



NGS в медицинской генетике

Четвертая международная научно-практическая конференция

Научная программа

Тезисы конференции

Суздаль
24-26 апреля 2019

Золотые спонсоры

ThermoFisher
SCIENTIFIC



Спонсоры

helicon



SkyGen



SOPHiA™
SOPHIAGENETICS.COM



ИнтерЛабСервис



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

Мероприятие проведено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 19-015-20040

Даты проведения: 24-26 апреля 2019 г.

- Заезд участников конференции: 24 апреля
- Регистрация участников: 24 апреля, 10:00-12:00
- Работа выставки конференции: 24-25 апреля

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

Питание

- Завтраки включены в стоимость номера (ресторан «На Пинаихе»)
- Обеды и ужин 24.04 включены в стоимость пакета участника (ресторан «На Пинаихе»)
- Кофе-брейки (на территории конференции и выставки)
- Банкет по приглашениям 25 апреля в 20.00 (ГТК, ресторан «Суздаль», ул. Коровники, 45)

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

Организованный трансфер для участников

- К открытию конференции: 24 апреля от ж/д вокзала г. Владимира в 09:00
- После закрытия конференции: 26 апреля из «Пушкарской слободы» до ж/д вокзала г. Владимира в 16:45

Сайт конференции: ngs.med-gen.ru

Контакты оргкомитета: mgngs@med-gen.ru



WorkShop представляет собой форму публичного обсуждения или освещения каких-либо вопросов по определённой тематике, при котором ведущий и остальные участники обмениваются информацией и своим опытом по решению той или иной проблемы в активном общении. Ведущий сам определяет удобный формат проведения: рассказ, доклад с презентацией или семинар с возможностью решения задач. Остальные участники имеют возможность общаться по ходу мероприятия, задавать вопросы или же делиться своим опытом. Время проведения – 40-60 минут.

WorkShop 1.

Ночной кошмар NGS-лабораторий: контаминация и перепутанные образцы. Как это выявить и предотвратить?

Ведущий – Ф.А. Коновалов

Тесты на основе NGS являются последней линией молекулярной диагностики и обычно выполняются один раз в жизни пациента. Очевидно, что даже при небольшом потоке в любой лаборатории существует вероятность случайной замены или контаминации образца на различных стадиях, от сбора биоматериала и пробоподготовки до анализа данных и выдачи результатов исследования. В случае экзомного или геномного секвенирования ущерб от таких случаев является критическим, проявляя себя по-разному в случае положительного и отрицательного результатов исследования. На воркшопе мы обсудим, как выявлять такие случаи постфактум, и какими способами в рамках подготовки библиотек и анализа данных NGS можно надежно их предотвращать.

WorkShop 2.

Особенности консультирования пациентов с наследственными формами рака молочной железы (PMЖ) по результатам исследования, полученные методом NGS

Ведущий – В.А. Румянцева

Точная идентификация генетической формы наследственных раков позволяет вносить существенные изменения в тактику проводимого лечения: изменять объем и радикальность хирургического лечения, назначать таргетную и лучевую терапию, проводить профилактические операции мастэктомии, сальпингоовариэктомию. В связи с этим на врача-генетика, консультирующего по результатам исследования, выполненного методом NGS, ложится большая ответственность, так как выявление большого числа вариантов с неизвестным клиническим значением (VUCS) может направить клинициста по ложному пути. Эти и другие вопросы будут обсуждаться на данном мероприятии.

WorkShop 3.

Медико-генетическое консультирование при использовании современных методов геномного анализа для диагностики наследственных болезней

Ведущий – Н.А. Семенова

В настоящее время все более важное значение в диагностике наследственных заболеваний приобретает применение высокопроизводительных методов секвенирования ДНК/РНК. Результаты этих исследований требуют проведения тщательной интерпретации полученных данных врачом-генетиком, подробного изучения генеалогических данных, клинико-генетических корреляций и анализа литературы, направленных на подтверждение диагноза. Иногда среди «находок» секвенирования могут оказаться изменения в генах таких заболеваний, которые дебутируют в более позднем возрасте, и врач оказывается в ситуации, когда диагностирует болезнь у пациента еще на доклинической стадии. Таким образом, полученные данные секвенирования могут оказаться неожиданными для врача и пациента, что требует грамотного медико-генетического консультирования не только после, но и до проведения анализа.

Таким образом, новые технологии существенно увеличивают требования к медико-генетическому консультированию и в частности к квалификации врача-генетика. Актуальными являются разработка и принятие современных рекомендаций по проведению медико-генетического консультирования, включающих в себя содержание предоставляемой пациенту информации, форму направления на полноэкзомное/полногеномное секвенирование и другие положения, а также алгоритм дальнейшего обследования пробанда и членов его семьи, необходимых для уточнения диагноза.

WorkShop 4.

NGS в пренатальной диагностике

Ведущий – Е.А. Померанцева

Ошибки выживших: тяжесть заболевания глазами генетика и глазами семьи. Прием «срочно, пренатально, вы секвенируете, а клиническую информацию мы позже пришлем!» Проблема завышенных ожиданий от NGS. «Секвенируйте скорее, по УЗИ все плохо, но без результата экзема консилиум не дает разрешения на прерывание».

Пренатальный фенотип. Особенности биоинформатического этапа – интерпретация данных пренатального секвенса по сравнению с постнатальным. Попытка запрета на вынесение ВУС и как мы ее решительно отвергаем (да?) «Синдромы которые никто не изучал» - неописанные гены фенотипов с ранней гибелью плода. Пример успешного поиска причины малоизученного пренатального фенотипа. Клинические случаи пренатальной диагностики причины ВПР.

WorkShop 5.

Оценка патогенности вариантов нуклеотидной последовательности

Ведущий – П.А. Спарбер

Использование методов массового параллельного секвенирования (MPS) в клинической практике значительно повысило эффективность ДНК-диагностики у пациентов с наследственной патологией. Однако с более широким внедрением методов MPS на первый план вышла проблема интерпретации ранее не описанных вариантов нуклеотидной последовательности. Для стандартизации данного процесса зарубежными и отечественными специалистами были написаны руководства по интерпретации данных, полученных методами MPS. На клинических примерах из практики врачей-генетиков МГНЦ будут рассмотрены различные случаи оценки патогенности выявленных вариантов нуклеотидной последовательности, как простые, так и более сложные, требующие более внимательного анализа. Для облегчения работы с критериями патогенности разбор будет осуществляться с применением онлайн калькулятора патогенности, разработанного в лаборатории функциональной геномики МГНЦ.

24 апреля, среда Зал: Романовский

10:00-12:00	Регистрация	
12:00-13:00	Сателлитный симпозиум компаний Thermo Fisher Scientific и Диа-М «30 лет открытий. Путешествие продолжается»	
12:00-12:04	Введение “30 лет компании Thermo Fisher Scientific в России”	<i>Е.А. Чеховских</i>
12:04-12:18	Сравнительный анализ современных методов полнохромосомной оценки преимплантационных эмбрионов	<i>М. Иванов</i>
12:18-12:32	Особенности использования высокопроизводительного секвенирования (NGS) для преимплантационного генетического скрининга: результаты валидации в ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова	<i>И. Мукосей</i>
12:32-12:46	Improving IVF Outcomes with Ion Reproseq and PGD-Seq	<i>Л.А. Алпарас</i>
12:46-13:00	Хромосомный микроматричный анализ экзонного уровня: кому, когда, зачем?	<i>Д.В. Пьянков, И.В. Канивец</i>
13:00-14:00	Обед	
	Тренды, новинки, будущее сегодня <i>Модераторы: А.Н. Тюльпаков, А.В. Поляков</i>	
14:00-14:05	Открытие конференции	<i>М.Ю. Скоблов, А.В. Лавров</i>
14:05-14:30	Экзомное секвенирование: неожиданные находки у российских больных	<i>А.В. Поляков</i>
14:30-14:55	Наследственные эндокринопатии с дигенным наследованием: правомочен ли диагноз?	<i>А.Н. Тюльпаков</i>
14:55-15:20	Функциональный анализ вариантов нуклеотидной последовательности в 5’-нетранслируемой области гена PAX6 у пациентов с врожденной аниридией	<i>А.Ю. Филатова</i>
15:20-15:35	Перерыв	
	Биоинформатический анализ данных NGS <i>Модераторы: Ф.А. Коновалов, Н.А. Кулемин</i>	
15:35-15:55	Биоинформатика больших проектов: проблемы и решения	<i>А.Г. Никитин</i>
15:55-16:10	Сравнительный анализ полногеномного секвенирования человека на MGISEQ-2000 и Illumina HiSeq 2500	<i>Н.А. Кулемин</i>

16:10-16:20	Применение секвенирования нового поколения (NGS) для диагностики и в лечении раковых заболеваний на примере жидкостной биопсии и секвенирования единичных молекул	<i>И.К. Иванов</i>
16:20-16:30	Опыт исследования хромотрипсиса в биоинформатике	<i>Д.С. Буг</i>
16:30-16:45	10x Genomics – Biology at True Resolution	<i>Ф. Биелла</i>
16:45-17:45	WorkShop 1. Ночной кошмар NGS-лабораторий: контаминация и перепутанные образцы. Как это выявить и предотвратить? <i>Приглашенные участники: Д.В. Пьянков, А.С. Танас, Е.А. Померанцева</i>	<i>Ф.А. Коновалов</i>
17:45-18:15	Кофе-брейк	
	Поиски новых решений в медицинской генетике <i>Модераторы: М.Ю. Скоблов, Э.В. Генерозов</i>	
18:15-18:40	Поиск редких болезнетворных аллелей с большим эффектом в финской популяции	<i>В.Е. Раменский</i>
18:40-19:05	Диагностика хромосомных болезней человека на основе комбинации технологий захвата конформации хромосом и массового параллельного секвенирования	<i>В.С. Фишман</i>
19:05-19:30	Функциональная интерпретация регуляторных SNPs в геноме человека на основании сравнительного анализа транскриптомных (RNA-seq) данных носителей различных генотипов	<i>Е.Е. Корболина</i>
19:30-21:00	Ужин и отдых	
21:00-23:00	Приветственный фуршет и постерная сессия	

25 апреля, четверг

Зал: Романовский

8:00-9:00	Завтрак	
	NGS в кардиологии Модераторы: <i>Е.В. Заклязьминская, М.Ю. Скоблов</i>	
9:00-9:20	Доля мутаций <i>de novo</i> у больных с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка и гипертрофической кардиомиопатией	<i>Е.В. Заклязьминская</i>
9:20-9:30	Фенотипический спектр патогенных генетических вариантов в гене <i>PPP1R13L</i> , приводящих к развитию детской синдромальной дилатационной кардиомиопатии	<i>И.С. Поволоцкая</i>
9:30-9:40	Мутация гена <i>SLC25A4</i> , переносчика АДФ/АТФ, у пациента с дилатационной кардиомиопатией	<i>Л.Н. Сивицкая</i>
9:40-9:55	MGI Tech. Альтернативный взгляд на технологии геномного секвенирования	<i>А. Тарасевич</i>
	Минутки (короткие сообщения)	
9:55-10:02	Функциональный анализ интронного варианта нуклеотидной последовательности с неизвестным клиническим значением с.911-13A>G в гене <i>FKTN</i>	<i>М.В. Фреуре Шадрина</i>
10:02-10:09	Аллельные варианты генов, ассоциированные с жизнеугрожающими нарушениями ритма, у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией	<i>Н.Н. Чакова</i>
10:09-10:16	Спектр мутаций в гене <i>TNNT2</i> у российских больных с дилатационной кардиомиопатией	<i>А.А. Букаева</i>
10:16-10:23	Сложный случай диагностики синдрома Ретта у пробанда со структурной перестройкой гена <i>MECP2</i>	<i>Т.С. Бескорвайная</i>
10:23-10:30	Клинический случай синдрома Питта-Хопкинса, подтвержденный с помощью функционального анализа	<i>П.А. Спарбер</i>
10:30-10:37	Второй случай нелетальной микроцефалии 15-го типа в мире, вызванной вариантами в гене <i>MFS2A</i>	<i>А.О. Боровиков</i>

10:37-11:05	Кофе-брейк	
	NGS в онкогенетике Модераторы: <i>В.В. Стрельников, В.А. Румянцева</i>	
11:05-11:20	Соматический мозаицизм при нейрофиброматозе I типа	<i>К.О. Карандашева</i>
11:20-11:35	Определение редких вариантов перестроек гена <i>KMT2A</i> у детей с острыми лейкозами с использованием якорной мультиплексной ПЦР	<i>Е.А. Зеркаленкова</i>
11:35-11:50	Анализ мутационного профиля методом таргетного высокопроизводительного секвенирования в диагностике рака щитовидной железы	<i>В.Д. Якушина</i>
11:50-12:00	Спектр мутаций при ОМЛ с трисомией 21 у детей	<i>А.В. Панферова</i>
12:00-12:10	Диагностика наследственных опухолевых синдромов методом NGS. Опыт коммерческой лаборатории	<i>А.А. Тихонов</i>
12:10-13:00	WorkShop 2. Особенности консультирования пациентов с наследственными формами рака молочной железы (РМЖ) по результатам исследования, полученные методом NGS <i>Приглашенные участники:</i> <i>М.Г. Гордиев, В.В. Стрельников, А.Н. Казанова</i>	<i>В.А. Румянцева</i>
13:00-14:00	Обед	
	NGS в диагностике моногенных заболеваний Модераторы: <i>В.Ю. Воинова, Н.А. Семенова</i>	
14:00-14:15	Новая синдромальная форма умственной отсталости, связанная с loss of function - мутациями гена <i>ZMYM2</i>	<i>В.Ю. Воинова</i>
14:15-14:25	Исследование спектра мутаций, приводящих к синдрому Нунан и другим расopatиям в Российской Федерации	<i>А.А. Орлова</i>
14:25-14:35	Сочетание врожденной аниридии с врожденным пороком развития органа слуха в одном клиническом портрете	<i>Т.А. Васильева</i>
14:35-14:45	<i>POLG</i> -ассоциированная патология: постановка сложного диагноза с помощью технологии NGS	<i>М.А. Федяков</i>
14:45-15:45	WorkShop 3. Медико-генетическое консультирование при использовании современных методов геномного анализа для диагностики наследственных болезней <i>Приглашенные участники:</i> <i>В.Ю. Воинова, Е.В. Заклязьминская, А.О. Боровиков</i>	<i>Н.А. Семенова</i>

25 апреля, четверг

Зал: Романовский

15:45-16:15	Кофе-брейк	
	NGS в диагностике моногенных заболеваний Модераторы: Е.Ю. Захарова, П.А. Спарбер	
16:15-16:40	Наследственные болезни скелета: диагностика с применением таргетных панелей международный и российский опыт	Е.Ю. Захарова
16:40-16:55	Исследование полного спектра мутаций, приводящих к гиперфенилаланиниям в Российской Федерации	И.А. Кузнецова
	Минутки (короткие сообщения)	
16:55-17:02	Проспективное наблюдательное когортное исследование пациентов с синдромом Ашера для определения клинико-генетических корреляций в целях дальнейшей разработки лечения	М.Е. Иванова
17:02-17:09	Наиболее частые генетические формы несиндромальной (НТ) и маскирующей под нее синдромальной тугоухости (СТ), не связанные с коннексином 26	О.Л. Миронович
17:09-17:16	Значение анализа трио для определения патогенности вариантов, выявленных при массовом параллельном секвенировании	О.А. Щагина
17:16-17:23	Частота кифосколиотического типа синдрома Элерса-Данло, вызванного мутацией с.362dupC в гене <i>FKBP14</i> , в РФ	Н.М. Галева
17:23-17:30	Случай мезомелической дисплазии с миссенс мутацией в гене <i>AFF3</i>	О.А. Левченко
17:30-17:37	Молекулярно-генетическое исследование фенилкетонурии среди пациентов из Грузии	И.А. Кузнецова
17:37-17:44	Генетические факторы риска хронического панкреатита	К.Ф. Хафизов
17:44-17:54	Групповая фотография. Романовский зал	
17:54-19:30	Перерыв	
19:30-20:00	Трансфер до Гала-ужина от центрального входа Пушкиарки	
20:00-23:00	Гала-ужин	

26 апреля, пятница

Зал: Романовский

8:00-10:00	Завтрак, Check-out	
	ПГТ с помощью NGS Модераторы: Е.А. Померанцева, С.А. Авдейчик	
10:00-10:20	Новая проблема, созданная распространением метода NGS для ПГТ - интерпретация хромосомного мозаицизма у эмбрионов на доимплантационных стадиях развития	Е.В. Мусатова
10:20-10:40	Совершенствование работы лаборатории и генетического консультирования в области преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии	С.А. Авдейчик
10:40-10:55	Сравнение платформ для проведения преимплантационного генетического скрининга в цикле ЭКО	Е.А. Худя
10:55-11:10	Скрининг носительства моногенных заболеваний с использованием секвенирования экзема	Е.С. Шубина
11:10-11:25	Преимплантационное генетическое тестирование структурных перестроек (ПГТ-СП) методом NGS	Ж.И. Глинкина
11:25-12:05	WorkShop 4. NGS в пренатальной диагностике Приглашенные участники: С.А. Авдейчик, Е.С. Шубина, Ф.А. Коновалов, М.В. Кречмар	Е.А. Померанцева
12:05-12:40	Кофе-брейк, Check-out	
	Применение российских рекомендаций по интерпретации NGS данных Модераторы: С.И. Куцев, А.В. Лавров, А.В. Поляков	
12:40-13:40	WorkShop 5. Оценка патогенности вариантов нуклеотидной последовательности. Приглашенные участники: О.П. Рыжкова, А.Н. Тюльпаков, Ф.А. Коновалов	П.А. Спарбер
13:40-13:55	Обсуждение изменений/дополнений в рекомендациях по интерпретации данных, полученных методами высокопроизводительного секвенирования	
13:55-14:00	Заккрытие конференции	
14:00-15:00	Обед	
16:45	Отъезд автобуса	

Дополните результаты ваших исследований методом NGS с помощью CytoScan XON Site

ДИАМ

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Комплексное покрытие экзона

Applied Biosystems™ CytoScan™ XON Suite представляет собой комплексное, полное решение для исследования CNV, охватывающее гены, связанные с послеродовыми неврологическими и наследственными расстройствами.



В комплексе с прикладным, гибким и интуитивным ПО Applied Biosystems™ Chromosome Analysis Suite (ChAS), CytoScan XON Suite дает низкий уровень ложноположительных результатов и является идеальным дополнением к вашему исследованию CNV методом NGS.

Узнайте больше на thermofisher.com/cytoscanxon

Только для диагностических целей. Не предназначено для диагностических процедур. ©2018 Thermo Fisher Scientific. Все права защищены. Все торговые марки являются собственностью Thermo Fisher Scientific и ее дочерних компаний, если не указано иначе.

000 «Диаэм»

Москва
ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ sales@dia-m.ru

www.dia-m.ru

Новосибирск пр. Академика Лаврентьева, д. 6/1 тел. (383) 328-0048 nsk@dia-m.ru	Казань ул. Парижской Коммуны, д. 6 тел. (843) 210-2080 kazan@dia-m.ru	С.-Петербург ул. Профессора Попова, д. 23 тел. (812) 372-6040 spb@dia-m.ru	Ростов- на-Дону пер. Семашко, д. 114 тел. (863) 303-5500 rnd@dia-m.ru	Пермь Представитель тел. (342) 202-2239 perm@dia-m.ru	Воронеж Представитель тел. (473) 232-4412 voronezh@dia-m.ru	Армения Представитель тел. (094) 01-0173 armenia@dia-m.ru	Узбекистан Представитель тел. (90) 354-8569 uz@dia-m.ru
--	---	--	--	--	--	--	--

Тест-система Oncomine Focus Assay

ДИАМ

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Оптимальный метод анализа онкопрепаратов FFPE методом NGS

Тест-система Oncomine Focus Assay разработана для использования на платформе Ion GeneStudio S5 с применением мощной технологии Ion AmpliSeq и базы данных Oncomine Knowledgebase.



- Анализ более **1000** биомаркеров в **52** генах, связанных с образованием солидных опухолей, и ассоциированных с современными противораковыми лекарствами, а также с опубликованными данными.
- Детекция важных «горячих точек», однонуклеотидных мутаций, инсерций и делеций, CNV и химерных генов с помощью единого рабочего процесса для ДНК и РНК.
- Получение результатов для большего числа образцов, включая образцы из 2–3 FFPE-слайдов с материалом тонкоигольной аспирационной биопсии.
- Ускоренная процедура и повышенная производительность – анализ до шести образцов за один запуск и получение результатов всего за три дня.

Узнайте больше на thermofisher.com/oncomine-oncology

Только для диагностических целей. Не предназначено для диагностических процедур. ©2018 Thermo Fisher Scientific. Все права защищены. Все торговые марки являются собственностью Thermo Fisher Scientific и ее дочерних компаний, если не указано иначе.

