

Abklärung unklarer (kognitiver) Entwicklungsstörungen im Kindes- und Erwachsenenalter

Diagnostisches Next-Generation-Sequencing Panel von 649 Genen, die mit unklarer kognitiver Entwicklungsstörung assoziiert sind.

Kontaktinformationen

Labordiagnostik unklare (kognitive) Entwicklungsstörung

Dr. rer. nat. Stefanie Beck-Wödl
Tel: 07071 29 72310
Fax: 07071 29 25065
stefanie.beck-woedl@med.uni-tuebingen.de

Klinische Fragestellungen

Dr. med. Ute Grasshoff
Tel: 07071 29 72286
Fax: 07071 29 5171
ute.grasshoff@med.uni-tuebingen.de

Kurzbeschreibung

Bei Patienten mit unklaren kognitiven Entwicklungsstörungen werden aktuell 649 bekannte Gene, welche zum jetzigen Kenntnisstand mit guter Evidenz im Zusammenhang mit geistiger Entwicklungsstörung beschrieben sind, durch spezifische Anreicherung (Illumina TruSight One) und Next-Generation-Sequencing (Illumina HiSeq bzw. MiSeq >2x 150bp paired-end) analysiert und durch ein sehr erfahrenes Team klinisch und molekulargenetisch befundet.

Vorraussetzungen

- Relevante klinische Angaben (z.B. Kopie des genetischen bzw. pädiatrischen Gutachtens)
- Als **Voruntersuchungen** sind erforderlich:
 - Klinisch-genetische Begutachtung
 - Ausschluß genomischer Imbalancen (SNP-Array oder Array-CGH)
 - Ausschluss Fragiles-X-Syndrom
- DNA / EDTA-Blut Proben des Patienten (mindestens 20 µg DNA bzw. 5 ml EDTA-Blut)
- Ggf. Fotografien des Indexpatienten
- GenDG konformes schriftliches Einverständnis
- Überweisungsschein Muster 10 mit dem Auftrag „unklare geistige Entwicklungsstörung (für Ergänzungen, gerne Rücksprache mit Dr. Stefanie Beck-Wödl)
- Privat versicherte Patienten benötigen keinen Überweisungsschein. Vor der Durchführung einer molekulargenetischen Diagnostik sollte aber die Kostenübernahme durch die private Krankenkasse geklärt werden. Dazu erstellt das *Institut für Humangenetik und Angewandte Genomik* jederzeit gern einen Kostenvoranschlag.

Analysedauer / Technischer Ablauf / Datenspeicherung / Resultate

Analysedauer: Sobald der Auftrag vollständig vorliegt werden die Analysen im Labor begonnen. Die Untersuchungsdauer beträgt ca. 4-6 Monate.

„TruSight One“-Panel

Hintergrundinformation und Methodenbeschreibung

Version 1; Stand 29.02.2016; freigegeben von Stefanie Beck-Wödl

Technischer Ablauf: Die Sequenzierung umfasst die (1) enzymatische Fragmentierung und Adapter-Ligation („Tagmentierung“), (2) Addition von patientenspezifischen Index-Sequenzen und universellen Sequenzier-Primern und gleichzeitige Amplifikation der modifizierten DNA mittels PCR, (3) zweifache Hybridisierung der DNA-Bibliothek gegen Anreicherungs-Sonden (DNA), (4) Qualitätskontrolle und Quantifizierung der angereicherten DNA-Bibliothek, (5) paired-end Sequenzierung der DNA-Bibliothek durch Illumina MiSeq oder HiSeq Technologie (mindestens 2x 150 bp).

Die bioinformatische Analyse der Sequenzierdaten geschieht durch folgende Schritte:

- Mapping der Reads auf das hg19 Referenzgenom (BWA)
- Detektion von Varianten: SNPs, SNVs, kleine Deletionen und Insertionen (freebayes)
- Annotation der Varianten mit Daten aus öffentlichen Datenbanken z.B. dbSNP, 1000 Genomes und dbNSFP (SnpEff, SnpSift).
- Extraktion aller Varianten, die in CCDS-Regionen der Genliste für geistige Entwicklungsstörung liegen.

