

# Особенности наследственных онкозаболеваний. Базы данных для аннотации.

Кристина Карандашева

лаборатория эпигенетики  
ФГБНУ “Медико-генетический научный центр”

# Злокачественные новообразования

Рак - генетическое заболевание.

Причина: мутации в генах контролирующих клеточный рост, геномную стабильность, миграцию и дифференцировку клеток.

# Наследственные опухолевые синдромы (НОС)

НОС - группа генетических заболеваний (> 200 нозологий), характеризующихся передачей из поколения в поколение фатальной предрасположенности к развитию рака.

- ❑ составляют ~ 5-10% всех случаев онкологических заболеваний
- ❑ относятся к одним из наиболее часто встречающихся медико-генетических нозологий
- ❑ частота в популяции ~ 1-2%

# Характеристика НОС

- ❑ ранний возраст манифестации (примерно на 20-25 лет раньше, чем спорадические раки)
- ❑ первично-множественный характер опухолей
- ❑ синхронные и/или билатеральные опухоли
- ❑ высокий уровень онкологической предрасположенности (рецидива)
- ❑ семейный анамнез
  - ❑ не является обязательным маркером присутствия мутации

# Генетика НОС

- ❑ большинство НОС - моногенные (менделирующие) заболевания с аутосомно-доминантным типом наследования, вызванные loss-of-function мутацией в генах-онкосупрессорах или gain-of-function мутацией в онкогенах.
- ❑ для большинства НОС характерна неполная пенетрантность

# Пенетрантность НОС

В теории (!), для большинства НОС, *индивидуальный* риск манифестации заболевания для носителей патогенной мутации, не превышает 90% к возрасту 70 лет.

60% - BRCA1, 50% - BRCA2

Фенотипы носителей одинаковой мутации могут существенно различаться (возраст манифестации, тяжесть фенотипа).

Модификаторами пенетрантности являются факторы внешней среды (в меньшей степени) и особенности генетического фона (в большей степени)

# Онкосупрессоры vs онкогены

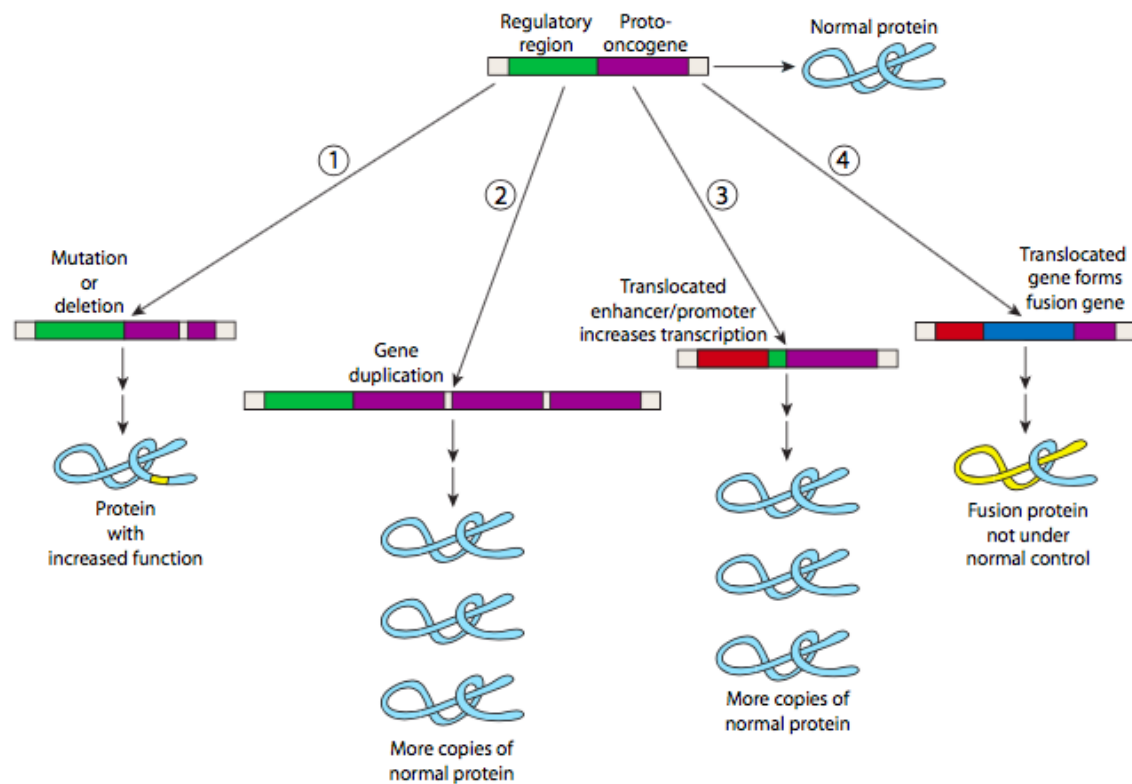
Онкогены - мутантные или излишне активные протоонкогены (гены, стимулирующие клеточный рост и деление)

Онкосупрессоры - контролируют клеточный рост, деление и репарацию ДНК

Gatekeepers

Caretakers

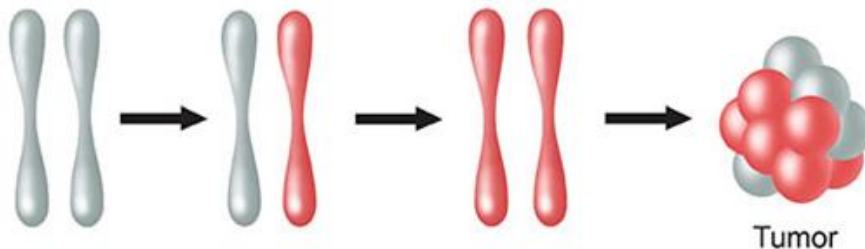
# Онкогены



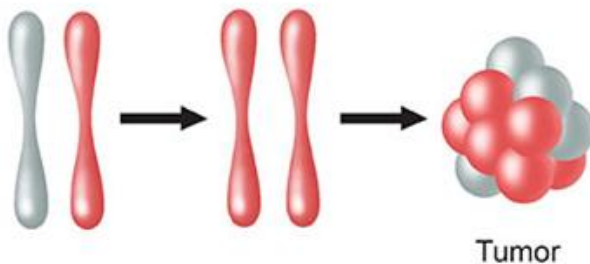


# Онкосупрессоры - двухударная модель канцерогенеза

**Sporadic cancer:**  
2 acquired mutations

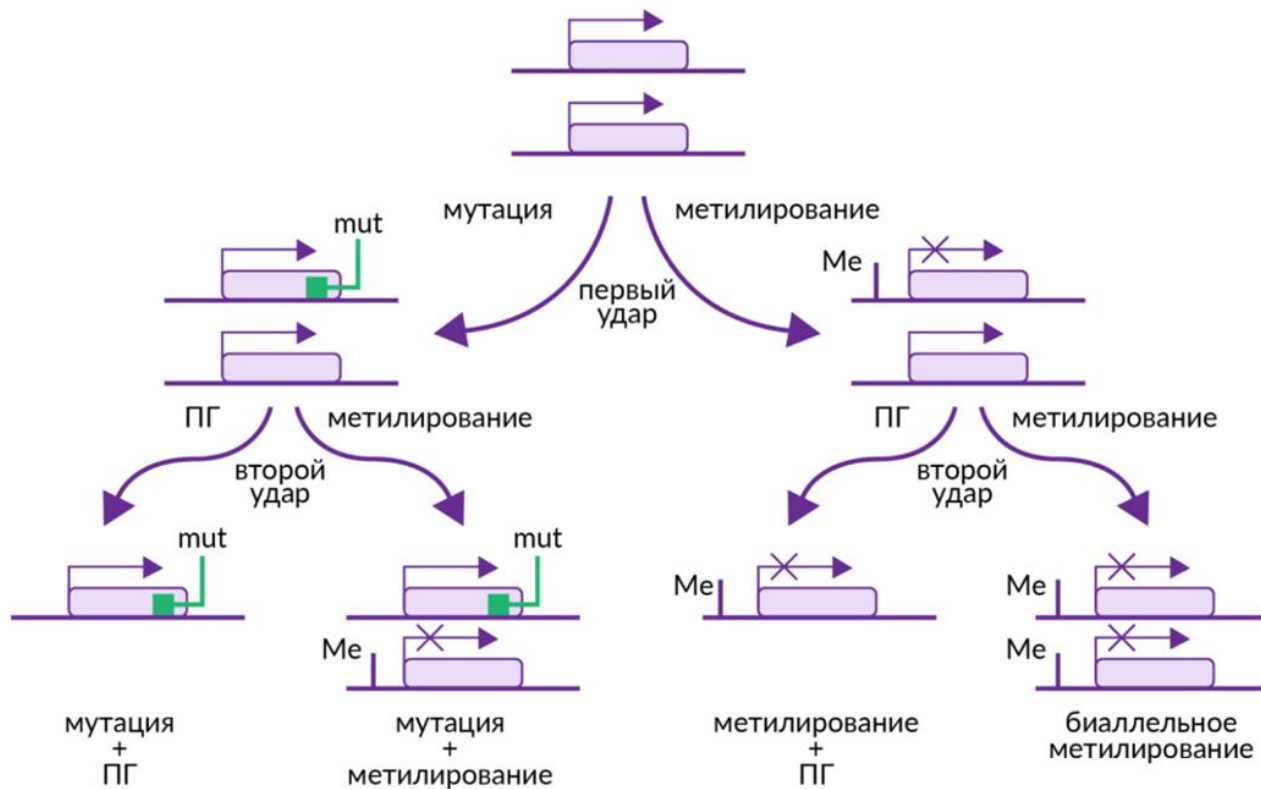


**Hereditary cancer:**  
1 inherited and  
1 acquired mutation



для трансформации  
нормальной клетки в  
опухолевую  
необходимо два  
последовательных  
мутационных  
события

# Двухударная модель канцерогенеза

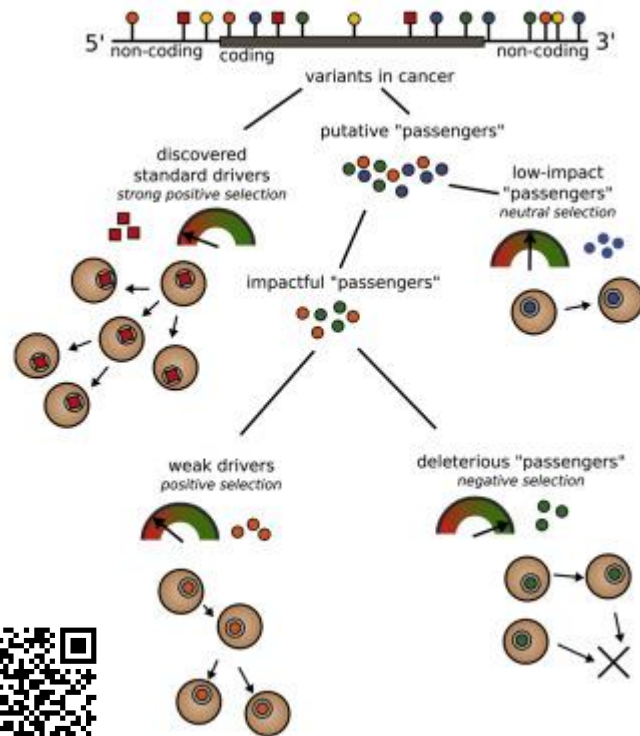


# Гены ассоциированные с НОС

| Онкосупрессоры  | Протоонкогены  | Другое                      |
|---|--|-----------------------------|
| <i>APC, ATM, BAP1, BARD1, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDKN2A, CHEK2, GREM1, MLH1, MRE11A, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, PALB2, PMS2, POLD1, POLE, PTEN, RAD50, RAD51B, RAD51C, RAD51D, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD4, STK11, TP53, VHL</i> | <i>CDK4, CTNNA1, KIT, PDGFRA, RET, EGFR, KRAS, ERBB2, MET, MYC</i> | <i>PRSS1, SPINK1, EPCAM</i> |

