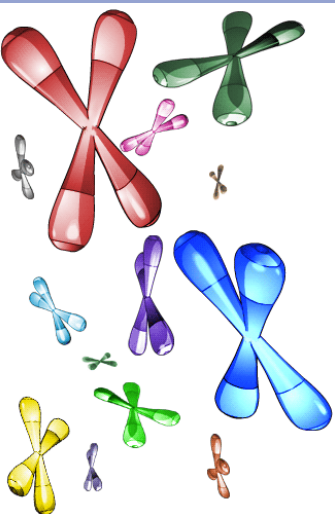


Strukturní variabilita (SV) genomu a „genomová“ onemocnění



Petr Kuglík

Ústav experimentální biologie PŘF MU v Brně
Oddělení lékařské genetiky FN Brno



Osnova

1. **Strukturní variabilita genomu (SV) a CNVs**
historie, význam z hlediska variability genomu a evoluce
2. **Klasifikace CNVs, patogenní CNVs a genomová onemocnění, moderní metody detekce SV**
3. **Komplexní CNVs - chromothripsis, chromoplexis a chromoanagenesis**

Spektrum genetické variability člověka

Sequence variation

- Single nucleotide
 - Base change – substitution – point mutation
 - Insertion-deletions ("indels")
 - SNPs – tagSNPs

Molecular genetic detection

2 bp to 1,000 bp

- Microsatellites, minisatellites
- Indels
- Inversions
- Di-, tri-, tetranucleotide repeats
- VNTRs

1 kb to submicroscopic

- Copy number variants (CNVs)
- Segmental duplications
- Inversions, translocations
- CNV regions (CNVRs)
- Microdeletions, microduplications

Structural variation

Microscopic to subchromosomal

- Segmental aneusomy
- Chromosomal deletions – losses
- Chromosomal insertions – gains
- Chromosomal inversions
- Intrachromosomal translocations
- Chromosomal abnormality
- Heteromorphisms
- Fragile sites

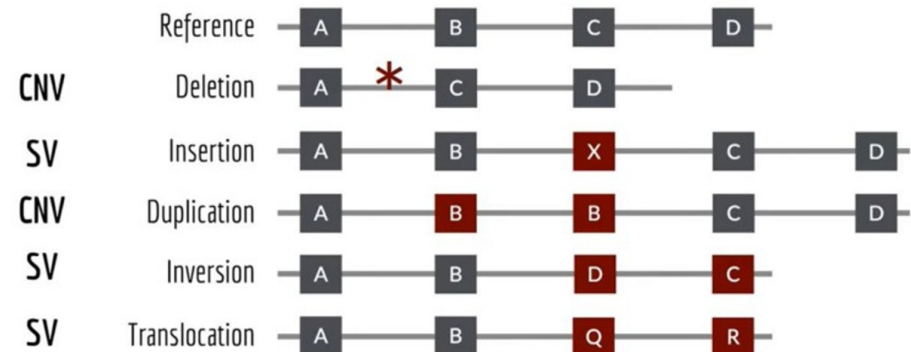
Whole chromosomal to whole genome

- Interchromosomal translocations
- Ring chromosomes, isochromosomes
- Marker chromosomes
- Aneuploidy
- Aneusomy

→ Term defined or discussed in Box 1

Cytogenetic detection

Variation in genome structure. So-called "structural variation" (SV)



Genomic structural variations (SVs) are generally defined as deletions, insertions, duplications, inversions, and translocations of at least **50 bp in size**

Variabilita lidského genomu – SV má větší význam než SNP !

ARTICLE

OPEN

doi:10.1038/nature15393

A global reference for human genetic variation

The 1000 Genomes Project Consortium*

The 1000 Genomes Project set out to provide a comprehensive description of common human genetic variation by applying whole-genome sequencing to a diverse set of individuals from multiple populations. Here we report completion of the project, having reconstructed the genomes of 2,504 individuals from 26 populations using a combination of low-coverage whole-genome sequencing, deep exome sequencing, and dense microarray genotyping. We characterized a broad spectrum of genetic variation, in total over 88 million variants (84.7 million single nucleotide polymorphisms (SNPs), 3.6 million short insertions/deletions (indels), and 60,000 structural variants), all phased onto high-quality haplotypes. This resource includes >99% of SNP variants with a frequency of >1% for a variety of ancestries. We describe the distribution of genetic variation across the global sample, and discuss the implications for common disease studies.

Nature 256, October 2015

- typical genome differs from the reference human genome at **4.1 million to 5.0 million sites**
- **99.9%** of variants consist of **SNPs** and short indels (0, 4 – 0, 5 mil.)
- **structural variants affect more bases:** the typical genome contains an estimated **2,100 to 2,500 structural variants SV:**
- **SV:** cca 1,000 large deletions, 160 copy-number variants, 915 Alu insertions, 128 L1 insertions, 51 SVA insertions, 4 NUMTs and 10 inversions affecting **cca 20 million bases of sequence !**

- osekvenováno 2504 genomů člověka z různých oblastí.... (26 populací)

- 88 milionu variant
- 84,7 milionu SNP
- 3,6 milionu indels
- **60 000 SV**

Chromozomové aberace jako strukturní variabilita genomu

- submikroskopické změny, mikroskopické změny, změny počtu jednotlivých chromozomů, změny genomů...

a) kvantitativní - copy number variation (CNVs) – **delece, duplikace, inzerce...**

b) poziční – translokace

c) orientační - inverze



Variabilní počet kopií (CNVs) - segmenty DNA větší než 50 pb (1 kb) přítomné ve **variabilním počtu kopií** v porovnání s referenčním genomem

(Feuk et al. 2006)

“Progress in science depends on new techniques, new discoveries, and new ideas, probably in that order.”

Sydney Brenner, 2002 Nobel Prize Winner



Chromosome sequencing:

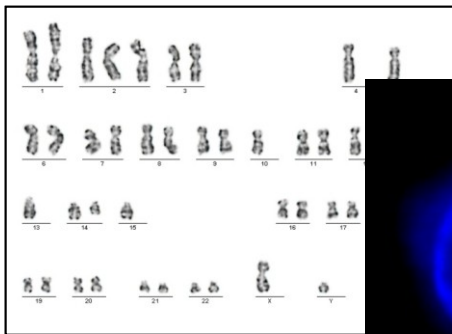
the fifth and final era of cytogenetics

The modern history of cytogenetics fits into five eras:

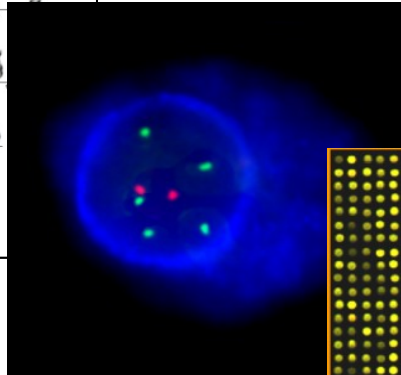
- chromosome spreading
- chromosome banding
- chromosome painting (FISH)
- chromosome arraying
- **and now chromosome sequencing !!!**

Výzkumy SV byly umožněny rozvojem nových technologií...

