Understanding Chromosome & Gene Disorders

# Секвенирование ДНК:

## полногеномное и полноэкзомное секвенирование

rarechromo.org

## Что такое хромосомы и ДНК?

Хромосомы — это особые структуры в клетках тела, содержащие генетическую информацию — ДНК. От ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты) зависит, как растет, развивается и функционирует наш организм. Хромосомы наследуются парами — по одной копии от каждого родителя. У человека 23 пары хромосом, в целом — 46 отдельных хромосом, из которых две являются половыми, то есть определяют пол человека. Женский набор хромосом содержит две X-хромосомы (XX), а мужской — одну X-хромосому и одну Y-хромосому (XY). Оставшиеся 44 хромосомы (называемые аутосомами) образуют 22 пары, которые пронумерованы от самой длинной (1) до самой короткой (22). У каждой хромосомы есть короткое (p) и длинное (q) плечо. Полный набор генетической информации, содержащийся в хромосомах, называется геномом, а небольшие ее участки — генами.

ДНК представляет собой код, состоящий из четырех «букв», каждая из которых обозначает азотистое основание: A (аденин), C (цитозин), G (гуанин) и T (тимин). Геном человека состоит приблизительно из шести миллиардов таких оснований, а в самой длинной хромосоме (хромосоме 1) их насчитывается около 250 миллионов. Смысл этого кода заключается в последовательности букв A, C, G и T подобно тому, как значение слова зависит от порядка букв.

Ген — это функциональный участок ДНК. Геном человека включает в себя около 20 000 генов. Это значит, что каждая хромосома содержит от десятков до сотен и тысяч генов. Гены напоминают памятки (или рецепты), в которых заключена вся генетическая информация о том, как должен развиваться и функционировать организм. Большинство генов содержат информацию о синтезе («кодировании») белка. Белкам в организме отведено множество важных ролей. Они выполняют большую часть работы в клетках организма — они необходимы для организации, функционирования и регуляции тканей и органов.

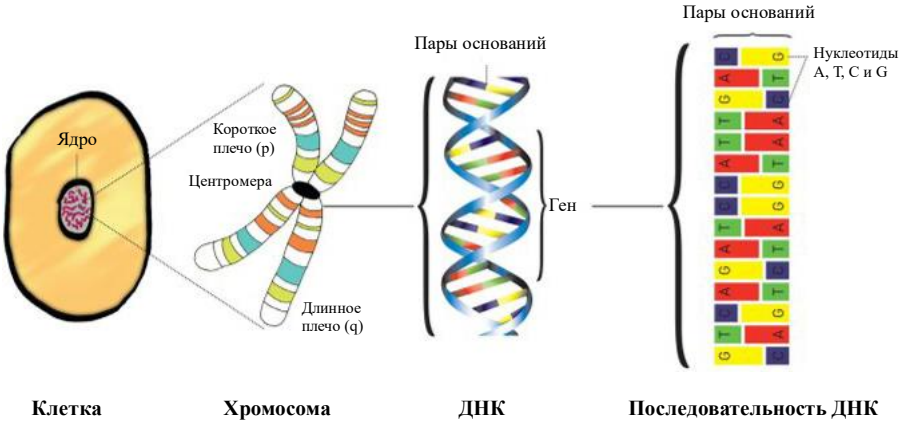
## Изучение хромосом (хромосомный микроматричный анализ)

Хромосомы нельзя увидеть невооруженным глазом, но, если их окрасить и многократно увеличить под микроскопом, можно заметить, что каждая хромосома имеет характерный узор — чередование темных и светлых поперечных полос. Подобный процесс изучения хромосом называется кариотипированием. Используя этот метод исследования, можно обнаружить значительный хромосомный дисбаланс. Он может проявляться в виде потери (делеции) или приобретения (дупликации) хромосомного материала, а также в хромосомной перестройке.