000 «Диаэм»

Москва
ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ sales@dia-m.ru

www.dia-m.ru

Новосибирск пр. Академика Лаврентьева, д. 6/1 тел. (383) 328-0048 nsk@dia-m.ru	Казань ул. Парижской Коммуны, д. 6 тел. (843) 210-2080 kazan@dia-m.ru	С.-Петербург ул. Профессора Попова, д. 23 тел. (812) 372-6040 spb@dia-m.ru	Ростов- на-Дону пер. Семашко, д. 114 тел. (863) 303-5500 rnd@dia-m.ru	Пермь Представитель тел. (342) 202-2239 perm@dia-m.ru	Воронеж Представитель тел. (473) 232-4412 voronezh@dia-m.ru	Армения Представитель тел. (094) 01-0173 armenia@dia-m.ru	Узбекистан Представитель тел. (90) 354-8569 uz@dia-m.ru
--	---	--	--	--	--	--	--



Тезисы конференции

Оглавление

Устные доклады. 23

Д1. Наиболее частые генетические формы несиндромальной (НТ) и маскирующейся под нее синдромальной тугоухости (СТ), не связанные с коннексином 26

О.Л. Миронович, Е.А. Близнец, Т.Г. Маркова, М.Р. Лалаянц, Т.В. Маркова, Л.А. Бессонова, М.С. Петухова, О.Н. Макиенко, Д.М. Гусева, И.В. Анисимова, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков 23

Д2. Аллельные варианты генов, ассоциированные с жизнеугрожающими нарушениями ритма, у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией

Н.Н. Чакова, С.С. Ниязова, С.М. Комиссарова, О.Ч. Мазур. 23

Д3. Анализ мутационного профиля методом таргетного высокопроизводительного секвенирования в диагностике рака щитовидной железы

В.Д. Якушина, Т.Ф. Авдеева, Т.П. Казубская, Т.Т. Кондратьева, Л.В. Лернер, А.В. Лавров 24

Д4. Биоинформатика больших проектов: проблемы и решения

А.Г. Никитин 25

Д5. Второй случай нелетальной микроцефалии 15-го типа в мире, вызванной вариантами в гене *MFSD2A*

А.О. Боровиков, Г.В. Байдакова, О.А. Щагина, Е.Р. Толмачева, Ф.А. Коновалов, И.В. Канивец, Е.Л. Дадали. 25

Д6. Генетические факторы риска хронического панкреатита

К.Ф. Хафизов, Е.А. Дубцова, Л.В. Винокурова, К.А. Никольская, Н.А. Бодунова, Е.В. Пимкина, А.С. Сперанская, А.Д. Мацвай, И.Е. Хатьков, Д.С. Бордин, В.Г. Акимкин, М.М. Литвинова 26

Д7. Диагностика наследственных опухолевых синдромов методом NGS. Опыт коммерческой лаборатории

А.А. Тихонов, А.А. Афанасьев. 27

Д8. Диагностика хромосомных болезней человека на основе комбинации технологий захвата конформации хромосом и массового параллельного секвенирования

В.С. Фишман, М.М. Гридина, Е.А. Можейко, П.С. Белокопытова, Л.П. Назаренко, И.Н. Лебедев. . 28

Д9. Доля мутаций *de novo* у больных с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка и гипертрофической кардиомиопатией

Е.В. Заклязьминская, М.Е. Поляк, Г.М. Раджабова, Ю.А. Сурикова, А.А. Букаева, Д.Г. Тарасов, Е. В. Мусатова, И.С. Поволоцкая, С.Л. Дземешкевич 28

Д10. Значение анализа трио для определения патогенности вариантов, выявленных при массовом параллельном секвенировании

О.А. Щагина, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков. 29

Д11. Исследование полного спектра мутаций, приводящих к гиперфенилаланиемиям в Российской Федерации

И.А. Кузнецова, П. Гундорова, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков. 30

Д12. Исследование спектра мутаций, приводящих к синдрому Нунан и другим расщеплениям в Российской Федерации

А.А. Орлова, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков 31

Д13. Клинический случай синдрома Питта-Хопкинса, подтвержденный с помощью функционального анализа

П.А. Спарбер, А.Ю. Филатова, В.Ю. Табаков, И.В. Анисимова, М.Ю. Скоблов 31

Д14 (Workshop). Медико-генетическое консультирование при использовании современных методов геномного анализа для диагностики наследственных болезней

Н.А. Семенова, А.О. Боровиков, Е.Л. Дадали, В.Л. Ижевская, С.И. Куцев. 32

Д15. Молекулярно-генетическое исследование фенилкетонурии среди пациентов из Грузии

П. Гундорова, И.А. Кузнецова, Д. Агладзе, Л. Маргвелашвили, Е. Клдашвили, О. Квливидзе, С.И. Куцев, А.В. Поляков 33

Д16. Мутация гена *SLC25A4*, переносчика АДФ/АТФ, у пациента с дилатационной кардиомиопатией

Л.Н. Сивицкая, Н.Г. Даниленко, Т.Г. Вайханская, О.Д. Левданский, Д.П. Ермакович, Т.В. Курушко, О.Г. Давыденко 33

Д17. Наследственные болезни скелета: диагностика с применением таргетных панелей международного и российского опыта

Т.С. Нагорнова, Т.В. Маркова, Е.Ю. Захарова 34

Д18. Наследственные эндокринопатии с дигенным наследованием: правомочен ли диагноз?

А.Н. Тюльпаков 35

Д19. Новая проблема, созданная распространением метода NGS для ПГТ - интерпретация хромосомного мозаицизма у эмбрионов на доимплантационных стадиях развития

Е.В. Мусатова, В.С. Каймонов, И.В. Миронова, Н.О. Либман, Т.Г. Хряпенкова, Е.А. Померанцева 35

Д20. Новая синдромальная форма умственной отсталости, связанная с loss of function - мутациями гена *ZMYM2*

В.Ю. Воинова, И.С. Поволоцкая, Н.В. Щербакова 36

Д21 (Workshop). Ночной кошмар NGS-лабораторий: контаминация и перепутанные образцы. Как это выявить и предотвратить?

Ф.А. Коновалов 37

Д22. Определение редких вариантов перестроек гена *KMT2A* у детей с острыми лейкозами с использованием якорной мультиплексной ПЦР

Е.А. Зерналёнова, С.А. Лебедева, А.В. Панферова, А.Н. Казакова, О.И. Солдаткина, Л.В. Земцова, Н.М. Тимофеева, Г.А. Новичкова, А.А. Масчан, М.А. Масчан, Ю.В. Ольшанская 37

Д23. Опыт исследования хромотрипсиса в биоинформатике

Д.С. Буг, Н.В. Петухова, Т.Л. Гиндина, А.В. Тишков 38

Д24 (Workshop). Особенности консультирования пациентов с наследственными формами рака молочной железы (РМЖ) по результатам исследования, полученные методом NGS
В.А. Румянцева, Е.А. Новинова, Е.Н. Тельшьева, Н.Н. Новицкая, Е.Д. Хазинс, Е.Г. Шайхаев, Г.П. Снигирева 38

Д25 (Workshop). Оценка патогенности вариантов нуклеотидной последовательности
П.А. Спарбер, А.В. Марахонов, М.Ю. Скоблов 39

Д26. Поиск редких болезнетворных аллелей с большим эффектом в финской популяции
Locke, Adam E; Meltz Steinberg, Karyn; Chiang, Charleston WK; Service, Susan K; Havulinna, Aki S; Stell, Laurel; Pirinen, Matti; Abel, Haley J; Chiang, Colby C; Fulton, Robert S; Jackson, Anne U; Kang, Chul Joo; Kanchi, Krishna L; Koboldt, Daniel C; Larson, David E; Nelson, Joanne; Nicholas, Thomas J; Pietilä, Arto; Ramensky, Vasily; Ray, Debashree; Scott, Laura J; Stringham, Heather M; Vangipurapu, Jagadish; Welch, Ryan; Yajnik, Pranav; Yin, Xianyong; Eriksson, Johan G; Ala-Korpela, Mika; Jarvelin, Marjo-Riitta; Mannikko, Minna; Laivuori, Hannele; Dutcher, Susan K; Stitzel, Nathan O; Wilson, Richard K; Hall, Ira M; Sabatti, Chiara; Palotie, Aarno; Salomaa, Veikko; Laakso, Markku; Ripatti, Samuli; Boehnke, Michael; Freimer, Nelson B 39

Д27 (Workshop). Пренатальные экзомы
Е. Померанцева 41

Д28. Применение секвенирования нового поколения (NGS) для диагностики и в лечении раковых заболеваний на примере жидкостной биопсии и секвенирования единичных молекул
Н.В. Сергеев, И.К. Иванов 41

Д29. Проспективное наблюдательное когортное исследование пациентов с синдромом Ашера для определения клинико-генетических корреляций в целях дальнейшей разработки лечения
М.Е. Иванова, В.Н. Трубилин, В.В. Стрельников, А.С. Мачалов, Т.В. Маркова, А.М. Демчинский, А.С. Танас, О.М. Орлова, Д.М. Голенкова, К.В. Оверченко, А.Ф. Хирнеткина, К.И. Аношкин, D. Varh 42

Д30. Скрининг носительства моногенных заболеваний с использованием секвенирования экзома
Е.С. Шубина, И.О. Саделов, Т.О. Кочеткова, И.С. Мукосей, А.Ю. Гольцов, А.Н. Екимов, А.Е. Донников, Н.П. Макарова, Е.А. Калинина, М.А. Веякова, А.Н. Абубакиров, Д.Ю. Трофимов 43

Д31. Сложный случай диагностики синдрома Ретта у пробанда со структурной перестройкой гена MECP2
Т.С. Бескоровайна, Ф.А. Коновалов, Н.А. Демина, О.А. Щагина, М.С. Пащенко, А.В. Поляков ... 44

Д32. Случай мезомелической дисплазии с миссенс мутацией в гене AFF3
О. А. Левченко, Е.Л. Дадали, А.В. Лавров 44

Д33. Совершенствование работы лаборатории и генетического консультирования в области преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии
С.А. Авдейчик, С.В. Попов, В.В. Заварин 45

Д34. Соматический мозаицизм при нейрофиброматозе I типа
К.О. Карандашева, М.С. Пащенко, Е.Б. Кузнецова, А.С. Танас, В.В. Стрельников 46

Д35. Сочетание врожденной аниридии с врожденным пороком развития органа слуха в одном клиническом портрете
Т.А. Васильева, В.В. Кадышев, А.В. Марахонов, Р.А. Зинченко 47

Д36. Спектр мутаций в гене TNNT2 у российских больных с дилатационной кардиомиопатией
А.А. Букаева, Г.М. Раджабова, Ю.В. Фролова, С.Л. Дземешкевич, Е.В. Заклязьминская 47

Д37. Спектр мутаций при ОМЛ с трисомией 21 у детей
А.В. Панферова, Е.Н. Никитин, М.В. Гаськова, О.И. Солдаткина, Н.М. Тимофеева, А.Н. Казакова, В.Е. Матвеев, А.М. Попов, И.И. Калинина, М.А. Масчан, Ю.В. Ольшанская 48

Д38. Сравнение платформ для проведения преимплантационного генетического скрининга в цикле ЭКО
Е.А. Худая, В.С. Каймонов, И.В. Миронова, Е.В. Мусатова, Е.А. Померанцева 49

Д39. Сравнительный анализ полногеномного секвенирования человека на MGISEQ-2000 и Illumina HiSeq 2500
Н.А. Кулемин, А.Ю. Горбачев, Д.О. Коростин, В.А. Белова, Д.В. Ребриков 49

Д40. Фенотипический спектр патогенных генетических вариантов в гене PPP1R13L, приводящих к развитию детской синдромальной дилатационной кардиомиопатии
И.С. Поволоцкая, Е.А. Померанцева, Е.В. Заклязьминская 50

Д41. Функциональная интерпретация регуляторных SNPs в геноме человека на основании сравнительного анализа транскриптомных (RNA-seq) данных носителей различных генотипов
Е.Е. Корболина, Л.О. Брызгалов, Т.И. Меркулова 50

Д42. Функциональный анализ вариантов нуклеотидной последовательности в 5'-нетранслируемой области гена PAX6 у пациентов с врожденной аниридией
А.Ю. Филатова, Т.А. Васильева, Р.А. Зинченко, М.Ю. Скоблов 51

Д43. Функциональный анализ интронного варианта нуклеотидной последовательности с неизвестным клиническим значением с.911-13A>G в гене FKTN
В. Фреире, А.Ю. Филатова, И.А. Акимова, М.В. Булах, М.Ю. Скоблов 52

Д44. Частота кифосколиотического типа синдрома Элерса-Данло, вызванного мутацией с.362dupC в гене FKBP14, в РФ
Н.М. Галеева, О.П. Рыжкова, О.А. Щагина, Е.Л. Дадали, И.А. Акимова, И.В. Анисимова, Ф.А. Коновалов, А.В. Поляков 53

Д45. POLG-ассоциированная патология: постановка сложного диагноза с помощью технологии NGS.
М.А. Федяков, О.Л. Белоног, Ю.А. Барбитов, А.С. Глотов, Д.Е. Полев, А.М. Сарана, С.Г. Щербан, О.С. Глотов 54

Постерные доклады	55
П1. Анализ структуры кДНК выявил новую мутацию в гене CTNS <i>В.А. Сержанова, А.Ю. Филатова, С.В. Папуж, М.Ю. Скоблов</i>	55
П2. Анализ частот rs1042522, rs1625895 и rs17878362 и неравновесие по сцеплению между маркерами гена TP53 у больных диффузной В-мелкоклеточной лимфомой <i>Е.Н. Воропаева, С.С. Ковалев, В.Н. Максимов, Т.И. Поспелова, Ю.Л. Орлов</i>	55
П3. Вариант нуклеотидной последовательности в гене CASNA1H как причина детской эпилепсии <i>Т.В. Кожанова, С.С. Жилина, Т.И. Мецержакова, Е.С. Большакова, К.В. Осипова, С.О. Айвазян, И.В. Канивец, А.Г. Притыко</i>	56
П4. Иммуноterapia острых лейкозов: in silico предсказание потенциальных минорных антигенов гистосовместимости (МАГ) в парах донор-реципиент, основанное на полноэкзомном секвенировании (WES) <i>В.В. Захарова, О.А. Шрагина, А.В. Панферова, Е.В. Райкина, Л.Н. Шелихова, М.А. Масчан</i>	57
П5. Использование панели «клинический экзом» для уточнения причины смерти недоношенного новорожденного <i>О.М. Малышева, А.П. Сухарева, Е.П. Михаленко, В.Ф. Аджиева, ... М.В. Артюшевская, С.Э. Качан, А.В. Кильчевский, Г.А. Шишко</i>	58
П6. Исследование влияния на сплайсинг пре-мРНК интронных и экзонных вариантов нуклеотидной последовательности гена SCN1A <i>К.А. Давыденко, А.Ю. Филатова, Ю.В. Вяжирева, А.В. Марахонов, А.О. Ромашинин, Г.Г. Варенников, М.Ю. Скоблов</i>	59
П7. Молекулярно-генетические маркеры прогрессии акральной меланомы <i>И.С. Абрамов, М.А. Емельянова, О.О. Рябая, Г.С. Краснов, А.С. Заседателев, Т.В. Наседкина</i>	59
П8. Определение мутаций у белорусских пациентов с мелкоклеточным раком легкого методом секвенирования нового поколения <i>А.Н. Щаюк, Е.П. Михаленко, О.М. Малышева, М.Н. Шепетько, В.Г. Лебецкий, К.К. Яцевич, А.В. Кильчевский</i>	60
П9. Опыт применения NGS для определения спектра аллелей генов главного комплекса гистосовместимости у детей с системным ювенильным артритом <i>А.А. Яцкив, Р.И. Гончарова</i>	61
П10. Патогенные генетические варианты в генах TSC1 и TSC2 в опухолевом материале инсулином <i>Ф.А. Агеева, К.О. Карандашева, К.И. Аношкин</i>	62
П11. Поиск мутаций у пациентов с кардиомиопатией из Республики Башкортостан <i>К.И. Миннихметова, Р.И. Хусаинова, И.Е. Николаева, С.С. Литвинов, А.Ф. Кунтузбаев, Э.К. Хуснутдинова, И.Р. Миннихметов</i>	62
П12. Полнофеномный поход к анализу данных GWAS <i>А.Е. Шишов, Ю.А. Барбитов, А.В. Предеус</i>	63
П13. Транскриптомное профилирование глиобластомы и биоинформационный анализ данных <i>С.С. Ковалев, Н.В. Губанова, Р.О. Бабенко, Е.Ю. Леберфарб, Ю.Л. Орлов</i>	64

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Д1. Наиболее частые генетические формы несиндромальной (НТ) и маскирующейся под нее синдромальной тугоухости (СТ), не связанные с коннексином 26

О.Л. Миронович^{1*}, Е.А. Близнец¹, Т.Г. Маркова², М.Р. Лалаянц², Т.В. Маркова¹, Л.А. Бессонова¹, М.С. Петухова¹, О.Н. Макиенко¹, Д.М. Гусева¹, И.В. Анисимова¹, О.П. Рыжкова¹, А.В. Поляков¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

²ФГБУН «Российский научно-практический центр аудиологии и слухопротезирования ФМБА», Москва
mironovich_333@mail.ru

Мотивация и цели: Согласно данным универсального аудиологического скрининга и молекулярных исследований в России распространенность врожденного нарушения слуха высока и равна 3 случая на 1000 новорожденных. Своевременное проведение ДНК-диагностики позволяет как можно раньше выявить причину нарушения слуха и выбрать правильную тактику лечения, что в совокупности гарантирует успешную реабилитацию больного в дальнейшем. В России генетическая структура/причина несиндромальной тугоухости, не связанной с коннексином 26, и многих синдромальных форм ранее не исследовалась. Цель работы: оценить долю наиболее частых в мире генетических форм НТ и маскирующейся под нее СТ, не связанных с коннексином 26, в выборке российских пациентов.

Методы: Методом МПС панели 33 генов, разработанной в лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ МГНЦ, исследованы образцы ДНК 205 неродственных больных с НТ без мутаций в гене *GJB2*, и 10 больных с СТ (с.Пендреда, Ушера, Альстрема, БОР). Из выборки с НТ 25 образцов ДНК исследованы методом количественной MLPA на наличие протяженных делеций/дупликаций в генах *STRC*, *OTOA*.

Результаты: Среди больных с НТ патогенные или вероятно-патогенные варианты обнаружены у 20% (42/205) пациентов в генах: *STRC* (10 пациентов), *USH2A* (6), *SLC26A4* (4), *MYO7A* (4), *OTOF* (4), *POU3F4* (2), *MYO15A* (2) *TECTA* (2), *TMPRSS3* (2), *PTPRQ* (1), *ADGRV1* (GPR98) (1), *TMC1* (1), *LOXHD1* (1), *ACTG1* (1), *OTOA* (1). Для пациентов с синдромальными формами средняя эффективность составила 80% (8/10): выявлены мутации в генах *SLC26A4*, *USH2A*, *MYO7A*, *ALMS1*, *EYA1*. Среди пациентов с НТ в 9% случаев выявлены маскирующиеся синдромальные формы тугоухости, при этом данные формы составили более трети (18/42) всех выявленных генетических форм у пациентов с НТ. Выявлены наиболее частые мутации с.11864G>A, с.2171_2174delTTTG, с.107A>C в генах *USH2A*, *STRC*, *SLC26A4*. Протяженные делеции в генах *STRC* и *OTOA* составили 80% и 50% выявленных мутантных аллелей в данных генах.

Д2. Аллельные варианты генов, ассоциированные с жизнеугрожающими нарушениями ритма, у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией

Н.Н. Чакова^{1*}, С.С. Ниязова¹, С.М. Комиссарова², О.Ч. Мазур¹

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь
n.chakova@igc.by

Мотивация и цели: Желудочковые тахикардии являются значимым фактором риска внезапной сердечной смерти (ВСС) у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП), особенно у лиц молодого возраста. Поскольку они развиваются не у всех пациентов, можно предположить, что наличие жизнеугрожающих аритмий детерминировано не только мутациями в генах, кодирующих

саркомерные белки, но и в генах, контролирующих функционирование ионных каналов. Целью исследования являлся анализ аллельных вариантов в генах, кодирующих белки ионных каналов, у пациентов с ГКМП.

Методы: В исследование были включены неродственные пациенты (41 человек) с ГКМП, у которых при суточном мониторинге ЭКГ были зарегистрированы желудочковые тахикардии. За период наблюдения (медиана 5,5 лет) у 9 пациентов произошла ВСС, у 4 пациентов наблюдались синкопальные состояния, обусловленные эпизодами устойчивой желудочковой тахикардии (ЖТ), и им был имплантирован КД (кардиовертер-дефибриллятор). Генотипирование осуществляли с использованием набора реагентов TruSight Cardio Sequencing Kit (Illumina).

Результаты: У 15 (36,6%) пациентов были обнаружены патогенные или с возможной клинической значимостью мутации в 8 генах, кодирующих белки ионных каналов: p.Arg176Trp (rs36210422), p.Arg885Cys (rs143512106), p.Thr983Ile (rs149955375) в гене *KCNH2*; p.Pro784Ser (rs749935207) у 2 пациентов, p.S1849C (rs531405662) в гене *CACNA1C*; p.Ser159Thr (rs149253719) в гене *CACNB2*; c.477+1G>A (rs762814879), c.74delG (p.Arg25fs), p.Arg259His (rs199472720) в гене *KCNQ1*; p.Val352Met в гене *HCN4*; p.Arg340Gln (rs191009474) в гене *SCN5A*; p.Arg250Cys (rs144208673), p.Trp525Ter (rs71352737) в гене *TRPM4*; p.Ala2499Thr (rs191850147) в гене *RYR2*. Две мутации в генах *KCNQ1* и *HCN4* были обнаружены впервые. У 3 пациентов произошла ВСС, у 1 пациента – реанимация с имплантацией КД, у 5 пациентов имелись случаи ВСС в анамнезе. Только 10 из 15 пациентов имели мутации в саркомерных генах (5 патогенных и 5 VUS).

Заключение: Мутации в генах, кодирующих ионные каналы, способствуют увеличению риска развития жизнеугрожающих аритмий и ВСС у пациентов с ГКМП.

Д3. Анализ мутационного профиля методом таргетного высокопроизводительного секвенирования в диагностике рака щитовидной железы

В.Д. Якушина^{1*}, Т.Ф. Авдеева², Т.П. Казубская^{3,4}, Т.Т. Кондратьева^{3,4}, Л.В. Лернер⁴, А.В. Лавров^{1,5}

¹ФГБНУ «Медино-генетический научный центр», Москва;

²Московская городская клиническая больница им. В.М.Буянова, Москва;

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

⁴ООО «ПреМед», Российская Федерация, Москва;

⁵ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

vdyakushina@gmail.com

Актуальны проблемы низкой чувствительности дооперационной дифференциальной диагностики новообразований щитовидной железы (ЩЖ); отсутствия методов прогнозирования прогрессии и выбора оптимальной стратегии лечения. Доступные в настоящее время тесты, ограниченные мутациями *BRAF*, *K/N/HRAS*, *RET/PTC1,3*, *PAX-PPARG*, позволяют определять не более 75% рака ЩЖ, частота мутаций *BRAF* не превышает 40-60%.

Разработана панель для определения методом высокопроизводительного секвенирования соматических точечных мутаций в 25 генах, CNV (22q, 9q, 1q) и 25 генных перестроек.

Предварительная оценка диагностической чувствительности разработанной панели выполнена *in silico* с помощью портала cBioPortal на образцах папиллярного рака (399) и низкодифференцированного и анапластического рака (117). Тестирование панели выполнено на клеточных линиях SW620 и MCF7. Для оценки аналитической чувствительности проанализирована ДНК нормальной ткани, содержащей 10-0.5% ДНК SW620. Исследованы 15 образцов рака ЩЖ, 3 – доброкачественных новообразований, 11 – нормальной ткани.

Чувствительность разработанной панели, определенная *in silico*, составила 88% при папиллярном раке и 94% при анапластическом. В клеточных линиях корректно определены таргетные варианты, ожидаемые согласно CCLE. Минимальная определяемая доля мутантного аллеля – 3%.

В образцах рака ЩЖ определены мутации *BRAF*, *KRAS* и *IDH1*; перестройки *PAX8-PPARG*, *ETV6-NTRK3*, *NCOA4-RET*; CNVs 22q-del и 9q-del. Распространенность мутаций *BRAF* составила 33%. В нормальной ткани и доброкачественных новообразованиях мутаций не выявлено.

Выводы: Тесты, ограниченные мутациями *BRAF*, *K/N/HRAS*, *RET/PTC1,3*, *PAX-PPARG* обладают низкой диагностической значимостью; разработанная панель позволяет анализировать расширенный спектр мутаций, в том числе недавно описанные перестройки и CNV.

Финансирование: ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (№ 442ГЦ2/9119 СЗ-40846); научно-клинический центр «ПреМед – европейские технологии».