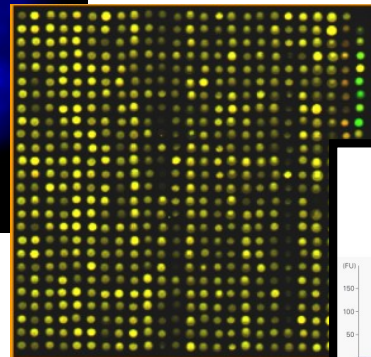
1971 G-pruhování (5 – 10 Mb)



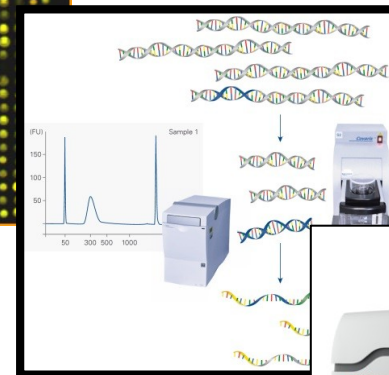
1986 Molekulární cytogenetika
FISH (100 kb)



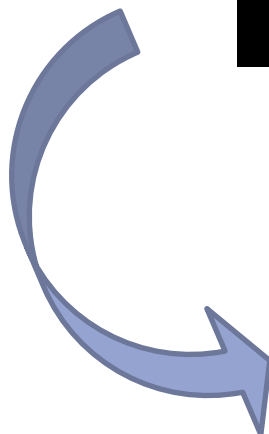
1997 array-CGH (oligo 0,06 kb)



2000 NGS



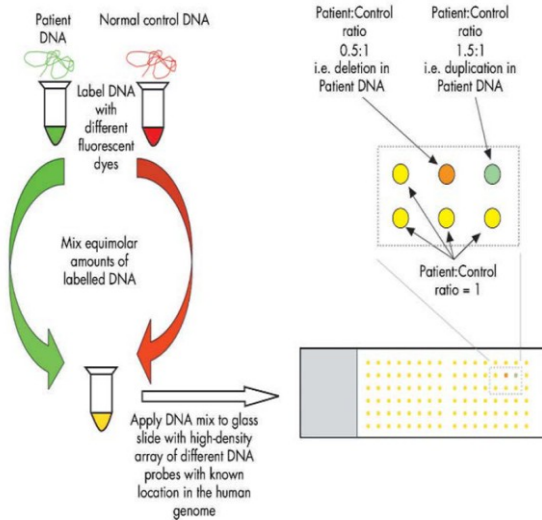
2010 Optical mapping



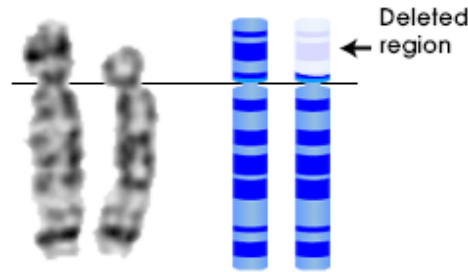
Od chromozomů ...k
analýzám DNA ...

1996 DNA mikročipy - revoluce v cytogenetice

Array CGH: ~ 1000-krát větší rozlišení nebalancovaných změn než konvenční cytogenetika !!!

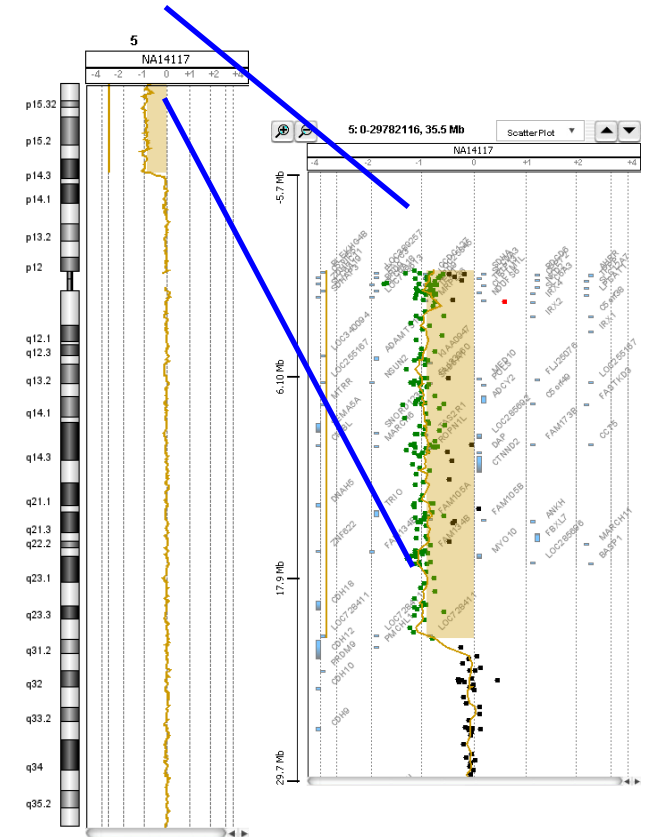


Tradiční karyotypování
5-10 Mb



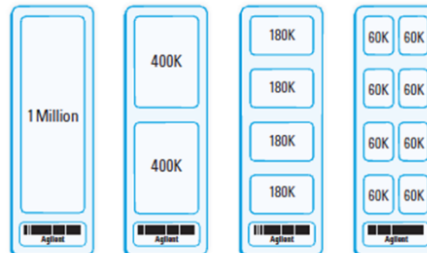
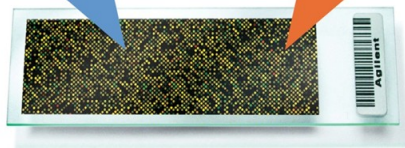
NA14117
46,XY,del(5)(qter>p14:)