Хромосомные пары 1–22, X и Y (у мужчин)

Более современным и усовершенствованным методом исследования является хромосомный микроматричный анализ (ХМА). Он включает в себя сравнительную геномную гибридизацию (array CGH, также известную как CMA-HR), анализ однонуклеотидных полиморфизмов с использованием ДНК-микрочипа (SNP array, также известный как SNP-чип или CMA-SNP) или сочетание обоих методов. Тесты на основе микроматрицы позволяют обнаружить очень мелкие хромосомные делеции или дупликации, которые невозможно выявить с помощью микроскопа. Такие изменения часто называют микроделециями или микродупликациями. У *Unique* есть отдельные брошюры, посвященные методу сравнительной геномной гибридизации (Array CGH), а также делециям и микроделециям (Deletions and Microdeletions), дупликациям и микродупликациям (Duplications and Microduplications).

Благодаря последним технологическим достижениям был разработан еще более точный метод тестирования, с помощью которого можно обнаружить даже самые мелкие генетические изменения — секвенирование ДНК. Оно позволяет обнаружить изменения на уровне одного основания («буквы»).




## Что такое секвенирование?

Секвенирование представляет собой процесс, который позволяет определить точную последовательность оснований во фрагменте ДНК — аденинов (A), цитозинов (C), гуанинов (G) и тиминов (T). В настоящее время это наиболее полный генетический тест. С его помощью можно изучить весь геном человека (тогда метод называется полногеномным секвенированием) или отдельные области и участки, представляющие особую важность (в этом случае проводится полноэкзомное секвенирование, таргетное секвенирование или секвенирование ДНК отдельного гена). Результаты каждого конкретного человека сравнивают с общепринятыми нормами и стандартами, а затем полученные данные интерпретируют специалисты по лабораторной и клинической генетике. С помощью секвенирования можно распознать изменения на уровне одного основания цепи ДНК, а также определить фрагменты недостающей или дублирующейся генетической информации (делеции/микроделеции или дупликации/микродупликации). Этот метод позволяет

обнаружить практически любое генетическое изменение, которое могло стать причиной нарушения в развитии ребенка. Тем не менее, расшифровка полученных результатов представляет собой весьма сложную задачу, и потребуется еще несколько лет, прежде чем весь диагностический потенциал данной технологии будет реализован.

## Какие виды секвенирования существуют?

Существует несколько методов проведения секвенирования в целях диагностики:

- **Полногеномное секвенирование**

Этот метод включает секвенирование всего (то есть «полного») генома человека. Результаты анализа отображают последовательность всех генов, а также некодирующих участков ДНК, которые не содержат информации для синтеза белков (примечательно, что гены, кодирующие белки, составляют менее двух процентов всего генома). Некодирующая ДНК записывается с использованием тех же четырех букв, что и кодирующая, однако их функциональное значение отличается. До сих пор неясно, какую роль выполняет некодирующая область ДНК. Известно только, что одни ее участки контролируют работу генов, а другие определяют и поддерживают структуру хромосом. Несмотря на то, что в процессе полногеномного секвенирования исследуется весь геном человека, для анализа используется лишь часть данных. Для этого применяется виртуальная панель, которая помогает сосредоточиться на вариантах в генах, связанных с клиническими особенностями ребенка или взрослого, проходящего обследование.

- **Полноэкзомное секвенирование**

Известно, что большая часть изменений в ДНК, приводящих к генетическим заболеваниям, происходит в кодирующих участках генов (экзонах). По этой причине экзомное секвенирование, в отличие от геномного, в настоящее время является более эффективным и экономически выгодным методом определения последовательности ДНК для последующей генетической диагностики причин заболеваний или задержки в развитии. Виртуальные панели генов, используемые в рамках полногеномного секвенирования, также широко применяются при экзомном секвенировании.