Д4. Биоинформатика больших проектов: проблемы и решения

А.Г. Никитин

ФГБУ Научно-исследовательский институт пульмонологии ФМБА России

avialn@gmail.com

К 2020 году объем хранимых геномных данных в мире превысит объемы данных Twitter, YouTube и Facebook вместе взятых, но технологии обработки этих данных отстают от потребностей науки и медицины. Секвенирование нового поколения генерирует миллиарды коротких нуклеотидных последовательностей и десятки гигабайт данных, а их анализ является не самой простой задачей.

За годы исследований были выработаны рекомендации (например, GATK Best Practices) по надежным методам поиска полиморфизмов и мутаций, но они продолжают оставаться сложными в разработке и поддержке, что ведет к задержкам в интерпретации.

Современные методы обработки геномных данных являются горизонтально-масштабируемыми пайплайнами, основанными на технологиях обработки Big Data, а их применение позволяет избежать узких мест стандартных конвейеров, таких как последовательная обработка образцов, ограничения в точности анализа и невысокая скорость получения итогового результата.

Д5. Второй случай нелетальной микроцефалии 15-го типа в мире, вызванной вариантами в гене *MFS2A*

А.О. Боровиков^{1*}, Г.В. Байдакова¹, О.А. Щагина¹, Е.Р. Толмачева², Ф.А. Коновалов², И.В. Каннивец^{3,4}, Е.Л. Дадали¹

¹ФГБНУ «Медино-генетический научный центр», Москва

²Лаборатория клинической биоинформатики

³ООО «Геномед»

⁴Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

borovikov33@gmail.com

Мотивация и цели: Микроцефалия 15-го типа – редкое заболевание, причиной которого являются гомозиготные или компаунд-гетерозиготные варианты нуклеотидной последовательности в гене *MFS2A*. В двух из трех описанных случаев заболевание протекало с прогрессирующей невроло-

гической симптоматикой и приводило к смерти в младенческом возрасте. Терапевтический подход к данным пациентам не отклонялся от международных стандартов и был симптоматическим.

Методы: Секвенирование экзона пациента было проведено методом парно-концевых прочтений. Выявленные варианты были верифицированы методом прямого секвенирования по Сэнгеру. Уровень лизофосфатидилхолинов (ЛФС) определен методом тандемной масс-спектрометрии из плазмы у всех доступных для исследования членов семьи пробанда.

Результаты: Под нашим наблюдением находился мальчик в возрасте 3 лет, с 48 суток жизни у ребенка наблюдались волнообразные лекарственно-резистентные приступы в виде тонического напряжения длительностью до 30 секунд. По данным осмотра у пробанда микроцефалия (-2SD), стигмы дисэмбриогенеза и выраженная задержка психомоторного развития. При секвенировании экзона были обнаружены два ранее неописанных гетерозиготных миссенс варианта в гене *MFSD2A*: с.787G>T (p.Val263Phe) и с.1016G>A (p.Arg339His). Сегрегационный анализ показал, что варианты находятся в транс-положении. С целью проверки молекулярного диагноза было проведено исследование уровня ЛФС и у пробанда обнаружено значительное повышение ЛФС в крови. Исследование других членов семьи, выявило незначительное повышение ЛФС, которое сегрегует в семье вместе с носительством одно из двух вариантов.

Заключение: По всей видимости выявленные у пробанда варианты не приводят к полной потере функции белка и привело к более легкой клинической картине. С учетом информации о функциональной роли белка *MFSD2A* в организме, пробанду была назначена кетогенная диета с положительным эффектом в виде уменьшения частоты приступов и улучшений в неврологическом статусе.

Д6. Генетические факторы риска хронического панкреатита

К.Ф. Хафизов¹, Е.А. Дубцова², Л.В. Винокурова², К.А. Никольская², Н.А. Бодунова², Е.В. Пимкина³, А.С. Сперанская³, А.Д. Мацвай³, И.Е. Хатьков², Д.С. Бордин², В.Г. Акимкин³, М.М. Литвинова^{2,3,4}

¹ФГБУ «ЦСП» Минздрава России, Москва

²ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ, Москва

³ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

⁴ФГАУ ВО Первый МГМУ им И.М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский Университет), Москва
khafizov@cmd.su

Хронический панкреатит (ХП) занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости органов желудочно-кишечного тракта. На сегодняшний день известны разнообразные факторы риска развития данного заболевания, в том числе важное значение имеет генетическая предрасположенность.

Цель исследования: Оценить вклад генетических факторов в риск развития ХП у пациентов молодого возраста с определением спектра мутаций в анализируемых генах.

Материалы и методы: Из Российского регистра больных ХП было отобрано 99 пациентов с манифестацией заболевания в возрасте до 40 лет (65 мужчин, 34 женщины). Средний возраст проявления болезни составил 27 лет. ДНК больных была генотипирована с использованием NGS на предмет выявления патогенных и вероятно патогенных вариантов в генах *CFTR*, *PRSS1*, *CTRC*, *SPINK1*, *CPA1*, *PRSS2*. В ходе анализа проведено секвенирование всей кодирующей последовательности перечисленных генов, кроме *PRSS2*. Исследование проводилось на платформе Ion S5.

Результаты: В результате проведенного анализа у 60 из 99 пациентов выявлены генетические факторы, потенциально предрасполагающие к развитию ХП. Самой частой находкой стал

диплотип с.180C>T/с.493+52G>A в гене *CTRC*, обнаруженный у 20 пациентов. В целом, патогенные и вероятно патогенные варианты гена *CTRC* были выявлены у 37% больных. В 17% случаев у пациентов найдены мутации гена *CFTR* (в основном не пересекающиеся по своему спектру с мутациями, характерными для классического течения муковисцидоза). У 9% пациентов обнаружены патогенные варианты гена *SPINK1*, у 7% - гена *PRSS1*, у 4% - гена *CPA1*. Все варианты генов – в гетерозиготной форме. Протективный вариант rs61734659 гена *PRSS2* в группе больных обнаружен не был.

Выводы: Разработанная панель с поиском мутаций в генах *CFTR*, *PRSS1*, *CTRC*, *SPINK1*, *CPA1* может эффективно применяться для выявления генетических причин хронического панкреатита. Данные о генотипе пациента в перспективе будут способствовать индивидуальному подходу к лечению и профилактике данного вида патологии.

Д7. Диагностика наследственных опухолевых синдромов методом NGS. Опыт коммерческой лаборатории

А.А. Тихонов¹, А.А. Афанасьев^{1,2}

¹Генетическая лаборатория «Розалинд», Москва

²Биоинформатическая компания «iBinom», Москва
antikhonov.mail@gmail.com

Мотивация и цели: Общепринятый подход к диагностике наследственных опухолевых синдромов основывается на поиске мутаций в ряде генов, связанных с конкретным синдромом, у пациентов с отягощенным онкологическим анамнезом. Такой подход увеличивает фармакоэкономическую эффективность тестирования, однако по ряду причин пропускает некоторых носителей синдромов: (а) не все люди с отягощенным анамнезом направляются на тестирование; (б) фенотип определенного синдрома может быть связан с большим количеством генов, чем считалось ранее, в том числе и с генами других опухолевых синдромов; (с) вследствие неполной пенетрантности большинства синдромов у многих носителей патогенных мутаций отсутствует соответствующий анамнез. Анализ расширенной панели генов, связанных с распространенными опухолевыми синдромами, без предварительного отбора по анамнезу позволяет повысить выявляемость носительства патогенных вариантов.

Методы: Провели секвенирование кодирующих последовательностей и прилежащих интронных участков 42 генов на платформе MiSeq. Интерпретацию проводили согласно российским рекомендациям и ACMG. Патогенные и вероятно патогенные варианты подтверждали секвенированием по Сэнгеру.

Результаты: Исследовали 87 человек. У 14 человек анамнез подходил под критерии направления на тестирование. Было обнаружено 10 патогенных и вероятно-патогенных вариантов и 6 вариантов – факторов риска. У 5-ти пациентов с анамнезом, подходящим под критерии направления на тестирование, обнаружены патогенные варианты. У 1 испытуемого с релевантным анамнезом был выявлен патогенный вариант в гене, связанным с другим опухолевым синдромом. Патогенные и вероятно-патогенные варианты выявлены у 4 пациентов без релевантного анамнеза.

Заключение: В исследовании опухолевые синдромы были выявлены у 5 пациентов, у которых синдром не был бы обнаружен в рамках общепринятого подхода к диагностике. Выявление синдромов у пациентов без релевантного анамнеза требует обсуждения подходов к репортированию результатов.

Д8. Диагностика хромосомных болезней человека на основе комбинации технологий захвата конформации хромосом и массового параллельного секвенирования

В.С. Фишман¹, М.М. Гридина¹, Е.А. Можейко¹, П.С. Белокопытова¹, Л.П. Назаренко², И.Н. Лебедев²

¹Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

²Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия
minja-f@ya.ru

Мотивация и цели: Использование современных методов молекулярной диагностики существенно расширило список известных генетических патологий человека. Однако доступные в клинической практике методы молекулярной генетики, такие как микрочиповой анализ или экзомное секвенирование, способны выявлять лишь ограниченный спектр генетических вариантов. Более чувствительные методы, такие как глубокое полногеномное секвенирование, являются слишком дорогими и поэтому редко используются в диагностике. Целью нашей работы является разработка универсального метода клинической диагностики, способного выявлять различные типы генетических нарушений.

Методы и результаты: Мы предложили новый подход Echo-C для поиска различных типов клинически-значимых вариаций в геноме человека. Предложенный метод включает создание 3С-библиотеки из клеток крови пациента на основе технологии захвата конформации хромосом, её последующего обогащения экзомными последовательностями, секвенирование обогащенных библиотек и биоинформационный анализ данных. Нами отработаны условия приготовления 3С-библиотек и их последующего обогащения. Используя доступные 3С-данные, мы построили биоинформационную модель распределения частот встречаемости молекул в библиотеках, полученных от пациентов с нормальными и перестроенными геномами. Моделирование показало, что секвенирование созданных библиотек позволит эффективно выявлять как точечные полиморфизмы в экзонах, так и хромосомные транслокации. Делеции и дупликации могут быть выявлены в случае, если их границы расположены вблизи экзонов, а сами перестройки имеют достаточно крупный размер (десятки тысяч пар оснований). Кроме того, для интерпретации последствий хромосомных перестроек, мы создали биоинформационный алгоритм 3DPredictor, который позволяет предсказывать изменения промотор-энхансерных взаимодействий в перестроенных геномах.

Заключение: Согласно результатам моделирования, метод Echo-C позволит выявлять разные типы генетических вариаций, в первую очередь точечные мутации в экзонах, хромосомные транслокации и крупные делеции и дупликации в ген-богатых областях. Анализ накопленного практикующими врачами-генетиками клинического материала с помощью метода Echo-C позволит в дальнейшем оценить его диагностическую эффективность на практике. Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 18-29-13021.

Д9. Доля мутаций *de novo* у больных с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка и гипертрофической кардиомиопатией

Е.В. Заклязьминская^{1,2*}, М.Е. Поляк¹, Г.М. Раджабова^{1,3}, Ю.А. Сурикова¹, А.А. Букаева¹, Д.Г. Тарасов⁴, Е.В. Мусатова⁵, И.С. Поволоцкая⁵, С.Л. Дземешкевич¹

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

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова», Москва

³ФГБНУ «Медино-генетический научный центр», Москва

⁴Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии, Астрахань

⁵Центр Генетики и Репродуктивной медицины «Генетико», Москва
zhelene@mail.ru

Мотивация и цели: Гено-фенотипические корреляции при первичных кардиомиопатиях остаются недостаточно разработанными. Доля наследуемых и вновь возникших генетических изменений при этой группе заболеваний напрямую не изучалась.

Методы: В выборку вошли 60 пробандов с синдромом некомпактного миокарда левого желудочка (СНМЛЖ) и 150 пробандов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП). Был выполнен поиск мутаций в целевой панели генов, включавшей гены *MYBPC3*, *TAZ*, *TPM1*, *LDB3*, *MYL2*, *ACTC1*, *MYL3*, *MYH7*, *TNNI3* и *TNNI2* методом полупроводникового секвенирования на платформе IonTorrent. Статус мутаций *de novo* учитывался только если отсутствие мутаций у обоих родителей было подтверждено генетическими методами.

Результаты: «Патогенные» и «вероятно патогенные» генетические варианты были выявлены у 14 пробандов с СНМЛЖ (25%). Мутации в гене *MYH7* были наиболее частой находкой. *De novo* статус был подтвержден для 5 мутаций (29% всех генотип-позитивных случаев и 6.6% в общей когорте больных с СНМЛЖ). Все носители мутаций *de novo* имели существенно более юный возраст манифестации клинических проявлений по сравнению со средним в группе.

«Патогенные» и «вероятно патогенные» генетические варианты были выявлены у 45 пробандов с ГКМП (26%). Подавляющее большинство генетических вариантов было выявлено в генах *MYH7* и *MyBPC3*, что соответствует данным по всему миру. *De novo* статус был подтвержден для 5 (10% всех генотип-позитивных пробандов, и 2.6% всей группы ГКМП). Три мутации, возникшие *de novo*, были выявлены в гене *MYH7* и 1 вероятно патогенный *de novo* был найден в гене *TPM1*. Единственный патогенный *de novo* вариант в гене *MyBPC3* был выявлен в семье, где пробанд был носителем также известной мутации в гене *MYH7*, которую он унаследовал от больной матери. У этого пробанда были ранние тяжелые проявления заболевания. Всего 18 мутаций в гене *MYH7* были выявлены в рамках этого исследования (ГКМП+СНМЛЖ), и 5 из них (28%) из них возникли *de novo*.

Заключение: Мутации *de novo* ответственны за значительную долю случаев СНМЛЖ, и значительно более редки в группе пробандов с ГКМП, несмотря на то, что спектр заинтересованных генов практически полностью перекрывается. Случаи необычно тяжелых проявлений заболевания на фоне относительно «мягкого» течения заболевания могут объясняться наличием дополнительной мутации *de novo* (по крайней мере, в части семей). Мутации *de novo* в гене *MYH7* являются существенным источником высокой частоты первичных кардиомиопатий (до 1:200!) в популяции.

Д10. Значение анализа трио для определения патогенности вариантов, выявленных при массовом параллельном секвенировании

О.А. Щагина*, О.П. Рыжкова, А.В. Поляков

ФГБНУ «Медино-генетический научный центр»

schagina@dnalab.ru

Мотивация и цели: Семейный анализ вариантов, выявленных при МПС, позволяет подтвердить наличие варианта референсным методом, установить цис-транс положение и наследование, что играет важную роль в определении патогенности. Целью данной работы было исследовать диагностическую значимость анализа трио вариантов, выявленных при МПС.

Методы: Секвенированием по Сенгеру был проведен анализ 396 вариантов, выявленных при МПС в 333 различных генах у 311 трио. В 63 случаях были выявлены 2 варианта, в 32 – 1 вариант в гомо/гемизиготном состоянии в генах с рецессивным наследованием, в 238 – 1 вариант в гене с

доминантным наследованием.

Результаты: Наличие 387 из 396 (98%) исследованных вариантов было подтверждено секвенированием по Сенгеру. Из 94 подтвержденных случаев предположительно рецессивного наследования изначально 63 (67%) были классифицированы как патогенные/вероятно патогенные, 31 – неопределенного значения. По результатам анализа 2 случая были исключены из категории патогенных/вероятно-патогенных, а 18 перешли в категорию патогенных/вероятно патогенных из категории неопределенного значения. Итоговое число случаев с установленной генетической причиной болезни, составило 79 (84%). Из 230 подтвержденных случаев предположительно доминантного наследования, в 88 (38%) варианты были классифицированы как патогенные/вероятно патогенные. По результатам семейного анализа патогенность 4 вариантов была снижена до неопределенного значения, 2 до вероятно доброкачественных. В 32 случаях варианты неопределенного значения приобрели статус патогенных/вероятно-патогенных, в 16 вероятно-доброкачественных. Таким образом, при предположительно доминантном наследовании установить молекулярно-генетический диагноз удалось в 114 (50%) случаях, 18 вариантов перешли в категорию вероятно-доброкачественных.

Заключение: Исследование трио позволяет уточнить патогенность выявленных при МПС вариантов. По результатам анализа патогенность вариантов изменена в 74 (23%) случаях.

Д11. Исследование полного спектра мутаций, приводящих к гиперфенилаланиемиям в Российской Федерации

И.А. Кузнецова¹, П. Гундорова¹, О.П. Рыжкова¹, А.В. Поляков¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва
lradris@yandex.ru

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

Материалы и методы: В лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ» исследованы образцы 1265 (2530 хромосом) неродственных пробандов с входящими диагнозами ФКУ и ГФА, которым ранее проводился поиск 25 частых мутаций в гене PAH. В настоящем исследовании проанализировано 293 пробанда с неподтвержденным диагнозом. У 259 пробандов выявлена одна мутация, еще у 34 мутаций не обнаружено. Поиск мутаций осуществлялся методом высокопроизводительного секвенирования (ВПС) с использованием кастомной панели, включающей гены *PAH*, *PTS*, *GCH1*, *PCBD1*, *QDPR*, *SPR* и *DNAJC12*. Проводился поиск протяженных делеций и дупликаций гена *PAH* методом MRC-Holland MLPA.

Результаты: Проанализировано 327 хромосом без выявленных мутаций. На 260 хромосомах методом ВПС обнаружены мутации в гене *PAH*, на 10 хромосомах – мутации в гене *PTS*. Методом MRC-Holland MLPA выявлены протяженные делеции в гене *PAH* на 10 хромосомах. На 48 хромосомах мутаций не выявлено. Найдено 104 редких варианта гена *PAH*, в том числе 10 ранее не описанных вариантов, и 6 вариантов гена *PTS*. На долю ВН4-дефицитных форм в данной работе приходится 0,4% от всех форм ГФА.

Заключение: Проведенное исследование позволит оптимизировать существующий протокол диагностики гиперфенилаланиемий. Полученные данные позволили выявить редкие мутации гена *PAH* и установить долю тетрагидробиоптерин-зависимых форм гиперфенилаланиемий в России.

Д12. Исследование спектра мутаций, приводящих к синдрому Нунан и другим расопатиям в Российской Федерации

А.А. Орлова^{1*}, О.П. Рыжкова¹, А.В. Поляков¹

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва
annaf-orlova@yandex.ru

Мотивация и цели: Синдром Нунан (СН) – группа генетически гетерогенных заболеваний вызываемых мутациями в генах RAS-MAPK сигнального пути, известного как важный каскад передачи сигнала от клеточной мембраны к ядру. Данный каскад участвует в циклах клеточной дифференцировки, росте, органогенезе, синаптической пластичности и т.д. Разные белки являются ключевыми в различных типах тканей, поэтому проявления синдромов, связанных с мутациями в генах данного пути могут быть различны. Ранее считалось, что около 50% наследственных форм СН вызваны мутациями в 3, 7, 12 и 13 экзонах гена *PTPN11*. Информативность исследования «горячих» экзонов составляла 14% по данным Лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ» для 353 образцов. Целью исследования было установить информативность кастомной панели.

Материалы и методы: В лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «МГНЦ» исследованы образцы 135 неродственных пробандов с входящими диагнозами Синдром Нунан, синдром LEOPARD, Синдром Костелло, задержка роста, которым ранее не проводился поиск мутаций в «горячих» экзонах гена *PTPN11*. Поиск мутаций осуществлялся методом массового параллельного секвенирования (МПС) с использованием кастомной панели, включающей гены *NRAS*, *RIT1*, *SHOC2*, *CBL*, *PTPN11*, *HRAS*, *KRAS*, *A2ML1*, *SOS2*, *SPRED1*, *MAP2K1*, *MAP2K2*, *PPP1R13L*, *SOS1*, *WDR35*, *LZTR1*, *RAF1*, *RASA2*, *IFT80*, *NEK1*, *RASA1*, *BRAF*, *NF1*.

Результаты: Результаты получены для 127 образцов. Обнаружено 56 патогенных или вероятно патогенных вариантов. В том числе 23 патогенных варианта в гене *PTPN11*, что составляет 41% среди всех выявленных вариантов, что ниже ранее предполагаемого уровня мутаций в данном гене среди больных. Общая информативность составила 44%.

Заключение: Проведенное исследование позволяет утверждать, что применяемые ранее методы выявления мутаций методом прямого секвенирования нескольких экзонов гена *PTPN11* не являются достаточными, и для установки точного диагноза необходим больший охват генов, входящих в сигнальный путь.

Д13. Клинический случай синдрома Питта-Хопкинса, подтвержденный с помощью функционального анализа

П.А. Спарбер^{1*}, А.Ю. Филатова¹, В.Ю. Табаков¹, И.В. Анисимова¹, М.Ю. Скоблов^{1,2}

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»

²Дальневосточный федеральный университет (ДФУ)
psparber93@gmail.com

Мотивация и цели: Часто даже после проведения высокопроизводительных и дорогостоящих методов диагностики, таких как массовое параллельное секвенирование (MPS), не удается выявить причину наследственного заболевания у пациента. Многие выявленные кандидатные

варианты нуклеотидной последовательности по разным причинам так и остаются «вариантами неясного клинического значения» или «вероятно патогенными». В таких случаях единственным достоверным способом установить правильный молекулярно-генетический диагноз является функциональный анализ. Целью данной работы было проведение функционального анализа интронного варианта в гене *TCF4*, выявленного у пробанда в результате полноэкзомного секвенирования, для подтверждения диагноза – синдром Питта-Хопкинса

Методы: Полноэкзомное секвенирование было проведено в лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ на приборе MiSeq (Illumina, USA). Выявленный интронный вариант в гене *TCF4* - NM_001083962.1: c.922+5G>C был подтвержден с помощью секвенирования по Сенгеру. Первичная культура фибробластов была получена из материала биопсии кожи тыльной поверхности предплечья. Выделение тотальной РНК было осуществлено с использованием коммерческого набора ExtractRNA (Евроген, Россия). Исследование нарушения сплайсинга пре-мРНК было проведено с помощью ОТ-ПЦР РНК фибробластов пробанда, а также с использованием системы экспрессии минигена *TCF4* в модельной клеточной линии HEK293T.

Результаты: В ходе полноэкзомного секвенирования у пробанда был выявлен ранее неописанный вариант NM_001083962.1: c.922+5G>C в гене *TCF4*, ассоциированном с синдромом Питта-Хопкинса. Секвенирование по Сенгеру в ядерной семье, установило его статус *de novo*. Функциональный анализ найденного варианта в первичной культуре фибробластов пробанда, а также с использованием системы экспрессии минигена показал, что данный вариант приводит к пропуску 11 экзона и как следствие к сбивке открытой рамки считывания (p.Ser264GlnTer81).

Заключение: Функциональный анализ с использованием двух разных подходов установил патогенность ранее неописанного варианта c.922+5G>C в гене *TCF4*.