Microarray CGH 50-100 kb

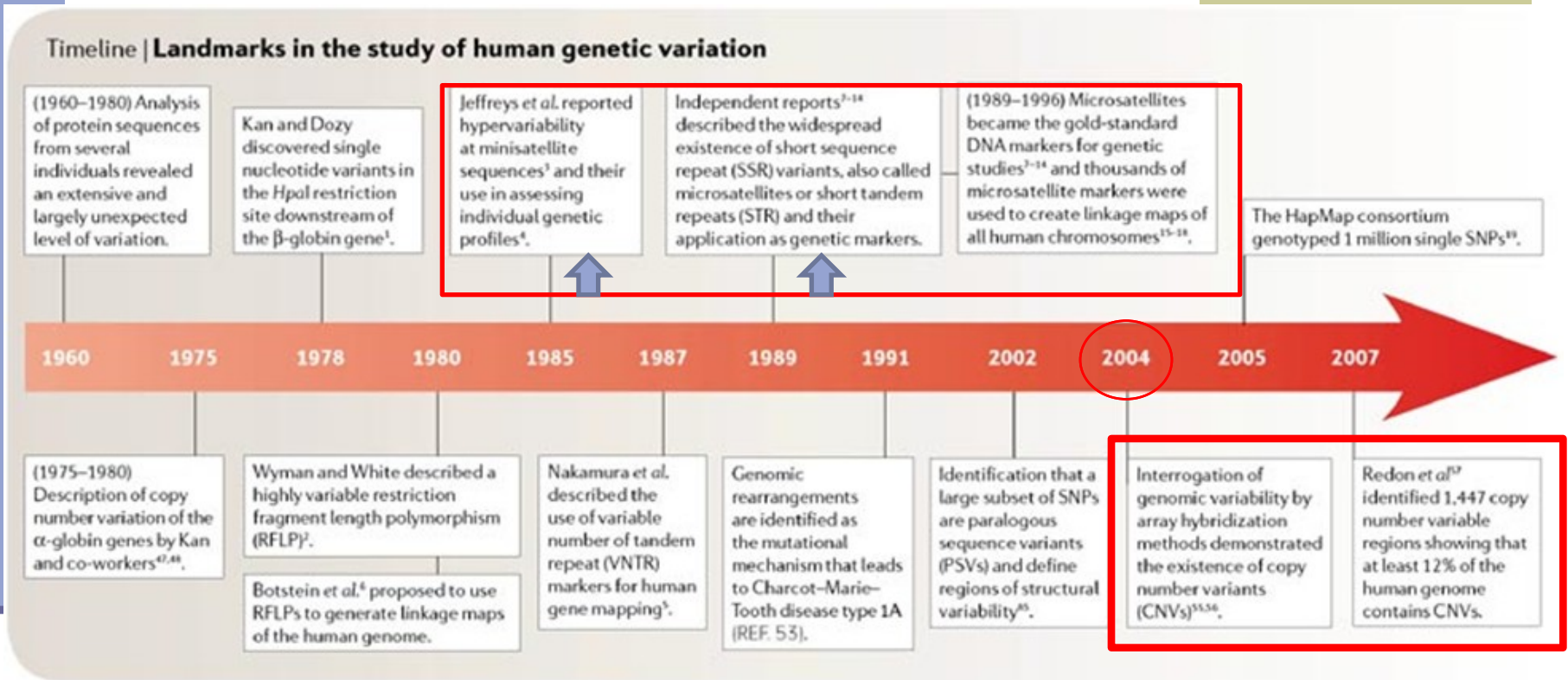


CGH probes
Copy Number Changes

SNP probes
LOH/UPD

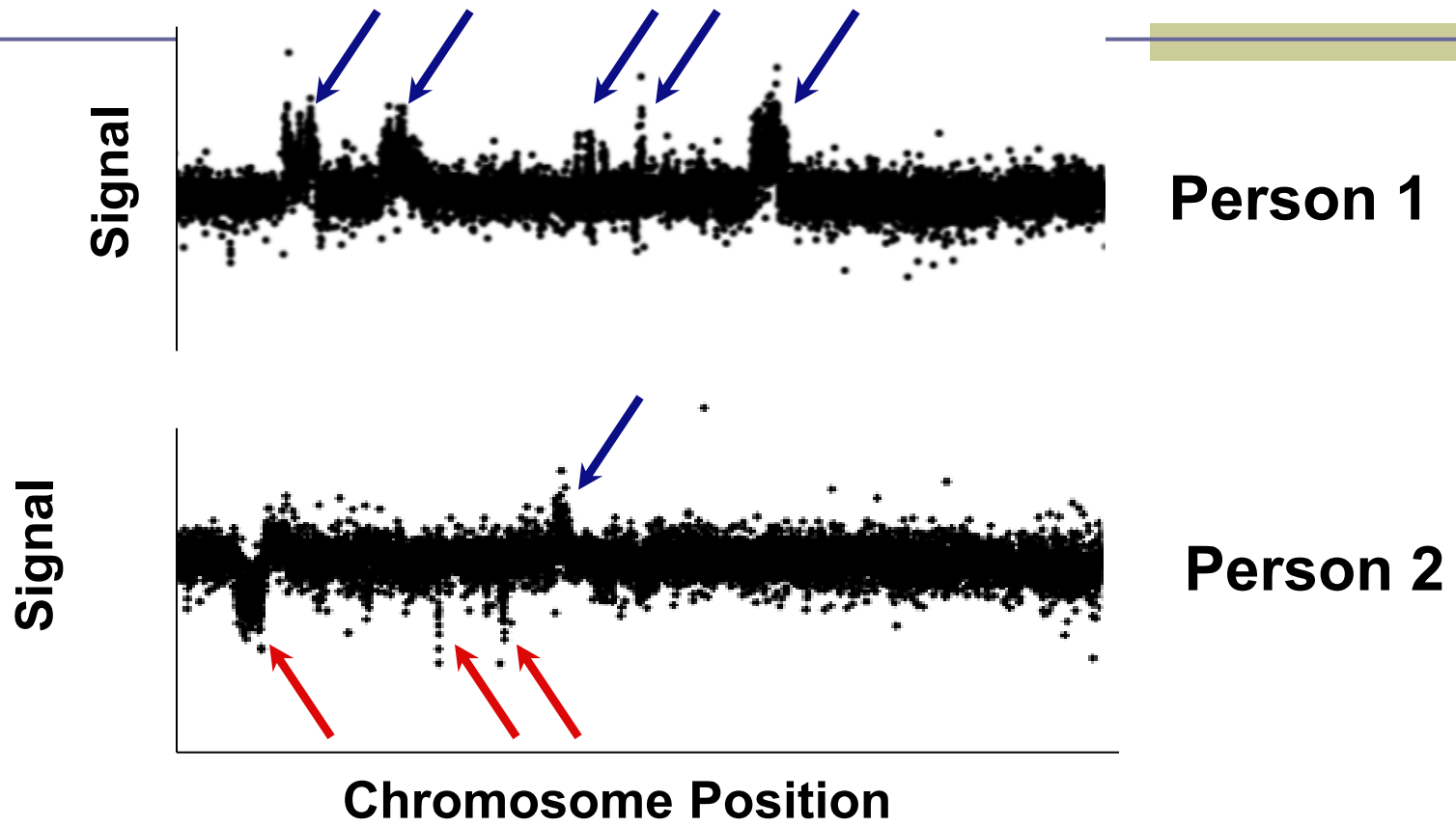


Array-CGH a objev nové genomové strukturní variability - CNVs – variabilní počet kopií



2004 – objev segmentů DNA vyskytující se v různém počtu kopií (kb - Mb) pomocí array-CGH (CNVs)

Copy Number Variations in the Human Genome



- Extra DNA
- Missing DNA

První objevy CNVs v lidském genomu

Large-Scale Copy Number Polymorphism in the Human Genome

Jonathan Sebat,¹ B. Lakshmi,¹ Jennifer Troge,¹ Joan Alexander,¹ Janet Young,² Pär Lundin,³ Susanne Månér,³ Hillary Massa,² Megan Walker,² Maoyen Chi,¹ Nicholas Navin,¹ Robert Lucito,¹ John Healy,¹ James Hicks,¹ Kenny Ye,⁴ Andrew Reiner,¹ T. Conrad Gilliam,⁵ Barbara Trask,² Nick Patterson,⁶ Anders Zetterberg,³ Michael Wigler^{1*}

The extent to which large duplications and deletions contribute to human genetic variation and diversity is unknown. Here, we show that large-scale copy number polymorphisms (CNPs) (about 100 kilobases and greater) contribute substantially to genomic variation between normal humans. Representational oligonucleotide microarray analysis of 20 individuals revealed a total of 221 copy number differences representing 76 unique CNPs. On average, individuals differed by 11 CNPs, and the average length of a CNP interval was 465 kilobases. We observed copy number variation of 70 different genes within CNP intervals, including genes involved in neurological function, regulation of cell growth, regulation of metabolism, and several genes known to be associated with disease.