Neben der Suche nach kleinen intra-exonischen Deletionen wird mittels einer statistischen Analyse nach Deletionen von kompletten Exons gesucht. Diese Analyse erfasst keine Duplikationen und ist auch bei Einzel-Exon-Deletionen nur bedingt sensitiv.

Resultate: Mit Abschluss der Analysen wird ein schriftlicher Bericht erstellt.

Pathogene Mutationen sowie unklare, unklassifizierte Varianten in den benannten 649 Genen werden tabellarisch mitgeteilt und hinsichtlich ihrer möglichen Pathogenität gewertet. Ebenso werden nicht-ausreichend analysierte Teilbereiche („Analyselücken“) exakt benannt. Alle plausibel pathogen gewerteten Varianten werden herausgestellt und mit vorhandenen Phänotyp-Informationen abgeglichen. In einigen Fällen wird es für die Beurteilung der Krankheitsrelevanz von Varianten notwendig sein, molekular-genetische Tests auch bei Angehörigen durchzuführen (Ko-Segregations-Analysen).

Limitationen:

- Die NGS-Diagnostik ist nicht in der Lage, Repeat-Expansions-Mutationen (z. B. in den Genen *FMR1*, *AR*, *ARX*) abzubilden.
- Potentielle Splice-Site Mutationen werden nur innerhalb der hochkonservierten Konsensus-Bereiche (+/- 10 Basen vom Exon-Intron-Übergang) analysiert.
- Nicht alle analysierten Gene werden vollständig für den offenen Leserahmen abgedeckt und damit einer Sanger-vergleichbaren Qualität gleichzustellen.
- Etwa 3-6% der Zielregion sind weniger als 20x abgedeckt und damit nicht sicher bzw. nicht ausreichend diagnostisch beurteilbar.

Genliste (649 publizierte Gene für unklare kognitive Entwicklungsstörungen) inkl. 103 X-chromosomaler Gene