- **Таргетное секвенирование**

Этот метод позволяет секвенировать определенный набор генов, которые связаны с возникновением конкретных симптомов, например, эпилепсии. Анализ менее дорогостоящий, чем экзомное секвенирование, однако он не позволяет обнаружить новые генетические нарушения.

- **Секвенирование отдельного гена**

Раньше секвенирование отдельного гена считалось традиционным методом исследования, но для его проведения врач должен выбрать, какой из 20 000 генов необходимо секвенировать. В некоторых случаях, например, при муковисцидозе, когда есть один ген, вызывающий заболевание, это не представляет сложности. Однако в большинстве случаев схожие клинические симптомы могут быть вызваны

изменениями сразу в нескольких генах, и это значительно затрудняет выбор гена для секвенирования.

## Какие образцы ДНК нужны для секвенирования?

Для секвенирования подходят любые образцы ДНК взрослого или ребенка. Чаще всего используются образцы ДНК, полученные из клеток крови. Для некоторых исследований используют слюну или берут мазок со слизистой оболочки щеки (буккальный мазок). В зависимости от цели анализа могут использоваться образцы клеток других тканей.

## Почему нашему ребенку предлагают сделать секвенирование?

Секвенирование является особенно важным инструментом в случаях серьезных, но недиагностированных заболеваний, причиной которых, вероятно, стало микроизменение в генах. Для обнаружения таких изменений традиционные методы исследования, например, кариотипирование и сравнительная геномная гибридизация (array CGH) могут оказаться неэффективными.

Раньше в целях диагностики заболеваний секвенирование, как правило, не проводилось. Только в рамках британских исследовательских проектов «Расшифровка нарушений развития» (Deciphering Developmental Disorders, DDD, www.ddduk.org) и «100 000 геномов» (100,000 Genomes Project, www.genomicsengland.co.uk) некоторым семьям было предложено полноэкзомное и полногеномное секвенирование.

Позднее на базе Национальной службы здравоохранения Великобритании была создана Служба генетических методов диагностики, лечения и профилактики заболеваний (Genomic Medicine Service, GMS). Именно так Великобритания стала первой страной в мире, где по целому ряду показаний полное секвенирование генома стало частью стандартной медицинской практики. Благодаря этой инициативе у многих детей и взрослых, которым ранее не был поставлен диагноз, появится больше возможностей узнать о генетических изменениях, лежащих в основе их клинических особенностей или расстройств.

## Как получить результаты?

Результаты секвенирования можно получить у врача, назначившего исследование. Он даст вам общее представление о полученных данных. Кроме того, по итогам консультации, как правило, выдается заключение. Возможен и другой вариант — вы можете получить предварительное заключение от врача, проводившего анализ. Если интерпретация результатов окажется сложной или потребуется дополнительное обследование членов семьи, вас направят к генетику.

## Как скоро результаты будут готовы?

Секвенирование ДНК — новая технология, поэтому для подготовки результатов и передачи их родителям потребуется некоторое время. Раньше результаты секвенирования, полученные в рамках исследовательских проектов, сообщались только спустя очень длительное время. Несмотря на то, что сам тест проводится довольно быстро, для анализа полученных данных иногда требуется задействовать

сразу многих специалистов, и на работу может уйти много времени. Тем не менее, совершенствование технологий секвенирования и приобретенный опыт в этой сфере позволили ускорить процесс подготовки результатов.

## Расшифровка результатов

Секвенирование позволяет обнаружить изменения в ДНК человека, к которым относятся к потерям или приобретениям частей хромосом и/или генов (называемые вариациями числа копий — CNV), а также замены одного азотистого основания другим в нуклеотиде отдельного гена (известные как однонуклеотидные варианты — SNV). Многие из таких изменений встречаются часто и, вероятно, практически не влияют на здоровье и развитие организма. Другие проявляются как редкие генетические варианты, которые сопряжены с разнообразными особенностями и клиническими проявлениями. Некоторые изменения встречается крайне редко, и в отдельных случаях это означает, что пока невозможно установить, вызваны ли особенности, которые проявляются у взрослого или ребенка, конкретным изменением ДНК. Подобные неоднозначные результаты иногда может прояснить генетическое обследование родителей, известное как трио-анализ. Поделиться результатами диагностики можно на платформе DECIPHER (www.deciphergenomics.org). С ее помощью ученые, врачи и родители могут сравнить клинические симптомы людей с одинаковыми генетическими вариантами.