Sebat et al 2004 Science 305: 525

Detection of large-scale variation in the human genome

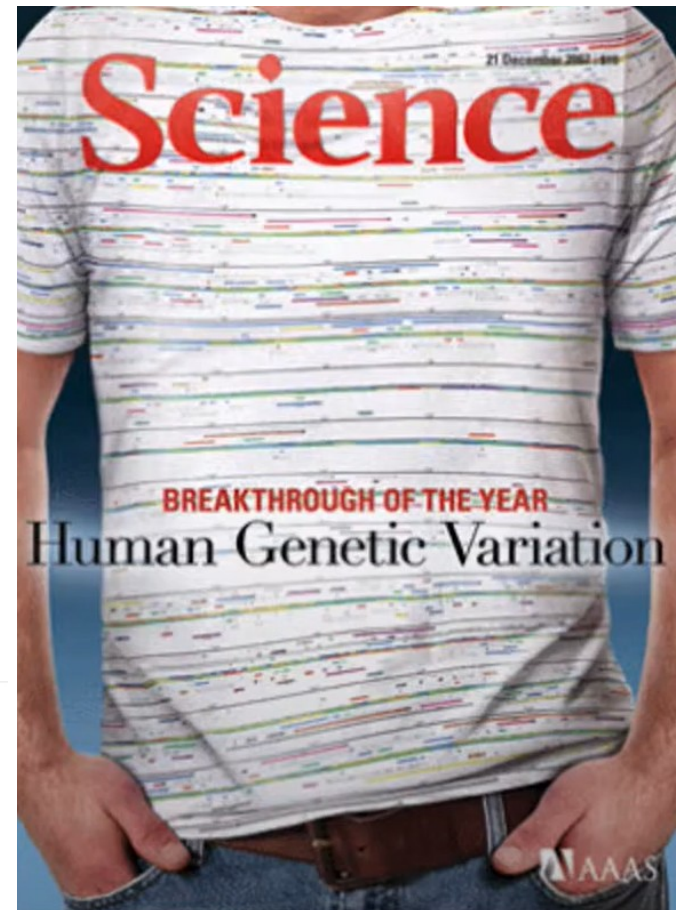
A John Iafrate^{1,2}, Lars Feuk³, Miguel N Rivera^{1,2}, Marc L Listewnik¹, Patricia K Donahoe^{2,4}, Ying Qi³, Stephen W Scherer^{3,5} & Charles Lee^{1,2,5}

We identified 255 loci across the human genome that contain genomic imbalances among unrelated individuals. Twenty-four variants are present in >10% of the individuals that we examined. Half of these regions overlap with genes, and many coincide with segmental duplications or gaps in the human genome assembly. This previously unappreciated heterogeneity may underlie certain human phenotypic variation and susceptibility to disease and argues for a more dynamic human genome structure.

Iafrate et al 2004 Nat Genet 36: 949

76 CNVs in 20 individuals
70 genes

255 CNVs in 55 individuals
127 genes

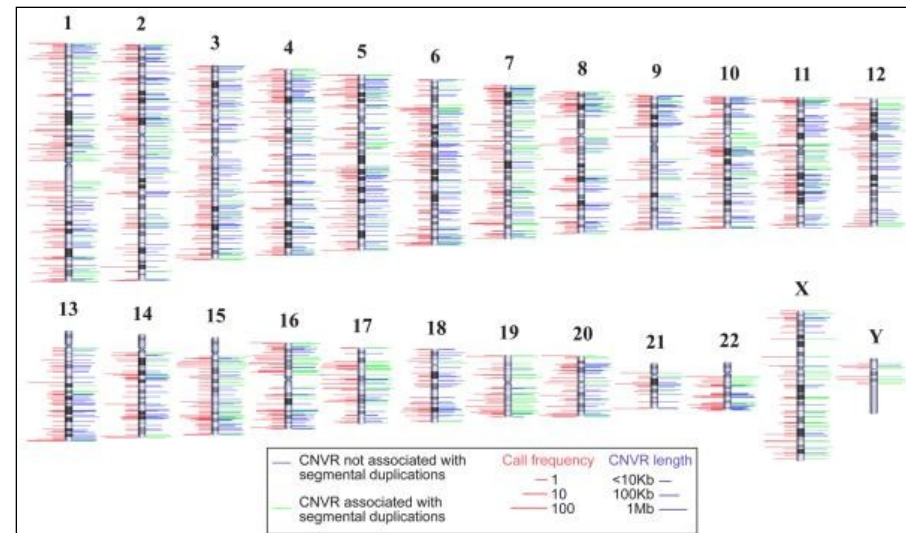


Copy number variabilní oblasti v (CNVRs) v lidském genomu - 2006

Global variation in copy number in the human genome

Richard Redon et al.: *Nature*. 2006 November 23; 444(7118): 444–454.

- první mapa CN variabilních oblastí v lidském genomu
- **270 jedinců**
- **1447** variabilních oblastí - **CNVRs**
- **CNVRs - 360 Mb**
- **12 % genomu**



Genomic distribution of copy number variable regions

Origins and functional impact of copy number variation in the human genome

Donald F. Conrad^{1*}, Dalila Pinto^{2*}, Richard Redon^{1,3}, Lars Feuk^{2,4}, Omer Gokcumen⁵, Yujun Zhang¹, Jan Aerts¹, T. Daniel Andrews¹, Chris Barnes¹, Peter Campbell¹, Tomas Fitzgerald¹, Min Hu¹, Chun Hwa Ihm⁵, Kati Kristiansson¹, Daniel G. MacArthur¹, Jeffrey R. MacDonald², Ifejinelo Onyiah¹, Andy Wing Chun Pang², Sam Robson¹, Kathy Stirrups¹, Armand Valsesia¹, Klaudia Walter¹, John Wei², Wellcome Trust Case Control Consortium†, Chris Tyler-Smith¹, Nigel P. Carter¹, Charles Lee⁵, Stephen W. Scherer^{2,6} & Matthew E. Hurles¹

- oligonukleotidový čip, 42 miliónů sond
 - 450 jedinců
- nalezeno **11 500 CNVs** větších než 443 pb
 - průměrně **1089 CNVs / >2.5kb na osobu**
 - **2 genomy se mohou lišit CNVs o celkové velikosti až 24 Mb !!!**
- **CNVs se překrývají s 2698 geny a ovlivňují expresi...(267 genů ztráta funkce)**

Variabilní počet kopií - význam

- CNVs – variabilní počet kopií ovlivňuje 12-16 % genomu člověka ! (privátní x populačně specifické)
- průměrný genom obsahuje 3-7 vzácných CNV
- 5-10 % jedinců nese CNV > 500 kb, 1-2 % > 1 Mb



Význam:

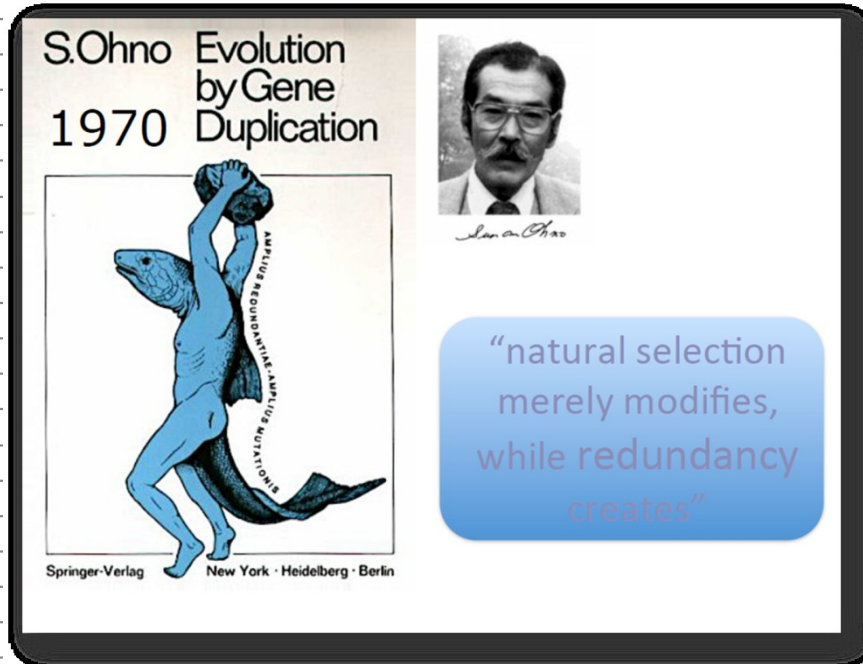
- **variabilita lidského genomu (fenotypu)...**

- polymorfismus – genetická diverzita mezi jedinci
- evoluce
- genomová onemocnění

