Stamboomanalyse

Tijdens genetic counseling zijn de symptomen vastgesteld en stamboomgegevens verzameld van patiënte P. Aan de hand van de stamboomgegevens zal een mendeliaans overervingspatroon van haar ziekte worden vastgesteld. Een stamboomanalyse is één van de methoden om genetisch onderzoek te doen. Wanneer er geen pathogene mutaties gevonden worden met mutatie analyse kan er met segregatie analyse (G.P.Jarvik, 1998) nog eens gekeken worden naar de stamboomgegevens en eventueel familie uit genodigd worden voor een gesprek.

Diagnose stellen

Door het ziektebeeld en het overervingspatroon te analyseren is er een diagnose gesteld met behulp de OMIM database (McKusick, 1995). Door in de OMIM database (McKusick, 1995) de symptomen van patiënte P als steekwoorden te gebruiken: (night blindness) AND tunnel visioin, is Retinitis pigmentosa vastgesteld bij patiënte P. Uit de potentiële kandidaat-genen is voor de mutatie analyse het kandidaatgen: SNRNP200 met accessiecode: 601664 (McKusick, 1995) gebruikt. Dit kandidaatgen zal geanalyseerd worden op de aanwezigheid van een mutatie.

Mutatie analyse:

Er is geanalyseerd of er een mutatie kan worden gevonden in het SNRN2000 gen accessiecode; 601664 uit de OMIM database (McKusick, 1995), om te kunnen zeggen wat de ziekte van patiënte P veroorzaakt. De primers zijn ontworpen op basis van de volgende parameters: lengte van 20 nt; Tm tussen de 55 en 62 graden; Tm verschil van max 4 graden én een GC% dat tussen de 30 en 60 % licht. Wanneer een primer op meerdere plaatsen in het DNA kan binden, kan dit leiden tot foute resultaten. Aan de hand van het labprotocol van Nikki Olde-loohuis (Olde-loohuis, 2017) is er een PCR en gelelektroforese uitgevoerd om zo de lengte van een DNA fragment te kunnen bepalen en om te controleren of het juiste DNA fragment is gekopieerd. Met Sanger sequencen (Schoales, 2015) wordt de stikstofbase volgorde bepaald van het DNA fragment waarna via refseq gecontroleerd wordt of er een variatie voorkomt die de ziekte van patiënte P kan veroorzaken.

Exoom sequencing:

Omdat de targeted exome sequencing (illumina, Targeted exome sequencen, sd) van de 111 RP genen geen resultaten opleverde was de volgende stap: exome sequencing (illumina, Exome sequencing, sd). Hiermee is een variant gevonden is die niet met targeted exome sequencing gevonden is. De targeted exome sequencing data is geannoteerd aan de hand van de hg18 versie van het humane genoom. De exome sequencing data aan de hand van hg 19. Om de 2 data sets met elkaar te kunnen vergelijken is de hg19 positie van de variant uit de exome data geconverteerd naar hg18 om te kijken hoe de sequenties van de reads eruit zien bij de targeted exome sequencing data.

Filteren op pathogene varianten:

Er zijn twee Excel files gebruikt om te filteren op pathogene varianten, afkomstig van OndewijsOnline. De data in het eerste Excelbestand (Paffen, Opsporen van genetische mutaties bij erfelijke ziektes 5) zijn de resultaten uit het targeted exome sequencing experiment. In allebei de bestanden is gefilterd op alleen kwalitatief goede varianten door alleen varianten te nemen die minstens 5 variant reads hebben en miniamaal 20% variatie reads en varianten die geen waarde hebben in de kolom SNP state. Verder zijn in het eerste Excelbestand nog niet bekende non-synonymous varianten en nog niet bekende splice-site varianten weg gefilterd. Er blijven 14 varianten over. Het tweede Excelbestand (Paffen, Opsporen van genetische mutaties bij erfelijke ziektes 6) bevat de resultaten van het exome sequencing experiment. In dit bestand is onder andere nog gefilterd op alle genen die Retinitis pigmentosa kunnen veroorzaken, de variaties die in intronen voorkomen zijn ook weg gefilterd. Er blijven 3 varianten over, waarvan 1 niet gevonden werd met targeted exome sequencing.

Verificatie pathogene variant

# Verwijzingen

G.P.Jarvik. (1998, Oktober). *Segregation analyses.* Opgehaald van NCBI: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1377507/

illumina. (sd). *Exome sequencing*. Opgehaald van illumina: https://www.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing/exome-sequencing.html

illumina. (sd). *Targeted exome sequencen*. Opgehaald van illumina: https://www.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing/targeted-panels.html

illumina. (sd). *Targeted resequencing*. Opgehaald van illumina: https://www.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing/targeted-panels.html

McKusick, D. V. (1995). *https://omim.org/entry/601664.* Opgehaald van https://omim.org/ .

Olde-loohuis, N. (2017). *Genetische Mutaties. Course 2.* Nijmegen: HAN.

Paffen, I. (sd). *Opsporen van genetische mutaties bij erfelijke ziektes 5.* Opgehaald van OnderwijsOnlineHAN: https://onderwijsonline.han.nl/elearning/lesson/dNwnOvqR

Paffen, I. (sd). *Opsporen van genetische mutaties bij erfelijke ziektes 6.* Opgehaald van OnderwijsOnlineHAN: https://onderwijsonline.han.nl/elearning/lesson/RDpM22qp

Schoales, J. (2015, 06 17). *How does Sanger sequencing work?* Opgehaald van ThermoFisher SCIENTIFIC: https://www.thermofisher.com/blog/behindthebench/how-does-sanger-sequencing-work/