



WSTĘP

Mutacje dynamiczne są przyczyną wielu chorób genetycznych. Polegają na patologicznie dużej ilości powtórzeń jednej lub kilku sekwencji nukleotydowych w obrębie konkretnego genu lub sekwencji niekodujących. Znajomość konkretnej ilości powtórzeń jest ważna, do określenia ciężkości przebiegu choroby i okresu życia, w którym dojdzie do ujawnienia się symptomów.

CEL PRACY

- Sprawdzenie skuteczności metody Optycznego Mapowania Genomu i Sekwencjonowania Całego Genomu w diagnozowaniu mutacji dynamicznych;
- Porównanie tych metod.

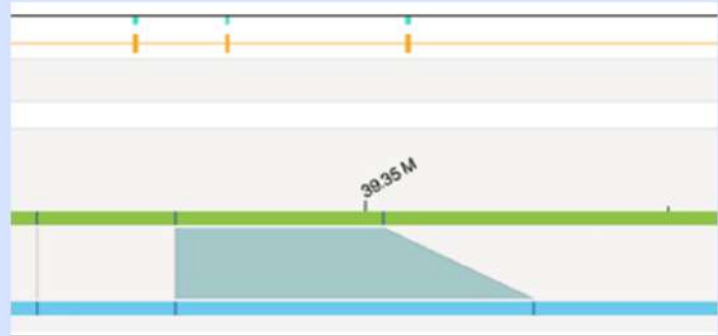
METODY

- Do badań wykorzystano krew obwodową dwóch pacjentów Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie, u których zdiagnozowano mutacje dynamiczne (Zespół CANVAS, Dystrofia Miotoniczna typu 2). Krew pobrano przez wykwalifikowany personel Instytutu.
- Sekwencjonowanie całego genomu przeprowadzono przy użyciu sekwenatora Illumina NovaSeq 6000, a następnie dane poddano obróbce bioinformatycznej za pomocą programu ExpansionHunter.
- Mapowanie optyczne genomu wykonano przy użyciu platformy Saphyr opracowanej przez firmę Bionano Genomics. Surowe dane zostały przetworzone za pomocą oprogramowania Bionano Solve v.3.7 (de novo assembly), a następnie wizualizowane za pomocą przeglądarki genomu Bionano Access 1.7.1.1.

WYNIKI I WNIOSKI

Gen	Powtarzana sekwencja	Choroba	Sposób dziedziczenia	Numer OMIM	Minimalna patogeniczna liczba powtórzeń
RFC1	AARRG	CANVAS	AR	614575	400
Genotyp	Patogenicność genotypu	Przedział ufności	Referencja położenia	Pokrycie	
26/103	łagodny/ łagodny	9.35/59.158	chr4: 39,348,424 -39,348,479	37,431118 3144246	

RYSUNEK A:
DANE UZYSKANE ZA POMOCĄ PROGRAMU EXPANSIONHUNTER Z USTALONYM KATALOGIEM WARIANTÓW



RYSUNEK B:
MAPA OPTYCZNA UZYSKANYCH WYNIKÓW METODĄ OGM. NA ZIELONO PRZEDSTAWIONA JEST MAPA OPTYCZNA DLA GENOMU REFERENCYJNEGO (HG38), NA BŁĘKITNO MAPA OPTYCZNA DLA PACJENTA. NIEBIESKI TRAPEZ WSKAZUJE NA WIELKOŚĆ INSERCJI U PACJENTA. POMARAŃCZOWYM KOŁOREM ZAZNACZONY JEST GEN RFC1.



RYSUNEK C:
MAPA OPTYCZNA UZYSKANYCH WYNIKÓW METODĄ OGM. NA ZIELONO PRZEDSTAWIONA JEST MAPA OPTYCZNA DLA GENOMU REFERENCYJNEGO (HG38), NA BŁĘKITNO MAPA OPTYCZNA DLA PACJENTA. NIEBIESKI TRAPEZ WSKAZUJE NA WIELKOŚĆ INSERCJI U PACJENTA. POMARAŃCZOWYM KOŁOREM ZAZNACZONY JEST GEN CNBP.

(A) WGS NIE POTWIERDZIŁ WYSTĘPOWANIA MUTACJI DYNAMICZNEJ. ILOŚĆ POWTÓRZEŃ SEKWENCJI REPETYTYWNYCH, UZYSKANYCH W TYM BADANIU, WYNOŚIŁA ODPOWIEDNIO 26 I 103 POWTÓRZENIA. ZGODNIE Z DOSTĘPNĄ LITERATURĄ NT. WARIANTÓW PATOGENNYCH, ILOŚĆ POWTÓRZEŃ MUSI WYNOŚIĆ >400 BY ZALICZYĆ CHORĄ DO ZESPOŁU CANVAS;

(B) OGM POTWIERDZIŁO WYSTĘPOWANIE MUTACJI DYNAMICZNEJ ZWIĄZANEJ Z ZESPOŁEM CANVAS. WYKRYŁO INSERCJE O DŁUGOŚCI 4967 PZ I 4513 PZ, CO W PRZELICZENIU DAJE OK. 993 I 903 POWTÓRZENIA MOTYWU W GENIE RFC1.

(C) OGM POTWIERDZIŁO WYSTĘPOWANIE U PACJENTA MUTACJI DYNAMICZNEJ ZWIĄZANEJ Z DYSTROFIĄ MIOTONICZNĄ 2. WYKRYŁO INSERCJE O DŁUGOŚCI 4186 PZ, CO DAJE OK. 1046 POWTÓRZEŃ MOTYWU CCUG W GENIE CNBP.