CNVs a evoluce genů - příklady pozitivní selekce u člověka

Examples of CNV genes showing evidence of positive selection in humans³

Gene and/or gene family	Feature(s) of selection	Fixed or variable with humans	Refs
<i>ACOT1</i>	High population differentiation	Variable	[49]
<i>ACOT2</i>	High population differentiation	Variable	[44]
<i>ACTN2</i> ^b			
<i>ADAM5P</i>			
<i>ADRA1B</i>			
<i>AMAC1/AMAC1L1</i>			
<i>AMY1</i>			
<i>AMY2B</i>			
<i>ANKRD12</i>			
<i>ANKRD20A8P</i>			
<i>ANKRD36</i>			
<i>ANKRD62</i>			
<i>APOBEC3B</i>			
<i>APOL2/APOL4</i> ^c			
<i>AR</i> ^e			
<i>ARHGEF5</i>			
<i>ATP6V1B2</i>			
<i>BSX</i>			
<i>C17orf58</i>			
<i>C20orf191</i>			
<i>C2orf78</i>			
<i>CAMTA1</i>	High population differentiation	Variable	[102] ^f
<i>CCDC12</i>	High population differentiation	Variable	[103] ^d
<i>CCDC77/NM_001130148</i>	High population differentiation	Variable	[49]
<i>CCL3L1</i>	High population differentiation	Variable	[14,38,44,49]
<i>CCL4</i>	High population differentiation	Variable	[44,49]



CNVs – substrát pro adaptaci a evoluci člověka

- 146 genů s CNVs vykazuje pozitivní selekci u člověka
- duplikace i delece genů !

Např.

- gen *AMY1*
- geny podílející se na vývoji mozku, imunitního systému....

Význam CNVs v evoluci hominidů...aneb duplikace a delece způsobují rozdíly mezi lidoopy a lidmi

Evolution and diversity of copy number variation in the great ape lineage

Peter H. Sudmant,¹ John Huddleston,^{1,2} Claudia R. Catacchio,³ Maika Malig,¹
LaDeana W. Hillier,⁴ Carl Baker,¹ Kiana Mohajeri,¹ Ivanela Kondova,⁵ Ronald E. Bontrop,⁵
Stephan Persengiev,⁵ Francesca Antonacci,³ Mario Ventura,³ Javier Prado-Martinez,⁶
Great Ape Genome Project,⁷ Tomas Marques-Bonet,^{6,8} and Evan E. Eichler^{1,2,9}

Great Ape Genome Project

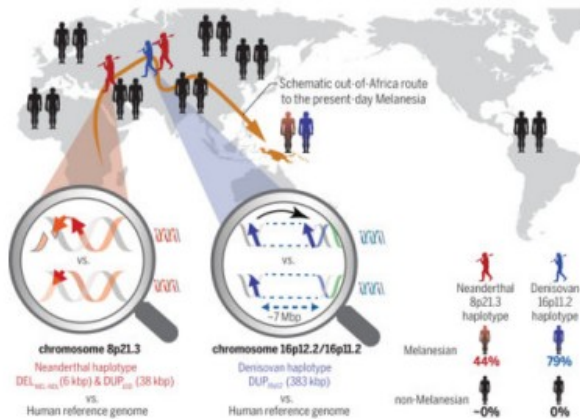


- osekvenován genom 97 lidoopů (orangutan, gorila, šimpanz)
- **469 Mb** pokryto CNVs vs. 167 Mb SNP
- **3x větší počet pb ovlivněn CNVs než SNP !**
- nalezeno celkově 340 delecí a 450 duplikací genů....
- **13,5 Mb** sekvencí, které se nevyskytují v lidském genomu...

...a mají význam z hlediska diversity člověka

Reconstructing Large Adaptive Introgressed CNVs

CONCLUSION: Our results suggest that large CNVs originating in archaic hominins and introgressed into modern humans have played an important role in local population adaptation and represent an insufficiently studied source of large-scale genetic variation that is absent from current reference genomes.



Large adaptive-introgressed CNVs at chromosomes 8p21.3 and 16p11.2 in Melanesians. The magnifying glasses highlight structural differences between the archaic (top) and reference (bottom) genomes. Neanderthal (red) and Denisovan (blue) haplotypes encompassing large CNVs occur at high frequencies in Melanesians (44 and 79%, respectively) but are absent (black) in all non-Melanesians. These CNVs create positively selected genes (*TNFRSF10D1*, *TNFRSF10D2*, and *NPIP16*) that are absent from the reference genome.

adaptace lokálních populací, metabolismus, imunitní systém...



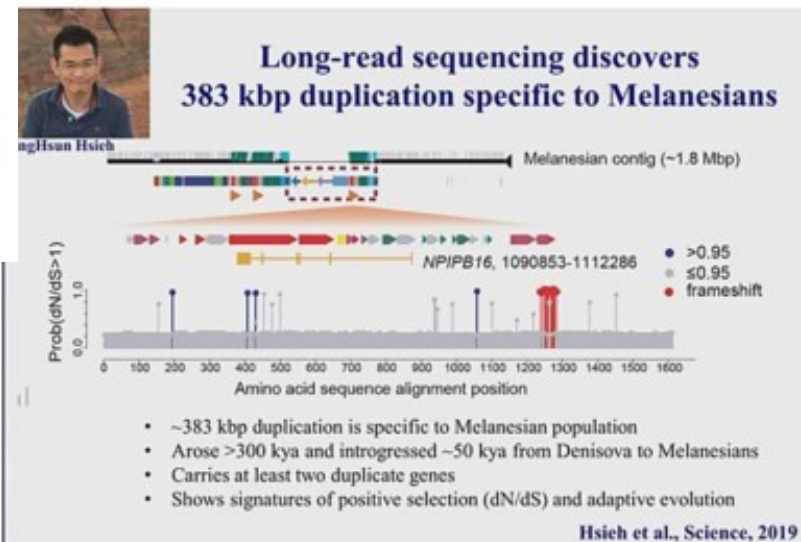
ice

Current issue First release papers Archive About Submit manuscript

> Science. 2019 Oct 18;366(6463):eaax2083. doi: 10.1126/science.aax2083.

Adaptive archaic introgression of copy number variants and the discovery of previously unknown human genes

PingHsun Hsieh¹, Mitchell R Vollger¹, Vy Dang¹, David Porubsky¹, Carl Baker¹, Stuart Cantalieris¹, Kendra Hoekzema¹, Alexandra P Lewis¹, Katherine M Munson¹, Melanie Sorensen¹, Zev N Kronenberg¹, Shwetha Murali^{1,2}, Bradley J Nelson¹, Giorgia Chiatante³, Flavia Angela Maria Maggolini³, H el ene Blanch e⁴, Jason G Underwood^{1,5}, Francesca Antonacci³, Jean-Fran ois Deleuze⁴, Evan E Eichler^{6,2}



Hsieh et al., Science, 2019

CNVs - příklad pozitivní selekce u člověka

Polymorfismus v počtu kopií α -amylázového genu *AMY1*

nature
genetics

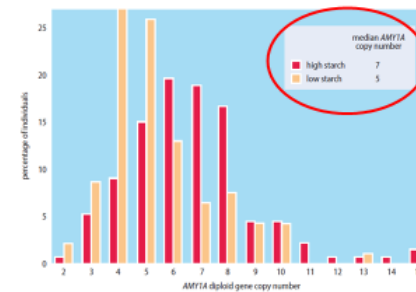
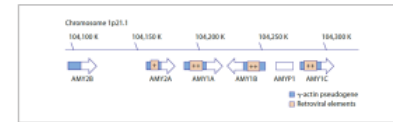
Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation

George H Perry^{1,2}, Nathaniel J Dominy³, Katrina G Clae^{4,4}, Arthur S Lee², Heike Fiegler², Richard Redon⁵, John Werner⁴, Fernando A Villanea², Joanna L Mountain⁶, Rajeev Misra⁴, Nigel P Carter², Charles Lee^{2,7,8} & Anne C Stone^{1,8}