# Драйверные и пассажирские мутации

- ❑ Драйверные мутации -
  - ❑ Способствуют росту, генетическому разнообразию и развитию опухоли
  - ❑ Находятся под положительным отбором в процессе эволюции раковых клеток
  - ❑ Локализуются в 'раковых' генах
  - ❑ ~ 2-10 драйверных мутаций на опухоль
- ❑ Пассажирские мутации
  - ❑ все остальные
  - ❑ возникают вследствие геномной нестабильности
  - ❑ не дают преимущества в скорости роста
  - ❑ могут не иметь эффекта вообще



# Моногенные и почти моногенные НОС

- ❑ синдром Ли-Фраумени – *TP53*
- ❑ ретинобластома – *RB1*
- ❑ семейный рак желудка – *CDH1*
- ❑ нейрофиброматоз 1 типа – *NF1*
- ❑ нейрофиброматоз 2 типа – *NF2*
- ❑ туберозный склероз – *TSC1, TSC2*
- ❑ синдром Пейтца-Егерса – *STK11*
- ❑ ювенильный гастро-интестинальный полипоз – *SMAD4, BMPR1A*
- ❑ синдром Коудена – *PTEN*
- ❑ рак молочной железы / рак яичников – *BRCA1, BRCA2*

# Не все НОС - моногенные

## 35 Genes Across 8 Important Cancer Types

| GENES             | BREAST | OVARIAN | COLORECTAL | UTERINE | MELANOMA | PANCREATIC | GASTRIC | PROSTATE | OTHER |
|-------------------|--------|---------|------------|---------|----------|------------|---------|----------|-------|
| BRCA1             | ●      | ●       |            |         |          | ●          |         | ●        |       |
| BRCA2             | ●      | ●       |            |         | ●        | ●          |         | ●        |       |
| MLH1              |        | ●       | ●          | ●       |          | ●          | ●       | ●        | ●     |
| MSH2              |        | ●       | ●          | ●       |          | ●          | ●       | ●        | ●     |
| MSH6              |        | ●       | ●          | ●       |          | ●          | ●       | ●        | ●     |
| PMS2              |        | ●       | ●          | ●       |          | ●          | ●       | ●        | ●     |
| EPCAM             |        | ●       | ●          | ●       |          | ●          | ●       | ●        | ●     |
| APC               |        |         | ●          |         |          | ●          | ●       |          | ●     |
| MUTYH Biallelic   |        |         | ●          |         |          |            |         |          | ●     |
| MUTYH Monoallelic |        |         | ●          |         |          |            |         |          |       |
| CDKN2A (p16INK4a) |        |         |            |         | ●        | ●          |         |          |       |
| CDKN2A (p14ARF)   |        |         |            |         | ●        | ●          |         |          |       |
| CDK4              |        |         |            |         | ●        | ●          |         |          |       |
| TP53              | ●      | ●       | ●          | ●       | ●        | ●          | ●       | ●        | ●     |
| PTEN              | ●      |         | ●          | ●       | ●        |            |         |          | ●     |
| STK11             | ●      | ●       | ●          | ●       |          | ●          | ●       |          | ●     |
| CDH1              | ●      |         | ●          |         |          |            | ●       |          |       |
| BMPRIA            |        |         | ●          |         |          | ●          | ●       |          | ●     |

35 генов - 8 типов  
рака (Myriad myRisk®  
Hereditary Cancer)



# Сколько известно НОС?



## GeneReviews®

Margaret P Adam, Editor-in-Chief; Senior Editors: Holly H Ardinger, Roberta A Pagon, and Stephanie E Wallace. Molecular Genetics: Lora JH Bean and Ghayda Mirzaa. Anne Amemiya, Genetic Counseling.

Seattle (WA): [University of Washington, Seattle](#); 1993-2021.  
ISSN: 2372-0697

[Copyright and Permissions](#)

[GeneReviews Advanced Search](#) [Help](#)

< Prev

Next >

287 / 804 - "cancer"

*GeneReviews*, an international point-of-care resource for busy clinicians, provides clinically relevant and medically actionable information for inherited conditions in a standardized journal-style format, covering diagnosis, management, and [genetic counseling](#) for patients and their families. Each chapter in *GeneReviews* is written by one or more experts on the specific condition or disease and goes through a rigorous editing and [peer review](#) process before being published online.

*GeneReviews* currently comprises 804 chapters.

# Частые НОС

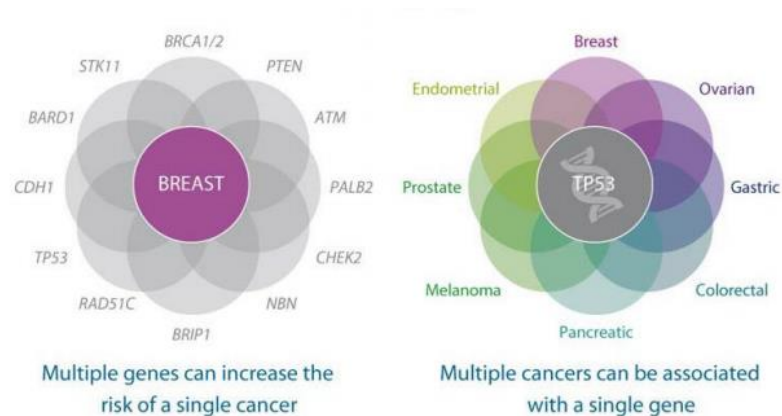
1. Наследственный рак молочной железы и яичников (*BRCA1, BRCA2*)
  - > 5% случаев РМЖ
  - > 15% случаев РЯ
2. Наследственный неполипозный рак толстой кишки - синдром Линча (*MLH1, MSH2, MSH6, PMS2* - гены репарации неспаренных оснований)
  - ~ 5% злокачественных новообразований толстой кишки
  - ~ 3% карцином эндометрия
3. Наследственный полипоз толстой кишки (*APC, MUTYH*)
4. Нейрофиброматоз 1 типа
  - 1 : 3,000 человек
5. Туберозный склероз
  - 1 : 6,000



# Панели генов

| 34 genes |        | Breast | Ovarian | GYN    | Colon | Pancreatic | Renal |
|----------|--------|--------|---------|--------|-------|------------|-------|
| 7G       | BRCA1  | BRCA1  | BRCA1   | BRCA1  |       | BRCA1      |       |
|          | BRCA2  | BRCA2  | BRCA2   | BRCA2  |       | BRCA2      |       |
|          | STK11  | STK11  | STK11   |        | STK11 | STK11      |       |
|          | CDH1   | CDH1   | CDH1    |        | CDH1  |            |       |
|          | PTEN   | PTEN   | PTEN    | PTEN   | PTEN  |            | PTEN  |
|          | TP53   | TP53   | TP53    | TP53   | TP53  | TP53       | TP53  |
| 27G      | PALB2  | PALB2  | PALB2   |        |       | PALB2      |       |
|          | BARD1  | BARD1  | BARD1   |        |       |            |       |
|          | BRIP1  | BRIP1  | BRIP1   |        |       |            |       |
|          | NBN    | NBN    | NBN     |        |       |            |       |
|          | NF1    | NF1    | NF1     |        |       |            |       |
|          | RAD51C | RAD51C | RAD51C  |        |       |            |       |
|          | RAD51D | RAD51D | RAD51D  |        |       |            |       |
|          | ATM    | ATM    | ATM     |        |       | ATM        |       |
|          | MUTYH  | MUTYH  | MUTYH   |        | MUTYH |            |       |
|          | CHEK2  | CHEK2  | CHEK2   |        | CHEK2 |            |       |
|          | RET    | RET    |         |        | RET   |            |       |
|          | MEN1   | MEN1   |         |        |       |            |       |
|          | MLH1   |        | MLH1    | MLH1   | MLH1  | MLH1       | MLH1  |
|          | MSH2   |        | MSH2    | MSH2   | MSH2  | MSH2       | MSH2  |
|          | MSH6   |        | MSH6    | MSH6   | MSH6  | MSH6       | MSH6  |
|          | PMS2   |        | PMS2    | PMS2   | PMS2  | PMS2       | PMS2  |
|          | EPCAM  |        | EPCAM   | EPCAM  | EPCAM | EPCAM      | EPCAM |
|          | APC    |        |         | APC    | APC   | APC        |       |
|          | BMPR1A |        |         | BMPR1A |       |            |       |
|          | SMAD4  |        |         | SMAD4  |       |            |       |
|          | POLD1  |        |         | POLD1  |       |            |       |
|          | POLE   |        |         | POLE   |       |            |       |
|          | CDKN2A |        |         |        |       | CDKN2A     |       |
|          | CDK4   |        |         |        |       |            |       |
|          | SDHB   |        |         |        |       |            | SDHB  |
|          | SDHC   |        |         |        |       |            | SDHC  |
|          | SDHD   |        |         |        |       |            | SDHD  |
|          | VHL    |        |         |        |       |            | VHL   |


С определенным типом рака может быть ассоциировано множество генов, один ген может приводить к развитию разных типов рака

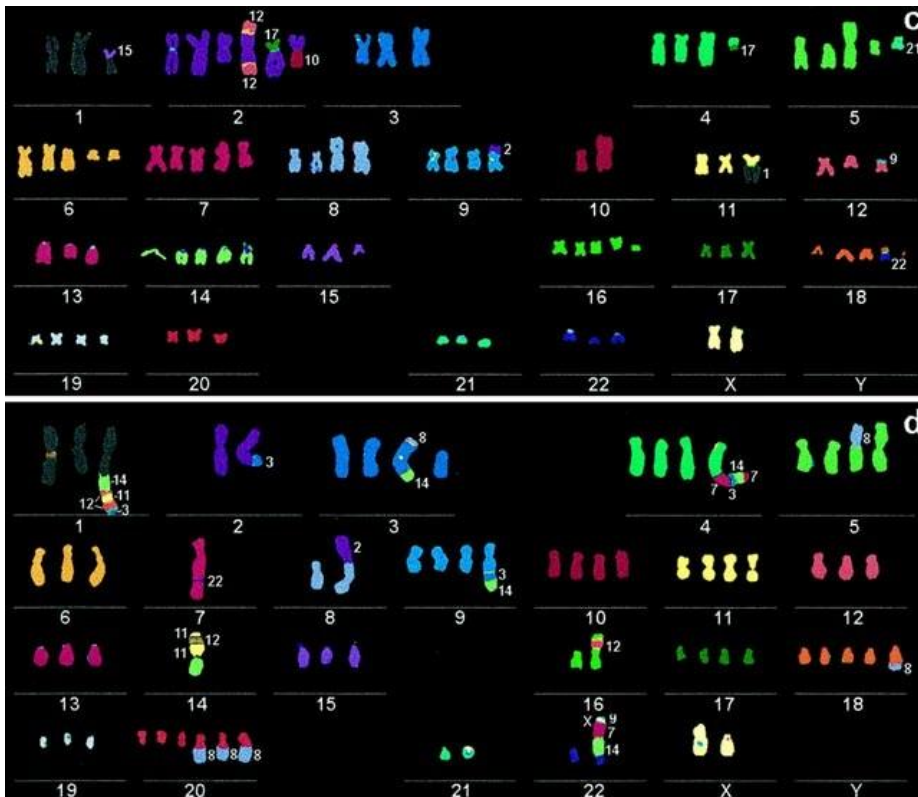


# Опухоль - не только SNP

- Точковые мутации
- CNV
- SV
- Хромосомные перестройки

## Analysis of Chromosomal Alterations in Non-Small Cell Lung Cancer by Multiplex-FISH, Comparative Genomic Hybridization, and Multicolor Bar Coding

