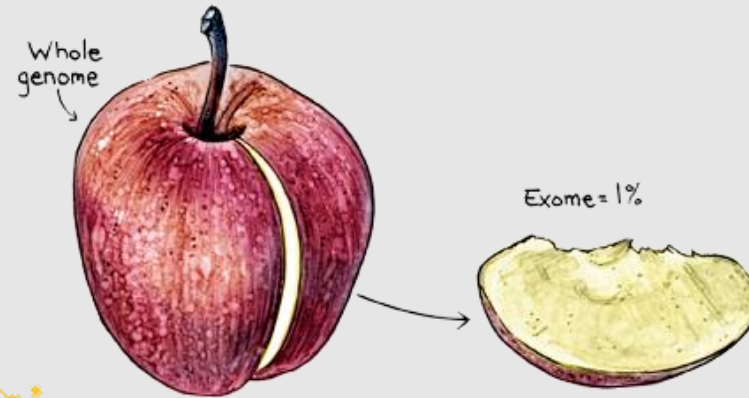
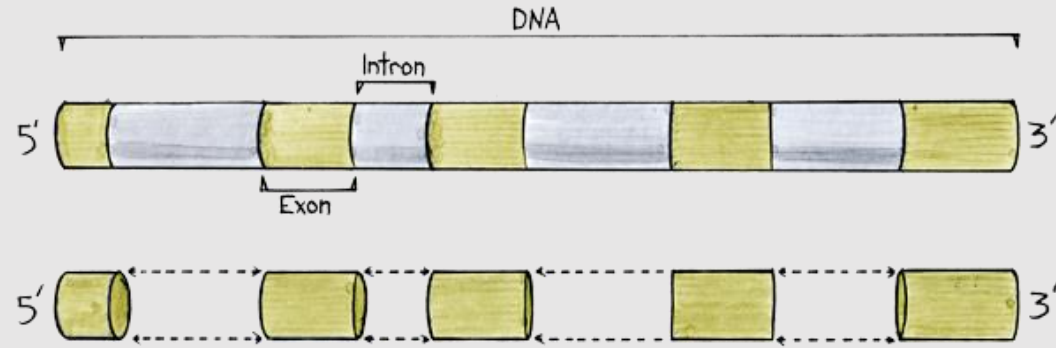


Ekzom Dizileme Örnek Analiz



Copyright © 2012 University of Washington

Gen Era Diagnostik
Biyoinformatik Grubu

biyoinformatik@gen-era.com.tr

Sunum Akışı

Ekzom Dizileme

