенности.

Заключение: Экзомное секвенирование повышает эффективность диагностики генетических форм нарушения фертильности и целесообразно у пациентов с гетерогенными формами бесплодия, у которых с помощью стандартных генетических методов не обнаружены генетические нарушения.

Сервис по поиску распространенных фармацевтических препаратов по известным соматическим маркерам в солидных и гемопоэтических опухолях

Кулемин Н.А.^{1,2}, Федюшкина И.В.², Горбачев А.Ю.¹, Шегай П.В.³, Каприн А.Д.³

¹Zenome.io LTD, Москва

²ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, Москва

³ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва

E-mail: drkulemin@gmail.com

Мотивация и цели: Реализация удобного сервиса подбора фармакологических препаратов по результатам парного секвенирования нормальной и опухолевой ДНК, который позволит увеличить количество успешных исходов в онкологии.

Методы: Разработанная база данных была создана путем анализа записей из открытых источников и баз данных. Была создана реляционная структура с использованием PostgreSQL.

Результаты: Мы разработали открытый онлайн-сервис Zenome OncoBase, который позволяет осуществлять поиск записей об известных примененных фармацевтических препаратах при лечении пациентов с мутациями, которые были обнаружены парным опухолевым тестом. Наполнение сервиса основано на открытых международных базах данных (Cancer Genome Atlas, CiVic, PMKB etc.), которые содержат записи о примененных фармацевтических препаратах, а также результатах лечения. Результаты поиска делятся на несколько групп в зависимости от медицинского статуса препарата (разрешенный «on-label», препарат «вне инструкции» «off-label», экспериментальный, успешный или не успешный). Автоматическая система классификации и последующего извлечения результатов позволит значительно снизить время ручного труда специалистов в области интерпретации геномных данных. В перспективе планируется разработать интерфейс веб-приложения, который позволит использовать результаты геномных исследований не только врачам-генетикам, но и врачам других специальностей для принятия ежедневных клинических решений для онкологических пациентов.

Заключение: Предполагается, что при организации удобного доступа к информации о примененных фармакологических препаратах ее применение в клинике будет идти активнее, что в свою очередь значительно увеличит количество успешных случаев в онкологии.

Анализ путей, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом и условиями гипоксии, у пациенток с карциномой молочной железы

Бровкина О.И.^{1*}, Юсубалиева Г.М.¹, Ходырев Д.С.¹, Никитин А.Г.¹

¹Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России

E-mail: brov.olia@gmail.com

Мотивация и цели: Установлено, что ответ пациенток с РМЖ на терапию в условиях гипоксии слабее. Целью нашей работы был анализ базы данных профилей экспрессии проекта METABRIC, связанных с ЭМП и гипоксией в опухолях.

Методы: Нормализация данных проводилась с помощью пакета DeSeq2. Отбирались дифференциально-экспрессирующиеся мРНК, имеющие значения р-критерия с поправкой на множественные данные <0,05. С помощью пакета fgsea проводилось обогащение данных по ДЭ генам и анализировались значимые сигнальные пути.

Результаты: После фильтрации данных по клиническим параметрам, из 996 образцов была составлена выборка с 531 образцом. Экспрессия 36 генов была связана с гипоксией, изменения 50 генов, были вызваны процессом эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП). Помимо известных ранее генов, были гиперэкспрессированы ген альфа-лактальбумин LALBA и ген экзонуклеазы, стимулированный интерфероном 20 ISG20. Анализ сигнальных путей выявил следующие значимые механизмы: регуляторные пути фактора-1, индуцируемого гипоксией (HIF), метаболизм глюкозы (SLC2A1, PFKFB4, LDHA, ALDOA, ALDOC), и ангиогенез (ANGPTL4, VEGFA). ЭМП включал следующие пути: метаболизм жирных кислот (LEP, TGFB, FASN), апоптоз (BNIP3L, BNIP3, NDRG1), Krebs cycle (IDH, SDH) и клеточную адгезию (SNAIL, TWIST, ZEB1, ZEB2). На основе известной сигнатуры из 15 генов мы разделили пациентов на 2 кластера. В первый кластер вошли пациентки (317/60%) с высокими показателями гипоксии (согласно данным программы ConsensusClusterPlus), во второй вошли пациентки (214/40%), чьи показатели были ниже. Примечательно, что в первом кластере преобладали пациентки с наличием метастазов, а также с нарушением ЭМП механизмов.

Заключение: Разделение пациенток на основе выраженности процессов гипоксия и ЭМП позволяет выявить группы с высоким риском прогрессирования заболевания. Оценка профилей экспрессии генов, связанных с гипоксией и ЭМП, позволяет обнаружить метастатический потенциал и выбрать оптимальную стратегию лечения.

Реконструкция генной сети шизофрении для поиска генов-мишеней лекарственных воздействий

Дохолян А.Ю.¹, Глущенко М.В.¹, Орлов Ю.Л.^{1*}

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

E-mail: orlov@d-health.institute

Мотивация и цели: На данный момент шизофрения является плохо изученным заболеванием с многообразием симптомов, характерных для иных патологических состояний, и сложной диагностикой без однозначного лечения.

Методы: Использовались методы биоинформатики. Для поиска мишеней терапии необходима реконструкция генной сети заболевания, кластеризация генов в сети, выявление ключевых генов, обладающих наибольшим числом контактов в сети.

Результаты: С помощью онлайн-инструментов биоинформатики OMIM, PANTHER и DAVID, GeneMANIA и STRING-DB, GeneCards мы проанализировали актуальный на данный момент мас-

сив данных, связанных с шизофренией, рассчитали категории генных онтологий для большого списка генов, визуализировали их и построили генные сети, содержащие выявленные ключевые объекты и их взаимосвязи, определили наиболее релевантные гены шизофрении.

Заключение: Биологическая интерпретация полученных результатов всё еще остается сложной задачей. Анализ генов, связанных с шизофренией, определение их положения в генной сети (связанности) позволяет оценить их перспективность в качестве генов-мишеней для лекарственных воздействий.

Научное издание «Медико-генетического научного центра имени академика Н.П.Бочкова»
Тираж 210 экз.

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