Michael R Speicher , Simone Petersen, Sabine Uhrig, Isabell Jentsch, Christine Fauth, Roland Eils & Iver Petersen



# Аннотация генетических вариантов

- ☐ эффект на белок / транскрипт
- ☐ частота варианта в популяции
- ☐ предсказания программ-предикторов
- ☐ клинические базы данных (germline)
- ☐ онкологические базы данных (somatic)
- ☐ терапевтические базы данных
- ☐ вовлеченность в сигнальные пути

ПО для аннотации соматических вариантов

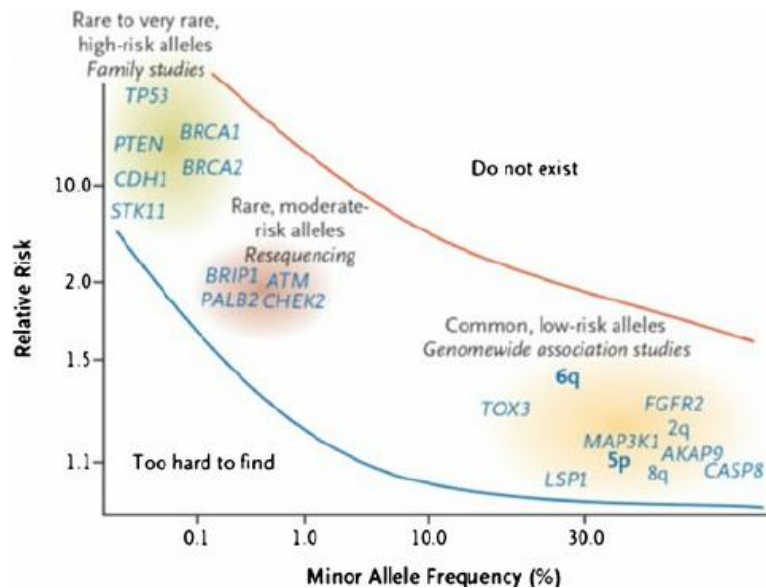
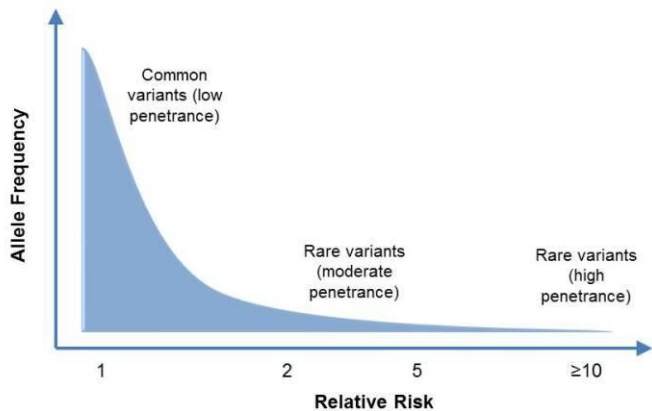
# Эффект на белок / транскрипт

- ❑ нонсенс-мутации
- ❑ миссенс-мутации
- ❑ синонимичные замены (silent) - могут влиять на сплайсинг
- ❑ инсерции и делеции

# Популяционная частота аллеля и риск развития рака

Чем чаще вариант встречается в популяции - тем меньше вероятность, что он имеет функциональное значение

**Genetic Architecture of Cancer Risk**



# Базы данных

|                        |   |
|------------------------|---|
| Герминальные варианты  | <a href="#"><u>ClinVar</u></a><br><a href="#"><u>OMIM</u></a> - Online Mendelian Inheritance in Man<br><a href="#"><u>HGMD</u></a> - Human Gene Mutation Database<br><a href="#"><u>LOVD</u></a> - Leiden Open Variation Database |
| Соматические варианты  | <a href="#"><u>COSMIC</u></a> - Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer<br><a href="#"><u>ICGC</u></a> - International Cancer Genome Consortium  |
| Терапевтические мишени | <a href="#"><u>PMKB</u></a> - Precision Medicine Knowledgebase<br><a href="#"><u>CGI</u></a> - Cancer Genome Interpreter<br><a href="#"><u>CIViC</u></a> - Clinical Interpretation of Variants in Cancer                          |

# Программы-предикторы патогенности

- ❑ SIFT
- ❑ Polyphen2
- ❑ PROVEAN
- ❑ FATHMM

dbNSFP - база данных, объединяющая прогнозы программ предикторов

# Программы-аннотаторы

- ❑ Variant Interpretation for Cancer (VIC)
- ❑ Oncotator
- ❑ CRAVAT
- ❑ Personal Cancer Genome Reporter (PCGR)



# Литература по теме

1. Имянитов ЕН. Общие представления о наследственных опухолевых синдромах. Практическая онкология. 2014;15(3):101.
2. Суспицын ЕН. Научно-популярная брошюра. Наследственные опухолевые синдромы. 2013
3. Баранова ЕЕ. Наследственные опухолевые синдромы: современная парадигма. Проблемы эндокринологии. 2020;66(4).



# Практикум по анализу таргетных онкопанелей. Мастер класс.

Кристина Карандашева

лаборатория эпигенетики  
ФГБНУ “Медико-генетический научный центр”

ссылка на данные для практической работы:

<https://disk.yandex.ru/d/hc7ZcrJ1GBL6Sw>

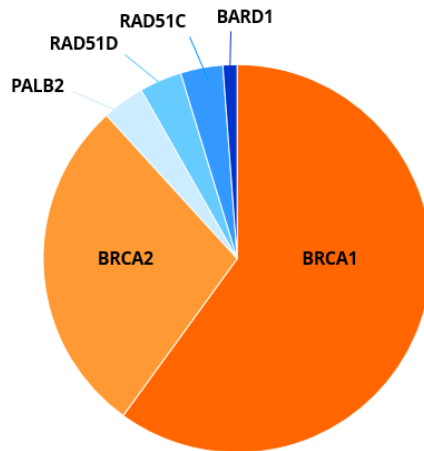
# Случай 1

Ж: ? лет

Диагноз: РМЖ

Семейный анамнез: отягощен

Исследуемый материал: периферическая венозная кровь



| Gene <sup>1</sup> | Proportion of <i>BRCA1/BRCA2</i> -Associated HBOC Attributed to Pathogenic Variants in Gene | Proportion of Pathogenic Variants <sup>2</sup> Detected by Method |  |
|-------------------|---|---|--|
|                   |   | Sequence analysis <sup>3</sup>                                    | Gene-targeted <a href="#">deletion/duplication analysis</a> <sup>4</sup> |
| <i>BRCA1</i>      | 66%   | >80% <sup>5</sup>   | ~10% <sup>5</sup>  |
| <i>BRCA2</i>      | 34%   | >80% <sup>5</sup>   | ~10% <sup>5</sup>  |

## epi-2015-brca-102-wbc.annovar.xlsx

[illegible]

# epi-2015-brca-102-wbc.annovar.xlsx

|    | A     | B        | D   | E   | F         | G        | I                  | L          | M         | V       | AP        | FC                             |
|----|-------|----------|-----|-----|-----------|----------|--------------------|------------|-----------|---------|-----------|--------------------------------|
| 1  | Chr   | Start    | Ref | Alt | Func.refG | Gene.ref | ExonicFunc.refGene | avsnp150   | gnomAD_   | gnomAD_ | CLNSIG    |                                |
| 2  | chr13 | 32893291 | G   | T   | exonic    | BRCA2    | stopgain           | rs80358435 | 4.062e-06 | .       | Pathogeni | AF=0.519802;AO=105;DP=202;FAO= |
| 3  | chr13 | 32906729 | A   | C   | exonic    | BRCA2    | nonsynonymous SNV  | rs144848   | 0.2795    | 0.2218  | Benign    | AF=0.485232;AO=115;DP=237;FAO= |
| 4  | chr13 | 32912299 | T   | C   | exonic    | BRCA2    | synonymous SNV     | rs543304   | 0.1747    | 0.1816  | Benign    | AF=0.530612;AO=52;DP=98;FAO=   |
| 5  | chr13 | 32913055 | A   | G   | exonic    | BRCA2    | synonymous SNV     | rs206075   | 0.9945    | 0.9799  | Benign    | AF=0.996599;AO=292;DP=295;FAO= |
| 6  | chr13 | 32915005 | G   | C   | exonic    | BRCA2    | synonymous SNV     | rs206076   | 0.9943    | 0.9798  | Benign    | AF=1;AO=163;DP=163;FAO=163;FI  |
| 7  | chr13 | 32929387 | T   | C   | exonic    | BRCA2    | nonsynonymous SNV  | rs169547   | 0.9950    | 0.9819  | Benign    | AF=1;AO=99;DP=100;FAO=100;FD   |
| 8  | chr17 | 41223094 | T   | C   | exonic    | BRCA1    | nonsynonymous SNV  | rs1799966  | 0.3546    | 0.3179  | Benign    | AF=0.557447;AO=131;DP=235;FAO= |
| 9  | chr17 | 41234470 | A   | G   | exonic    | BRCA1    | synonymous SNV     | rs1060915  | 0.3493    | 0.3011  | Benign    | AF=0.539823;AO=121;DP=225;FAO= |
| 10 | chr17 | 41244000 | T   | C   | exonic    | BRCA1    | nonsynonymous SNV  | rs16942    | 0.3534    | 0.3150  | Benign    | AF=0.514368;AO=178;DP=347;FAO= |
| 11 | chr17 | 41244435 | T   | C   | exonic    | BRCA1    | nonsynonymous SNV  | rs16941    | 0.3490    | 0.3004  | Benign    | AF=0.522801;AO=320;DP=613;FAO= |
| 12 | chr17 | 41244936 | G   | A   | exonic    | BRCA1    | nonsynonymous SNV  | rs799917   | 0.4032    | 0.4855  | Benign    | AF=0.485437;AO=50;DP=103;FAO=  |
| 13 | chr17 | 41245237 | A   | G   | exonic    | BRCA1    | synonymous SNV     | rs16940    | 0.3482    | 0.2998  | Benign    | AF=0.521739;AO=120;DP=230;FAO= |
| 14 | chr17 | 41245466 | G   | A   | exonic    | BRCA1    | synonymous SNV     | rs1799949  | 0.3533    | 0.3160  | Benign    | AF=0.453988;AO=74;DP=163;FAO=  |
| 15 | chr17 | 41276247 | A   | G   | intronic  | BRCA1    | .                  | rs3765640  | .         | 0.3166  | Benign    | AF=0.611111;AO=11;DP=18;FAO=   |
| 16 |       |          |     |     |           |          |                    |            |           |         |           |                                |