## Генетик утверждает, что у моего ребенка обнаружены изменения в определенном гене. Как узнать, за что отвечает этот ген?

В настоящее время известно о роли лишь небольшого числа генов и их связи с определенными признаками. Если в случае с вашим ребенком эта связь установлена, то информация о том, какой именно ген затронут, может быть полезна для обеспечения надлежащего ухода за ребенком и наблюдения за его здоровьем. Не все случаи можно описать простой моделью «один ген — одно заболевание». Некоторые из генов устроены сложнее, и варианты в разных их частях или разные типы вариантов могут приводить к разным клиническим проявлениям. Если вы хотите узнать больше о конкретном гене или генах, связанных с заболеванием вашего ребенка, вы можете обратиться к врачу-генетику или консультанту по вопросам генетики. Они предоставят вам более подробную информацию.

Благодаря помощи врачей-генетиков и других медицинских работников *Unique* регулярно пополняет коллекцию брошюр о моногенных заболеваниях. Материалы находятся в свободном доступе по адресу: www.rarechromo.org/disorder-guides.

## В чем преимущества секвенирования?

Секвенирование — это наиболее точный метод исследования генов и хромосом, доступный на сегодняшний день. Оно позволяет выявить заболевание у большего количества детей, чем другие генетические тесты. Кроме того, благодаря технологии секвенирования можно обнаружить изменения в генах и хромосомах даже при отсутствии очевидных генетических предпосылок для проблем со здоровьем или развитием. Как правило, для таких случаев нет других специальных генетических анализов, с помощью которых постановка диагноза стала бы возможной.

Диагностика с использованием секвенирования позволяет определить причину проблем со здоровьем, что избавляет ребенка от необходимости проходить множество дополнительных обследований. Постановка диагноза может помочь вам и вашему врачу обратить внимание на симптомы, которые часто встречаются у людей с такими же изменениями ДНК, как и у вашего ребенка. Кроме того, это даст вам возможность предположить, чего следует ожидать по мере его взросления. Если связь между определенным геном и конкретным признаком или симптомом установлена, подобрать подходящее лечение станет проще.

Некоторые родители считают важным сообщить о диагнозе своего ребенка работникам школы и других учреждений. Это нужно, чтобы в учебном заведении знали о его особенностях и при необходимости могли оказать помощь. Кроме того, родители вступают в группы поддержки, чтобы познакомиться и, возможно, наладить связь с другими семьями, которые столкнулись с похожими трудностями и аналогичным диагнозом у ребенка.

Когда у ребенка обнаруживается изменение в ДНК, родителям (и некоторым другим членам семьи) тоже может быть предложен генетический тест. Это нужно для того, чтобы выяснить, не являются ли они носителями изменений в ДНК, которые могут передаваться их будущим детям и вызывать хромосомные или генные изменения. Если у взрослого человека есть генетические отклонения, ему важно знать о своем диагнозе. Так он сможет следить за здоровьем и своевременно выявлять возможные нарушения, которые могут проявиться в будущем. В зависимости от региона проживания и конкретной генетической проблемы возможность пройти генетическое тестирование для членов семьи может отличаться. Доступные варианты вы можете обсудить с врачом-генетиком.