- **enzym α -amyláza (ptyalin)** – podílí se na štěpení **škrobů** (maltoza, izomaltóza, glukóza, dextriny...)
- geny ***AMY1A*, *AMY1B*, *AMY1C***, (*AMY2A*, *AMY2B* – pankreas) vykazují extenzivní variabilitu v počtu kopií...
- **vztah k evoluci – dieta s obsahem škrobu !**



Distribuce počtu genů *AMY1* v lidské populaci

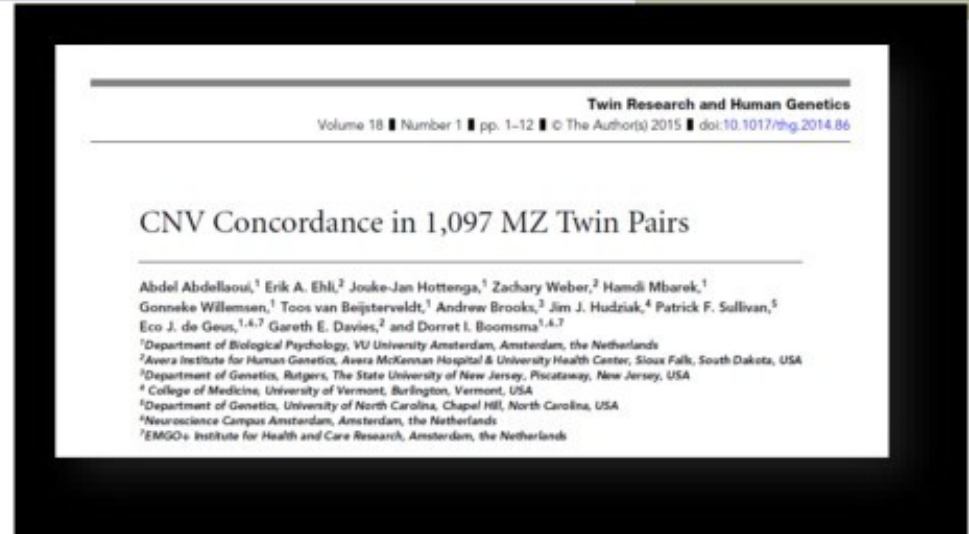


- diploidní počet genů **2 – 15**
- (šimpanz - 2 kopie)
- vztah mezi konzumací potravy bohaté na škrob a počtem genů
- užitečná adaptace - počet genů odráží změny stravování v průběhu evoluce člověka
- **lovci vs. zemědělci**
- **rýže kukuřice, brambory...**

Perry et al. 2007



CNVs u jednovaječných dvojčat (MZD)



- MZD geneticky identická - **možnost studia somatických mutací !!!**
- analyzovány CNVs u 1097 párů MZD
- Affymetrix 6.0 microarray, periferní krev, bukální sliznice....
- nalezeno celkem 4,415 konkordantních delecí a 3,037 duplikací
- **zjištěno 153 de novo vzniklých diskordantních CNVs > 100 kb často v 15q11.2**

One human, multiple genomes....?

Single-cell multi-omics to study genetic heterogeneity in health and disease

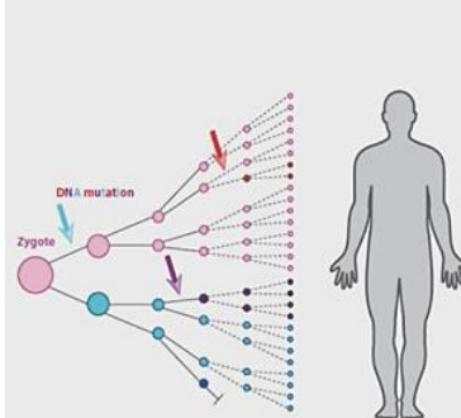


A genome-plus-transcriptome sequencing atlas of human preimplantation embryogenesis at single-cell resolution

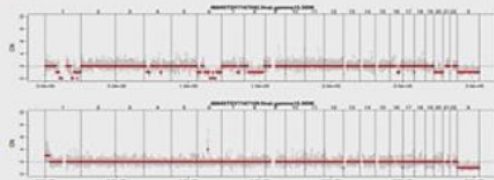
CNVs acquired during a lifetime



Towards a human CNV body map:
small clonal populations of CNV aberrant cells in tissues



Single-nucleus G&T-seq:



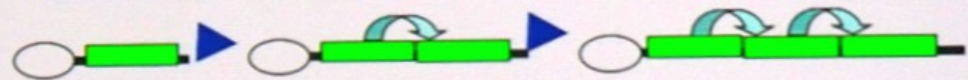
CNVs a genomová onemocnění

- co CNVs způsobují a jak vznikají
 - jak je klasifikujeme
 - jak je můžeme detekovat

První pozorování vlivu CNV na fenotyp -- duplikace a mutace Bar u drozofily



Alfred Sturtevant



“Crossing over has proved to be the key to the mutation behavior of bar..... The case appears not to be, strictly speaking, a point-mutation after all, but a new kind of **section-mutation**..... in which **unequal crossing over furnishes the mechanism** for bringing about the new types”

Sturtevant , *Genetics*, 1925

CNVs a efekt prvně popsany genové dávky u člověka



Prof. J. Lupski, 2018
Victor A. McKusick
Leadership Award

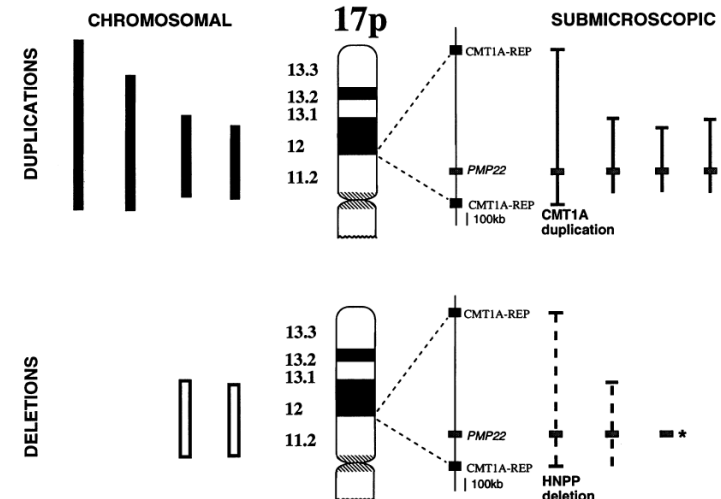
Hereditární motorická a senzorycká neuropatie - **duplikace genu *PMP22*** – *peripheral myelin protein 22* - *postižení končetin, atrofie svalstva, porucha citlivosti..*

Article | Published: 01 April 1992

Gene dosage is a mechanism for Charcot-Marie-Tooth disease type 1A

James R. Lupski, Carol A. Wise, Akira Kuwano, Liu Pentao, Julie T. Parke, Daniel G. Glaze, David H. Ledbetter, Frank Greenberg & Pragna I. Patel

Nature Genetics 1, 29–33 (1992) | [Download Citation](#)



CNVs a genomová onemocnění proč... a jaké mechanismy....