полиморфизмы



## epi-2015-brca-102-wbc.annovar.xlsx

|   | A     | B        | D   | E   | F            | G            | I                  | L          | M         | V      | AP         | FC                             |
|---|-------|----------|-----|-----|--------------|--------------|--------------------|------------|-----------|--------|------------|--------------------------------|
| 1 | Chr   | Start    | Ref | Alt | Func.refGene | Gene.refGene | ExonicFunc.refGene | avsnr150   | gnomAD    | gnomAD | CLNSIG     |                                |
| 2 | chr13 | 32893291 | G   | T   | exonic       | BRCA2        | stopgain           | rs80358435 | 4.062e-06 | .      | Pathogenic | AF=0.519802;AO=105;DP=202;FAO= |
| 3 | chr13 | 32906729 | A   | C   | exonic       | BRCA2        | nonsynonymous SNV  | rs144848   | 0.3795    | 0.2218 | Benign     | AF=0.485232;AO=115;DP=237;FAO= |
| 4 | chr13 | 32912299 | T   | C   | exonic       | BRCA2        | synonymous SNV     | rs543304   | 0.1747    | 0.1816 | Benign     | AF=0.530612;AO=52;DP=98;FAO=   |

стопгейн в BRCA2

не встречается в популяции

патогенный вариант

# epi-2015-brca-102-wbc.annovar.xlsx

|   | A     | B        | D   | E   | F         | G        | I                  | L          | M         | V       | AP         | FC                            |
|---|-------|----------|-----|-----|-----------|----------|--------------------|------------|-----------|---------|------------|-------------------------------|
| 1 | Chr   | Start    | Ref | Alt | Func.refG | Gene.ref | ExonicFunc.refGene | avsnp150   | gnomAD_   | gnomAD_ | CLNSIG     |                               |
| 2 | chr13 | 32893291 | G   | T   | exonic    | BRCA2    | stopgain           | rs80358435 | 4.062e-06 | .       | Pathogenic | AF=0.519802;AO=105;DP=202;FAC |
| 3 | chr13 | 32906729 | A   | C   | exonic    | BRCA2    | nonsynonymous SNV  | rs144848   | 0.2795    | 0.2218  | Benign     | AF=0.485232;AO=115;DP=237;FAC |

Current Build 155  
Released April 9, 2021

rs80358435

|                       |                                 |                              |                                  |
|-----------------------|---------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| <b>Organism</b>       | <i>Homo sapiens</i>             | <b>Clinical Significance</b> | Reported in ClinVar              |
| <b>Position</b>       | chr13:32319154 (GRCh38.p13)     | <b>Gene : Consequence</b>    | BRCA2 : Stop Gained              |
| <b>Alleles</b>        | G>C / G>T                       | <b>Publications</b>          | 8 citations                      |
| <b>Variation Type</b> | SNV Single Nucleotide Variation | <b>Genomic View</b>          | <a href="#">See rs on genome</a> |
| <b>Frequency</b>      | T=0.000 (0/478, ALFA)           |                              |                                  |

| Variant Details       | Allele: T (allele ID: 65797) |  |                       |
|-----------------------|------------------------------|--|-----------------------|
| Clinical Significance | ClinVar Accession            | Disease Names  | Clinical Significance |
| Frequency             | RCV000043811.8               | not provided   | Pathogenic            |
| HGVS                  | RCV000077257.8               | Breast-ovarian cancer, familial 2  | Pathogenic            |
| Submissions           | RCV000131868.7               | Hereditary cancer-predisposing syndrome  | Pathogenic            |
| History               | RCV000167820.10              | Hereditary breast and ovarian cancer syndrome  | Pathogenic            |
| Publications          | RCV000238910.3               | Familial cancer of breast  | Pathogenic            |
| Flanks                | RCV000515388.1               | Breast-ovarian cancer, familial 2,Familial cancer of breast,Fanconi anemia, complementation group D1,Glioma susceptibility 3,Malignant tumor of prostate,Medulloblastoma,Pancreatic cancer 2,Tracheoesophageal fistula,Wilms tumor 1 | Pathogenic            |

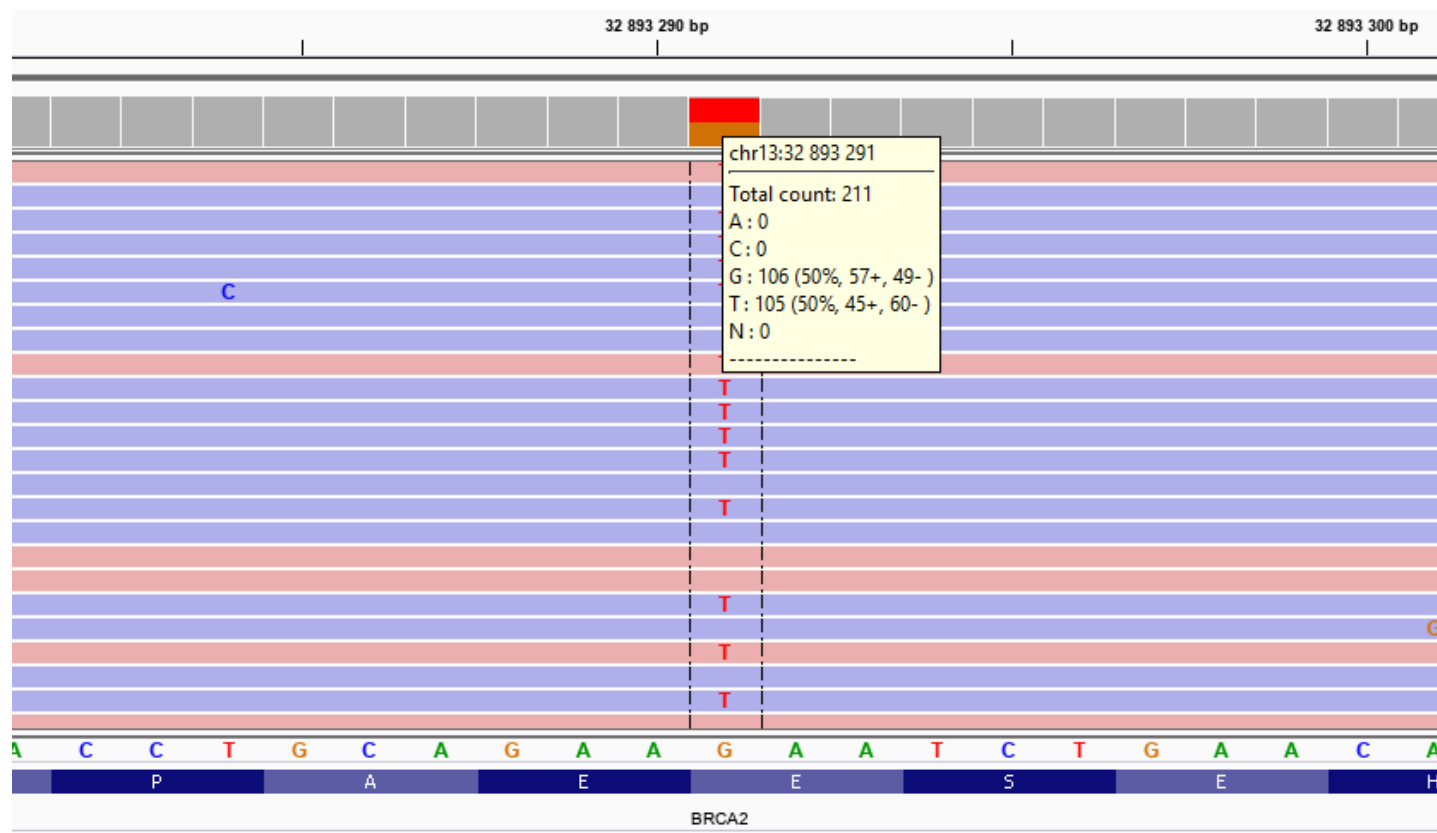
гетерозигота

глубина  
покрытия - 202

есть ID в dbSNP



# epi-2015-brca-102-wbc.bam



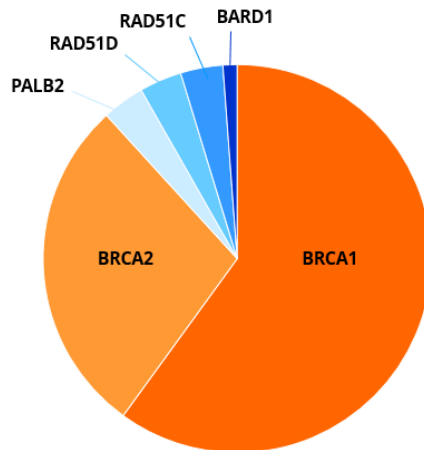
## Случай 2

Ж: ? лет

Диагноз: РМЖ

Семейный анамнез: отягощен

Исследуемый материал: периферическая венозная кровь



| Gene <sup>1</sup> | Proportion of <i>BRCA1/BRCA2</i> -Associated HBOC Attributed to Pathogenic Variants in Gene | Proportion of Pathogenic Variants <sup>2</sup> Detected by Method |  |
|-------------------|---|---|--|
|                   |   | Sequence analysis <sup>3</sup>                                    | Gene-targeted <a href="#">deletion/duplication analysis</a> <sup>4</sup> |
| <i>BRCA1</i>      | 66%   | >80% <sup>5</sup>   | ~10% <sup>5</sup>  |
| <i>BRCA2</i>      | 34%   | >80% <sup>5</sup>   | ~10% <sup>5</sup>  |

## epi-2016-brca-002\_035-wbc.annovar.xlsx

[illegible]

## epi-2016-brca-002\_035-wbc.annovar.xlsx

[illegible]

# epi-2016-brca-002\_035-wbc.annovar.xlsx

|    | A     | B        | D   | E   | F         | G         | I          | J         | K        | L         | M             | V      | AP         | FC                                | FF | FG |
|----|-------|----------|-----|-----|-----------|-----------|------------|-----------|----------|-----------|---------------|--------|------------|-----------------------------------|----|----|
| 1  | Chr   | Start    | Ref | Alt | Func.refG | Gene.refG | ExonicFunc | AAChange  | genomicS | avsnp150  | gnomAD_gnomAD | CLNSIG |            |                                   |    |    |
| 2  | chr13 | 32906729 | A   | C   | exonic    | BRCA2     | nonsynon   | BRCA2:NM. |          | rs144848  | 0.2795        | 0.2218 | Benign     | AF=0.478346;AO=239;DP=510;FAO=232 |    |    |
| 3  | chr13 | 32911888 | A   | G   | exonic    | BRCA2     | synonymc   | BRCA2:NM. |          | rs1801406 | 0.2947        | 0.2984 | Benign     | AF=0.801824;AO=198;DP=330;FAO=232 |    |    |
| 4  | chr13 | 32912346 | A   | -   | exonic    | BRCA2     | frameshif  | BRCA2:NM. |          | rs8035940 | 1.558e-05     | .      | Pathogenic | AF=0.989899;AO=75;DP=99;FAO=232   |    |    |
| 5  | chr13 | 32913055 | A   | G   | exonic    | BRCA2     | synonymc   | BRCA2:NM. |          | rs206075  | 0.9945        | 0.9799 | Benign     | AF=0.994764;AO=1690;DP=1724       |    |    |
| 6  | chr13 | 32915005 | G   | C   | exonic    | BRCA2     | synonymc   | BRCA2:NM. |          | rs206076  | 0.9943        | 0.9798 | Benign     | AF=1;AO=231;DP=232;FAO=232        |    |    |
| 7  | chr13 | 32918769 | -   | A   | exonic    | BRCA2     | frameshif  | BRCA2:NM. |          | .         | .             | .      | .          | AF=0.230769;AO=3;DP=13;FAO=232    |    |    |
| 8  | chr13 | 32929232 | A   | G   | exonic    | BRCA2     | synonymc   | BRCA2:NM. |          | rs1799955 | 0.2250        | 0.2299 | Benign     | AF=0.312195;AO=252;DP=493;FAO=232 |    |    |
| 9  | chr13 | 32929387 | T   | C   | exonic    | BRCA2     | nonsynon   | BRCA2:NM. |          | rs169547  | 0.9950        | 0.9819 | Benign     | AF=1;AO=390;DP=396;FAO=391        |    |    |
| 10 | chr13 | 32936646 | T   | C   | intronic  | BRCA2     | .          | .         | .        | rs9534262 | 0.5224        | 0.5470 | Benign     | AF=0.521158;AO=234;DP=448;FAO=232 |    |    |
| 11 | chr13 | 32953388 | T   | C   | intronic  | BRCA2     | .          | .         | .        | rs4942486 | .             | 0.5258 | Benign     | AF=0.480851;AO=112;DP=234;FAO=232 |    |    |
| 12 | chr17 | 41246481 | T   | C   | exonic    | BRCA1     | nonsynon   | BRCA1:NM. |          | rs1799950 | 0.0467        | 0.0515 | Benign     | AF=0.506572;AO=501;DP=986;FAO=232 |    |    |
| 13 | chr17 | 41251931 | G   | A   | intronic  | BRCA1     | .          | .         | .        | rs799923  | 0.1738        | 0.1545 | Benign     | AF=0.502128;AO=118;DP=235;FAO=232 |    |    |
| 14 |       |          |     |     |           |           |            |           |          |           |               |        |            |                                   |    |    |