WES Başarı Oranı

Kalıtım Modeline Göre Analiz

Örnek Analiz Uygulama



Klinik Ekzom Dizileme (CES)

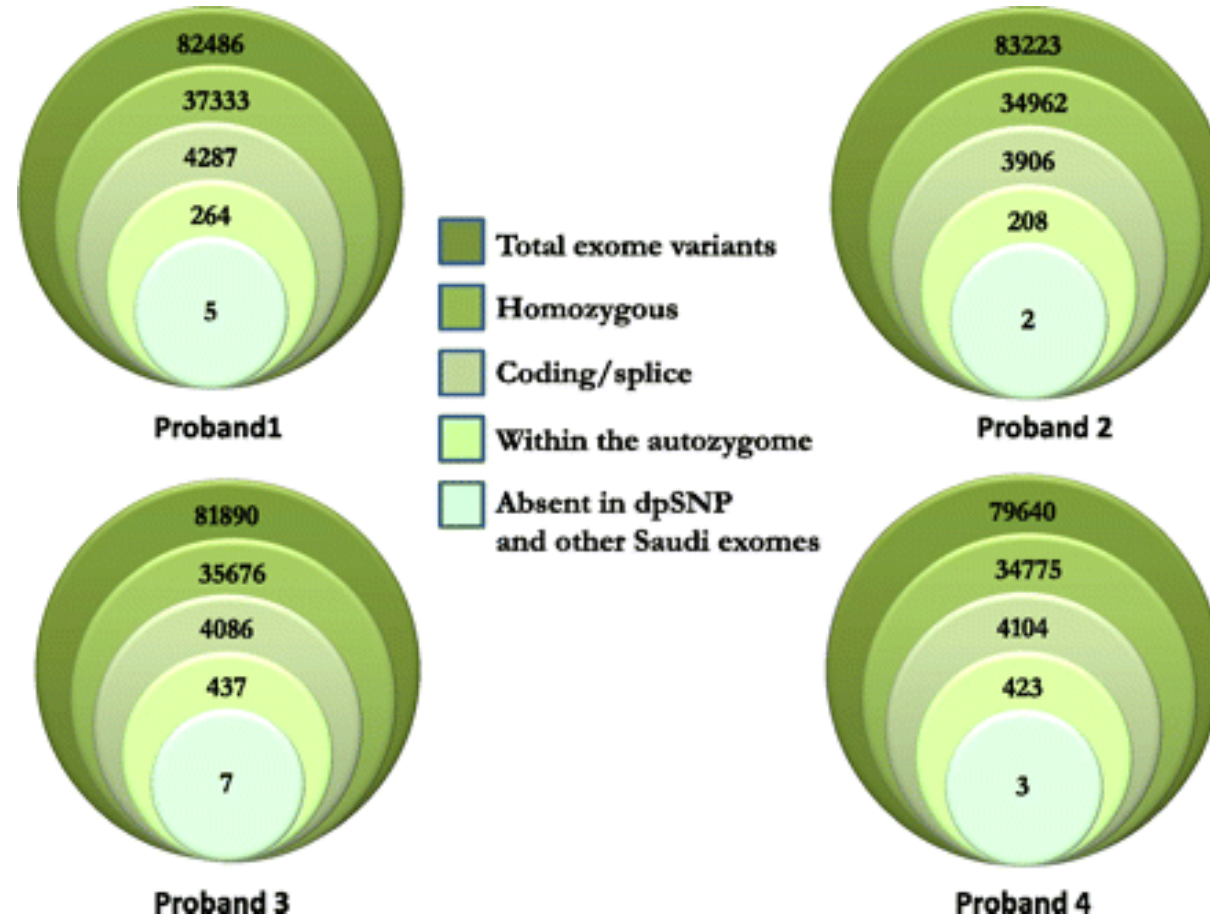
- CES (Klinik Ekzom Dizileme)
 - 4.493 gen
 - Ortalama 30.000'den fazla varyant
 - Hedefe yönelik çoklu gen panelleri yerine