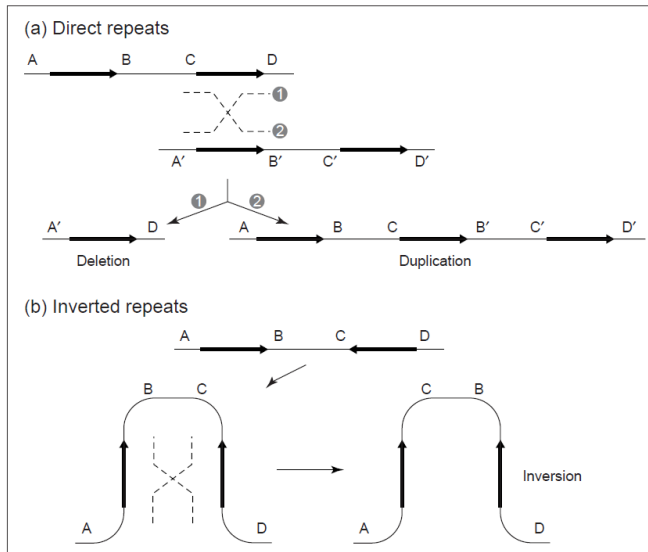
Trends in
Genetics

Volume 14, Issue 10, 1 October 1998, Pages 417–422

Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits

James R Lupski

Cell
PRESS



Genomic rearrangements resulting from **recombination between repeated sequences**.

Genomové choroby (genomic disorders) – vznikají v důsledku přestaveb genomu způsobujících **zisky či ztráty genů (CNVs)**

Evolve lidského genomu - **duplikace** genů, genových segmentů a repetitivních sekvencí

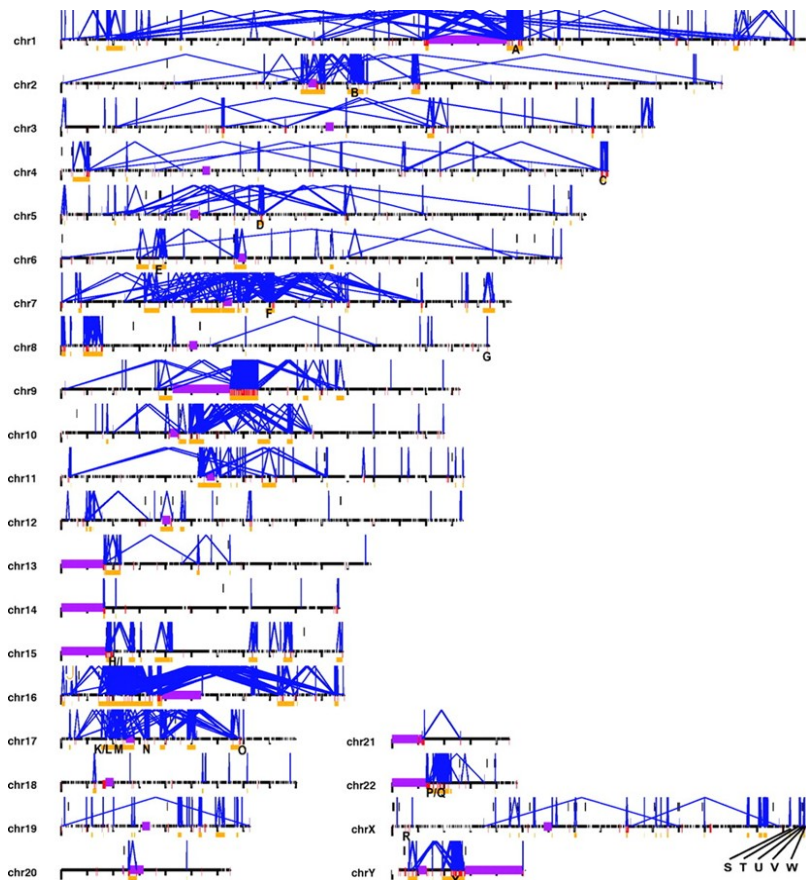


Vhodné podmínky pro **nehomologní rekombinaci**, při níž může docházet k přestavbám chromozomů

LCRs a SDs v genomu

- cca 50 % genomu tvoří repetitivní sekvence zahrnující mj.
↓
- **repetitivní sekvence o nízkém počtu kopií (LCRs)** – intrachromozomální **duplikace o velikosti >10 kb** s > 97 % sekvenční identitou (10-400 kb), vytváří shluky s přímou či inverzní orientací
- **segmentální duplikace (SDs)** – segmenty o velikosti > 1 kb s > 90 % sekvenční identitou
- více než **5,4 % lidského genomu** je pokryto SDs
- průměr 18,5 kb
- 1 % – 14 % každého chromozomu obsahuje SDs
- 3,4 % až 10,7 % genů může být duplikováno

Architektura GENOMU vs. GENOMOVÁ ONEMOCNĚNÍ



Rozložení intrachromozomálních a interchromozomálních duplikací (≥ 10 kb; $\geq 95\%$) v genomu

- lidský genom je náchylný k strukturní variabilitě v důsledku existence LCRs a SDs !
- **existuje asi – až 8000 „hot spots“ v genomu** - tvořeny unikátní sekvencí (o délce 50 kb – 10 Mb), která je ohraničena vysoce homologními úseky DNA, (LCR) či SDs



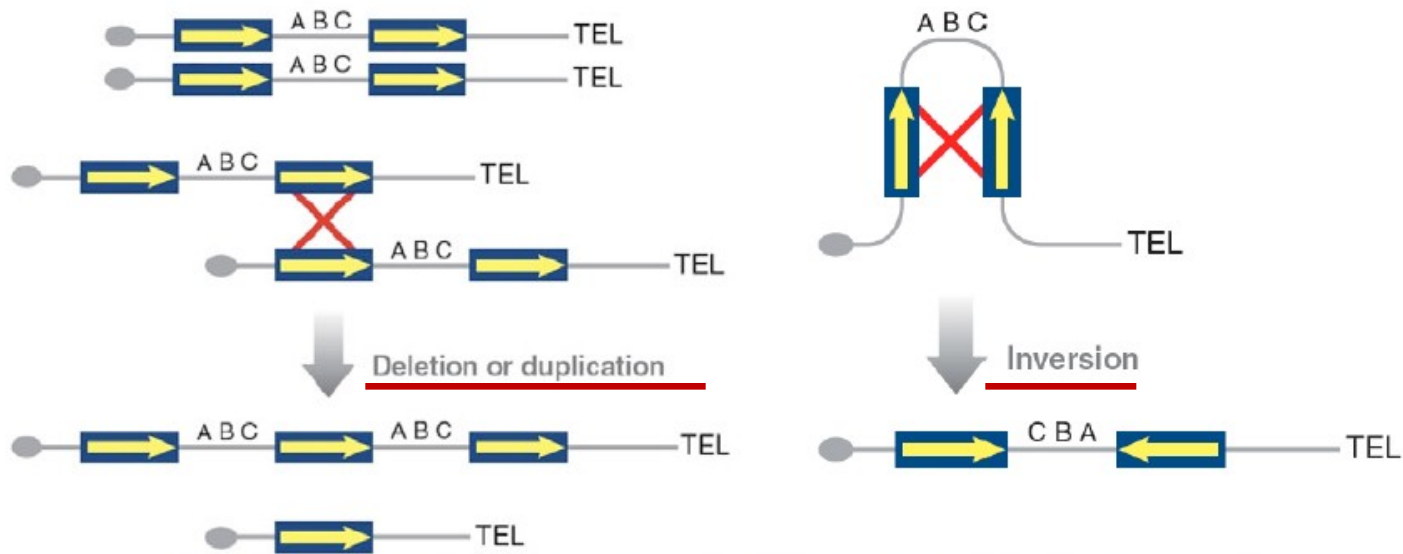
- substrát pro **nealelickou homologní rekombinaci** v meióze (NAHR)
- **nerovnoměrný crossing-over**



delece, duplikace, inverze, translokace
divergence genomu
genomová onemocnění !