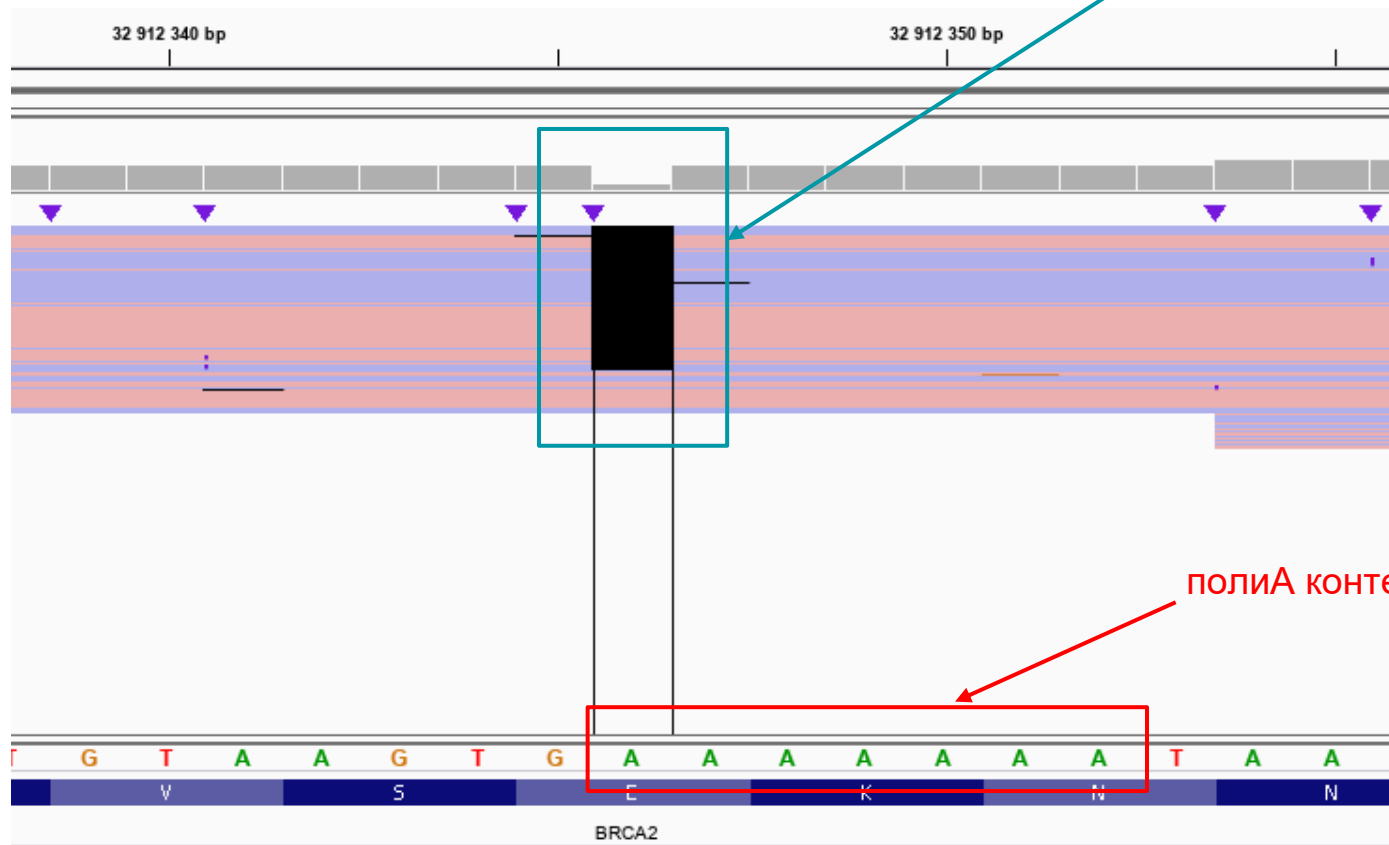
гомозигота ??

компаунд ??

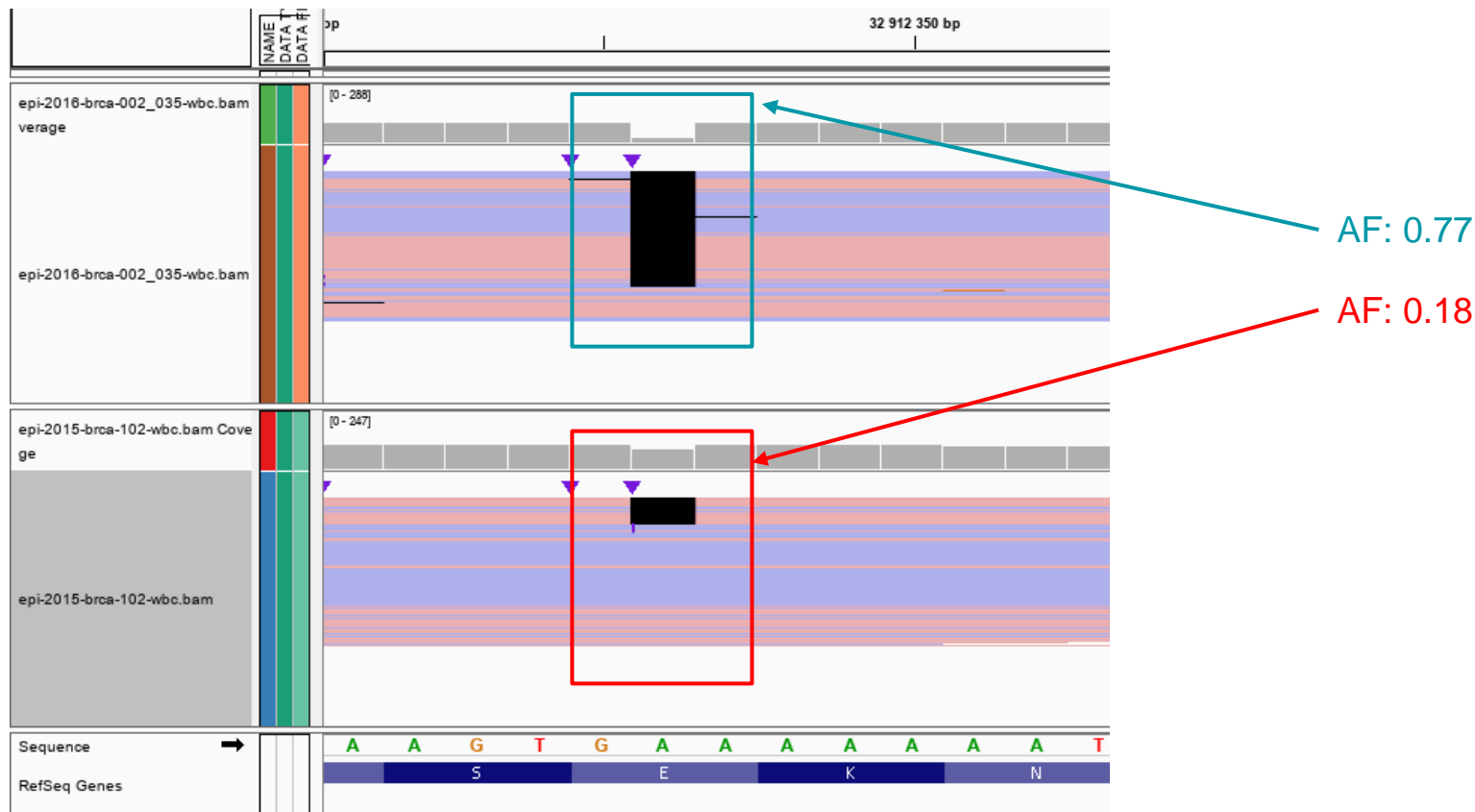
мозаик ??