Д14 (Workshop). Медико-генетическое консультирование при использовании современных методов геномного анализа для диагностики наследственных болезней

Н.А. Семенова*, А.О. Боровиков, Е.Л. Дадали, В.Л. Ижевская, С.И. Куцев

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва
semenova@med-gen.ru

В настоящее время все более важное значение в диагностике наследственных заболеваний приобретает применение высокопроизводительных методов секвенирования ДНК/РНК. Результаты этих исследований требуют проведения тщательной интерпретации полученных данных врачом-генетиком, подробного изучения генеалогических данных, клинико-генетических корреляций и анализа литературы, направленных на подтверждение диагноза. Иногда, среди «находок» секвенирования могут оказаться изменения в генах таких заболеваний, которые дебютируют в более позднем возрасте, и врач оказывается в ситуации, когда диагностирует болезнь у пациента еще на доклинической стадии. Таким образом, полученные данные секвенирования могут оказаться неожиданными для врача и пациента, что требует грамотного медико-генетического консультирования не только после, но и до проведения анализа.

Таким образом, новые технологии существенно увеличивают требования к медико-генетическому консультированию и, в частности, к квалификации врача-генетика. Актуальным является разработка и принятие современных рекомендаций по проведению медико-генетического консультирования, включающих в себя содержание предоставляемой пациенту информации, форму направления на полноэкзомное/полногеномное секвенирование и другие положения, а также алгоритм дальнейшего обследования пробанда и членов его семьи, необходимых для уточнения диагноза.

Д15. Молекулярно-генетическое исследование фенилкетонурии среди пациентов из Грузии

П. Гундорова^{1*}, И.А. Кузнецова¹, Д. Агладзе², Л. Маргвелашвили³, Е. Квдиашвили⁴, О. Квли-видзе^{4,5}, С.И. Куцев¹, А.В. Поляков¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

²Исследовательский институт клинической медицины, Тбилиси

³Детская Новая Клиника, Тбилиси

⁴Нью Вижен Университет, Тбилиси

⁵Грузинский Фонд генетических и редких заболеваний, Тбилиси

p_gundorova@inbox.ru

Мотивация и цели: Фенилкетонурия – наследственная патология обмена веществ, обусловленная дефицитом фермента фенилаланингидроксилазы. В рамках Государственной программы лечение получают 156 пациентов с ФКУ и ГФА, общее число пациентов с ФКУ и ГФА в Грузии составляет 342 человека. Молекулярно-генетическое обследование пациентов с ФКУ и ГФА из Грузии ранее не проводилось.

Методы: Исследован материал 140 пробандов с диагнозом «ФКУ». Пациентам выполнен поиск 25 частых мутаций гена *PAH* методом аллель-специфичной MLPA, анализ методом высокопроизводительного секвенирования с использованием панели «PKU» AmpliSeq, включающей гены *PAH*, *PTS*, *GCH1*, *PCBD1*, *QDPR*, *SPR* и *DNAJC12*, и поиск протяженных делеций и дупликаций гена *PAH*.

Результаты: Частые мутации выявлены на 241 из 279 (86,4%) исследуемых хромосом. Наиболее частой мутацией среди пациентов из Грузии является p.Pro281Leu, аллельная частота 33,7%. Другие распространенные варианты: IVS10-11G>A – 21,1%, p.Arg261* – 8,6%, p.Leu48Ser – 4,3%, p.Arg261Gln – 3,6%, p.Arg408Trp – 3,2%. ДНК 32 пробандов, у которых не были выявлены патогенные варианты на обоих аллелях, была исследована методом ВПС. Обнаружены мутации на 32 из 38 исследуемых хромосом. Крупных перестроек в гене *PAH* не обнаружено.

По результатам всех этапов диагностики, две мутации в гене *PAH* обнаружены у 135 пробандов (96,4%), одна мутация у 4 (2,9%) пробандов, мутаций не обнаружено у 1 пробанда (0,7%).

Заключение: Среди пациентов не выявлено ВН4-зависимых форм ГФА. Система поиска частых мутаций гена *PAH*, изначально предназначенная для диагностики пациентов из РФ, оказалась высоко эффективна для диагностики пациентов из Грузии. Уникальное распределение частот мутаций отражает такие характеристики исследуемой популяции как высокая генетическая и демографическая однородность, частичная изолированность. Распространенные варианты встречаются в популяциях, проживающих на приграничных территориях, что отражает наличие в прошлом миграционных потоков между этими территориями.

Д16. Мутация гена *SLC25A4*, переносчика АДФ/АТФ, у пациента с дилатационной кардиомиопатией

Л.Н. Сивицкая^{1*}, Н.Г. Даниленко¹, Т.Г. Вайханская², О.Д. Левданский¹, Д.П. Ермакович¹, Т.В. Курушко², О.Г. Давыденко¹

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

²Республиканский научно-практический центр «Кардиология», ул. Р. Люксембург, 110, 220036, г. Минск, Беларусь

cytoplasmic@mail.ru

При исследовании группы пациентов с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП) методом NGS (TrueSight Cardio Sequencing Kit, Illumina Inc) с целью определения генетических причин развития заболевания, был выявлен гетерозиготный носитель варианта с.С368А (p.A123D, rs121912683) в гене *SLC25A4*, кодирующем митохондриальный переносчик АДФ/АТФ.

ДКМП с признаками некомпактного строения миокарда левого желудочка диагностировали у пробанда Б. в возрасте 44 лет. Через 19 месяцев выполнена трансплантация сердца в связи с прогрессированием сердечной недостаточности, резистентной к терапии. Пациент не жаловался на боли и слабость в скелетных мышцах; повышения уровня сывороточной КФК не отмечалось. Семейный анамнез отягощен смертью матери в возрасте 42 лет от ДКМП.

Мутации в *SLC25A4* могут проявляться разными фенотипами, один из которых синдром истощения митохондриальной ДНК 12А (кардиальный тип) с аутосомно-доминантным наследованием. Истощение мтДНК у пациента Б. было оценено методом qPCR на образце ДНК, полученном из буккального эпителия. Снижение количества копий митохондриального генома не обнаружено.

Анализ опубликованных случаев, ассоциированных с мутациями в *SLC25A4*, выявил вариативность клинических проявлений. В большинстве работ кардиальный фенотип четко не дифференцирован, а возраст манифестации заболевания, проявления миопатии и истощения мтДНК варьируют в широком диапазоне. Ряд исследователей выявляют множественные делеции мтДНК при мутациях в *SLC25A4*. Не изучен вопрос о субклиническом количестве копий и/или делеций митохондриального генома у бессимптомных носителей.

Функциональный анализ варианта p.A123D выполнен Palmieri L. et al. (2005). Показано, что эта мутация является loss-of-function и ассоциирована с делециями мтДНК в скелетных мышцах. Вопрос о механизмах ее реализации, т.е. в каком случае нарушения в *SLC25A4* приводят к деплеции мтДНК и ранним фатальным исходам, а в каком – к множественным делециям и более медленному прогрессированию заболевания, пока остается открытым.

Д17. Наследственные болезни скелета: диагностика с применением таргетных панелей международного и российского опыта

Т.С. Нагорнова, Т.В. Маркова, Е.Ю. Захарова

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»

Наследственные болезни, сопровождающиеся патологией скелета – обширная группа заболеваний, характеризующаяся прогрессирующим течением, выраженным клиническим полиморфизмом, в том числе и в пределах отдельных нозологических форм (диастрофическая дисплазия, множественная эпифизарная дисплазия, спондилоэпифизарная дисплазия и др.). Сложной является ранняя диагностика многих заболеваний, когда клиническая картина не сформировалась полностью и присутствуют только неспецифические признаки (задержка роста, диспропорциональное строение скелета).

Внедрение в практику технологии секвенирования нового поколения расширяет возможности диагностики наследственных болезней скелета, позволяет объяснить клинко-рентгенологический фенотип пациента и этиопатогенез заболевания. Открывает новые возможности их пренатальной диагностики и разработки новых технологий лечения.

В ходе исследования проанализированы образцы 261 пациента с подозрением на наследственную патологию скелета. Проведен анализ 166 генов ответственных за развитие костной патологии, методом таргетного секвенирования на основе технологии Ampliseq.

В результате анализа 110 пациентам установлены диагнозы, у 31 – диагноз неоднозначен (выявлены мутации с неизвестным клиническим значением или нет соответствия между

выявленными изменениями и клинической картиной у пациента), у 120 – диагноз не установлен. В группе пациентов с установленным диагнозом преобладает подгруппа с несовершенным остеогенезом (42/110; 38,18%). Следующие, наиболее частые заболевания обнаруженные с использованием панели генов, – синдром Марфана (15/110; 13,6%), рахитоподобные заболевания (13/110; 11,8%) и спондилоэпифизарная дисплазия (9/110; 8,18%). Выявлено и ряд редких форм болезней, ранее не верифицируемых на молекулярном уровне в Российской Федерации.

Варианты нуклеотидной последовательности, описанные в базах данных по мутациям человека (HGMD) составили 35% (73 варианта). Остальные варианты (210 вариантов) выявленные при анализе данных секвенирования ранее не встречались в базах данных по мутациям человека. Это указывает на необходимость разработки тест-систем для их функционального анализа.

Таким образом, таргетное секвенирование при подозрении на наследственную костную патологию является как эффективным методом диагностики, так и позволяет расширить представления о генетических особенностях этой группы наследственных болезней.

Д18. Наследственные эндокринопатии с дигенным наследованием: правомочен ли диагноз?

А.Н. Тюльпаков

ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России

anatolytulpakov@gmail.com

При обследовании пациентов с подозрением на наследственную патологию с использованием NGS нередко выявляются варианты в 2 или более генах-кандидатах, что позволяет обсуждать дигенный или олигогенный механизмы развития заболевания. В сообщении рассматриваются случаи дигенного наследования, представленные в литературе, а также обсуждаются собственные результаты, полученные при обследовании пациентов с врожденным гипотиреозом, гипогонадотропным гипогонадизмом и сахарным диабетом.

Д19. Новая проблема, созданная распространением метода NGS для ПГТ - интерпретация хромосомного мозаицизма у эмбрионов на доимплантационных стадиях развития

Е.В. Мусатова^{1,2*}, В.С. Каймонов¹, И.В. Миронова¹, Н.О. Либман¹, Т.Г. Хряпенкова³, Е.А. Померанцева¹

¹Центр генетики и репродуктивной медицины «Генетико», Москва

²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

³Дом планирования семьи GMS ЭКО, Москва

musatova@genetico.ru

Мотивация и цели: Доля образцов биопсии трофэктодермы, содержащих анеуплоидии в мозаичной форме, увеличилась с момента применения NGS-анализа для целей ПГТ-А. Частота обнаружения образцов с мозаичными формами анеуплоидий широко варьирует, и в зависимости от клиники, представляющей свои данные, может быть от 4 до 44%. В настоящей работе проанализирована частота хромосомного мозаицизма, детектируемого методом NGS в материале биопсии трофэктодермы, полученных из разных клиник ЭКО (анонимизированные данные).

Методы: В работе проанализированы данные по молекулярным кариотипам образцов биопсии трофэктодермы, полученные в рамках проведения ПГТ-А методами NGS (Veriseq, Illumina) и aCGH (Cytochip, Illumina).

Результаты: При анализе частоты хромосомного мозаицизма в образцах трофэктодермы эмбрионов, полученных с использованием ооцитов доноров, не наблюдается статистически

значимой разницы между сравниваемыми клиниками ЭКО. При этом очевидно увеличение доли мозаичных эмбрионов при использовании NGS-анализа в каждой клинике по сравнению с долей мозаичных эмбрионов, полученных с помощью ооцитов доноров и проанализированных методом aCGH. Также в рамках представленной работы будут продемонстрированы примеры NGS- профилей, где наблюдаемое отклонение сигнала от нормы в мозаичной форме вероятно имеет природу методологического артефакта. Проведена работа по оценке риска получения некорректных результатов ПГТ-А вследствие хромосомного мозаицизма как биологического феномена, показывающая, что мозаицизм - редкое событие и хромосомные наборы большинства образцов биопсии трофобласта и внутренней клеточной массы совпадают.

Заключение: Данные о хромосомном мозаицизме, получаемые в процессе ПГТ-А, могут представлять собой и биологический феномен, и методологический артефакт. Изучение закономерностей возникновения хромосомного мозаицизма является важным аспектом, позволяющим проводить оценку вероятности получения некорректных результатов ПГТ-А, повышать эффективность протоколов ЭКО.

Д20. Новая синдромальная форма умственной отсталости, связанная с loss of function - мутациями гена ZMYM2

В.Ю. Воинова*, И.С. Поволоцкая, Н.В. Щербакова

Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. Ю.Е.Вельтищева ГБОУ ВПО РНИМУ им. Пирогова Минздрава России, Москва
vivoinov@yandex.ru

Мотивация и цели: ZMYM2 представляет собой ядерный белок, имеющий в структуре 10 цинковых пальцев MYM-типа и 2 сигнала ядерной локализации. ZMYM2 выступает в качестве ко-репрессора транскрипции, взаимодействуя с различными ядерными рецепторами. Тем не менее, мутации гена ZMYM2 никогда ранее не были связаны с заболеваниями человека.

Методы: Полноэкзомное секвенирование с последующим биоинформатическим анализом проведено у больной 2х лет с отставанием психомоторного развития, задержкой роста и множественными микроаномалиями.

Результаты: Выявлена *de novo* вставка одного нуклеотида, приводящая к сдвигу рамки считывания и последующей преждевременной терминации трансляции в гене ZMYM2. С помощью ресурса GeneMatcher нами была определена еще 21 семья из разных стран, у которых наблюдались патогенные генетические варианты в ZMYM2. Гено-фенотипические корреляции указывали, что с миссенс-мутациями гена ZMYM2 (9/22 больных) связаны аномалии почек при нормальном интеллекте. Loss-of-function (LOF) мутации (13/22 больных) связаны с нарушениями психомоторного и речевого развития, задержкой роста и микроцефалией, комплексом микроаномалий (телекант, короткие глазные щели, широкие брови, широкий кончик носа, ушные раковины с гипоплазией мочек, клинодактилия 5 пальцев кистей). У 5/13 больных с LOF-мутациями, так же, как и при миссенс-мутациях, были выявлены аномалии почек, в том числе с помощью обратного фенотипирования, однако у 7/13 пациентов, включая нашу больную, УЗИ почек не выявило патологических изменений. С помощью иммунофлуоресценции было продемонстрировано, что белок ZMYM2 в культурах клеток с LOF-мутациями утрачивает свою ядерную локализацию, в отличие от клеток с миссенс-мутациями, что коррелирует с различиями фенотипических проявлений для миссенс- и LOF-мутаций гена ZMYM2.

Заключение: Таким образом, определена связь мутаций гена ZMYM2 с фенотипом, включающим нарушения психомоторного, физического развития, аномалии почек и специфический комплекс микроаномалий.

Д21 (Workshop). Ночной кошмар NGS-лабораторий: контаминация и перепутанные образцы. Как это выявить и предотвратить?

Ф.А. Коновалов

Лаборатория Клинической Биоинформатики
fedorkonov@yandex.ru

Тесты на основе NGS являются последней линией молекулярной диагностики и обычно выполняются один раз в жизни пациента. Очевидно, что даже при небольшом потоке в любой лаборатории существует вероятность случайной замены или контаминации образца на различных стадиях, от сбора биоматериала и пробоподготовки до анализа данных и выдачи результатов исследования. В случае экзомного или геномного секвенирования ущерб от таких случаев является критическим, проявляя себя по-разному в случае положительного и отрицательного результатов исследования. На воркшопе мы обсудим, как выявлять такие случаи постфактум, и какими способами в рамках подготовки библиотек и анализа данных NGS можно надежно их предотвращать.

Д22. Определение редких вариантов перестроек гена KMT2A у детей с острыми лейкозами с использованием якорной мультиплексной ПЦР

Е.А. Зеркаленкова¹, С.А. Лебедева^{1,2}, А.В. Панферова¹, А.Н. Казакова¹, О.И. Солдаткина¹, Л.В. Земцова¹, Н.М. Тимофеева¹, Г.А. Новичкова¹, А.А. Масчан¹, М.А. Масчан¹, Ю.В. Ольшеванская¹

¹ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва
eazerkalenkova@gmail.com

Мотивация и цели: Перестройки гена KMT2A (lysine methyltransferase 2A, ранее MLL), наблюдаются в 5-10% случаев острых лейкозов (ОЛ) и наиболее характерны для детей первого года жизни (70-80% ОЛ). Для KMT2A описано 94 гена-партнера; от природы гена-партнера зависит прогноз выживаемости. На сегодняшний день стандартной методикой поиска гена-партнера является длинная инвертированная ПЦР (ДИ-ПЦР) [Meyer et al., 2005], однако она имеет ряд ограничений из-за стохастического распределения сайтов рестрикции в геноме. Целью данной работы являлся поиск генов-партнеров у пациентов с редкими перестройками KMT2A при негативной ДИ-ПЦР с помощью якорной мультиплексной ПЦР.

Методы: Исследование было проведено на 8 образцах костного мозга от пациентов с KMT2A-положительными ОЛ, у которых отсутствовали 8 основных генов-партнеров по ПЦР с обратной транскрипцией и стандартная ДИ-ПЦР не выявила перестроенных аллелей KMT2A. Природу гена-партнера определяли высокопроизводительным секвенированием на приборе Illumina MiSeq после подготовки библиотек из РНК с таргетным обогащением Archer® FusionPlex® (Illumina).

Результаты: KMT2A-химерные транскрипты были обнаружены у 7 пациентов. В 2 случаях известных хромосомных перестроек им были сопоставлены следующие транскрипты: KMT2A-SEPT9 при t(11;17)(q23;q25) и KMT2A-BTK при t(X;11)(q22;q23). При комплексном либо нормальном кариотипе были найдены KMT2A-USP2, KMT2A-GAS7 и 2 реципрокных транскрипта с генами-партнерами CPT1C, LDHA, причем в 3 случаях точки разрыва KMT2A локализовались вне главного кластера. Также был подтвержден химерный транскрипт у пациента с t(10;11)(p12;q23)/KMT2A-NEBL, найденным ранее методом ДИ-ПЦР [Zerkalenkova et al., 2019].

Заключение: Якорная мультиплексная ПЦР с высокой точностью выявляет различные KMT2A-химерные транскрипты, что позволит модифицировать ДИ-ПЦР для определения интронных точек разрыва. Исследование было поддержано грантом РФФИ №17-29-06052.

Д23. Опыт исследования хромотриписа в биоинформатике**Д.С. Буг^{*}, Н.В. Петухова, Т.Л. Гиндина, А.В. Тишков**

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург
bug.dmitrij@gmail.com

Введение: Хромотриписис - недавно описанный биологический феномен, для которого свойственен массивный распад отдельных хромосом с последующим хаотичным их восстановлением из фрагментов. Он характеризуется следующими признаками: (1) все изменения являются последствиями единственного события в клетке, (2) появлением кольцевых хромосом, часто содержащих онкогены, (3) наблюдаются все четыре возможные комбинации расположения сегментов хромосом. Хромосомные аномалии подобного рода встречаются в 2-3% случаев различных опухолей.

Цель: На основании данных полногеномного секвенирования ДНК у больного с цитогенетически выявленным хромотриписисом апробировать современные методики доказательства этого феномена с использованием современных программ биоинформатики.

Методы: Для обработки данных полногеномного секвенирования этой ДНК были использованы программы: FastQC, TrimmomaticPE, BWA, SAMtools и GATK, ориентированные на результаты цитогенетических исследований.

Результаты: В ходе первого этапа работы акцент был сделан на оценке возможностей основных программ, используемых для обнаружения хромотриписа: ShatterProof и CTLPScanner, которые ориентируются на наличие вариаций числа копий кратности 1 и 2, транслокаций, инделов и потерю гетерозиготности. Согласно предварительным данным были выявлены комплексные хромосомные перестройки, в том числе сложная делеция 15q и производная хромосомы 21.

Заключение: Успешное проведение первого этапа работы дает надежду, что с помощью вышеописанных биоинформатических методов будет получена окончательная картина повреждений генома в этом наблюдении, что в дальнейшем позволит использовать приобретенный опыт для проведения подобного анализа у онкогематологических больных с менее очевидными цитогенетическими признаками хромотриписа.

Д24 (Workshop). Особенности консультирования пациентов с наследственными формами рака молочной железы (PMЖ) по результатам исследования, полученные методом NGS**В.А. Румянцева^{1,2*}, Е.А. Новикова¹, Е.Н. Тельшева¹, Н.Н. Новицкая¹, Е.Д. Хазинс¹, Е.Г. Шайхаев¹, Г.П. Снигирева¹**¹ФГБУ Российский научный центр рентгенодиагностики, Москва²ФГБУ Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского, Москва
vicrumyan@gmail.com

Мотивация: Точная идентификация генетической формы наследственного PMЖ позволяет вносить существенные изменения в тактику проводимого лечения: изменять объем и радикальность хирургического лечения, назначать таргетную и лучевую терапию, проводить профилактические операции мастэктомии, сальпингоооариэктомии. В связи с этим на врача-генетика, консультирующего по результатам исследования, выполненного методом NGS, ложится большая ответственность, так как выявление большого числа вариантов с неизвестным клиническим значением (VUCS) может направить клинициста по ложному пути.

Цель работы: Изучить частоту и спектр наследственных мутаций у больных PMЖ.

Методы: Исследование проводили с помощью панели TruSight Cancer ("Illumina", США). Выявленные методом NGS генетические варианты были верифицированы методом секвенирования по Сэнгеру.

Результаты: Метод NGS позволил у 193 больных PMЖ, выполняющих критерии онкоотягощенности, выявить 14% редких патогенных мутаций в генах *BRCA1/2*. У 12% пациентов были выявлены патогенные варианты в генах *CHEK2*, *ATM*, *PALB2*, *BLM*, *MUTYH*, *ERCC2*, *ERCC3*, *FANCM*, *PTCH1* и *MITF*. Еще у 14% больных были выявлены VUCS в генах *BRCA1/2*. Соотношение сигнал-шум 1:1.

Заключение: Применение технологии NGS упрощает анализ таких протяженных генов как *BRCA1* и *BRCA2*, а также позволяет выявлять возможные сочетания с заменами в других генах. Тщательный анализ вновь выявленных вариантов и создание единого регистра всех генетических вариантов, обнаруженных у российских больных с наследственным PMЖ: патогенных замен, неописанных замен, замен с неизвестным клиническим значением, поможет в будущем разрабатывать персонализированные протоколы лечения и медико-генетического консультирования.

Д25 (Workshop). Оценка патогенности вариантов нуклеотидной последовательности**П.А. Спарбер^{1*}, А.В. Марахонов¹, М.Ю. Скоблов^{1,2}**¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»²Дальневосточный федеральный университет (ДФУ)
psparber93@gmail.com

Использование методов массового параллельного секвенирования (MPS) в клинической практике значительно повысило эффективность ДНК-диагностики у пациентов с наследственной патологией. Однако с более широким внедрением методов MPS на первый план вышла проблема интерпретации ранее неописанных вариантов нуклеотидной последовательности. Для стандартизации данного процесса зарубежными и отечественными специалистами были написаны руководства по интерпретации данных, полученных методами MPS. На клинических примерах из практики врачей-генетиков МГНЦ будут рассмотрены различные случаи оценки патогенности выявленных вариантов нуклеотидной последовательности, как простые, так и более сложные, требующие более внимательного анализа. Для облегчения работы с критериями патогенности разбор будет осуществляться с применением онлайн-калькулятора патогенности, разработанного в лаборатории функциональной геномики МГНЦ.