Varyant Filtreleme



Varyant Filtreleme

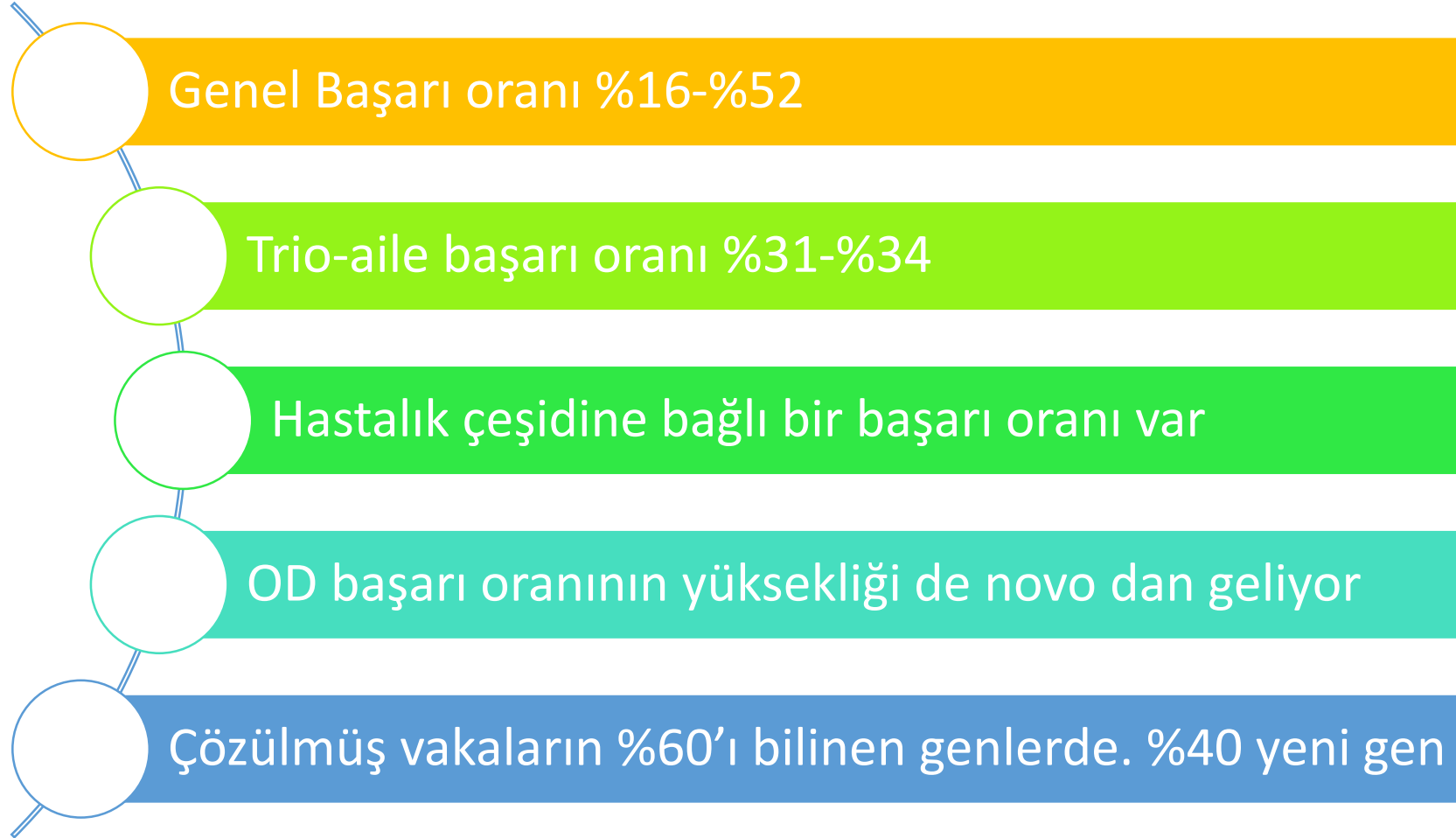


Ekzom Dizileme Başarı Oranı

- Akraba evliliği olan ailelerde, ebeveyn ve proband için analiz gerekli olmayabilir. Bunun yerine etkilenmiş ikinci bir kardeş ile paylaşılan varyantların azaltılması düşünülebilir.
- Otozomal resesif durumlar için ebeveyn ve kardeş çiftleri analiz için düşünülebilir. Bu şekilde compound heterozigot varyantlar için hızlı bir analiz yapılabilir ve varyantların cis trans ilişkisi görülebilir.
- Tek çocuklarda raporlanmış tanı oranı 22–25% (Baylor2013-2014-UCLA2014)



WES Başarı Oranı



Örnek Seçmede dikkat edilecek noktalar

- De novo da çözüm oranı çok yüksek
 - Trio olarak dizilenmeli
- Hasta kardeş varsa trio yerine 2 hasta+1 ebeveyn tercih edilebilir
- Tanı konulmamış ya da hedef genler tanımlı değilse vakanın çözülme olasılığı düşecektir.
- Analiz için fenotip bilgisi, semptomlar, aile bilgisi, kalıtım modeli, olası sendromlar mutlaka belgelenmeli.



KALITIM MODELİNE GÖRE ANALİZ

UZMANDAN BEKLENENLER

Pedigri

- Ailedeki öykü üzerinden kalıtım modeli belirlenmesinde çok önemli.

Hastalık gen paneli

- Hazır olarak bulunan hastalık panelleri.
- Hastalık ile ilişkilendirilmiş gen listeleri.

Beklenen Kalıtım Modelini Belirleme

- Analiz stratejisinin belirlenmesinde önemli.



Uygulanan Filtreleme Basamakları

- Hastalık ile ilgili genlerin listelenmesi (Opsiyonel).
- Ekzon ve ekzon-intron sınırının belirlenmesi.
- Etkisi yüksek varyantların filtelenmesi.
 - Frameshift, nonsense, missense varyantlar öncelikle analiz edilebilir.
 - Synonymous varyantlar daha sonra filtrelenebilir.
- Toplumda görülme sıklıklarına göre filtreleme
 - G1000, ESP, ExAC, gnomAD toplumsal veri tabanları
- Kalıtım modeline göre varyantların filtelenmesi.
 - Alternatif varyantların okunma yüzdesine göre.