epi-2016-brca-002\_035-wbc.bam

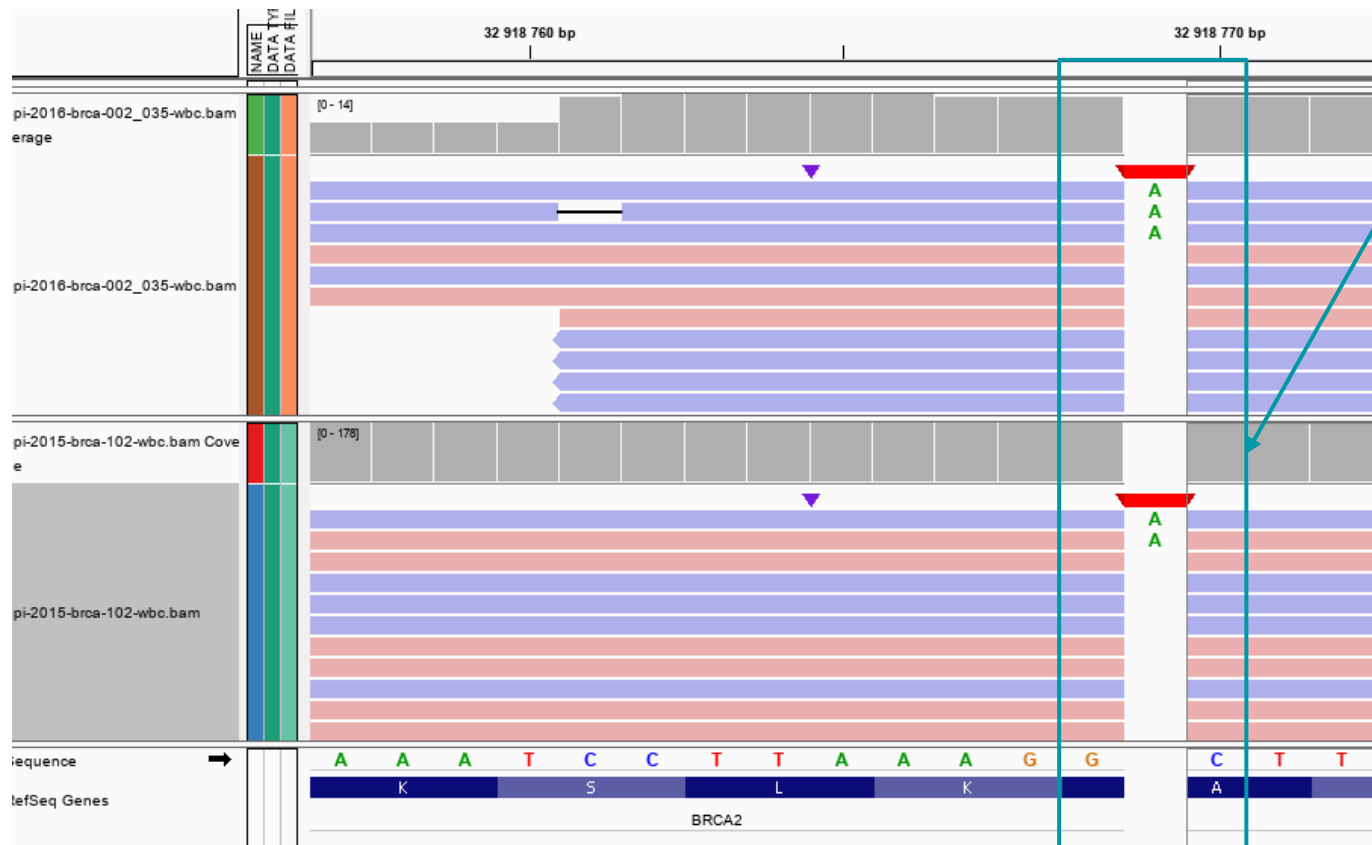
все таки не гомозигота



# epi-2016-brca-002\_035-wbc.bam vs epi-2015-brca-102-wbc.bam



# epi-2016-brca-002\_035-wbc.bam vs epi-2015-brca-102-wbc.bam



систематическая  
ошибка  
секвенирования



# epi-2016-brca-002\_035-wbc.annovar.xlsx

гетерозигота !!

|    | A     | B        | D   | E   | F         | G         | I         | J         | K        | L         | M         | V       | AP       | FC                                  | FF | FG |
|----|-------|----------|-----|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|---------|----------|-------------------------------------|----|----|
| 1  | Chr   | Start    | Ref | Alt | Func.refG | Gene.refG | ExonicFur | AAChange  | genomicS | avsnp150  | gnomAD_   | gnomAD_ | CLNSIG   |                                     |    |    |
| 2  | chr13 | 32906729 | A   | C   | exonic    | BRCA2     | nonsynon  | BRCA2:NM. |          | rs144848  | 0.2795    | 0.2218  | Benign   | AF=0.478346;AO=239;DP=510;FAO=232   |    |    |
| 3  | chr13 | 32911888 | A   | G   | exonic    | BRCA2     | synonymc  | BRCA2:NM. |          | rs1801406 | 0.2947    | 0.2984  | Benign   | AF=0.801824;AO=198;DP=330;FAO=232   |    |    |
| 4  | chr13 | 32912346 | A   | -   | exonic    | BRCA2     | frameshif | BRCA2:NM. |          | rs8035940 | 1.558e-05 | .       | Pathogen | AF=0.989899;AO=75;DP=99;FAO=232     |    |    |
| 5  | chr13 | 32913055 | A   | G   | exonic    | BRCA2     | synonymc  | BRCA2:NM. |          | rs206075  | 0.9945    | 0.9799  | Benign   | AF=0.994764;AO=1690;DP=1724;FAO=232 |    |    |
| 6  | chr13 | 32915005 | G   | C   | exonic    | BRCA2     | synonymc  | BRCA2:NM. |          | rs206076  | 0.9943    | 0.9798  | Benign   | AF=1;AO=231;DP=232;FAO=232          |    |    |
| 7  | chr13 | 32918769 | -   | A   | exonic    | BRCA2     | frameshif | BRCA2:NM. |          | .         | .         | .       | .        | AF=0.230769;AO=3;DP=13;FAO=232      |    |    |
| 8  | chr13 | 32929232 | A   | G   | exonic    | BRCA2     | synonymc  | BRCA2:NM. |          | rs1799955 | 0.2250    | 0.2299  | Benign   | AF=0.312195;AO=252;DP=493;FAO=232   |    |    |
| 9  | chr13 | 32929387 | T   | C   | exonic    | BRCA2     | nonsynon  | BRCA2:NM. |          | rs169547  | 0.9950    | 0.9819  | Benign   | AF=1;AO=390;DP=396;FAO=391;DP=396   |    |    |
| 10 | chr13 | 32936646 | T   | C   | intronic  | BRCA2     | .         | .         | .        | rs9534262 | 0.5224    | 0.5470  | Benign   | AF=0.521158;AO=234;DP=448;FAO=232   |    |    |
| 11 | chr13 | 32953388 | T   | C   | intronic  | BRCA2     | .         | .         | .        | rs4942486 | .         | 0.5258  | Benign   | AF=0.480851;AO=112;DP=234;FAO=232   |    |    |
| 12 | chr17 | 41246481 | T   | C   | exonic    | BRCA1     | nonsynon  | BRCA1:NM. |          | rs1799950 | 0.0467    | 0.0515  | Benign   | AF=0.506572;AO=501;DP=986;FAO=232   |    |    |
| 13 | chr17 | 41251931 | G   | A   | intronic  | BRCA1     | .         | .         | .        | rs799923  | 0.1738    | 0.1545  | Benign   | AF=0.502128;AO=118;DP=235;FAO=232   |    |    |
| 14 |       |          |     |     |           |           |           |           |          |           |           |         |          |                                     |    |    |

всего 3 ряда

ошибка секвенирования

# Случай 3

Ж: 2 года

Диагноз: НФ1

Семейный анамнез: отсутствует

Исследуемый материал: периферическая венозная кровь



| Gene <sup>1</sup> | Method   | Proportion of Proband with a Pathogenic Variant <sup>2</sup> Detectable by Method |
|-------------------|--|---|
| NF1               | Multistep <a href="#">pathogenic variant</a> detection protocol based on <a href="#">cDNA</a> and <a href="#">gDNA sequence analysis</a> <sup>3, 4</sup> | >95% <sup>5</sup>   |
|                   | Genomic DNA <a href="#">sequence analysis</a> <sup>3</sup>   | ~60%-90% <sup>6</sup>   |
|                   | Gene-targeted <a href="#">deletion/duplication analysis</a> <sup>4</sup>   | ~5% <sup>7</sup>  |
|                   | CMA  | ~5% <sup>7, 8</sup>   |
|                   | Cytogenetic analysis   | <1% <sup>9</sup>  |

## epi-2020-NF-1736-wbc.annovar.xlsx

[illegible]

## epi-2020-NF-1736-wbc.annovar.xlsx

[illegible]

## epi-2020-NF-1736-wbc.annovar.xlsx

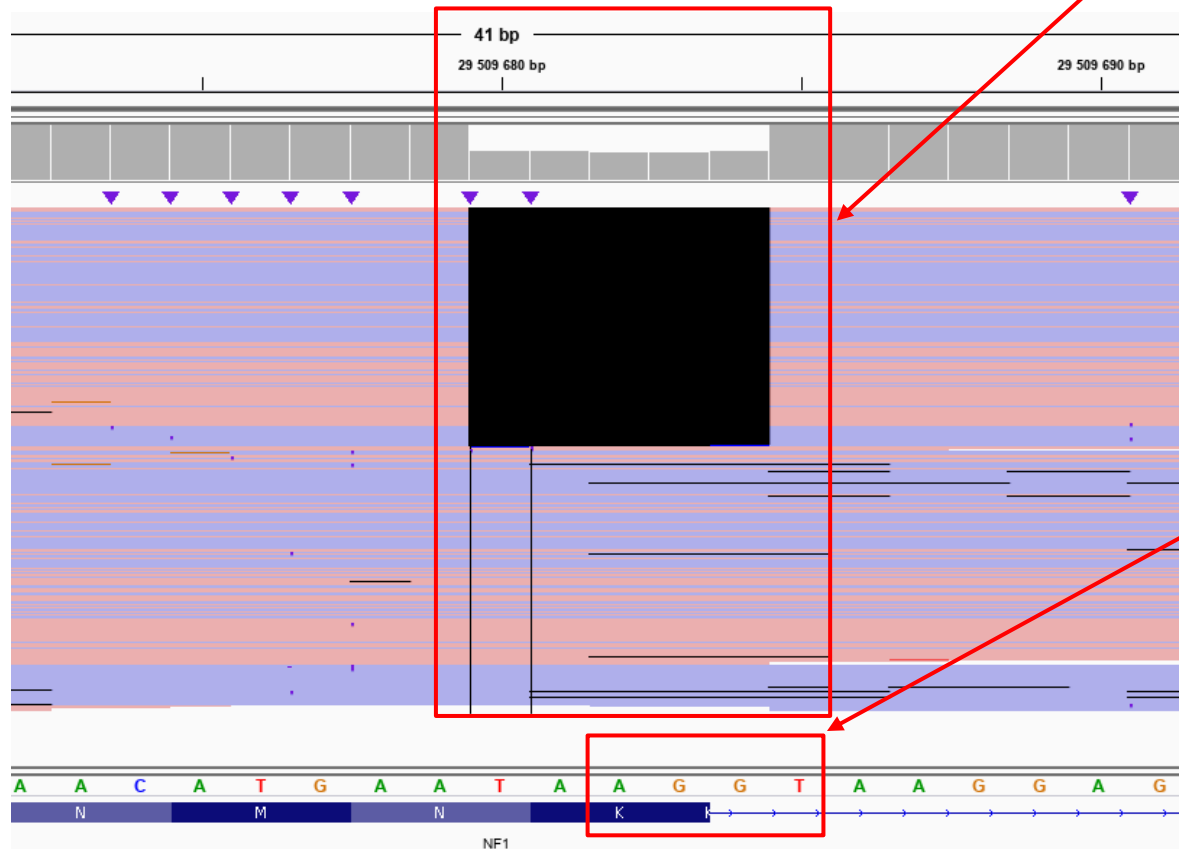
[illegible]

## epi-2020-NF-1736-wbc.annovar.xlsx

[illegible]

epi-2020-NF-1736-wbc.bam

гетерозиготная делеция  
5 нуклеотидов



сайт сплайсинга

## Случай 4

М: 36 лет

Диагноз: НФ2

Семейный анамнез: отсутствует

Исследуемый материал: периферическая венозная кровь + блок (шваннома)



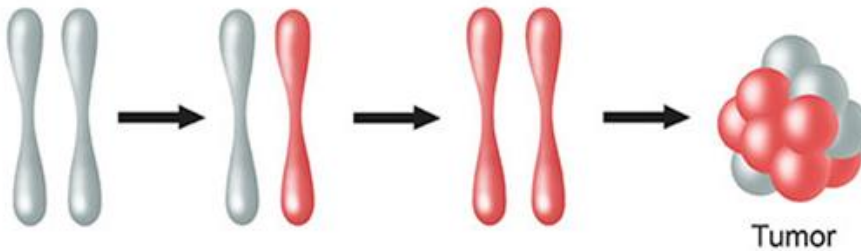
| Gene <sup>1</sup> | Method  | Proportion of Proband with a Pathogenic Variant <sup>2</sup><br>Detectable by Method |
|-------------------|---|--|
| NF2               | Sequence analysis <sup>3</sup>  | 75% <sup>4</sup>   |
|                   | Gene-targeted <a href="#">deletion/duplication analysis</a> <sup>5, 6</sup> or CMA <sup>7</sup> | 20% <sup>8</sup>   |