AAAS, AARS, AASS, ABCC8, ABCD1, ABHD5, ACADM, ACAT1, ACO2, ACOX1, ACSL4, ACTB, ACTG1, ACY1, ADAMTSL2, ADAR, ADCK3, ADK, ADNP, ADSL, AFF2, AGA, AH1, AIFM1, AIMP1, AKT3, ALDH18A1, ALDH3A2, ALDH4A1, ALDH5A1, ALDH7A1, ALDOA, ALDOB, ALG13, ALG2, ALMS1, AMER1, AMT, ANKRD11, AP1S2, AP3B1, AP4B1, AP4E1, AP4M1, AP4S1, APTX, ARFGFE2, ARG1, ARHGEF6, ARHGEF9, ARID1A, ARID1B, ARL6, ARSA, ARSE, ARX, ASL, ASNS, ASPM, ASS1, ASXL1, ATIC, AT1L1, ATP13A2, ATP2A2, ATP6AP2, ATP6V0A2, ATP7A, ATR, ATRX, ATXN1, ATXN10, AUH, AVPR2, B4GALT1, BBS1, BBS10, BBS12, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS9, BCAP31, BCKDHA, BCKDHB, BCOR, BCS1L, BIN1, BLM, BRAF, BRWD3, BSCL2, BSND, BTD, BUB1B, C10ORF2, C12ORF57, C12ORF65, C5ORF42, CA2, CA8, CACNA1A, CASK, CBS, CC2D1A, CC2D2A, CCBE1, CCDC22, CDK5RAP2, CDKL5, CENPF, CEP152, CEP290, CEP41, CFH, CHD2, CHD7, CHD8, CHKB, CHRNA4, CHST14, CLCNKB, CLN3, CLN5, CLN6, CLN8, CNBP, CNKSR2, CNNM2, CNTNAP2, COA5, COL18A1, COL4A1, COQ2, COQ9, COX15, COX6B1, CPS1, CRBN, CREBBP, CRLF1, CSTB, CTDP1, CTNNB1, CTSA, CTSD, CUL3, CUL4B, CYB5R3, CYP27A1, D2HGDH, DAG1, DARS2, DBT, DCAF17, DCX, DDC, DDX11, DEAF1, DHCR7, DKC1, DLD, DLG3, DMD, DMPK, DNAJC19, DNMT3A, DNMT3B, DPAGT1, DPM1, DPYD, DPYS, DUOXA2, DYRK1A, EBP, EFN1, EFTUD2, EHMT1, EIF2AK3, EIF2B1, EIF2B2, EIF2B3, EIF2B4, EIF2B5, EP300, EPM2A, ERCC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC6, ERCC8, ERLIN2, ESCO2, ETHE1, EVC, EVC2, EXOSC3, FA2H, FAM126A, FAM20C, FANCA, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCL, FARS2, FASTKD2, FBN1, FBN2, FGD1, FGF14, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FH, FKBP, FKTN, FLNA, FLNB, FMN2, FMR1, FOLR1, FOXP1, FOXP2, FOXRED1, FRAS1, FREM2, FTSJ1, FUCA1, G6PC3, GABRA1, GABRG2, GALT, GALE, GALT, GAMT, GAN, GATM, GBA, GCH1, GCK, GCSH, GFAP, GJB1, GJC2, GK, GLB1, GLD2, GNL3, GNAS, GNE, GNPAT, GNPTAB, GNS, GPC3, GPI, GRIA3, GRIK2, GRIN1, GRIN2A, GRIN2B, GRIP1, GRM1, GSS, GTF2H5, GUSB, HADH, HCCS, HCN1, HDAC4, HDAC8, HEPACAM, HGSNAT, HLCS, HPD, HPRT1, HRAS, HSD17B10, HSD17B4, HSPD1, HSPG2, HUWE1, IDS, IDUA, IER3IP1, IGBP1, IGF1, IKBKG, IL1RAPL1, INPP5E, INSR, IQSEC2, ISPD, ITGA7, ITPR1, IVD, JAG1, JAM3, KANSL1, KCNC3, KCNJ1, KCNJ10, KCNQ2, KCNQ3, KCTD7, KDM5C, KDM6A, KIAA2022, KIF11, KIF1A, KIF1BP, KIF5A, KIF7, KMT2D, KRAS, L1CAM, L2HGDH, LAMA2, LAMP2, LARGE, LBR, LHX3, LMNB1, LRP2, LRPPRC, LYST, MAF, MAGEL2, MAN1B1, MAN2B1, MANBA, MAP2K1, MAP2K2, MAT1A, MBD5, MBTPS2, MCCC1, MCOLN1, MCPH1, MECP2, MED12, MED13L, MED17, MED23, MEF2C, MFSD8, MGAT2, MID1, MKKS, MKS1, MLC1, MLYCD, MMAA, MMAB, MMACHC, MMADHC, MOCS1, MOCS2, MPV17, MTHFR, MTR, MUT, MVK, MYCN, MYH3, MYO5A, MYT1L, NAA10, NAGA, NAGLU, NAGS, NBN, NDE1, NDN, NDP, NDST1, NDUFA1, NDUFA11, NDUFA2, NDUFAF2, NDUFAF3, NDUFAF4, NDUFAF5, NDUFAF6, NDUFS1, NDUFS2, NDUFS3, NDUFS4, NDUFS6, NDUFS7, NDUFS8, NDUFV1, NDUFV2, NEU1, NF1, NFIX, NGF, NHLRC1, NHS, NIPBL, NKX2-1, NKX2-5, NLGN3, NLGN4X, NPC1, NPC2, NPHP1, NR2F1, NRXN1, NSD1, NSDHL, NSUN2, NTRK1, NUBPL, NUP62, OCLN, OCRL, OFD1, OPA3, OPHN1, ORC1, OTC, OTX2, PAFAH1B1, PAH, PAK3, PANK2, PAX3, PAX6, PC, PCDH19, PCNT, PDE4D, PDHA1, PDHX, PDP1, PDSS1, PDSS2, PDYN, PEPD, PEX1, PEX10, PEX13, PEX19, PEX2, PEX26, PEX3, PEX5, PEX7, PGK1, PHF6, PHF8, PHGDH, PIGA, PIGL, PIGN, PIGO, PIGV, PIK3R2, PLA2G6, PLCB1, PLOD1, PLP1, PNKP, PNP, PNPLA6, PNPO, POGZ, POLG, POLG2, POLR3A, POLR3B, POLRGNT1, POMT1, POMT2, PORCN, POU1F1, PPP2R1A, PPT1, PQBP1, PRKCG, PRODH, PRPS1, PRSS12, PSAP, PSPH, PTCH1, PTCHD1, PTEN, PTPN11, PTS, PUS1, PYCR1, QDPR, RAB18, RAB27A, RAB39B, RAB3GAP1, RAB3GAP2, RAD21, RAI1, RARS2, RBBP8, RBM10, RELN, RFT1, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, ROGDI, RPGRIP1L, RPL10, RPS6KA3, RRM2B, SALL1, SAMHD1, SATB2, SBDS, SC5D, SCN1A, SCN2A, SCN8A, SCO2, SDHA, SDHAF1, SEMA3E, SETBP1, SGSH, SHANK2, SHANK3, SHOC2, SIL1, SIX3, SKI, SLC12A1, SLC12A6, SLC16A2, SLC17A5, SLC25A15, SLC25A22, SLC2A1, SLC35C1, SLC3A1, SLC4A4, SLC5A5, SLC6A1, SLC6A3, SLC6A8, SLC7A7, SLC9A6, SMAD4, SMARCA2, SMARCA4, SMARCB1, SMARCE1, SMC1A, SMOG1, SMPD1, SMS, SNAP29, SNRPN, SOS1, SOX10, SOX2, SOX3, SPAST, SPG11, SPG20, SPINK5, SPTAN1, SRCAP, SRD5A3, ST3GAL3, ST3GAL5, STRA6, STXB1, SUCLA2, SUCLG1, SUMF1, SUOX, SURF1, SYN1, SYNGAP1, SYP, TAT, TBC1D24, TBCE, TCF4, TCG2, TG, TGFB1, TGFB2, TIMM8A, TMCO1, TMEM216, TMEM237, TMEM67, TPP1, TRAPPC9, TREX1, TRIM32, TSC1, TSC2, TSEN54, TSFM, TSHB, TSHR, TSPAN7, TTC19, TTC8, TTI2, TUBA1A, TUBA8, TUBB2B, TUBB3, TUBGCP6, TUSC3, UBE2A, UBE3A, UBR1, UPB1, UPF3B, UQCRB, UQCRQ, USP9X, VIPAS39, VLDLR, VPS13B, VPS33B, VRK1, WDR45, WDR62, WFS1, WNT5A, WWOX, XPA, XPNPEP3, XYLT1, ZBTB16, ZDHHC9, ZEB2, ZFYVE26, ZIC2, ZMYND11, ZNF592, ZNF711

Referenzen:

Diese Genliste wurde mit einer **OMIM-Abfrage** für die Begriffe „mental retardation“ ODER „mental retardation profound“ ODER „mental retardation range“ ODER „mental retardation ranging“ ODER „mental retardation syndrome“ ODER „mentally retarded“ ODER „learning disabilities“ ODER „learning problems“ ODER „mental deficiency“ ODER „mental delay“ ODER „mental deterioration“ ODER „mental impairment“ ODER „mental lethargy“ ODER „mental regression“ ODER „mental retardation congenital“ ODER „mental retardation gene“ ODER „development abnormalities“ ODER „developmental delay“ ODER „developmental disorder“ ODER „developmental retardation“ ODER „developmental stagnation“ ODER „developmental decline“ ODER „intellectual disability“ ODER „intellectual impairment“ ODER „intellectual regression“ ODER „autism“ ODER „autism spectrum“ ODER „autism spectrum disorder“ ODER „autistic“ ODER „development deficit“ ODER „development delayed“ ODER „development delay“ ODER „development failure“ ODER „developmental stagnation“ ODER „epileptic encephalopathy“ erstellt und zusammengeführt. Weitere Referenz: Gilissen doi: 10.1038/nature13394