Д26. Поиск редких безвредных аллелей с большим эффектом в финской популяции
Locke, Adam E^{1,2,3}; Meltz Steinberg, Karyn^{2,4}; Chiang, Charleston WK^{5,6}; Service, Susan K⁵; Havulinna, Aki S^{7,8}; Stell, Laurel⁹; Pirinen, Matti^{7,10,11}; Abel, Haley J^{2,12}; Chiang, Colby C²; Fulton, Robert S²; Jackson, Anne U³; Kang, Chul Joo²; Kanchi, Krishna L²; Koboldt, Daniel C^{2,13,14}; Larson, David E^{2,12}; Nelson, Joanne²; Nicholas, Thomas J^{2,15}; PietilK, Arto⁸; Ramensky, Vasily^{5,16*}; Ray, Debashree^{3,17}; Scott, Laura J³; Stringham, Heather M³; Vangipurapu, Jagadish¹⁸; Welch, Ryan³; Yajnik, Pranav³; Yin, Xianyong³; Eriksson, Johan G^{19,20,21}; Ala-Korpela, Mika^{22,23,24,25,26,27}; Jarvelin, Marjo-Riitta²⁸⁻³²; Mannikko, Minna^{29,33}; Laivuori, Hannele^{7,34,35}; Dutcher, Susan K^{2,12}; Stitzel, Nathan O^{2,36}; Wilson, Richard K^{2,13,14}; Hall, Ira M^{1,2}; Sabatti, Chiara^{9,37}; Palotie, Aarno^{7,38,39}; Salomaa, Veikko⁸; Laakso, Markku^{18,40}; Ripatti, Samuli^{7,10,39}; Boehnke, Michael³; Freimer, Nelson B⁵

¹Department of Medicine, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO²McDonnell Genome Institute, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO

³Department of Biostatistics and Center for Statistical Genetics, University of Michigan School of Public Health, Ann Arbor, MI

⁴Department of Pediatrics, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO

⁵Center for Neurobehavioral Genetics, Jane and Terry Semel Institute for Neuroscience and Human Behavior, University of California Los Angeles, Los Angeles, CA

⁶Center for Genetic Epidemiology, Department of Preventive Medicine, Keck School of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, CA

⁷Institute for Molecular Medicine Finland (FIMM), University of Helsinki, Helsinki, Finland

⁸National Institute for Health and Welfare, Helsinki, Finland

⁹Department of Biomedical Data Science, Stanford University, Stanford, CA

¹⁰Department of Public Health, University of Helsinki, Helsinki, Finland

¹¹Helsinki Institute for Information Technology HIIT and Department of Mathematics and Statistics, University of Helsinki, Helsinki, Finland

¹²Department of Genetics, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO

¹³The Institute for Genomic Medicine, Nationwide Children's Hospital, Columbus, OH

¹⁴Department of Pediatrics, The Ohio State University College of Medicine, Columbus, OH

¹⁵USTAR Center for Genetic Discovery and Department of Human Genetics, University of Utah, Salt Lake City, UT

¹⁶Moscow Institute of Physics and Technology, Institutsky 9, Dolgoprudny, Moscow Region, Russian Federation

¹⁷Departments of Epidemiology and Biostatistics, Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University, Baltimore, MD

¹⁸Institute of Clinical Medicine, Internal Medicine, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

¹⁹Department of Public Health Solutions, National Institute for Health and Welfare, Helsinki, Finland

²⁰Folkhälsan Research Center, Helsinki, Finland

²¹Department of General Practice and Primary Health Care, University 46 of Helsinki, Helsinki and Helsinki University Hospital, Helsinki, Finland

²²Systems Epidemiology, Baker Heart and Diabetes Institute, Melbourne, Victoria, Australia

²³Computational Medicine, Faculty of Medicine, University of Oulu and Biocenter Oulu, University of Oulu, Oulu, Finland

²⁴NMR Metabolomics Laboratory, School of Pharmacy, University of Eastern Finland, Kuopio, Finland

²⁵Population Health Science, Bristol Medical School, University of Bristol, Bristol, UK

²⁶Medical Research Council Integrative Epidemiology Unit at the University of Bristol, Bristol, UK

²⁷Department of Epidemiology and Preventive Medicine, School of Public Health and Preventive Medicine, Faculty of Medicine, Nursing and Health Sciences, The Alfred Hospital, Monash University, Melbourne, Victoria, Australia

²⁸Biocenter Oulu, University of Oulu, Oulu, Finland

²⁹Center for Life Course Health Research, Faculty of Medicine, University of Oulu, Oulu, Finland

³⁰Unit of Primary Health Care, Oulu University Hospital, Oulu, Finland

³¹Department of Epidemiology and Biostatistics, MRC-PHE Centre for Environment and Health, School of Public Health, Imperial College London, London, UK

³²Department of Life Sciences, College of Health and Life Sciences, Brunel University London, Uxbridge, UK

³³Northern Finland Birth Cohorts, Faculty of Medicine, University of Oulu, Oulu, Finland

³⁴Medical and Clinical Genetics, University of Helsinki and Helsinki University Hospital, Helsinki, Finland

³⁵Department of Obstetrics and Gynecology, Tampere University Hospital and University of Tampere, Faculty of Medicine and Life Sciences, Tampere, Finland

³⁶Cardiovascular Division, Department of Medicine, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO

³⁷Department of Statistics, Stanford University, Stanford, CA

³⁸Analytical and Translational Genetics Unit (ATGU), Psychiatric & Neurodevelopmental Genetics Unit, Departments of Psychiatry and Neurology, Massachusetts General Hospital, Boston, MA

³⁹Broad Institute of MIT and Harvard, Cambridge, MA

⁴⁰Department of Medicine, Kuopio University Hospital, Kuopio, Finland
ramensky@gmail.com

Принято считать, что редкие геномные варианты в значительной степени определяют риски развития распространенных заболеваний и значения количественных фенотипических признаков. Несмотря на значительный прогресс, вызванный доступностью методов высокопроизводительного секвенирования, современным исследованиям, как правило, все еще не хватает достаточного количества индивидуумов для статистически достоверного выявления таких вариантов. В изолированных популяциях, претерпевших быстрое увеличение после этапа малой численности, например в финской, вредные аллели могут наблюдаться с гораздо большими частотами, чем в обычных популяциях. Ранние результаты секвенирования 78 генов у 6,000 финнов подчеркнули важность наличия больших и хорошо фенотипированных когорт для успешного поиска редких вариантов с большим эффектом. В результате секвенирования экзомов 20,000 жителей северной и восточной Финляндии было обнаружено 43 новых ассоциации вредных вариантов с 25 признаками. Большинство обнаруженных новых вредных аллелей встречаются у финнов с частотами в 10-100 раз большими, чем в других европейских популяциях. Для статистически достоверного выявления таких вариантов в других европейских популяциях потребовались бы выборки в сотни тысяч или даже миллионы индивидуумов. Это исследование показывает, во-первых, принципиальную возможность обнаружения редких клинически значимых вариантов с помощью секвенирования достаточно больших когорт, во-вторых, эффективность использования изолированных популяций для решения такой задачи.

Д27 (Workshop). Пренатальные экзомы

Е. Померанцева

ООО «ЦГРМ «ГЕНЕТИКО»

e.pomerantseva@gmail.com

Ошибки выживших: тяжесть заболевания глазами генетика и глазами семьи. Прием «срочно, пренатально, вы секвенируете, а клиническую информацию мы позже пришлем!» Проблема завышенных ожиданий от NGS. «Секвенируйте скорее, по УЗИ все плохо, но без результата экзема консилиум не дает разрешения на прерывание».

Пренатальный фенотип. Особенности биоинформатического этапа – интерпретация данных пренатального сиквенса по сравнению с постнатальным. Попытка запрета на вынесение ВУС и как мы ее решительно отвергаем (да?) «Синдромы которые никто не изучал» – неописанные гены фенотипов с ранней гибелью плода. Пример успешного поиска причины малоизученного пренатального фенотипа. Клинические случаи пренатальной диагностики причины ВГР.

Д28. Применение секвенирования нового поколения (NGS) для диагностики и в лечении раковых заболеваний на примере жидкостной биопсии и секвенирования единичных молекул

Н.В. Сергеев, И.К. Иванов*

Axbio Inc, Santa Clara, CA

igor.ivanov@axbio.co

Ранняя диагностика онкологических заболеваний является ключевым фактором для успешного лечения, так как смертность от рака диагностированного на ранних стадиях, значительно ниже,

чем на поздних стадиях. Современная диагностика использует сканирующие методы, которые выявляют новообразования на поздних стадиях. Последующая молекулярная характеристика рака использует анализ образцов FFPE для более точного диагноза и выбора терапии для пациента. Хотя анализ образцов FFPE хорошо отработан, данный подход часто ограничен побочными эффектами хирургического вмешательства и доступностью опухолевой ткани для взятия образцов.

Новая область исследований – «жидкостная биопсия» анализирует биологические жидкости, в основном кровь на присутствие циркулирующей опухолевой ДНК, которая несет в себе информацию о характеристиках рака и может быть использована для обнаружения ключевых биомаркеров без хирургического вмешательства. Этот подход, основанный на молекулярных методах анализа, позволяет изменить процесс лечения рака и открывает новые возможности для выбора индивидуализированного лечения, мониторинга эффекта выбранной терапии, обнаружения устойчивости к применяемым препаратам и раннего обнаружения рецидивов опухоли.

Совместно с Illumina, Grail, Guardant Health, Roche, BGI а также с медицинскими центрами Stanford и MSK мы провели анализ существующих NGS анализов, практик лечения рака и технических ограничений NGS-технологий. Мы предложили новый подход для улучшения выбора терапии и отслеживания процесса лечения используя NGS и PCR для анализа цДНК.

Одним из факторов, который позволит сделать этот подход доступным для большинства пациентов, является технология секвенирования ДНК «multibit» (Axbio) с использованием нанопор на полупроводниковом сенсоре. Платформа отличается высокой точностью при низкой цене анализа, что в совокупности с новым подходом для мониторинга терапии рака создает эффективный подход для использования NGS в диагностике и лечении онкологических заболеваний.

Д29. Проспективное наблюдательное когортное исследование пациентов с синдромом Ашера для определения клинико-генетических корреляций в целях дальнейшей разработки лечения

М.Е. Иванова^{1*}, В.Н. Трубилин², В.В. Стрельников³, А.С. Мачалов⁴, Т.В. Маркова³, А.М. Демчинский⁵, А.С. Танас³, О.М. Орлова², Д.М. Голенкова², К.В. Оверченко⁴, А.Ф. Хирнеткина⁴, К.И. Аношкин³, D. Varh⁶

¹ООО «Офтальмик», Москва

²ФМБЦ ФМБА им. Бурназяна, Москва

³ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

⁴ФНКЦО ФМБА, Москва

⁵АНО «Лаборатория «Сенсор-Тех», Москва

⁶Institute of Integrative Omics and Applied Biotechnology, Бангалор
info@oftalmic.ru

Введение: Синдром Ашера (USH) – пигментный ретинит и глухота, 4 клинических подтипа, распространенность 5 на 100000. Для диф.диагностики и поиска таргетного лечения проводят генетическое тестирование. Впервые было проведено комплексное исследование российской когорты.

Методы: 28 человек с USH были отобраны из 3200 подопечных Фонда «Со-единение» в соответствии с протоколом NCT03319524. Обследование: визометрия, периметрия, ОКТ, офтальмоскопия, электроретинография, регистрация ЗВП, аудиометрия, импедансометрия, вестибулометрия, электростагмография, постурометрия, секвенирование NGS, MLPA и по Сэнгеру.

Результаты: 53,57% пациентов имели 1 и 39,28% 2 тип синдрома Ашера. У 73,33% пациентов были обнаружены мутации в генах, ассоциированных с USH1 *MYO7A* (77%), *CDH23* (5,5%), *PCDH15* (12%) и *USH1C* (5,5%). 11 мутаций были обнаружены в *MYO7A*, где 54,54% являются новыми. *MYO7A*: p.Q18 * была самой частой (27,27%) мутацией, и она связана с ранними проявлениями и наиболее тяжелой клинической картиной. Две новые мутации (p.E1301 * и c.158-318 +? Del) были обнаружены в гене *PCDH15*. 90,90% пациентов с подтвержденным диагнозом USH 2 типа, несли 11 мутаций в гене *USH2A*, где 27,27% были новыми. В 50% случаев мы наблюдали *USH2A*: p.W3955 * с p.E767fs, p.R1653 * и c.8682-9A> G (по 16,7%).

Заключение: Обследованная российская когорта пациентов с синдромом Ашера несет как новые, так и известные мутации USH. Распространенность мутаций в *USH2A* относительно низкая (39,28%), а частота мутаций в *MYO7A*, ответственных за *USH1B*, относительно высока (81,81%) по сравнению с другими когортами, что связано с особенностями отбора когорты. Девять пациентов с подтвержденным диагнозом USH1 (*MYO7A*) потенциально могут иметь право на участие в клиническом исследовании препарата UshStat®. Диагноз был генетически подтвержден в 73,33% и 90,90% случаев соответственно, что указывает на эффективность клинического протокола.

Финансирование: АНО «Лаборатория «Сенсор-Тех» и Фонд поддержки слепоглухих «Со-единение».

Д30. Скрининг носительства моногенных заболеваний с использованием секвенирования экзома

Е. Шубина^{*}, И.О. Саделов, Т.О. Кочеткова, И.С. Мукосей, А.Ю. Гольцов, А.Н. Екимов, А.Е. Донников, Н.П. Макарова, Е.А. Калинина, М.А. Веюкова, А.Н. Абубакиров, Д.Ю. Трофимов
НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова

Мотивация и цели: До 2% рождённых детей имеют моногенные заболевания, которые невозможно вылечить. Исследование родителей для определения носительства патогенных мутаций, приводящих к моногенным заболеваниям, проводится крайне редко. Если же носителем мутаций, связанных с частыми аутосомно-рецессивными заболеваниями является донор спермы, то он может стать отцом десятков детей от разных матерей и вероятность рождения больного ребенка значительно возрастает. В данной работе приведены результаты поиска носительства моногенных заболеваний у мужчин, которые удовлетворяют всем требованиям, которые предъявляют к донорами спермы.

Методы: Проведено секвенирование полного экзома 25 мужчин. ДНК выделяли из образцов спермы с использованием набора для выделения New iGENatal kit. Обогащение целевыми фрагментами и приготовление библиотек для секвенирования проводили с использованием Ion AmpliSeq Exome RDY Kit по инструкции производителя. Секвенирование проводили на приборах Ion S5 согласно инструкции производителя. Выравнивание на референсный геном и поиск отличий от референсного генома проводили с использованием сервера Torrent Suite. Аннотацию полученных вариантов проводили с использованием инструмента Variant effect predictor, фильтрацию аннотированных вариантов проводили с использованием скриптов, разработанных авторами.

Результаты: У 15 (60%) мужчин выявлено носительство по меньшей мере 1 хорошо описанной патогенной замены, ассоциированной с тяжелым аутосомно-рецессивным заболеванием. Из них 6 являлись носителями заболевания, встречающегося в популяции с частотой не менее 1/250.

Заключение: У 24% мужчин выявлено носительство частого заболевания, в этом случае, вероятность рождения больных детей при отсутствии дополнительных обследований второго родителя

более 1/1000. Полученные результаты демонстрируют важность проведения скрининга на носительство моногенных заболеваний, особенно в донорских программах ВРТ.

Выполнено в рамках государственного задания ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России на 2018-2020 г.г.

Д31. Сложный случай диагностики синдрома Ретта у пробанда со структурной перестройкой гена *MECP2*

Т.С. Бескоровая¹, Ф.А. Коновалов², Н.А. Демина¹, О.А. Щагина¹, М.С. Пащенко¹, А.В. Поляков¹

¹ФГБУ «Медико-генетический научный центр», Москва

²«Лаборатория Клинической Биоинформатики», Москва

t-kovalevskaya@yandex.ru

Введение: Синдром Ретта – X-сцепленное доминантное заболевание, вызванное мутациями гена *MECP2*, при котором после 6-18 месяцев нормального развития происходит регресс двигательных навыков, речи, умственного развития. Случаи синдрома Ретта носят спорадический характер, болеют почти исключительно девочки.

Материалы: В ФГБУ «МГНЦ» обратилась семья, в которой у единственного ребенка, девочки 3 лет, наблюдались типичные симптомы синдрома Ретта.

Методы: Секвенирование по Сенгеру гена *MECP2*, количественный MLPA (P015-F1, MRC-Holland), ХМА (Affymetrix HD, выполнено ООО «Геномед»), WGS (выполнено ООО «Геномед», анализ «Лаборатория Клинической Биоинформатики»).

Результаты: При исследовании гена *MECP2* методом количественного MLPA у пробанда было выявлено снижение эффективности отжига 1 пробы в экзоне 4. Однако, при секвенировании методом Сенгера с различных комбинаций пар праймеров комплементарных экзону 4 ни делеций, ни нуклеотидных замен в области отжига пробы не обнаружено. Так как данное изменение не было выявлено у родителей девочки, было предположено наличие в данном локусе структурной перестройки *de novo*. Методом ХМА у пробанда значимых изменений не обнаружено. Только исследование генома пациентки с применением дополнительных алгоритмов биоинформатического анализа позволило предположить у нее частичную делецию экзона 4 гена *MECP2* с транслокацией в данный экзон инвертированного участка хромосомы 8. Для районов точек предполагаемого разрыва были синтезированы праймеры, полученные фрагменты проанализированы методом секвенирования по Сенгеру. У пациентки было подтверждено наличие сложной структурной перестройки (hg19) -g.chrX:153296106_153296275delinsCTGTGTAА inschr8:50305003_50392184inv *de novo*.

Заключение: У пациентки молекулярно-генетическими методами подтвержден синдром Ретта, обусловленный сложной структурной перестройкой гена *MECP2*. Данный уникальный случай представляет собой пример важности исследования генома для поиска причин моногенных заболеваний в сложных случаях.

Д32. Случай мезомелической дисплазии с миссенс мутацией в гене *AFF3*

О.А. Левченко¹, Е.Л. Дадали¹, А.В. Лавров^{1,2}

¹ФГБУ «Медико-генетический научный центр», Москва

²Кафедра молекулярной и клеточной генетики, медико-биологический факультет, РНИМУ им. Н. И. Пирогова.

olevchenko@med-gen.ru

Мезомелическая дисплазия (МД) является нарушением развития скелета с аномалиями конечностей. Наиболее часто встречается МД Лангера с мутациями в генах *SHOX* и *SHOXY*, так же МД развивается вследствие различных микроделций. В том числе в литературе был описан случай МД с тяжелой задержкой развития и микроделцией участка хромосомы 2q11.1, захватывающей ген *AFF3*. Данный ген кодирует белок LAF4, экспрессирующийся в развивающемся мозге и в зачатках конечностей. Гаплонеадекватность LAF4/AFF3 связана с пороками развития конечностей, головного мозга, мочеполовой системы и со специфическими изменениями большеберцовой кости у мышей.

Клинический случай: пробанд – девочка 8 лет с тяжелой задержкой психо-моторного развития, гипотонией, генерализованными тонико-клоническими судорогами. Родилась от 1 беременности, протекавшей без патологии. Роды в срок с весом 3100 г. Фенотип: гирсутизм, микроцефалия, асимметрия лица, крупный нос с выступающей колумеллой, короткий фильтр, широкий рот, увеличенные межзубные промежутки, гипоплазия десен, прогнатия, длинные глазные щели, низкопосаженные уши, частичный синофриз, толстые волосы, ограничение проносупинации, проксимально отставленный большой палец, поперечная ладонная складка, широкие первые пальцы стоп, полидактилия, частичная синдактилия 3-6 пальца правой ноги и 3-4 пальца левой ноги, подколенный птеригиум, дистопия ануса. Диагностирован диабет, подковообразная почка, атрофия мозга, пахиригия лобных долей, сколиоз I-II степени, сагральный синус, дисплазия бедренных суставов, гипоплазия и укорочение большеберцовых и плечевых костей.

По результатам экзомного секвенирования выявлен описанный ранее в Clinvar как патогенный вариант RCV000496065 в экзоне 6 гена *AFF3* (chr2:100623270C>T; p.Ala258Thr, NM_001025108), в гетерозиготном состоянии.

Так, описан новый фенотип при МД с тяжелой задержкой развития и судорогами и мутацией в гене *AFF3*. Функциональный анализ подтверждает патогенность варианта (данные готовятся к публикации).

Д33. Совершенствование работы лаборатории и генетического консультирования в области преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии

С.А. Авдейчик, С.В. Попов, В.В. Заварин

Генетическая лаборатория «Медиал Геномикс»

svet.genetic@gmail.com

Мотивация и цели: Проблема хромосомного мозаицизма у эмбрионов по результатам ПГТ-А (преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии): отмены переносов эмбрионов; риск отбраковки эмбрионов, имеющих потенциал к успеху из-за возможности коррекции или мозаицизма трофктодермы (ТЭ) с зуплоидной внутренней клеточной массой (ВКМ); ложный мозаицизм по причине технических ошибок или из-за качества лабораторных данных. Актуальна работа по оптимизации лабораторных процессов и консультирования пациентов.

Методы: ПГТ-А биоптата ТЭ эмбриона 5-6 дня развития методом NGS по протоколу Illumina VeriSeq PGS.

Результаты: После стандартизации процедуры биопсии, тьюбинга, хранения и транспортировки биоптата количество мозаичных эмбрионов снизилось с 36% до 8%, разброс мозаицизма по клиникам-партнерам минимизирован благодаря достижению хорошего качества ДНК в биоптате. Разработаны алгоритмы претестового и послетестового консультирования пациентов, рекомендации PGDIS дополнены данными о рисках осложнений беременности и рождению детей с патологией. Проведены сравнения конкордантности результатов анализа биоптата ТЭ, второго

биоптата и остатка эмбриона с ВКМ: отмечалось полное совпадение результатов анализа в случае анеуплоидий и расхождения в случае делеции и мозаичной анеуплоидии. Проведен анализ молекулярного кариотипа ребенка с пороком кисти, родившегося после переноса эмбриона с мозаичной трисомией хромосомы 19, и абортного материала после переноса зуплоидного эмбриона, хромосомного дисбаланса не выявлено.

Заключение: Важна стандартизация условий работы для улучшения качества материала для анализа, контроль качества работы лаборатории эмбриологии и молекулярной генетики в виде периодического анализа отбракованных эмбрионов, абортусов и при рождении детей с патологией. Возможно улучшение клинического консультирования пациентов при выявлении мозаицизма. Перспективны работы по изучению факторов, влияющих на обнаружение мозаицизма в биоптате и на качество материала для анализа.