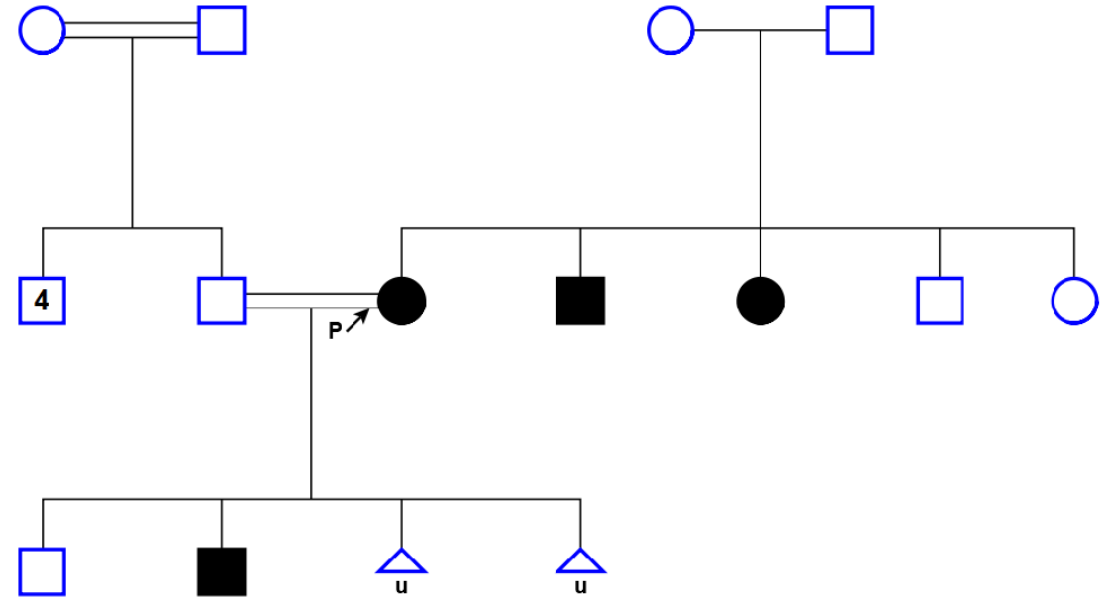




Compound (Bileşik) heterozigot

- Akraba evliliği bilgisi yok.
- Otozomal resesif bir hastalıktan şüphelenilmiş.
- Ailede etkilenmiş bir birey var.
- Gelen bilgiler arasında “ektodermal displazi” var.

Family Olgu 3



Filtre	Varyant sayısı
Tüm varyantlar	29614
Hastalık ile ilgili genler	201
Ekzon-İntron sınırının belirlenmesi (± 10)	49
Frameshift, nonsense, missense	31
Minör alel frekans (MAF) (≤ 0.01)	9
Homozigot ($VF \geq \%75$)	0
Heterozigot ($\%20 < VF < \%75$)	7



Sonuç

- Homozigot filtreleme sonucunda bir varyant tespit edilemedi.
- Heterozigot filtreleme sonrasında bileşik heterozigot oluşturabilecek iki varyant tespit edildi.
- *WNT10A* geninde;
 - NM_025216:c.1157A>C, p.(Gln386Pro) heterozigot
 - Novel
 - *in silico* araçlar patojenik
 - NM_025216: c.831G>T, p.(Trp277Cys) heterozigot
- Tespit edilen varyantların cis-trans ilişkisi ailede segregasyon analizi ile araştırılmalıdır.



Otozomal Dominant (OD)

- Hastalık ile ilgili genlerin listelenmesi (Opsiyonel).
- Ekzon ve ekzon-intron sınırının belirlenmesi.
- Etkisi yüksek varyantların filtelenmesi (frameshift, nonsense, missense). Synonymous varyantlar daha sonra filtrelenebilir.
- Toplumda görülme sıklıklarına göre filtreleme (G1000, ESP, ExAC, gnomAD).
- Homozigot varyantların filtelenmesi (%75 VF).



OR compound heterozigot

Homozigot bölge analizleri

- Bölgenin yokluğunun görülmesi
- Uzak akrabalık olabilir mi?

Beklenen genlerin tüm ekzonları okunmuş mu? (IGV)

- IGV ile genlerin tüm ekzonlardaki okumaların kontrolü

Varyant Filtreleme

- Varyant tespit edilen genin beklenen kalıtım modelini sağlaması
 - Anne-baba örneği yoksa mutlaka sanger dizileme ile cis-trans analizi
- Hastalık nadirliğine bağlı toplumda görülme frekansı
- Etkisi yüksek (missense, nonsense, splice, frameshit) varyantlar



Otozomal Dominant (OD)

Dizilemeye alınacak bireyler

- Mümkünse aileye ait geniş pedigrî çizimi
- Tek birey başarı şansı çok az. En az proband ile hasta-sağlıklı ebeveyn (Trio analiz)
- Hastalık hakkında penetrans bilgisi
- de novo şüphesi

Beklenen genlerin tüm ekzonları okunmuş mu? (IGV)

- IGV ile genlerin tüm ekzonlardaki okumaların kontrolü

Varyant Filtreleme

- Varyant tespit edilen genin beklenen kalıtım modelini sağlaması
- Hastalık nadirliğine bağlı toplumda görülme frekansı
- Etkisi yüksek (missense, nonsense, splice, frameshit) varyantlar



YENİ GEN KEŞFİ

- Hastalığın mekanizması çok iyi bilinmeli
- Etkili pathway'ler çok iyi bilinmeli
- Tek birey ile sonuç alınması çok zor.
- Tek aile ile yayın yapmak nereden itibaren imkansız
- Fonksiyonel çalışma gerekli
- AR hastalık için homozigot bölgelerin tespiti önem kazanır



Aday Varyanta Göre Çalışmanın Değerlendirilmesi

Bilinen gen - bilinen varyant

- Çalışma sonuçlanmıştır

Bilinen gen - yeni varyant

- Sonuç literatüre aktarılmalı

Yeni Gen

- Yayın için:
 - Yeni aileler
 - Fonksiyonel analiz



Teşekkürler...

Gen Era Diagnostik
Biyoinformatik Grubu

biyoinformatik@gen-era.com.tr

