

Eksoomi sekveneerimine (NGS)

Kliinilise geneetika keskus, molekulaardiagnostika labor
www.kliinikum.ee/geneetikakeskus

Kuna paljud geneetilised haigused on geneetiliselt heterogeensed (võivad olla põhjustatud väga paljude erinevate geenide muutustest) või mittespetsiifilise sümptomaatikaga, võivad spetsiifilised ühe või paari geeni analüüsid osutada ebaotstarbekaks. Selliste haiguste puhul (nt isoleeritud vaimse arengu mahajäämus) on võimalik geneetilise analüüsina teostada kogu eksoomi sekveneerimine ehk kõigi eksonite järjestamine.

Analüüsi saab teostada kas ainult patsiendile või korraga patsiendile ja tema vanematele (nn trio-analüüs). Trio-analüüs võimaldab efektiivsemalt leida haiguspõhjusti eelkõige vaimse arengu mahajäämuse, autismi ja teiste haigusgruppide puhul, kus põhjuslike tegurite hulgas on suur uusmutatsioonide (*de novo* mutatsioonide) osakaal. Vastavalt kehtivale tervishoiuteenuste loetelule saab kogu eksoomi sekveneerimist diagnostilise uuringuna tellida vaid vastsündinu- ja lapsega ebaselge etioloogiaga haiguste ja sündroomide puhul. On nõutud, et uuringu otsuse on teinud ekspertkomisjon, kuhu kuuluvad raviarst ja meditsiinigeneetik. Ekspertkomisjoni otsuse vorm on leitav geneetikakeskuse kodulehelt eksoomi sekveneerimise saatelehtede juurest.

Eksoomi sekveneerimise tulemuslikkus kliinilises diagnostikas on 25–30%, s.t diagnoos leitakse keskmiselt igale neljandale patsiendile. Kogu eksoomi sekveneerimisega tuvastatakse punktmutatsioone ja väikseid (kuni kümne aluspaari suuruseid) insertsioone-deletsioone (nn indeleid). Suuremate indelide ja eksonite/geenide deletsioonide/duplikatsioonide (suurusega alates kolmest järjestikkusest eksonist) tuvastamise tõenäosus on väiksem. Eksoomi sekveneerimisel ei ole võimalik tuvastada kromosomaalseid aberratsioone (trisoomiad, translokatsioonid), üksikute eksonite deletsioone ja duplikatsioone, kordusjärjestuste suurenemisest põhjustatud haigusi (nt fragiilse X sündroom, Huntingtoni tõbi jt) ega ka reguleerivate alade muutusi väljaspool eksoneid.

Vastavalt Euroopa Inimesegeneetika Ühingu klassifikatsioonile vastab antud analüüs C-tüüpi diagnostilisele uuringule, s.t see tugineb üksnes NGS-metoodikale ja sisaldab katmata alasid eksonites (Eur J Hum Genet. 2016 Jan;24(1):2-5). Kõigi geenide kodeeriv ala kaetakse keskmiselt 95% ulatuses, kuid see võib erineda olenevalt konkreetsest DNA proovist.

Kuna uuritakse kõiki gene, on väike võimalus, et leitakse ka selliseid muutusi, mis ei ole seotud analüüsi näidustuseks olnud seisundiga, kuid mis võivad omada olulist mõju patsiendi ja/või pereliikmete tervisele (nt pahaloomuliste kasvajate riski põhjustav geenimuutus). Selliseid leide nimetatakse juhuleidudeks ja need edastatakse raviarstile ainult juhul, kui need esinevad rahvusvaheliselt kokkulepitud juhuleidude nimekirjas, mille on kinnitanud Ameerika Meditsiinigeneetika ja Genoomika Kolleegium (ACMG). ACMG nimekiri sisaldab 57 geeni, mille muutusi seostatakse oluliste pärilike terviseriskidega, mille avaldumist on võimalik jälgimise või raviga vähendada (nt pärilikud vähisündroomid, kardiomüopaatiad, rütmihäired jne). Samuti on võimalik, et trio-analüüsi korral avastatakse, et tegu pole lapse bioloogilise isa või emaga.

Eelnevalt kirjeldatud asjaolude tõttu on tingimata vajalik patsiendi vanemate hoolikas uuringueelne nõustamine ja spetsiaalsete nõusolekuvormide allkirjastamine. NB! Kui tellitakse trio-analüüs, on vajalik allkirjastada nõusolek mõlema vanema poolt.

Kõik dokumendivormid ja lisamaterjalid on leitavad aadressilt
<http://www.kliinikum.ee/geneetikakeskus/saatelehed/93-saateleht-ja-vajalikud-dokumendid-eksoomi-sekveneerimine-ja-interpretatsioon>

Uuritav materjal, selle võtmine, saatmine ja säilitamine

Analüüsi tellimisel tuleb koos proovimaterjaliga molekulaardiagnostika laborisse saata ka järgnevad dokumendid:

- saatekiri – Kogu eksoomi sekveneerimine
- täidetud kliinilise info leht koos patsiendi geneetilise sugupuuga

Allkirjastatud nõusolek ja ekspertkomisjoni otsus säilitada haigusloos, kliinilise info lehele teha märged nende olemasolu kohta.

Katsuti	Veri: K2E/K3E-katsuti (lilla kork) Koetükid: steriilne katsuti (1,5 mL või suurem)
Analüüsitav kogus	4–10 mL (täiskasvanud) 2–5 mL (lapsed)
Säilivus	Veri +4 °C juures kuni üks nädal. NB! Mitte külmutada!

Teiste uuringumaterjalide osas konsulteerida molekulaardiagnostika laboriga, tel. 731 9488 või 731 9487.

Analüüsi tegemise aeg: tööpäeviti, analüüsi valmimisaeg kuni 6 kuud

Analüüsimeetodid: järgmise põlvkonna sekveneerimistehnoloogia (*next generation sequencing* – NGS), Illumina

Vastuse vorm

Haiguspõhjusliku muutuse tuvastamisel genotüüp ja interpretatsioon.

Näidustus

- Patsiendi sümptomid ja suguvõsa anamnees viitavad geneetilisele haigusele, mille jaoks ei ole olemas spetsiifilist geenitesti ühe kindla geeni või geenide paneeli analüüsiks.
- Patsiendi kliiniline pilt vastab geneetilisele haigusele või haigusrühmale, millele on iseloomulik suur geneetiline heterogeensus (kahtlustatud haigus võib olla põhjustatud mitmete või ka mitmekümnete geenide mutatsioonidest)
- Patsiendil esineb tõenäoliselt geneetiline haigus, kuid spetsiifiliste geenitestidega ei ole haiguspõhjuslikku mutatsiooni leitud.

Sander Pajusalu