## Ограничения секвенирования

В отличие от результатов секвенирования отдельных генов, интерпретация результатов секвенирования полного генома или экзома очень сложна. У каждого человека уникальная последовательность ДНК, а это означает, что между людьми существует множество мелких генетических различий, называемых вариантами, которые могут быть вовсе не связаны с теми признаки, из-за которых проводится исследование. Некоторые варианты встречаются часто, другие — редко, и это усложняет поиск конкретных генетических различий, которые вызывают определенные отклонения в развитии. К таким изменениям ДНК относятся вариации числа копий генов (CNV) и однонуклеотидные варианты (SNV), которые распространены в общей популяции и в большинстве случаев никак себя не проявляют. Такие варианты называют доброкачественными. Однако иногда CNV или SNV могут влиять на здоровье или развитие. В таких случаях их называют патогенными вариантами. Некоторые результаты секвенирования могут включать изменения в ДНК, значение которых пока неизвестно. Это называется вариантом неизвестного значения (обозначается как VUS или VOUS). Такие варианты могут значительно затруднять интерпретацию результатов анализа. Кроме того, некоторые изменения ДНК, такие как изменения количества многократно повторяющихся последовательностей ДНК (например, при болезни Гентингтона), трудно обнаружить с помощью современных технологий секвенирования генома. Для диагностики заболеваний, вызванных подобными изменениями, используется другая методика.

## Можно ли пройти секвенирование в рамках пренатального тестирования?

Поскольку секвенирование — относительно новая и развивающаяся технология, до рождения ребенка его обычно не проводят. Только в очень редких случаях оно может быть включено в программу пренатального тестирования. В частности, в Англии недавно было введено ускоренное секвенирование экзома. Оно включает в себя анализ небольшой панели генов, которые, как известно, вызывают проблемы, проявляющиеся в предродовой период. Такая процедура проводится, если на УЗИ было обнаружено, что у ребенка может быть генетическое заболевание. Если у одного из членов семьи секвенирование показало патогенный генетический вариант, то при любой последующей беременности возможно проведение пренатального тестирования или преимплантационной генетической диагностики.

## Повлияет ли секвенирование на лечение моего ребенка?

С помощью секвенирования ДНК можно выявить изменения в генетическом материале, которые могут объяснить трудности в обучении или задержку в развитии ребенка, но это не гарантирует немедленного улучшения методов терапии. Однако если окажется, что у ребенка дублирован, удален или изменен ген или участок хромосомы, связанный с определенным клиническим признаком, врач сможет скорректировать лечение. Кроме того, знание диагноза вашего ребенка даст вам представление о возможных проблемах со здоровьем, которые уже могли проявиться у других людей с таким же или похожим хромосомным или генным изменением.

## Что еще можно выявить с помощью секвенирования?

Геном каждого человека содержит множество изменений, некоторые из которых связаны как с текущими, так и с потенциальнымм заболеваниями и другими индивидуальными особенностями. И хромосомный микроматричный анализ, и секвенирование выявляют неожиданные генетические риски, которые могут не иметь отношения к первоначальной причине обследования. Такие результаты часто называют «случайными» или «неожиданными», поскольку они не связаны с основной причиной обследования, но могут иметь последствия для здоровья как самого ребенка, так и членов его семьи. В настоящее время такие результаты, как правило, родителям не сообщаются, поскольку даже специалистам не всегда удается понять их значение.

## Что делать, если в результате секвенирования не удалось поставить диагноз?

Результаты секвенирования и дальнейший план лечения вы сможете обсудить с врачом-генетиком или консультантом по генетическим вопросам. Если для постановки диагноза полученных данных окажется недостаточно, специалист направит вашего ребенка на дополнительную диагностику. В настоящее время проводится множество исследований, направленных на изучение генома, поэтому вполне возможно, что диагноз будет установлен при повторном анализе последовательности ДНК ребенка в будущем.