Д34. Соматический мозаицизм при нейрофиброматозе I типа

К.О. Карандашева¹, М.С. Пащенко¹, Е.Б. Кузнецова^{1,2}, А.С. Танас^{1,3}, В.В. Стрельников^{1,3}

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

²Институт молекулярной медицины, Москва

³Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва.

karandasheva@epigenetic.ru

Мотивация и цели: Нейрофиброматоз первого типа (НФ1) – заболевание с патогномичным фенотипом и известным этиологическим фактором (патогенный генетический вариант в гене *NF1*), однако, частота выявляемости патогенной мутации для пациентов с НФ1 составляет 60–90%. Мы полагаем, что проблема подтверждения клинического диагноза у пациентов с НФ1 отчасти обусловлена ограничениями метода NGS при анализе мозаичных генотипов с малой долей представленности альтернативного аллеля и может быть решена на этапе анализа данных.

Методы: Поиск генетических вариантов осуществляли таргетным высокопроизводительным параллельным секвенированием (Ion S5, Ion AmpliSeq) генов *NF1*, *NF2* на материале ДНК лимфоцитов периферической крови 275 пробандов с клиническим диагнозом “НФ1” или “неуточненный НФ” и отсутствием герминальных мутаций в ассоциированных генах.

Для исключения систематических ошибок секвенирования и поиска мутаций с малой представленностью альтернативного аллеля в образце использовали статистические и биоинформатические подходы: разделение прочтений согласно пулам, исключение недостоверно картированных прочтений, поиск вариантов со сниженными пороговыми специфичности, выявление и исключение систематических ошибок секвенирования. Для валидации выявленных вариантов использовали гетеродуплексный анализ и секвенирование по Сенгеру. Анализ хроматограмм проводили с использованием собственного ПО SeqBase, которое обеспечивает адекватное представление последовательностей на основе бережного отношения к первичным данным и аккуратного определения базовых линий в спектральных каналах отдельных нуклеотидов.

Результаты: Выявлено 12 случаев соматического мозаицизма при НФ1 (4,3%), мутации верифицированы с использованием альтернативных методов молекулярно-генетической диагностики.

Заключение: Часть случаев отсутствия молекулярно-генетического подтверждения клинического диагноза “НФ” обусловлена соматическим мозаицизмом с малой представленностью альтернативного аллеля в образце.

Д35. Сочетание врожденной аниридии с врожденным пороком развития органа слуха в одном клиническом портрете

Т.А. Васильева^{1*}, В.В. Кадышев¹, А.В. Марахонов^{1,2}, Р.А. Зинченко^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва
vasilyeva_debrie@mail.ru

Цель: Определить генетическую причину фенотипа у пациента с врожденной аниридией и другими врожденными пороками развития.

Материал и методы: Пробанду (девочка, 4 месяца) проведено клиническое и параклиническое обследование. Проведен поиск патогенных мутаций с использованием анализа методом NGS и подтверждение обнаруженных изменений прямым секвенированием по Сенгеру. От родителей ребенка получены письменные информированные согласия на обработку персональных данных, проведение обследования.

Результаты: При офтальмологическом обследовании пробанда выявлены: двусторонняя врожденная полная аниридия, кератопатия 1 стадии, уплотнение передних кортикальных слоев и стромы хрусталиков с точечными плотными помутнениями в центре; на глазных донях установлена гипоплазия дисков зрительных нервов. При соматическом обследовании диагностирована двусторонняя микропия 2-3 степени, кондуктивная тугоухость 3-4 степени. В анамнезе врожденная атрезия ануса с промежностным свищом, удвоении левой почки. У отца пробанда аналогичные клинические изменения глаз, соматически здоров. При анализе методом NGS обнаружены ранее описанный патогенный вариант в гене *PAX6*: NM_000280.4(*PAX6*_v001):c.718C>T, p.(Arg240*), унаследованный от отца, и de novo вероятно патогенный новый вариант в гене *HOXA2* NM_006735.3(*HOXA2*_v001):c.124C>G, p.(Leu42Val), – оба в гетерозиготном состоянии.

Заключение: Варианты в гетерозиготном состоянии в гене *PAX6* приводят к развитию врожденной аниридии (OMIM #106210), в гене *HOXA2* описаны у больных с врожденной микропией и с поражением или без поражения слуха (OMIM #612290). Тяжелый фенотип пробанда является результатом сочетания изменений нуклеотидной последовательности в двух генах. В описанном случае использование анализа методом NGS позволило провести дифференциальную диагностику клинического портрета и установить две нозологические единицы редкой наследственной патологии у пробанда.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-015-00122.

Д36. Спектр мутаций в гене *TNN2* у российских больных с дилатационной кардиомиопатией

А.А. Букаева*, Г.М. Раджабова, Ю.В. Фролова, С.Л. Дземешкевич, Е.В. Заклязьминская

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. Б.В. Петровского», Москва, Россия

16_anna_02@mail.ru

Мотивация и цели: Распространенность наследственных форм дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) достигает 1:500. Известно более 70 генов, связанных с ДКМП, но ни в одном из них нет значимой доли мутаций от общего спектра генетических причин заболевания. Мутации в гене *TNN2* находят, по разным данным, в 3-6% выявленных случаев семейной ДКМП. Аллельная серия

TNNT2-ассоциированных заболеваний включает все известные виды кардиомиопатий. Большинство находок в *TNNT2* являются единичными, нет «мажорных» мутаций, «горячих» участков гена. Целью данной работы было оценить спектр мутаций в гене *TNNT2* при ДКМП.

Методы: Исследованная выборка включала 92 пробанда с ДКМП, из них 36 пациентов диагностировано в возрасте до 18 лет. Для поиска генетических вариантов использовали таргетную панель праймеров AmpliSeq, фланкирующую 81 ген, мутации в которых описаны при ДКМП. Клинически значимые находки подтверждались секвенированием по Сенгеру.

Результаты: В гене *TNNT2* выявлено три патогенных варианта в гетерозиготном состоянии у троих взрослых пробандов (3,2% от всей выборки, 8,3% от числа взрослых пробандов). Все найденные замены (p.R173Q, p.R173W, p.R173L) затрагивают один и тот же кодон 173 в белке тропонина Т, входящий в активационный домен и участвующий в образовании комплекса с тропонином I. Три пробанда с мутациями в кодоне 173 имеют как общие черты фенотипа (дилатация камер сердца), так и различия в ремоделировании миокарда и исходах заболевания. Мы полагаем, что кодон 173 может быть «горячим участком» мутаций в *TNNT2* при ДКМП.

Заключение: Доля мутаций в *TNNT2* в нашей выборке составила 3,2%, что согласуется с мировыми исследованиями. Повторное выявление замен в 173 положении позволяет полагать, что данный кодон является «горячим» в *TNNT2* при ремоделировании миокарда по типу дилатации. Также возможно, что клиника в конкретном случае может модифицироваться и средовыми факторами, приводя к полиморфизму проявлений, в том числе, в рамках одной семьи.

Работа поддержана грантом РНФ №16-15-10421

Д37. Спектр мутаций при ОМЛ с трисомией 21 у детей

А.В. Панферова*, Е.Н. Никитин, М.В. Гаськова, О.И. Солдаткина, Н.М. Тимофеева, А.Н. Казакова, В.Е. Матвеев, А.М. Попов, И.И. Калинина, М.А. Масчан, Ю.В. Ольшанская
ФГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
a.panfyorova@gmail.com

Мотивация и цели: Острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) у детей с врожденной (синдром Дауна) или приобретенной трисомией 21 и мутацией в гене *GATA 1* в лейкоэмическом клоне клеток обычно имеет лучший исход, чем ОМЛ без трисомии 21. Однако рецидивы и рефрактерное течение заболевания случаются. Среди кооперирующих онкогенных событий могут быть дополнительные мутации, для которых разработана и возможна таргетная терапия. В связи с этим, целью исследования было определить спектр генетических событий, вовлеченных в патогенез ОМЛ с трисомией 21, и охарактеризовать молекулярно-генетический профиль этой группы.

Методы: Фрагментный анализ и секвенирование по Сенгеру 2-го экзона гена *GATA 1* и массовое параллельное секвенирование таргетных регионов 141 гена, участвующих в патогенезе ОМЛ.

Результаты: Проанализированы данные по тридцати одному пациенту с *de novo* ОМЛ и трисомией 21, рекрутированные в национальное регистрационное исследование ОМЛ у детей. Всего 33 мутации в *GATA 1* были выявлены у 30 пациентов. Инсерции/делеции/дупликации составили 70% всех мутаций - 9/9/5, соответственно. Точковые мутации выявлены в 7 случаях. Дополнительные мутации в *JAK1*, *JAK2*, *JAK3* и *MPL* или *SH2B3* – компонентах *JAK/STAT* сигнального пути были выявлены в 48% случаев. Повторяющиеся мутации в генах, кодирующих комплекс когезина *STAG2*, *RAD21*, *SMC3*, *SMC1A* и *CTCF* выявлены в 12 случаях (39%). Дополнительно были найдены варианты неизвестного значения в генах *CARD11*, *NTRK3*, *GATA2*, *PML*, *TET2*, *PRPF40B*.

Заключение: С наибольшей частотой выявлены мутации, относящиеся к активации *JAK/STAT* сигнального пути, компонентах комплекса когезина и активации *RAS*-сигнального пути – 48%,

39% и 13%, соответственно. Практически все случаи показали равную или сравнимую частоту альтернативного аллеля по отношению к частоте в *GATA 1*.

Д38. Сравнение платформ для проведения преимплантационного генетического скрининга в цикле ЭКО

Е.А. Худая*, В.С. Каймонов, И.В. Миронова, Е.В. Мусатова, Е.А. Померанцева
ООО «ЦГРМ «ГЕНЕТИКО», Москва
lobanova@genetico.ru

Мотивация и цели: Преимплантационный генетический скрининг (ПГС) проводится в цикле экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и позволяет выявлять хромосомные аномалии эмбрионов еще до наступления беременности. ПГС может проводиться с помощью сравнительной геномной гибридизации (aCGH) и высокопроизводительного секвенирования (NGS). Целью настоящей работы является сравнение данных, полученных на трех различных платформах, две из которых основаны на методе aCGH, и одна – на NGS.

Методы: Было проанализировано 12 blastocист человека, которые были получены в циклах ЭКО. Пробоподготовка ДНК биопсийного материала проводилась с использованием набора для полногеномной амплификации «Picoplex WGA kit» в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Дальнейший анализ проводился двумя различными методами: aCGH и NGS. Для сравнительной геномной гибридизации использовались два набора: GenetiSure (Agilent) с анализом данных в программе Agilent CytoGenomics и CytoSure (OGT) с анализом данных в программе CytoSure Internet Software. Высокопроизводительное секвенирование проводилось с помощью набора VeriSeq PGS Kit (Illumina) на приборе MiSeq System (Illumina), обработка данных секвенирования осуществлялась с помощью программного обеспечения BlueFuse Software (Illumina).

Результаты: В 7 образцах из 12 наблюдалось полное совпадение результатов, полученных с использованием всех трех платформ. В 5 случаях из 12 получено частичное совпадение: результаты, полученные при помощи VeriSeq PGS (Illumina) и CytoSure(OGT) совпали у 2 образцов; результаты, полученные с помощью CytoSure(OGT) и GenetiSure (Agilent) совпали у 3 образцов; не обнаружили совпадения по результатам, полученных при помощи VeriSeq PGS (Illumina) и GenetiSure (Agilent).

Заключение: Использование различных платформ для ПГС показало наличие расхождений при интерпретации результатов для части образцов. Описанный факт требует дальнейшего изучения и увеличения объема исследуемой выборки.

Д39. Сравнительный анализ полногеномного секвенирования человека на MGISEQ-2000 и Illumina HiSeq 2500

Н.А. Кулемин, А.Ю. Горбачев, Д.О. Коростин, В.А. Белова, Д.В. Ребриков
РНМИУ им. Н.И.Пирогова
maveriksvao@gmail.com

Было проведено сравнение параметров секвенирования генома человека (референсный геном YH и клинический образец E704) на двух платформах: Illumina HiSeq 2500 и новом приборе MGISEQ-2000. Проведены оценки качества на всех этапах биоинформатической обработки, выравнивание пакетами BWA MEM и Sentieon, поиск вариантов с использованием нескольких инструментов: GATK, Samtools, Strelka, Sentieon. В результате сделан вывод о допустимости применения платформы MGISEQ для полногеномного секвенирования человека.

Д40. Фенотипический спектр патогенных генетических вариантов в гене *PPP1R13L*, приводящих к развитию детской синдромальной дилатационной кардиомиопатии

И.С. Поволоцкая^{1,2}, Е.А. Померанцева², Е.В. Заклязьминская^{2,3,4}

¹Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России»

²Центр генетики и репродуктивной медицины «Генетико»

³ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»

⁴ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Мотивация и цели: Детская дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) быстро прогрессирует и характеризуется высокой смертностью. Более 70 генов были ассоциированы с развитием ДКМП, и список этих генов постоянно пополняется, однако положительный результат при генетическом тестировании педиатрических пациентов с семейным анамнезом достигается лишь в 50-60% случаев, что говорит о том, что генетический ландшафт ДКМП описан не полностью. Недавно, новая форма детской синдромальной ДКМП, предположительно ассоциированная с гомозиготной мутацией в гене *PPP1R13L*, была описана у пяти пациентов из большой близкородственной арабской семьи (Falik-Zaccai 2017). Целью данной работы было подтверждение связи между биаллельными патогенными вариантами в гене *PPP1R13L* и детской синдромальной ДКМП и детальное описание фенотипического спектра клинических проявлений.

Методы: Было проведено генетическое консультирование супружеской пары, у которой двое детей со схожей фенотипической картиной, включающей в себя ДКМП и расщелину губы и неба, погибли в раннем возрасте.

Полноэкзомное секвенирование ДНК, изолированной из парафиновых блоков, было проведено с использованием набора TruSeq Whole Exome на секвенаторе Novaseq 6000. Биоинформатический анализ включал в себя постпроцессинг прочтений с помощью пакета ngs-bits, выравнивание прочтений на сборку генома человека 19 с помощью bwa mem, локальную пересборку прочтений в целевых участках секвенирования с помощью abra2 и идентификацию генетических вариантов с помощью freebayes. Выявленные генетические варианты были подтверждены секвенированием по Сэнгеру у всех членов семьи.

Для идентификации других пациентов с этим же геном-кандидатом были использованы ресурсы PhenomeCentral и GeneMatcher.

Результаты: Использование алгоритма локальной пересборки позволило выявить делецию 29 нуклеотидов, приводящую к сдвигу рамки считывания в гене *PPP1R13L*. Впоследствии, эта делеция была подтверждена секвенированием по Сэнгеру в гомозиготной форме у пробанда и его умершего брата, и в гетерозиготной форме у родителей.

С помощью GeneMatcher были найдены три пациента со схожими фенотипическими характеристиками, у которых также были идентифицированы биаллельные патогенные мутации в гене *PPP1R13L*.

Заключение: Биаллельные патогенные мутации в гене *PPP1R13L* приводят к развитию тяжелой формы детской синдромальной дилатационной кардиомиопатии.

Д41. Функциональная интерпретация регуляторных SNPs в геноме человека на основании сравнительного анализа транскриптомных (RNA-seq) данных носителей различных генотипов

Е.Е. Корболина^{1,2*}, Л.О. Брызгалов^{1,3}, Т.И. Меркулова¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³АО Вектор-Бест, Новосибирск, Россия

lungry@bionet.nsc.ru

Мотивация и цели: Ранее, на основании комплексного анализа аллель-специфических событий в позиционных (ChIP-seq) и транскриптомных полногеномных данных клеточных линий человека, нами найдено 1361 регуляторных SNPs (rSNPs). Данная работа посвящена их функциональной интерпретации.

Методы: С использованием данных секвенирования 2500 индивидуальных геномов («1000 геномов») и на основании анализа евклидова расстояния, для 1361 анализируемого rSNPs подобрано в общей сложности 771471 различных маркерных SNPs (маркера), расположенных в транскрибируемых районах генома. Проведено генотипирование 352 постмортальных образцов мозга (SRA-данные RNA-seq) пациентов с нейропсихиатрическими нарушениями (шизофрения, биполярное и большое депрессивное расстройство, аутизм) и контрольных групп отдельно по каждой позиции rSNP с объединением покрытия соответствующих маркеров. Учитывались следующие критерии: 1) rSNP или маркер найден не менее, чем в шести индивидуальных генотипах, 2) не менее, чем в трех из них определен минорный аллель rSNP, 3) если покрытие минорного аллеля rSNP <10%, определяется гомозигота 4) если покрытие минорного аллеля ≥ 10%, определяется гетерозигота. Проведен сравнительный анализ экспрессии генов (DeSeq 2.0) у людей с различными генотипами в трех отделах мозга: в передней поясной извилине, дорсолатеральной префронтальной коре и прилежащем ядре.

Результаты: Найдены гены, дифференциально экспрессирующихся (ДЭГ, padj <0.1) у людей с различными генотипами по 219 rSNPs (от 20 до 1514 ДЭГ в зависимости от полиморфной позиции). Проведен функциональный анализ обогащения ДЭГ по терминам генных онтологий KEGG/GO/dO (R clusterProfiler).

Заключение: Данные позволят сделать более глубокие выводы о ключевых механизмах, приводящих к развитию специфического фенотипа под влиянием регуляторных SNPs, а в перспективе будут способствовать поиску новых маркеров генетической предрасположенности. Работа поддержана грантом РФФИ (#18-29-09041) и бюджетным проектом (#0324-2019-0042).

Д42. Функциональный анализ вариантов нуклеотидной последовательности в 5'-нетранслируемой области гена *PAX6* у пациентов с врожденной аниридией

А.Ю. Филатова^{1*}, Т.А. Васильева¹, Р.А. Зинченко^{1,2}, М.Ю. Скоблов^{1,3}

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

²Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

³Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», Школа биомедицины, Владивосток, Россия

MAACC@yandex.ru

Мотивация и цели: К возникновению менделирующих заболеваний помимо вариантов нуклеотидной последовательности, влияющих на структуру и функцию мРНК и белка, могут приводить и патогенные варианты в регуляторных участках гена. Так в 5'-нетранслируемой

области (5'-UTR) они могут изменять эффективность трансляции белка, что было показано для ряда заболеваний. При этом поиск и анализ таких вариантов является нетривиальной задачей из-за отсутствия алгоритмов их биоинформатического поиска и недостаточности информации о механизмах их действия.

Врожденная аниридия (ВА) – врожденный порок развития с аутосомно-доминантным типом наследования, обусловленный гетерозиготными мутациями в гене *PAX6*. Считается, что основным механизмом этиопатогенеза ВА является гаплонедостаточность данного гена. Тем не менее, механизм патогенного воздействия выявленных вариантов гена *PAX6* зачастую остаются под вопросом. В данной работе мы провели функциональный анализ 5 вариантов нуклеотидной последовательности в 5'-UTR гена *PAX6*.

Методы: Для функционального анализа каждого из исследуемых вариантов была создана конструкция, в которой 5'-UTR гена *PAX6* была клонирована перед геном люциферазы. Данные конструкции были трансфицированы в клеточную линию HEK293T. Влияние данных вариантов на сплайсинг исследовали при помощи ОТ-ПЦР РНК, выделенной из трансфицированных клеток. Влияние вариантов на эффективность трансляции белка и экспрессию РНК исследовали с помощью люциферазной системы и ПЦР в реальном времени соответственно.

Результаты: Мы провели функциональное исследование 5 вариантов нуклеотидной последовательности в 5'-UTR гена *PAX6*. Три из них локализованы в интронах (с.-128-2delA, с.-52+5G>C, с.-129+2T>A) и два в экзонах (с.-125dupG, -с.-118_-117del). В ходе работы было выявлено, что все исследуемые варианты приводят к значительному снижению эффективности трансляции белка, при этом интронные варианты так же приводят к нарушению сплайсинга пре-мРНК *PAX6*.

Заключение: Нами был проведен функциональный анализ 5 мутаций в 5'-UTR гена *PAX6*. Полученные данные позволяют не только подтвердить патогенность данных вариантов, но и предположить механизм их патогенного действия через нарушение трансляции малой открытой рамки считывания, локализованной в 5'-UTR.

Д43. Функциональный анализ интронного варианта нуклеотидной последовательности с неизвестным клиническим значением с.911-13A>G в гене *FKTN*

В. Фреире^{1*}, А. Ю. Филатова¹, И. А. Акимова¹, М.В. Булах¹, М. Ю. Скоблов^{1,2}

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

²Школа Биомедицины, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

fm216@mail.ru

Мотивация и цели: Несмотря на прогресс современных методов генетической диагностики, в настоящее время остается сложным определение патогенности глубоких интронных вариантов нуклеотидной последовательности, обнаруженных при помощи секвенирования нового поколения. У пациента с мерозин-негативной врожденной мышечной дистрофией с кардиомиопатией было выявлено два гетерозиготных варианта в гене *FKTN*. Один из вариантов: ранее описанный патогенный вариант NM_001079802.1(FKTN_v001):c.509C>A р.(Ala170Glu), второй - интронный NG_008754.1(FKTN_v001):c.911-13A>G с неизвестным клиническим значением, унаследованный от матери. Целью данной работы было исследование влияния на сплайсинг пре-мРНК гена *FKTN* варианта с.911-13A>G для подтверждения его патогенности.

Методы: Анализ влияния варианта с.911-13A>G на структуру мРНК проводили с помощью ОТ-ПЦР тотальной РНК, выделенной из мононуклеаров периферической крови и фибробластов пробанда, его матери и здоровых доноров, а также с использованием системы экспрессии минигена *FKTN* в модельной клеточной линии HEK293T.

Результаты: При исследовании структуры мРНК мононуклеаров периферической крови и фибробластов пробанда и матери были выявлены три изоформы РНК гена *FKTN*: две нормальных (присутствующих в контрольных образцах здоровых доноров) и одна aberrантная с пропуском экзона 9. Проведенный анализ с использованием экспрессии минигена подтвердил полученные данные. Присутствие короткой изоформы может быть объяснено разрушением акцепторного сайта сплайсинга интрона 8. Таким образом, в ходе работы было показано, что наличие глубокого интронного варианта гена *FKTN* с.911-13A>G приводит к пропуску 133 нуклеотидов, что сопровождается сдвигом открытой рамки считывания и укорочением белка на 145 аминокислот р.W301Rfs*13.

Заключение: Функциональный анализ интронных вариантов позволяет установить патогенность вариантов с неизвестным клиническим значением и подтвердить диагноз пациентов. В данной работе была доказана патогенность варианта с.911-13A>G в гене *FKTN*.