# Исследуемый материал

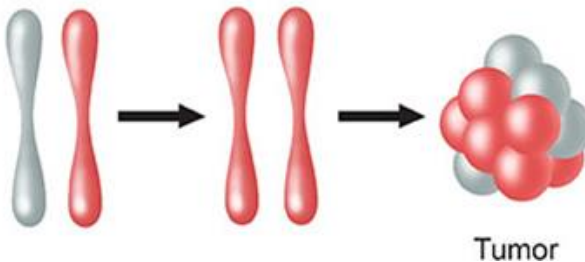
спорадическая  
шваннома

**Sporadic cancer:**  
2 acquired mutations



НФ2

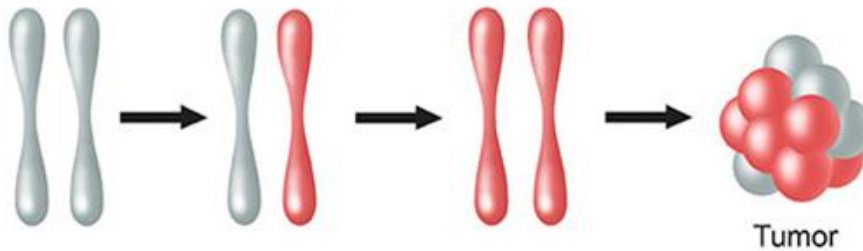
**Hereditary cancer:**  
1 inherited and  
1 acquired mutation



# Исследуемый материал

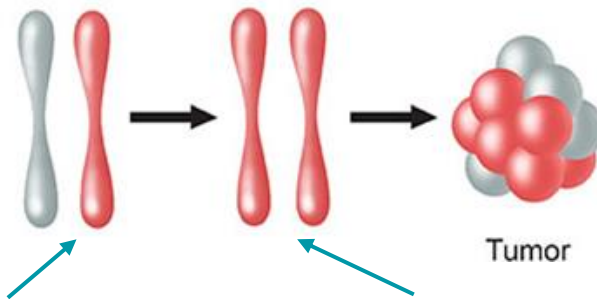
спорадическая  
шваннома

**Sporadic cancer:**  
2 acquired mutations



НФ2

**Hereditary cancer:**  
1 inherited and  
1 acquired mutation



epi-2019-NF-1208-wbc.bam

epi-2020-NF-1208-pcbl.bam



~ 20% HΦ-2 - CNV

epi-2019-NF-1208-wbc.annovar.xlsx

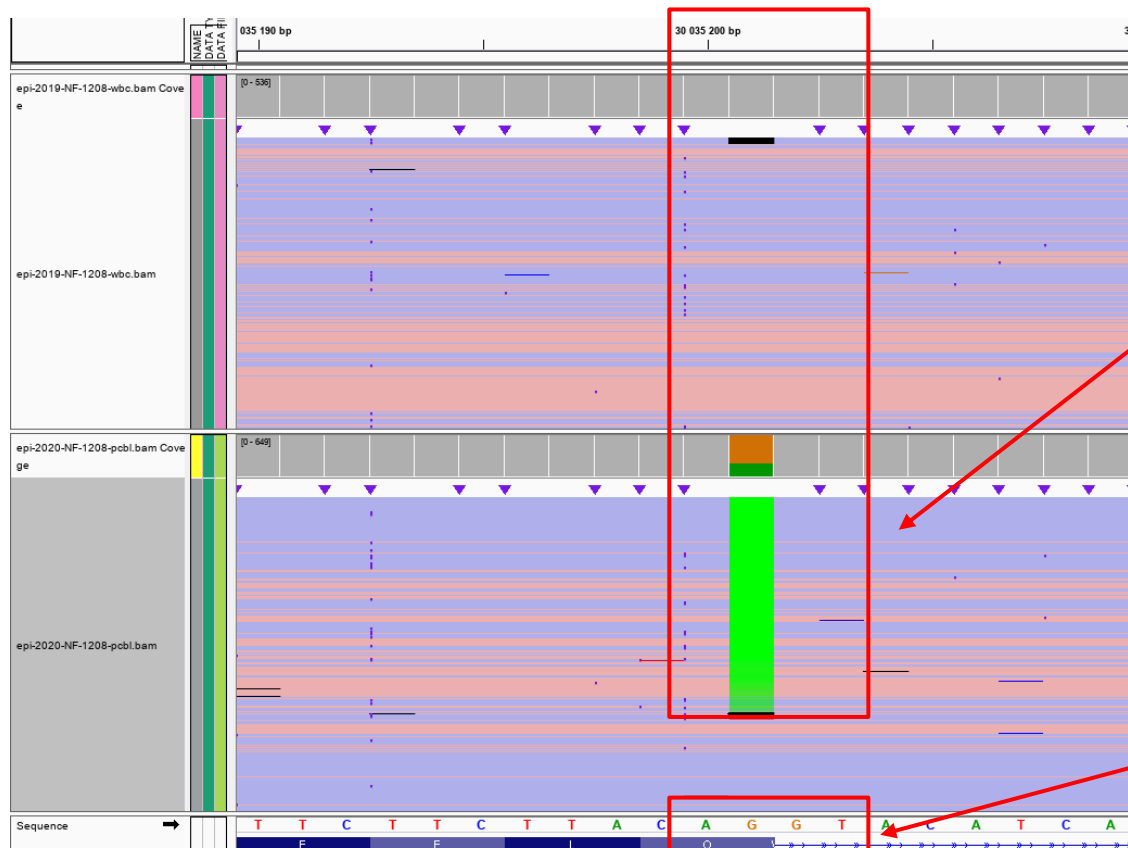
[illegible]



epi-2020-NF-1208-pcbl.annovar.xlsx

[illegible]

# epi-2020-NF-1208-pcbl.annovar.bam



соматический вариант

сайт сплайсинга



# epi-2020-NF-1208-pcbl.annovar.xlsx

| A     | B        | D   | E   | F         | G         | I          | L         | M      | V      | AP         | FC                            | FF | FG |
|-------|----------|-----|-----|-----------|-----------|------------|-----------|--------|--------|------------|-------------------------------|----|----|
| Chr   | Start    | Ref | Alt | Func.refG | Gene.refG | ExonicFunc | avsnr150  | gnomAD | gnomAD | CLNSIG     |                               |    |    |
| chr17 | 29482878 | G   | A   | intronic  | NF1       | .          | rs2269855 | .      | 0.5600 | Benign     | AF=1;AO=724;DP=741;FAO=781;   |    |    |
| chr17 | 29486152 | G   | A   | intronic  | NF1       | .          | rs2952976 | 0.6268 | 0.5598 | Benign     | AF=1;AO=1856;DP=1856;FAO=18   |    |    |
| chr17 | 29508699 | T   | C   | intronic  | NF1       | .          | rs1823255 | 0.0023 | 0.0024 | Likely_ben | AF=0.535937;AO=1025;DP=1921   |    |    |
| chr17 | 29508775 | G   | A   | exonic    | NF1       | synonymc   | rs1801052 | 0.6280 | 0.5603 | Benign/Li  | AF=0.996236;AO=2385;DP=2402   |    |    |
| chr17 | 29541339 | A   | T   | intronic  | NF1       | .          | rs2905875 | .      | 0.6423 | Benign     | AF=0.993468;AO=1669;DP=1681   |    |    |
| chr17 | 29541437 | T   | C   | intronic  | NF1       | .          | rs2905876 | 0.6192 | 0.5277 | Benign     | AF=0.992857;AO=1665;DP=1683   |    |    |
| chr17 | 29546175 | T   | C   | intronic  | NF1       | .          | rs2905880 | 0.6215 | 0.5280 | Benign     | AF=0.985707;AO=4693;DP=4774   |    |    |
| chr17 | 29587341 | G   | C   | intronic  | NF1       | .          | rs1788128 | 0.0536 | 0.0558 | Benign     | AF=0.526018;AO=463;DP=881;FA  |    |    |
| chr17 | 29653293 | T   | C   | intronic  | NF1       | .          | rs9894648 | 0.5915 | 0.6380 | Benign     | AF=0.998576;AO=2784;DP=2822   |    |    |
| chr17 | 29654876 | T   | A   | intronic  | NF1       | .          | rs2285894 | 0.5363 | 0.4925 | Benign     | AF=0.990708;AO=5847;DP=5941   |    |    |
| chr17 | 29670190 | C   | G   | intronic  | NF1       | .          | rs7405740 | 0.9082 | 0.8878 | Benign     | AF=0.998552;AO=2756;DP=2766   |    |    |
| chr17 | 29679246 | G   | A   | intronic  | NF1       | .          | rs964288  | 0.5362 | 0.4912 | Benign     | AF=0.999434;AO=3472;DP=3479   |    |    |
| chr17 | 29704002 | T   | C   | UTR3      | NF1       | .          | rs1048317 | .      | 0.6426 | Likely_ben | AF=0.925632;AO=2445;DP=2663   |    |    |
| chr22 | 29999878 | G   | C   | UTR5      | NF2       | .          | rs1800540 | .      | 0.8667 | Benign     | AF=0.638229;AO=589;DP=926;FA  |    |    |
| chr22 | 30035201 | G   | A   | exonic    | NF2       | synonymc   | .         | .      | .      | .          | AF=0.307932;AO=198;DP=638;FA  |    |    |
| chr22 | 30079213 | T   | C   | UTR3      | NF2       | .          | rs7291645 | .      | 0.3110 | .          | AF=0.663726;AO=1270;DP=1924   |    |    |
| chr22 | 30091145 | T   | C   | UTR3      | NF2       | .          | rs1008515 | .      | 0.2539 | Benign     | AF=0.352841;AO=416;DP=1158;FA |    |    |
| chr22 | 30092583 | G   | A   | UTR3      | NF2       | .          | rs1746205 | .      | 0.1014 | Benign     | AF=0.266294;AO=713;DP=2664;FA |    |    |
| chr22 | 30092695 | A   | G   | UTR3      | NF2       | .          | rs7339094 | .      | 0.1507 | Benign     | AF=0.261328;AO=651;DP=2528;FA |    |    |
| chr22 | 30093259 | C   | G   | UTR3      | NF2       | .          | rs1034880 | .      | 0.3020 | Benign     | AF=0.740363;AO=1958;DP=2652   |    |    |
| chr22 | 30094065 | G   | A   | UTR3      | NF2       | .          | rs1109057 | .      | 0.1462 | Benign     | AF=0.351235;AO=652;DP=1857;FA |    |    |

CNV!