## Как запросить секвенирование для ребенка?

Раньше секвенирование генома было доступно только в рамках исследовательских проектов. Однако благодаря снижению стоимости технологий секвенирования и расширению знаний в этой сфере, теперь подобные процедуры предлагают и в отделениях клинической генетики некоторых национальных служб здравоохранения. В Англии Служба генетических методов диагностики, лечения и профилактики заболеваний Национальной службы здравоохранения теперь может предложить людям, соответствующим критериям отбора, полногеномное секвенирование в рамках планового медицинского обследования. В остальной части Великобритании и за ее пределами ситуация иная, но ожидается, что со временем секвенирование станет более доступным для всех людей с подозрением на генетическое заболевание. Если вы хотите, чтобы вашему ребенку провели секвенирование генома, проконсультируйтесь с врачом общей практики или генетиком о целесообразности и возможности проведения этого анализа.

## Что такое Служба генетических методов диагностики, лечения и профилактики заболеваний (GMS) Национальной службы здравоохранения Англии?

Национальная служба здравоохранения Англии недавно инвестировала значительные средства в обеспечение широкого, справедливого и равноправного доступа к генетическим исследованиям по всей стране. Так была учреждена Служба генетических методов диагностики, лечения и профилактики заболеваний. В рамках этой инициативы по всей стране функционирует национальная сеть геномных лабораторий, а также работают центры, в которых можно пройти полногеномное секвенирование и широкий спектр других генетических тестов. Основная цель Службы — внедрить регулярные процедуры полногеномного секвенирования и других передовых геномных технологий для разработки более персонализированных подходов к лечению и другим медицинским вмешательствам. Первый этап реализации и развития этой службы запланирован на период с 2020 по 2025 годы.

# Служба информационной поддержки

**Группа поддержки семей с редкими хромосомными отклонениями**
Адрес: The Stables, Station Rd West, Oxted, Surrey, RH8 9EE, UK.
Телефон: +44(0)1883 723356
info@rarechromo.org I www.rarechromo.org

**Присоединяйтесь к сообществу *Unique*, чтобы получить дополнительную информацию, помощь и контактные данные семей с похожими историями.**
*Unique* — это благотворительная организация, не получающая государственного финансирования. Финансовая поддержка осуществляется исключительно за счет добровольных пожертвований и грантов. Вы можете сделать пожертвование на нашем официальном сайте:

www.rarechromo.org/donate Пожалуйста, помогите нам помочь вам!

Публикация данной брошюры стала возможной благодаря поддержке «Почтенной компании бакалейщиков».

Информация в этой брошюре не заменяет профессиональную медицинскую консультацию. По всем вопросам, касающимся здоровья, диагностики генетических заболеваний и контроля их течения, необходимо обращаться к специалисту. Представленная в брошюре информация является наиболее актуальной на момент публикации. Брошюра была составлена командой Unique и проверена доктором Кэролайн Райт, магистром гуманитарных и естественных наук, доктором философии, профессором геномной медицины (Эксетерский университет, Великобритания), и доктором Хелен Фёрт, доктором медицины, членом Королевской коллегии врачей и Академии медицинских наук Великобритании, консультирующим специалистом по клинической генетике (Кембриджский университет, Великобритания). 2013 г., Версия 1. (SW), 2021 г., Версия 2 (AP)

Перевод выполнен в рамках Международного студенческого волонтерского проекта Unique. Куратор переводческого проекта – Наталья Викторовна Нечаева, доцент кафедры перевода РГПУ им. А. И. Герцена, Президент Ассоциации преподавателей перевода, Санкт-Петербург, Россия. Медицинскую редакцию выполнила Кожанова Татьяна Викторовна, к.м.н., врач лабораторный генетик, ГБУЗ «НПЦ специализированной медицинской помощи детям имени В.Ф. Войно-Ясенецкого ДЗМ», Москва, Россия. Russian translation 2025 (EV/AP)

Copyright © Unique 2021

Группа поддержки семей с редкими хромосомными отклонениями
Организация зарегистрирована в реестре компаний Англии и Уэльса

Номер в реестре благотворительных организаций 1110661
Регистрационный номер 5460413