Д44. Частота кифосколиотического типа синдрома Элерса-Данло, вызванного мутацией с.362dupC в гене *FKBP14*, в РФ

Н.М. Галеева^{1*}, О.П. Рыжкова¹, О.А. Щагина¹, Е.Л. Дадали¹, И.А. Акимова¹, И.В. Анисимова¹, Ф.А. Коновалов², А.В. Поляков¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва

²ООО «Геномед»

galeeva@dhalab.ru

Мотивация и цели: В 2012 году Baumann и соавт. впервые описали кифосколиотический тип синдрома Элерса-Данло, молекулярно-генетической причиной которого были мутации в гене *FKBP14*. Самой частой мутацией в этом гене является мутация с.362dupC. При проведении нами секвенирования полного экзона данная мутация была обнаружена у 5 пациентов с направляющими диагнозами врожденные миопатии или заболевания соединительной ткани. Целью работы стало определение частоты и причины распространения мутации с.362dupC в РФ, определение спектра мутаций гена *FKBP14* у российских больных.

Методы: Выделение ДНК, секвенирование полного экзона по технологии TruSeq (Illumina), ПЦР-ПДАФ-анализ, анализ гаплотипов (STR маркеры), секвенирование по Сенгеру.

Результаты: При популяционном исследовании 5790 человек было выявлено 23 гетерозиготных носителя мутации с.362dupC гена *FKBP14*. Для объяснения причины распространения мутации был проведен анализ 4 микросателлитных маркеров (D7S435, D7S2496, D7S2492, D7S795), тесно фланкирующих ген *FKBP14*. В результате на хромосомах больных было обнаружено полное неравновесие по сцеплению аллеля 6 маркера D7S2492. При анализе 110 человек из выборки больных с диагнозом СЭД мутация с.362dupC была обнаружена у 3 пациентов в гомозиготном и у двух пациентов в гетерозиготном состоянии. Секвенирование всей кодирующей области и экзон-интронных соединений гена у гетерозиготных носителей показало отсутствие второй мутации у этих пациентов.

Заключение: Частота гетерозиготного носительства мутации с.362dupC гена *FKBP14* в российской популяции составила 0,004, частота мутации 0,002 (что в 1.8 раз больше чем в европейской популяции по данным базы GnomAd), а расчетная частота заболевания 1:250000. Причиной распространения дупликации является эффект основателя.

Д45. POLG-ассоциированная патология: постановка сложного диагноза с помощью технологии NGS

М.А. Федяков^{1*}, О.Л. Белоног², Ю.А. Барбитов^{3,4}, А.С. Глозов⁴, Д.Е. Полев⁴, А.М. Сарана^{1,4}, С.Г. Щербак^{1,4}, О.С. Глозов^{1,4}

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

²ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

³Институт биоинформатики, Санкт-Петербург

⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
fedyakovma@mail.ru

Мотивация и цели: POLG-ассоциированные заболевания – группа клинически гетерогенных болезней с мультисистемным характером поражений. Диагностика без молекулярно-генетического исследования может быть крайне затруднительна, о чем свидетельствует представленный случай.

Материалы и методы: В клинику с целью уточнения диагноза поступил пациент 27 лет с выраженной хахексией (рост 147 см, вес 22кг), энтеропатией (тошнота, рвота, диарея до 5-6 раз в сутки), диффузным остеопорозом, гипогонадотропным гипогонадизмом, миопатией, офтальмопатией. Интеллект нормальный (учится в ВУЗе). Из семейного анамнеза: родной брат – сходная клиническая картина, умер в 24 года. Пробанду было проведено секвенирование клинического экзона (библиотека Roche, прибор Illumina HiSeq2500) методом парно-концевых чтений. Верификация выявленных вариантов осуществлялась ПЦР-ПДРФ и секвенированием по Сэнгеру.

Результаты: В ходе исследования в гене *POLG* было выявлено 3 миссенс-варианта в гетерозиготном состоянии: р.Thr251Ile, р.Pro587Leu (ранее описаны как патогенные) и р.Leu931Ile (новый). Ген *POLG* кодирует белок субъединицу ДНК-полимеразы-гамма 1, которая участвует в репликации митохондриальной ДНК. Патогенный вариант [р.Pro587Leu] + [р.Thr251Ile] – мажорная мутация у пациентов с *POLG*-ассоциированными заболеваниями (встречается в общей популяции с частотой до 0,05%). Анализ родственников (мать, здоровые брат и сестра) доказал, что вариант [р.Pro587Leu] + [р.Thr251Ile] и вариант р.Leu931Ile располагаются на разных копиях гена *POLG*.

Заключение: Пациент с 10 лет обследовался в различных клиниках с диагнозами: синдром мальабсорбции, целиакия, болезнь Крона, с-м Тернера, гипогонадотропный гонадизм, энтеропатия неясного генеза и др. После проведения молекулярно-генетического исследования был выставлен окончательный диагноз: *POLG*-ассоциированное заболевание, синдром истощения митохондриальной ДНК, нейро-гастро-интестинальный тип без энцефалопатии.

ПОСТЕРНЫЕ ДОКЛАДЫ

П1. Анализ структуры кДНК выявил новую мутацию в гене *CTNS*

В.А. Сержанова^{1*}, А.Ю. Филатова¹, С.В. Папиж², М.Ю. Скоблов^{1,3}

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия

²Московский НИИ педиатрии и детской хирургии, Москва, Россия

³Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия
victoriaserzhanova@gmail.com

Мотивация и цели: Ген *CTNS* кодирует белок-переносчик аминокислоты цистин, необходимый для ее экспорта из лизосом. Мутации в этом гене приводят к возникновению редкой аутосомно-рецессивной лизосомальной болезни накопления – цистиноза. При этом заболевании происходит внутрелизосомальное накопление цистина и отложение его кристаллов.

В данной работе мы докладываем случай инфантильной нефропатической формы цистиноза (ИНЦ) у ребенка с характерной клинической картиной заболевания.

Методы: Препараты тотальной РНК из мононуклеарных клеток периферической крови пробанда и его матери и первичных фибробластов пробанда были получены стандартным методом экстракции Тризолом. Анализ структуры кДНК осуществлялся при помощи горизонтального электрофореза с последующим ОТ-ПЦР и секвенированием по Сэнгеру.

Результаты: При анализе структуры кДНК гена *CTNS* пробанда была обнаружена делеция 4-го и 5-го экзонов. На геномном уровне была выявлена 9 кб делеция, затрагивающая регион с 3-го по 5-ый интроны. Для определения наследственной природы заболевания, мы провели анализ структуры гена *CTNS* матери пробанда как на уровне кДНК, так и на уровне ДНК. Нами была обнаружена эта же делеция в гетерозиготном состоянии у матери. Что косвенно подтверждает наследственную природу мутации.

Заключение: Мы подтвердили наличие мутации у ребенка с инфантильной формой цистиноза в гене *CTNS*, что полностью соответствует клинической картине. По рекомендации Американского колледжа медицинских генетиков (ACMG) статус этой новой делеции соответствует патогенной, поскольку она приводит к укорочению белка и тяжелой форме заболевания.

Для обнаружения новой делеции в гене *CTNS* мы использовали новый подход, основанный на анализе структуры кДНК, и показали, что он имеет ряд преимуществ по сравнению со стандартным поиском мутаций путем секвенирования по Сэнгеру кодирующей части гена. Во-первых, для генов, состоящих из большого количества относительно коротких экзонов, проще и дешевле отсекулировать фрагменты кДНК, а не все экзоны по отдельности. Например, в гене *CTNS* 12 экзонов, 10 из которых имеют длину меньше 220 п.о., что позволило нам амплифицировать кДНК *CTNS* как три отдельных фрагмента. Во-вторых, при стандартном секвенировании экзонов мутации сплайсинга, находящиеся в интронах, невозможно обнаружить. При этом, данный тип мутаций можно обнаружить горизонтальным электрофорезом, являющимся первым шагом анализа структуры кДНК. В-третьих, достаточно протяженные делеции и инсерции, изменяющие длину экзонов, также обнаруживаются путем горизонтального электрофореза с последующим секвенированием ДНК для подтверждения. Что и было показано нами для делеции в гене *CTNS*.

П2. Анализ частот rs1042522, rs1625895 и rs17878362 и неравновесие по сцеплению между маркерами гена TP53 у больных диффузной В-мелкоклеточной лимфомой

Е.Н. Воропаева¹, С.С. Ковалев¹, В.Н. Максимов¹, Т.И. Поспелова², Ю.Л. Орлов^{1,3,4*}

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины - филиал ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁴Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, Москва, Россия
orlov@bionet.nsc.ru

Мотивация и цели: Роль генетической предрасположенности к развитию лимфом подтверждается накапливающимися данными об общих генетических вариантах генов, вовлеченных в лимфомогенез. Разнообразие вариантов заболевания, а также малый эффект каждого из полиморфизмов требуют анализа данных маркеров при отдельных гистологических подтипах лимфом и в составе гаплотипных групп. Цель настоящего исследования – анализ частот rs1042522, rs1625895 и rs17878362, их тройного гаплотипа и неравновесия по сцеплению у больных диффузной В-мелкоклеточной лимфомой и в контрольной группе (Воропаева и соавт. Генетика., 2019. В печати).

Методы: Группа исследования состояла из 70 больных ДВККЛ Городского гематологического центра г. Новосибирска в период 2004–2010 гг. Анализировали ДНК, выделенную из мононуклеарных клеток периферической крови больных до начала активной полихимиотерапии. Сцепленные аллели выявляли путем попарного гаплотипирования (rs1042522/rs1625895, rs1042522/rs17878362 и rs1625895/rs17878362) с помощью, как простой, так и гнездовой ПЦР с аллель-специфичным праймером, обеспечивающим наработку одного из аллелей в анализируемой паре маркеров, с последующим определением полиморфизма длин рестрикционных фрагментов для выяснения сцепленного с ним аллеля второго маркера

Результаты: Отсутствие выраженного неравновесия по сцеплению между маркерами rs17878362, rs1042522 и rs1625895 гена TP53 в выборке популяционного контроля. Вместе с тем получены данные о выраженном сцеплении между rs1625895 и rs1042522, а также rs1625895 и rs17878362, и об умеренной силе сцепления между rs17878362 и rs1042522 в группе больных лимфомой.

Заключение: Обнаружена ассоциация гаплотипа wArgG в гомозиготном состоянии с предрасположенностью к развитию диффузной В-мелкоклеточной лимфомы.

Работа поддержана РФФИ и бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН (0259-2019-0002).

П3. Вариант нуклеотидной последовательности в гене CACNA1H как причина детской эпилепсии

Т.В. Кожанова^{1,2*}, С.С. Жилина^{1,2}, Т.И. Мещерякова¹, Е.С. Большакова¹, К.В. Осипова¹, С.О. Айвазян¹, И.В. Канивец³, А.Г. Притыко^{1,2}

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

²ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, Москва, Россия;

³ООО МГЦ «ГЕНОМЕД», Москва, Россия

TatyanaVK84@gmail.com

Мотивация и цели: Описание клинического случая выявления мутации в гене CACNA1H у пациента с симптоматической фокальной эпилепсией, задержкой психоречевого и моторного развития.

Материалы и методы: Клиническое обследование, экзомное секвенирование генов в лаборатории «ГЕНОМЕД».

Результаты: Ген CACNA1H кодирует Т-тип кальциевых каналов, который участвует в функционировании таламокортикальной сети и варианты нуклеотидной последовательности в гене CACNA1H ассоциированы с ДАЭ и редкими случаями ИГЭ. Ребенок, девочка, 1 г 8 мес, от первой беременности, протекавшей на фоне анемии и гестоза, фетоплацентарной недостаточности. Роды на 40 неделе, оперативные. Масса при рождении 4860 г, рост 58 см. Дебют заболевания в возрасте 1 мес, приступы тонического напряжения, покраснения лица, длительностью 10-20 сек, частота 1-3 в сутки. КТ головного мозга – узловая гетеротопия серого вещества в области правого рога бокового желудочка. ЭЭГ – патологическая региональная эпилептиформная активность. Фенотипические особенности – речи нет, стереотипии, интонационное гуление, команд не выполняет, диффузная мышечная гипотония, астазия-абазия, пастозность мягких тканей, высокий лоб, монголоидный разрез глаз, короткая спинка носа, пухлые щеки, опущенные книзу углу рта, арковидная верхняя губа, конусовидные пальчики на кистях. ТМС – данных за наследственные аминокислотопатии, органические ацидурии, дефекты митохондриального бета-окисления не выявлено. ХМА – выявлены протяженные участки потери гетерозиготности. Выявлена ранее не описанная гетерозиготная мутация в 10 экзоне гена CACNA1H (с.2183A>С, р.Tyr728Ser). Мутация валидирована секвенированием по Сэнгеру. При обследовании родителей данный вариант выявлен у матери ребенка.

Заключение: Мутация в гене CACNA1H, идентифицированная у нашего пациента, локализована во внутриклеточной области канала - II петля, которая является «горячей точкой» и регулируется калмодулин киназами и G-белками. Мутации в данном регионе могут изменять регулирование канала молекулами киназы, G-белков и фосфатаз и, таким образом, объяснить фенотип, наблюдаемый у нашего пациента. Выраженная задержка моторного и психоречевого развития, возможно, является следствием плейотропного действия гена CACNA1H, а также протяженными участками потери гетерозиготности. Таким образом, наши данные соотносятся с литературными данными о том, что мутации в гене CACNA1H могут быть важным фактором риска развития эпилепсии у детей.

П4. Иммуноterapia острых лейкозов: in silico предсказание потенциальных минорных антигенов гистосовместимости (МАГ) в парах донор-реципиент, основанное на полноэкзомном секвенировании (WES)

В.В. Захарова^{*}, О.А. Шрагина, А.В. Панферова, Е.В. Райкина, Л.Н. Шелихова, М. А. Масчан

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России

neskvikk@mail.ru

Цели: В данной работе проведена оценка разнообразия потенциальных МАГ реципиента, которые могут распознаваться донорскими популяциями Т лимфоцитов, что может влиять на развитие реакции трансплантат-против-хозяина (РТПХ) и исходы трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК).

Методы: В ретроспективное исследование вошли 6 пар доноров и реципиентов с острым лимфобластным (n=4) и острым миелобластным лейкозами (n=2), получивших аллогенную гаплоидентичную ТГСК. Всем парам было проведено HLA-типирование по высокому разрешению методом NGS (NgsGo, GenDx) по аллелям 1 и 2 класса HLA-A*,B*,C*,DRB1*,DQB1* и WES (TruSeq Exome, Illumina) со средним покрытием 70x. SNP были получены с использованием BWA-MEM и GATK и в дальнейшем обработаны Python скриптом для идентификации SNP, уникальных для реципиента и отсутствующих у донора («РТПХ-вектор»). Ограничением была невозможность определения уникальных SNP на Y хромосоме в парах, где донор женского пола, а реципиент мужского (n=2). Библиотека 17-мерных пептидов была сформирована для каждого уникального

SNP во всех трансплантационных парах с использованием ANNOVAR. Далее библиотека была увеличена за счет формирования 9-мерного «окна» вокруг уникального SNP. Аффинность связывания 9-мерных пептидов (IC50 (nM)) с HLA аллелями 1 класса была определена с помощью NetMHCpan (v.4.0). Для оценки тканеспецифического уровня экспрессии использовались данные с портала GTEx.

Результаты: Медиана количества уникальных SNP в трансплантационных парах составила 2052. Алгоритмом NetMHCpan было предсказано, что медиана слабо (IC50<=500) связывающихся с HLA 1 класса пептидов составляет 1682, сильно (IC50<=50) связывающихся - 385. Для слабо и сильно взаимодействующих пептидов была оценена их экспрессия в органах-мишенях для возникновения РТПХ.

Заключение: Т клеточный ответ донора на потенциальные МАГ реципиента может быть рассмотрен как динамическая система. Математическое моделирование аллореактивного ответа различных Т клонов клеток донора на основании полученных данных, может стать персонализированной иммунотерапией гемобластозов на платформе ТГСК.

П5. Использование панели «клинический экзом» для уточнения причины смерти недоношенного новорожденного

О.М. Малышева^{1*}, А.П. Сухарева^{2,3}, Е.П. Михаленко¹, В.Ф. Аджиева¹, М.В. Артюшевская³, С.Э. Качан², А.В. Кильчевский¹, Г.А. Шишко³

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²УЗ «Клинический родильный дом Минской области», Минск, Беларусь

³ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Беларусь

o.malysheva@igc.by

Мотивация и цели: Представлен клинический случай неонатальной смерти ребенка С. Ребенок родился от 2 беременности 1 родов в сроке гестации 28 недель (1 беременность – замершая в 21 неделю). Вес при рождении 770,0, маленький к сроку гестации.

С рождения у новорожденного отмечались признаки дыхательной недостаточности, легочного кровотечения. С 3 суток нарастает сердечная недостаточность, анемический синдром, развивается инфекционно-токсический шок. Прожил 5 суток.

Методы: Секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq с использованием TruSight One Sequencing Panel с последующей обработкой данных стандартным алгоритмом Basespace (Illumina). Аннотирование результатов выполняли с помощью ANNOVAR. Фильтрацию вариантов проводили по частоте встречаемости альтернативного варианта (1000G, ExAc, gnomadGenome, gnomadExome), расположению замены, функции экзонного варианта.

Результаты: После фильтрации выявлено 167 вариантов, из них 3 стоп-кодона, 1 замена, приводящая к потере стоп-кодона, 3 делеции и 1 инсерция со сдвигом рамки считывания, по 2 делеции и инсерции без сдвига рамки считывания и 155 несинонимичных замен. Обнаружен патогенный гетерозиготный вариант в 9 экзоне гена *C8B* p.Arg428Ter, приводящий к дефициту компонента 8 системы комплемента. Выявлены два гетерозиготных вероятно патогенных (требуется подтверждение транс-положения) варианта в гене *HYDIN* p.Arg2298Gly, p.Asn724Asp. У младенца обнаружен не описанный ранее гетерозиготный вариант в экзоне 5 гена *LYST* (с.Т1334G/р.Р445С, NM_000081). Этот миссенс-вариант является вероятно патогенным в соответствии с алгоритмами прогнозирования патогенности. Гомозиготные мутации в *LYST* связаны с некоторыми первичными иммунодефицитными заболеваниями, описано также два случая заболевания при гетерозиготных мутациях гена *LYST*.

Заключение: Использование метода NGS позволяет уточнить причину смерти ребенка. Требуется провести генетическое тестирование и клиническое обследование родителей пробанда для дальнейшего планирования семьи.

П6. Исследование влияния на сплайсинг пре-мРНК интронных и экзонных вариантов нуклеотидной последовательности гена *SCN1A*

К.А. Давыденко^{1*}, А.Ю. Филатова², Ю.В. Вяхирева², А.В. Марахонов², А.О. Ромашинин³, Г.Г. Варенников², М.Ю. Скоблов^{2,3}

¹Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия

³Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», Школа биомедицины, Владивосток, Россия
xeerogx2008@gmail.com

Мотивация и цели: Патогенные варианты нуклеотидной последовательности (ВНП, SNVs) гена *SCN1A* являются наиболее частой причиной развития ряда наследственных форм эпилепсии. На сегодняшний день в базе данных HGMD описано ~1400 патогенных вариантов данного гена, больше половины из которых являются миссенс-вариантами, тогда как варианты сплайсинга составляют менее 10%, и локализируются, в основном, в положениях $\pm 1,2$. Хотя известно, что варианты сплайсинга могут находиться как глубоко в интронах, так и в экзонах. Таким образом, реальная доля вариантов сплайсинга в гене *SCN1A* остается под вопросом. Целью данной работы являлось экспериментальное исследование влияния на структуру мРНК одного интронного и трех экзонных вариантов в гене *SCN1A*, обнаруженных у пациентов с различными формами наследственной эпилепсии.

Методы: Нами были сконструированы плазмиды, содержащие минигены *SCN1A* как дикого типа, так и с исследуемыми SNVs, которые затем трансфецировали в клетки линии HEK293T. Из клеток выделяли тотальную РНК, с которой проводили ОТ с последующей ПЦР. Полученные ампликоны анализировали секвенированием по Сенгеру.

Результаты: Было показано, что интронный вариант с.1663-9A>G приводит к появлению мутантной изоформы мРНК *SCN1A* с удлинением экзона 14 на 8 нуклеотидов, что влечет за собой сдвиг открытой рамки считывания р.(Ser555ThrfsTer6). На сегодняшний день в литературе описаны патогенные варианты, которые приводили к укорочению белка в данном районе. Таким образом, данный SNV можно считать Loss of function вариантом.

Анализ трех экзонных вариантов (с.479C>A, с.5171C>T, с.5666T>A) показал, что во всех случаях отличий в структуре мРНК между аллелями мутантного и дикого типа не наблюдается. Таким образом, данные SNVs не приводят к нарушению сплайсинга.

Заключение: Установленное влияние SNV в интроне 13 гена *SCN1A* на сплайсинг мРНК у пациента с эпилепсией подтверждает целесообразность функционального анализа вариантов, потенциально влияющих на сплайсинг.

П7. Молекулярно-генетические маркеры прогрессии акральной меланомыИ.С. Абрамов¹, М.А. Емельянова¹, О.О. Рябая², Г.С. Краснов¹, А.С. Заседателев¹, Т.В. Наседкина¹¹Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН²ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» МЗ РФ

abriv@bk.ru

Мотивация и цели: Акрально-лентигозная меланома является особым подтипом меланомы с уникальными гистологическими и клиническими характеристиками. Данная форма меланомы отличается наиболее неблагоприятным прогнозом, быстрым прогрессированием и высоким потенциалом метастазирования, обладает рядом молекулярно-генетических особенностей. Цель нашей работы – анализ драйверных соматических мутаций в образцах акральной меланомы.

Методы: С помощью массового параллельного секвенирования были исследованы образцы опухоли, метастазов и нормальной ткани у 5 пациентов с акральной формой меланомы. Одновременно анализировали кодирующие участки 4100 генов, ответственных за возникновение и развитие наследственных и онкологических заболеваний. Секвенирование проводили на платформе NextSeq (Illumina). Для отбора целевых последовательностей генов использовали жидкий чип Nimblegen (Roche). Подтверждения герминальных мутаций проводили секвенированием по Сэнгеру.

Результаты: В результате были выявлены генетические нарушения в генах-регуляторах деления, пролиферации клеток и апоптоза (*BRAF* V600E, *NRAS* Q61K, *VAV1* E556Q, *GATA1* T402P, *GCM2* N24K); в генах, ответственных за клеточную адгезию и ассоциированных с метастазированием (*CTNND2* R720K, *ITGB4* I1285F), ответственных за ангиогенез и ассоциированных с прогрессированием заболевания (*VEGFA* S157R), а также в генах, ответственных за регуляцию энергетического обмена (*BCS1L* R177C).

Заключение: Полученные пилотные данные могут послужить основой для дальнейшего изучения мутационного спектра акральной меланомы. Для последующих исследований возможна разработка таргетной панели генов, на основе которой можно сформировать инструмент предиктивной клинической диагностики.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (Грант № 14-35-00107).