30:60



## epi-2019-NF-1208-wbc vs epi-2020-NF-1208-pcbl

| Chr   | Start    | Ref | Alt | NF2    | dbSNP      | GnomAD | WBC  | PCBL |
|-------|----------|-----|-----|--------|------------|--------|------|------|
| chr22 | 29999878 | G   | C   | UTR5   | rs1800540  | 0.8667 | 0.45 | 0.64 |
| chr22 | 30035201 | G   | A   | exonic | .          | .      |      | 0.31 |
| chr22 | 30079213 | T   | C   | UTR3   | rs7291645  | 0.3110 | 0.49 | 0.66 |
| chr22 | 30091145 | T   | C   | UTR3   | rs1008515  | 0.2539 | 0.45 | 0.35 |
| chr22 | 30092583 | G   | A   | UTR3   | rs17462054 | 0.1014 | 0.51 | 0.26 |
| chr22 | 30092695 | A   | G   | UTR3   | rs73390944 | 0.1507 | 0.52 | 0.26 |
| chr22 | 30093259 | C   | G   | UTR3   | rs1034880  | 0.3020 | 0.51 | 0.74 |
| chr22 | 30094065 | G   | A   | UTR3   | rs11090576 | 0.1462 | 0.50 | 0.35 |

## Случай 5

М: > 60 лет

Диагноз: Рак поджелудочной

Семейный анамнез: неизвестен

Исследуемый материал: блок

OMIM

| Location                | Phenotype                     | Phenotype<br>MIM number | Inheritance | Phenotype<br>mapping key | Gene/Locus | Gene/Locus<br>MIM number |
|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------|--------------------------|------------|--------------------------|
| <a href="#">12p12.1</a> | Pancreatic carcinoma, somatic | <a href="#">260350</a>  |             | <a href="#">3</a>        | KRAS       | <a href="#">190070</a>   |
| <a href="#">17p13.1</a> | Pancreatic cancer, somatic    | <a href="#">260350</a>  |             | <a href="#">3</a>        | TP53       | <a href="#">191170</a>   |
| <a href="#">18q21.2</a> | Pancreatic cancer, somatic    | <a href="#">260350</a>  |             | <a href="#">3</a>        | SMAD4      | <a href="#">600993</a>   |
| <a href="#">19p13.3</a> | Pancreatic cancer, somatic    | <a href="#">260350</a>  |             | <a href="#">3</a>        | STK11      | <a href="#">602216</a>   |

## epi-2021-CCP-250-pcbl

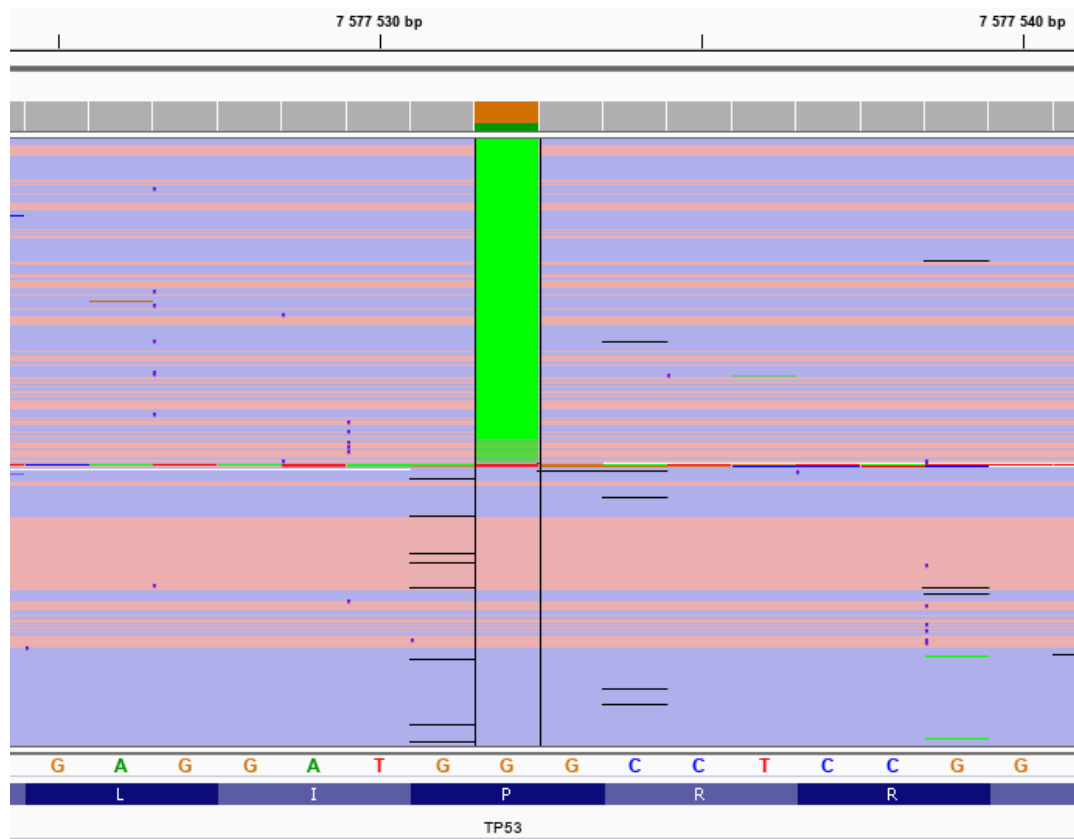
[illegible]

## epi-2021-CCP-250-pcbl

TP53:NM\_000546:exon7:c.C749T:p.P250L

[illegible]

epi-2021-CCP-250-pcbl.bam



# TP53:NM\_000546:exon7:c.C749T:p.P250L

| HGMD accession | Reported disease/phenotype | Variant class | Gene symbol          | Codon change | Amino acid change | Codon number |
|----------------|----------------------------|---------------|----------------------|--------------|-------------------|--------------|
| CM973401       | Colorectal cancer          | <b>DS</b>     | <a href="#">TP53</a> | CCC-CTC      | Pro-Leu           | 250          |

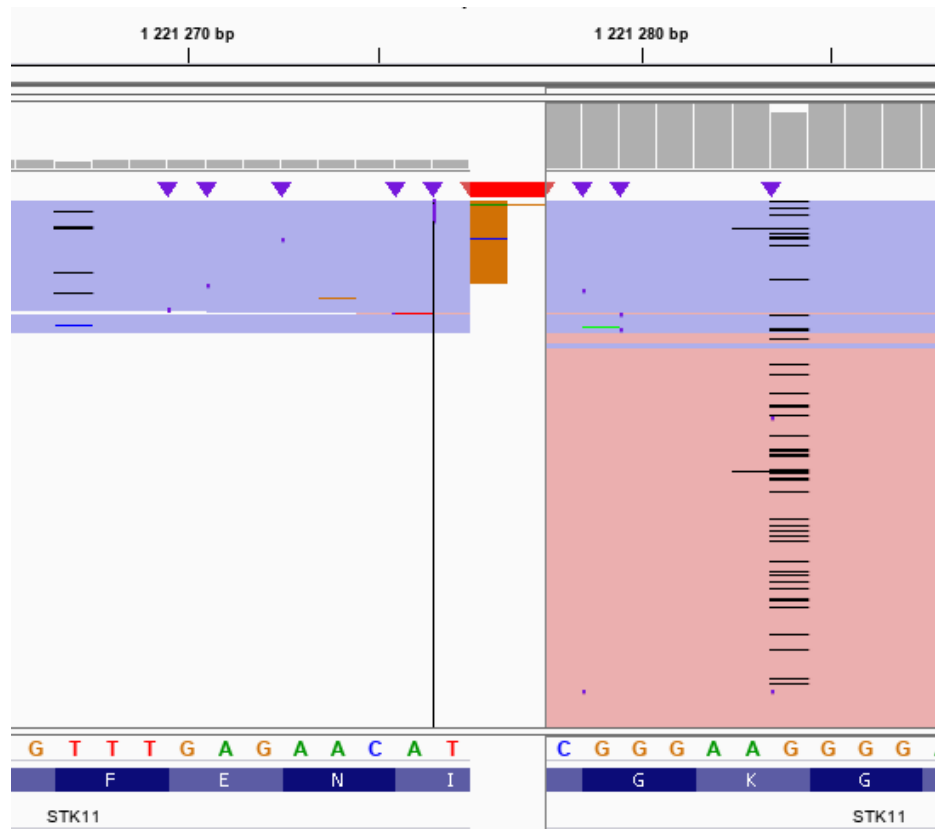
The P250L substitution does not exhibit a shift in polarity and displays an increase in Kyte-Doolittle hydrophobicity from -1.6 to 3.8. Approximately 2.38% of missense mutations in HGMD are Pro-Leu. The mutation occurs 144 amino acids from the end of the protein.

| Literature citation   | Citation type                | Support | Comments/notes   |
|---|------------------------------|---------|--|
| 1. Tsuchiya (1997) TP53 Locus-specific database <b>Unpublished</b> 10776 - <a href="#">LSDB</a>   | LSDB report                  |         | No comments  |
| 2. Bakhuizen (2019) <i>Fam Cancer</i> <b>18</b> : 273 PubMed: <a href="#">30607672</a><br>TP53 germline mutation testing in early-onset breast cancer: findings from a nationwide cohort.                                   | Additional phenotype         |         | Breast cancer  |
| 3. Fortunato (2019) <i>Hum Mutat</i> <b>40</b> : 788 PubMed: <a href="#">30840781</a><br>A quantitative model to predict pathogenicity of missense variants in the TP53 gene.   | Additional literature report |         | Quantitative model for pathogenicity prediction; classified as pathogenic (Suppl. Table S1, online). |
| 4. Soussi (2019) <i>Hum Mutat</i> <b>40</b> : 516 PubMed: <a href="#">30720243</a><br>High prevalence of cancer-associated TP53 variants in the gnomAD database. A word of caution concerning the use of variant filtering. | Additional literature report |         | Descr. in Table S3. Classified as true recurrent pathogenic variant.                                 |

## [dbNSFP3.5](#) predictions

|  |  |
|--|--|
| <a href="#">PolyPhen2</a> prediction   | Probably damaging                          |
| <a href="#">SIFT</a> prediction  | Damaging                                   |
| LRT prediction   | Deleterious                                |
| <a href="#">MutationTaster</a> prediction  | Disease causing                            |
| <a href="#">MutationAssessor</a> prediction  | Medium impact                              |
| <a href="#">FATHMM</a>   | Damaging                                   |
| <a href="#">fathmm-MKL</a>   | Damaging                                   |
| <a href="#">M-CAP</a>  | Damaging                                   |
| <a href="#">CADD</a> The larger the score the more likely the SNP is damaging (PHRED-like)       | 29.7                                       |
| MetaSVM  | Damaging                                   |
| MetaLR   | Damaging                                   |
| <a href="#">PhyloP 20way</a> The larger the score, the more conserved the site (max 1.199000).   | 0.949000                                   |
| <a href="#">PhyloP 100way</a> The larger the score, the more conserved the site (max 10.003000). | 10.003000                                  |
| <a href="#">GERP RS</a> The larger the score, the more conserved the site (max 6.17).            | 4.62                                       |
| <a href="#">1000 Genomes</a>   | No data                                    |
| <a href="#">gnomAD</a>   | No data                                    |
| <a href="#">Interpro domain</a>  | p53, DNA-binding domain <a href="#">11</a> |

# epi-2021-CCP-250-pcbl.bam



# Практикум по анализу таргетных онкопанелей. Самостоятельная работа.

Кристина Карандашева

лаборатория эпигенетики  
ФГБНУ “Медико-генетический научный центр”



# Задачи

| Задача 1              | Задача 2                  | Задача 3             | Задача 4a                                       | Задача 4b*            | Задача 5                                     |
|-----------------------|---------------------------|----------------------|---|-----------------------|--|
| PMЖ                   | PMЖ                       | НФ1                  | НФ2   | НФ2                   | Опухоль почки                                |
| <i>BRCA1, BRCA2</i>   |                           | <i>NF1, NF2</i>      |   |                       | CCP (Comprehensive Cancer Panel - 409 genes) |
| epi-2015-brca-103-wbc | epi-2016-brca-028_002-wbc | epi-2021-NF-1828-wbc | epi-2018-NF-1002-wbc<br>epi-2019-NF-1002bl-pcbl | epi-2019-NF-1403-pcbl | epi-2016-ren_aml-017-t                       |
|                       |                           |                      |   |                       | Спорадическая ангиомиолипома (TSC1, TSC2)    |

\* если останется время