П8. Определение мутаций у белорусских пациентов с немелкоклеточным раком легкого методом секвенирования нового поколенияА.Н. Щаюк¹, Е.П. Михаленко¹, О.М. Малышева¹, М.Н. Шепетько², В.Г. Лебецкий³, К.К. Яцевич¹, А.В. Кильчевский¹¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь²Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Беларусь³Минское городское патологоанатомическое бюро, г. Минск, Беларусь

anna.shchayuk@tut.by

Мотивация и цели: Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) характеризуется достаточно скрытым течением, ранним появлением метастазов и высоким уровнем смертности. Наиболее распространенными гистологическими типами НМРЛ являются аденокарцинома (АК) и плоскоклеточный рак (ПКРЛ). В настоящее время показано, что 64% случаев АК имеют, по меньшей мере, одну активирующую мутацию, определяющую чувствительность пациентов к таргетным препаратам. Целью нашего исследования было изучить спектр мутаций у пациентов с АК и ПКРЛ методом NGS.

Материал и методы: Методом высокопроизводительного секвенирования с использованием TruSeq Amplicon – Cancer Panel на приборе MiSeq изучен молекулярный профиль опухолевой ткани 52 пациентов с АК и 51 с ПКРЛ, проходивших лечение в Минском городском клиническом онкодиспансере с 2014 по 2018 гг. Обработка первичных данных, получение прочтений с дальнейшим их выравниванием на целевые участки референсного генома (hg19) проводились с использованием программного обеспечения секвенатора (MiSeq Reporter). Последующая фильтрация, аннотирование, верификация и интерпретация вариантов – с помощью программных средств VariantStudio, Integrative Genomics Viewer.

Результаты: При АК соматические мутации чаще всего обнаруживались в генах *KRAS* (17,0%), *EGFR* (15,1%), *TP53* (15,0%), *ATM* (7,5%), *CTNNB1* (5,7%), *STK11* (5,7%). При ПКРЛ – в генах *TP53* (46,0%), *ATM* (14,0%), *FBXW7* (10,0%), *FGFR3* (6,0%), *JAK3* (6,0%), *RET* (6,0%), *APC* (4,0%), *EGFR* (4,0%), *PIK3CA* (4,0%). В 20 экзоне гена *EGFR* у пациента с АК впервые выявлено сочетание инсерции р.771insN и миссенс-мутации р.Р772R, подтвержденное методом секвенирования с предварительным клонированием фрагмента на вектор. У пациента с ПКРЛ в 20 экзоне гена *EGFR* выявлена мутация р.Н805R (подтверждена секвенированием по Сэнгеру), описанная ранее по данным COSMIC только у одного пациента с раком почки.

Заключение: На следующем этапе проводятся исследования по определению клинической значимости выявленных мутаций на прогноз течения заболевания.

П9. Опыт применения NGS для определения спектра аллелей генов главного комплекса гистосовместимости у детей с системным ювенильным артритомА.А. Яцкив^{*}, Р.И. Гончарова

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск

a-yackiv@yandex.ru

Мотивация и цели: Гены главного комплекса гистосовместимости человека HLA влияют на предрасположенность к большому количеству заболеваний. Так как с каждым годом обнаруживают и присваивают имена все большему количеству аллелей, работы по установлению ассоциаций HLA с различными патологиями не теряют своей актуальности. Установлено, что гены этого комплекса обуславливают до 17% риска развития ювенильного идиопатического артрита (ЮИА), которому присуща значительная клиническая гетерогенность. При этом системная форма характеризуется наиболее тяжелым течением. Для определения HLA-гаплотипов, потенциально ассоциированных с отдельными подтипами ЮИА, целесообразно применение технологий высокопроизводительного секвенирования.

Методы: Нами начата работа по HLA-типированию пациентов, страдающих ЮИА, с использованием панели TruSight HLA v2 Sequencing Panel (Illumina), позволяющей проводить одновременный анализ по 11 HLA-локусам. ДНК выделяли фенол-хлороформным методом из образцов периферической венозной крови. Подготовка библиотек осуществлялась в соответствии с протоколом производителя. Секвенирование проводили на приборе MiSeq (Illumina). Полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения Assign TruSight HLA 2.0.

Результаты: На данный момент молекулярно-генетический анализ проведен для 24 образцов пациентов с системным ЮИА. Показатель Q30 для каждого из локусов находился в пределах 91,14% – 93,3%. Наиболее сложным для установления аллелей оказался локус DPB1 (19 из 48 аллелей имели статус «ambiguous»). В исследованной группе среди наиболее распространенных аллелей обнаружены и DRB1*11 (16,7%), и DQA1*05 (27,1%), о которых ранее сообщалось в контексте предрасположенности к системному ЮИА.

Заключение: Чтобы судить о каких-либо ассоциациях, характерных для белорусской популяции, планируется формирование группы сравнения и увеличение исследуемой выборки.

П10. Патогенные генетические варианты в генах *TSC1* и *TSC2* в опухолевом материале инсулином

Ф.А. Агеева^{1*}, К.О. Карандашева², К.И. Аношкин²

¹ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

²ФГБНУ «Медино-генетический научный центр», Москва

fainaageevams@gmail.com

Мотивация и цели: Инсулиномы – редкие нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы (НЭО ПЖ), представляющие опасность для жизни пациента вследствие гормональной активности, провоцирующей развитие гипогликемического синдрома. В настоящее время показана высокая терапевтическая активность зверолимуса (ингибитор mTOR) в отношении НЭО ПЖ. Так как продукты генов *TSC1* и *TSC2* формируют комплекс, являющийся эндогенным ингибитором протеинкиназы mTOR, мы предполагаем, что патогенные мутации в данных генах могут являться этиологическим фактором развития НЭО ПЖ, и, в частности, инсулином.

Методы: Поиск соматических мутаций в опухолевом материале осуществляли методом таргетного высокопроизводительного параллельного секвенирования (Ion S5, Ion AmpliSeq, США). Дизайн таргетных регионов включал экзоны и прилежащие к ним интронные участки (20-70 п.н.) генов *TSC1* и *TSC2*. С целью подтверждения соматического статуса выявленных генетических вариантов проводили их валидацию методом секвенирования по Сенгеру на материале ДНК лимфоцитов периферической крови.

Результаты: В образцах №1,2 было показано соблюдение двух-ударной модели канцерогенеза (нонсенс-мутация и делеция второго аллеля в *TSC2*). В образце №3 выявлены нонсенс-мутации *TSC1* и *TSC2* одновременно. В образце №4 был обнаружен предположительно патогенный генетический вариант в *TSC2*.

Заключение: Патогенные мутации в генах *TSC1* и *TSC2* были обнаружены в большинстве образцов, что согласуется с гипотезой о вкладе мутаций данных генов в развитие инсулином. Так как соблюдение двух-ударной модели канцерогенеза было отмечено не для всей группы, мы предполагаем вклад эпигенетических или регуляторных факторов. Интересным наблюдением является одновременное наличие мутации приводящие к образованию стоп-кодона в генах *TSC1* и *TSC2* в одном образце, что возможно равносильно полному отсутствию одному из продуктов данной пары генов.

П11. Поиск мутаций у пациентов с кардиомиопатией из Республики Башкортостан

К.И. Миннихметова^{1,3}, Р.И. Хусаинова^{1,2}, И.Е. Николаева³, С.С. Литвинов^{1,2}, А.Ф. Кунтузбаев^{1,2}, Э.К. Хуснутдинова^{1,2}, И.Р. Миннихметов^{1,2}

¹Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республиканский медико-генетический центр, Уфа

²Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа

³Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республиканский кардиологический центр, Уфа

minniakhmetov@gmail.com

Мотивация и цели: Кардиомиопатии (КМП) является частью гетерогенной группы заболеваний сердечной мышцы, в основе около половины из них лежат различные генетические нарушения. С развитием новых технологий секвенирования особую актуальность приобретает правильная интерпретация результатов генетического анализа, что требует от врачей-кардиологов и медицинских генетиков знаний в области последних достижений генетического тестирования, новых данных о вновь выявленных вариантах и клинических корреляциях, а также понимания сложности аллельной гетерогенности, характеризующая наследственные кардиомиопатии. Целью данной работы является поиск мутаций методом NGS у пациентов с кардиомиопатиями из Республики Башкортостан и оценка возможностей применения высокотехнологичных методик изучения генома человека в практической медицине для диагностики и таргетного лечения КМП.

Методы: Для проведения таргетного секвенирования кандидатных генов методом NGS были отобраны 10 семейных случаев с наследственной кардиомиопатией (10 неродственных больных), проживающих в Республике Башкортостан. Возраст больных варьировал от 32 до 52 лет. Работа проводилась на инструменте Illumina MiSeq. Для проведения секвенирования была сформирована панель генов, которая включала 210 генов, вовлеченных в патогенетические пути формирования наследственных КМП.

Результаты: В ходе проведенного исследования после биоинформатической фильтрации были выявлены патогенные или предположительно патогенные мутации у пациентов с установленным диагнозом «Кардиомиопатия». Среди наиболее вероятных причин кардиомиопатий выявлены описанные ранее мутации в генах *TTN*, *MYH7*, *MYH7*, *TNNI3*, *TAZ*, *GATA4*.

Заключение: Функциональная значимость выявленных мутаций уточняется, исследования будут продолжены. У двух пациентов патогенные мутации выявлены не были, что также обуславливает необходимость дополнительных поисковых исследований у этих пациентов.

П12. Полнофеномный поход к анализу данных GWAS

А.Е. Шиков^{1,2,3*}, Ю.А. Барбитов^{2,3}, А.В. Предеус³

¹Городская больница №40, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³Институт биоинформатики, Санкт-Петербург, Россия

antonshikov96@gmail.com

Аннотация данных GWAS (genome-wide association studies) представляет большую ценность для медицинской генетики, так как это позволяет выявить варианты, ассоциированные с патологическими состояниями, помогая в изучении молекулярных механизмов развития заболеваний и прогнозировании рисков. Материал когорты UK Biobank представляют собой крупнейший релиз данных по генетике человека. Наше исследование посвящено разработке статистических и алгоритмических методов для нахождения плейотропных вариантов, используя полнофеномный подход.

Для наших целей мы провели отбор наследуемых фенотипов и осуществили иерархическую кластеризацию фенотипов, основываясь на коэффициенте Жаккарда. После получения около 300 кластеров мы сконцентрировались на функциональной аннотации кластеров путем проведения GSEA (gene set enrichment analysis) по каноническим наборам генов из MsigDB. Принципиально, что мы проводили анализ с учетом неравновесия по сцеплению, используя PLINK, работая не с генами как таковыми, а с независимыми локусами (клампами).

Основываясь на пуассоновском моделировании числа ассоциаций в зависимости от MAF (minor allele frequency), мы выявили около 2000 плейотропных снипов, которые мы использовали для

анализа фенотипических взаимосвязей путём построения взвешенного графа, вершинами которого были кластера, а ребрами независимые локусы (клампы), соответствующие плейотропным сникам из набора. Выделяя подграфы, в которых есть локусы, связанные с каждой вершиной внутри подграфа, мы получили наборы фенотипов, определяемых общими молекулярными путями. К примеру, подграф с локусом APOE и TOMM40 ассоциирован с нарушениями липидного обмена, индексом массы тела и болезнью Альцгеймера, а подграф с MIR2113 включает фенотипы, связанные с когнитивными функциями, а также ионным балансом. Таким образом, полнофеномный подход в анализе больших данных GWAS позволяет нам выявить новые молекулярные взаимосвязи между разными фенотипическими признаками.

П13. Транскриптомное профилирование глиобластомы и биоинформационный анализ данных

С.С. Ковалев¹, Н.В. Губанова¹, Р.О. Бабенко^{1,2}, Е.Ю. Леберфарб^{1,3}, Ю.Л. Орлов^{1,4*}

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

⁴Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, Москва, Россия
orlov@bionet.nsc.ru

Мотивация и цели: Исследование экспрессии генов в клетках глиобластомы, поиск генов кандидатов для терапевтического воздействия имеют несомненную актуальность в здравоохранении, современной высокотехнологичной медицине (Ковалев С.С. и соавт., Вестник НГУ Серия: ИТ; 2018). Глиобlastома является наиболее распространенной (60% от всех первичных опухолей) и злокачественной (выживаемость около 1 года после постановки диагноза) первичной опухолью центральной нервной системы у взрослых. Для такого сложного объекта требуется проведение новых исследований, опирающихся на современные клеточные технологии, технологии высокопроизводительного секвенирования, методы современной биоинформатики, необходима интеграция имеющейся информации из международных баз и банков данных.

Методы: Были проанализированы данные транскриптомного секвенирования на культурах клеток глиом, выполненного в ИЦиГ СО РАН. В ходе работы апробирован конвейер по обработке данных РНК-секвенирования образцов глиом и здоровой ткани человека. Конвейер основан на использовании таких программ как TopHat2, Cufflinks, rMATS, Samtools, VCFtools, GSeq, и скриптов на языках программирования Perl, R и Bash. Составление списков геномных мутаций проводилось Samtools – с последующим нахождением мутаций, встречающихся только в образцах глиомы, программами VCFtools.

Результаты: Найденные мутации сравнивались с мутациями глиомы из базы данных COSMIC. Рассмотрены отдельные изоформы генов с дифференциальной экспрессией в культурах клеток глиом и культурах здоровой ткани.

Заключение: Создан прототип компьютерной базы данных с возможностью поиска уровней экспрессии отдельных изоформ в глиальной опухоли «Дифференциальный альтернативный сплайсинг генов человека при вторичной глиобластоме (ДАСГГ)» / Database «Differential Alternative Splicing of human Genes in secondary Glioblastoma (DASGG)» (Св-во госрегистрации, ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, 2018).

Работа поддержана РФФИ и бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН (0259-2019-0002).

Авторский указатель

Абрамов И.С. П7	Вайханская Т.Г. Д16	Емельянова М.А. П7
Абубакиров А.Н. Д30	Варенников Г.Г. П6	Ермакович Д.П. Д16
Авдеева Т.Ф. Д3	Васильева Т.А. Д35, Д42	Жилина С.С. П3
Авдейчик С.А. Д33	Веюкова М.А. Д30	Заварин В.В. Д33
Агеева Ф.А. П10	Винокурова Л.В. Д6	Заклязьминская Е.В. Д9, Д36, Д40
Агладзе Д. Д15	Воинова В.Ю. Д20	Заседателев А.С. П7
Аджиева В.Ф. П5	Воропаева Е.Н. П2	Захарова В.В. П4
Айвазян С.О. П3	Вяхирева Ю.В. П6	Захарова Е.Ю. Д17
Акимкин В.Г. Д6	Галеева Н.М. Д44	Земцова Л.В. Д22
Акимова И.А. Д43, Д44	Гаськова М.В. Д37	Зеркаленкова Е.А. Д22
Анисимова И.В. Д1, Д13, Д44	Гиндина Т.Л. Д23	Зинченко Р.А. Д35, Д42
Аношкин К.И. Д29, П10	Глотов А.С. Д45	Иванов И.К. Д28
Артюшевская М.В. П5	Глотов О.С. Д45	Иванова М.Е. Д29
Афанасьев А.А. Д7	Голенкова Д.М. Д29	Ижевская В.Л. Д14
Бабенко Р.О. П13	Гольцов А.Ю. Д30	Кадышев В.В. Д35
Байдакова Г.В. Д5	Гончарова Р.И. П9	Казакова А.Н. Д22, Д37
Барбитов Ю.А. Д45, П12	Горбачев А.Ю. Д39	Казубская Т.П. Д3
Белова В.А. Д39	Гридина М.М. Д8	Каймонов В.С. Д19, Д38
Белокопытова П.С. Д8	Губанова Н.В. П13	Калинина Е.А. Д30
Белоног О.Л. Д45	Гундорова П. Д11, Д15	Калинина И.И. Д37
Бескоровайная Т.С. Д31	Гусева Д.М. Д1	Канивец И.В. Д5, П3
Бессонова Л.А. Д1	Давыденко К.А. П6	Карандашева К.О. Д34, П10
Близнец Е.А. Д1	Давыденко О.Г. Д16	Качан С.Э. П5
Бодунова Н.А. Д6	Дадали Е.Л. Д5, Д14, Д32, Д44	Квливидзе О. Д15
Большакова Е.С. П3	Даниленко Н.Г. Д16	Кильчевский А.В. П5, П8
Бордин Д.С. Д6	Демина Н.А. Д31	Клдиашвили Е. Д15
Боровиков А.О. Д5, Д14	Демчинский А.М. Д29	Ковалев С.С. П2, П13
Брызгалов Л.О. Д41	Дземешкевич С.Л. Д9, Д36	Кожанова Т.В. П3
Буг Д.С. Д23	Донников А.Е. Д30	Комиссарова С.М. Д2
Букаева А.А. Д9, Д36	Дубцова Е.А. Д6	Кондратьева Т.Т. Д3
Булах М.В. Д43	Екимов А.Н. Д30	Коновалов Ф.А. Д5, Д21, Д31, Д44

Корболина Е.Е. Д41	Масчан М.А. Д22, Д37, П4	Папиж С.В. П1	Снигирева Г.П. Д24	Чакова Н.Н. Д2	Laakso, Markku Д26
Коростин Д.О. Д39	Матвеев В.Е. Д37	Пашенко М.С. Д31, Д34	Солдаткина О.И. Д22, Д37	Шайхаев Е.Г. Д24	Laivuori, Hannele Д26
Кочеткова Т.О. Д30	Мацвай А.Д. Д6	Петухова М.С. Д1	Спарбер П.А. Д13, Д25	Шелихова Л.Н. П4	Larson, David E Д26
Краснов Г.С. П7	Мачалов А.С. Д29	Петухова Н.В. Д23	Сперанская А.С. Д6	Шепетько М.Н. П8	Locke, Adam E Д26
Кузнецова Е.Б. Д34	Меркулова Т.И. Д41	Пимкина Е.В. Д6	Стрельников В.В. Д29, Д34	Шиков А.Е. П12	Mannikko, Minna Д26
Кузнецова И.А. Д11, Д15	Мещерякова Т.И. П3	Поволоцкая И.С. Д9, Д20, Д40	Сурикова Ю.А. Д9	Шишко Г.А. П5	Meltz Steinberg, Karyn Д26
Кулемин Н.А. Д39	Миннихметов И.Р. П11	Полев Д.Е. Д45	Сухарева А.П. П5	Шрагина О.А. П4	Nelson, Joanne Д26
Кунтузбаев А.Ф. П11	Миннихметова К.И. П11	Поляк М.Е. Д9	Табакон В.Ю. Д13	Шубина Е.С. Д30	Nicholas, Thomas J Д26
Курушко Т.В. Д16	Миринова И.В. Д19, Д38	Поляков А.В. Д1, Д10, Д11, Д12, Д15, Д31, Д44	Танас А.С. Д29, Д34	Щагина О.А. Д5, Д10, Д31, Д44	Palotie, Aarno Д26
Кутцев С.И. Д14, Д15	Миринович О.Л. Д1	Померанцева Е. Д27	Тарасов Д.Г. Д9	Щаюк А.Н. П8	Pietilä, Arto Д26
Лавров А.В. Д3, Д32	Михаленко Е.П. П5, П8	Померанцева Е.А. Д19, Д38, Д40	Тельшева Е.Н. Д24	Щербак С.Г. Д45	Pirinen, Matti Д26
Лалаянц М.Р. Д1	Можейко Е.А. Д8	Попов А.М. Д37	Тимофеева Н.М. Д22, Д37	Щербак Н.В. Д20	Ramensky, Vasily Д26
Лебедев И.Н. Д8	Мукосей И.С. Д30	Попов С.В. Д33	Тихонов А.А. Д7	Якушина В.Д. Д3	Ray, Debashree Д26
Лебедева С.А. Д22	Мусатова Е.В. Д9, Д19, Д38	Поспелова Т.И. П2	Тишков А.В. Д23	Яцевич К.К. П8	Ripatti, Samuli Д26
Леберфарб Е.Ю. П13	Нагорнова Т.С. Д17	Предеус А.В. П12	Толмачева Е.Р. Д5	Яцкив А.А. П9	Sabatti, Chiara Д26
Лебецкий В.Г. П8	Назаренко Л.П. Д8	Притыко А.Г. П3	Трофимов Д.Ю. Д30	Abel, Haley J Д26	Salomaa, Veikko Д26
Левданский О.Д. Д16	Наседкина Т.В. П7	Раджабова Г.М. Д9, Д36	Трубилин В.Н. Д29	Ala-Korpela, Mika Д26	Scott, Laura J Д26
Левченко О.А. Д32	Никитин А.Г. Д4	Райкина Е.В. П4	Тюльпаков А.Н. Д18	Barh D. Д29	Service, Susan K Д26
Лернер Л.В. Д3	Никитин Е.Н. Д37	Ребриков Д.В. Д39	Федяков М.А. Д45	Boehnke, Michael Д26	Stell, Laurel Д26
Либман Н.О. Д19	Николаева И.Е. П11	Ромашинин А.О. П6	Филатова А.Ю. Д13, Д42, Д43, П1, П6	Chiang, Charleston WK Д26	Stitzel, Nathan O Д26
Литвинов С.С. П11	Никольская К.А. Д6	Румянцева В.А. Д24	Фишман В.С. Д8	Chiang, Colby C Д26	Stringham, Heather M Д26
Литвинова М.М. Д6	Ниязова С.С. Д2	Рыжкова О.П. Д1, Д10, Д11, Д12, Д44	Фреире В. Д43	Dutcher, Susan K Д26	Vangipurapu, Jagadish Д26
Мазур О.Ч. Д2	Новикова Е.А. Д24	Рябая О.О. П7	Фролова Ю.В. Д36	Eriksson, Johan G Д26	Welch, Ryan Д26
Макарова Н.П. Д30	Новицкая Н.Н. Д24	Саделов И.О. Д30	Хазинс Е.Д. Д24	Freimer, Nelson B Д26	Wilson, Richard K Д26
Макиенко О.Н. Д1	Новичкова Г.А. Д22	Сарана А.М. Д45	Хатьков И.Е. Д6	Fulton, Robert S Д26	Yajnik, Pranav Д26
Максимов В.Н. П2	Оверченко К.В. Д29	Семенова Н.А. Д14	Хафизов К.Ф. Д6	Hall, Ira M Д26	Yin, Xianyong Д26
Мальшева О.М. П5, П8	Ольшанская Ю.В. Д22, Д37	Сергеев Н.В. Д28	Хирнеткина А.Ф. Д29	Havulinna, Aki S Д26	
Марахонов А.В. Д25, Д35, П6	Орлов Ю.Л. П2, П13	Сержанова В.А. П1	Хряпенкова Т.Г. Д19	Jackson, Anne U Д26	
Маргвелашвили Л. Д15	Орлова А.А. Д12	Сивицкая Л.Н. Д16	Худая Е.А. Д38	Jarvelin, Marjo-Riitta Д26	
Маркова Т.В. Д1, Д17, Д29	Орлова О.М. Д29	Скоблов М.Ю. Д13, Д25, Д42, Д43, П1, П6	Хусаинова Р.И. П11	Kanchi, Krishna L Д26	
Маркова Т.Г. Д1	Осипова К.В. П3		Хуснутдинова Э.К. П11	Kang, Chul Joo Д26	
Масчан А.А. Д22	Панферова А.В. Д22, Д37, П4			Koboldt, Daniel C Д26	

Научное издание «Медико-генетического научного центра»

Тираж 250 экз.

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