Nealeická homologní rekombinace (NAHR)

- rekombinace mezi repetitivními sekvencemi (SDs nebo LCRs)



Genomic disorders

Mechanismy vzniku NAHR

NAHR může být inter- nebo též intrachromatidová

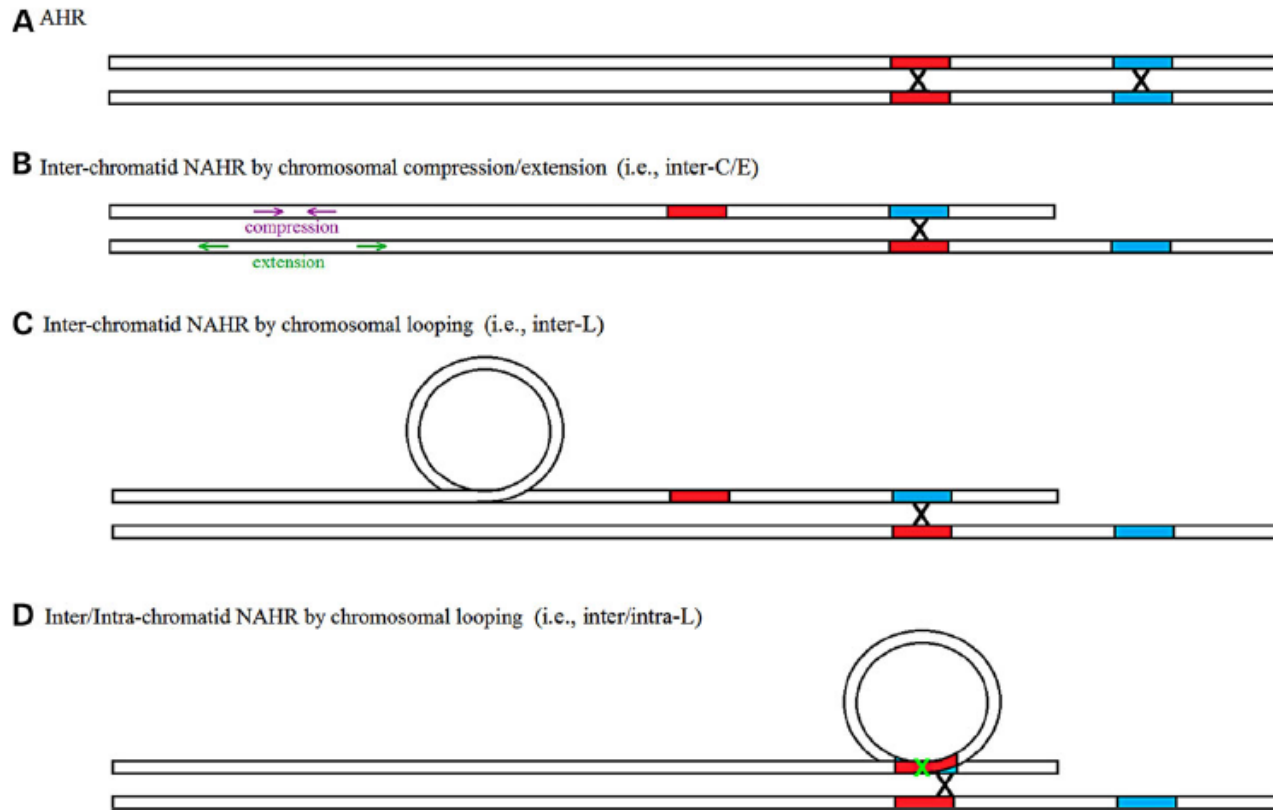
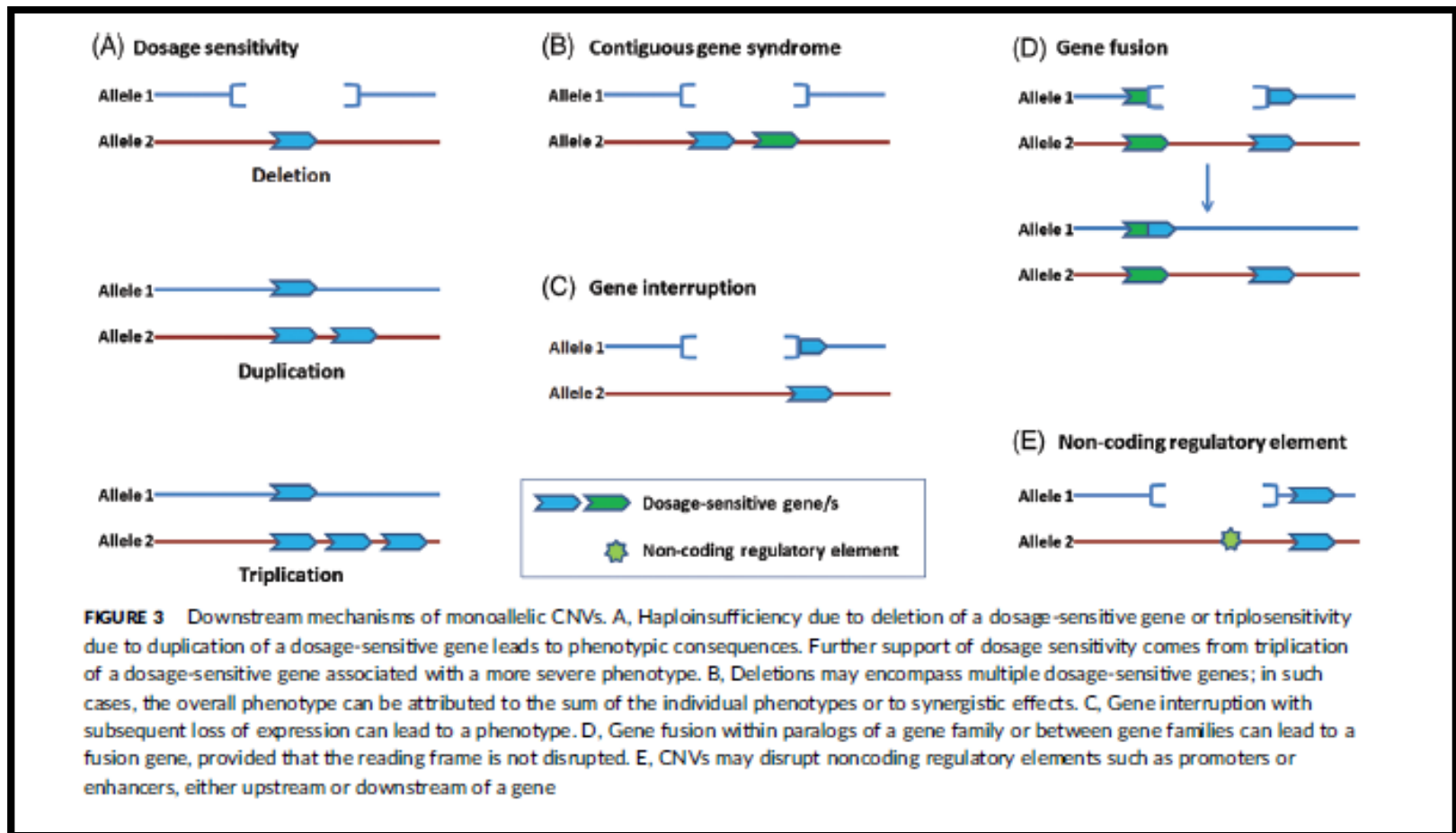


Figure 3. A model of CCEL for inter/intra-chromatid NAHR. Black crosses represent inter-chromatid recombinations; green cross represents intra-chromatid recombination. (A) Allelic homologous recombination (AHR). (B) Chromosomal compression/extension could cause SD mis-pairing and inter-chromatid NAHR. (C) Chromosomal looping could cause SD mis-pairing and inter-chromatid NAHR. (D) Chromosomal looping could also cause inter- and/or intra-chromatid NAHR.

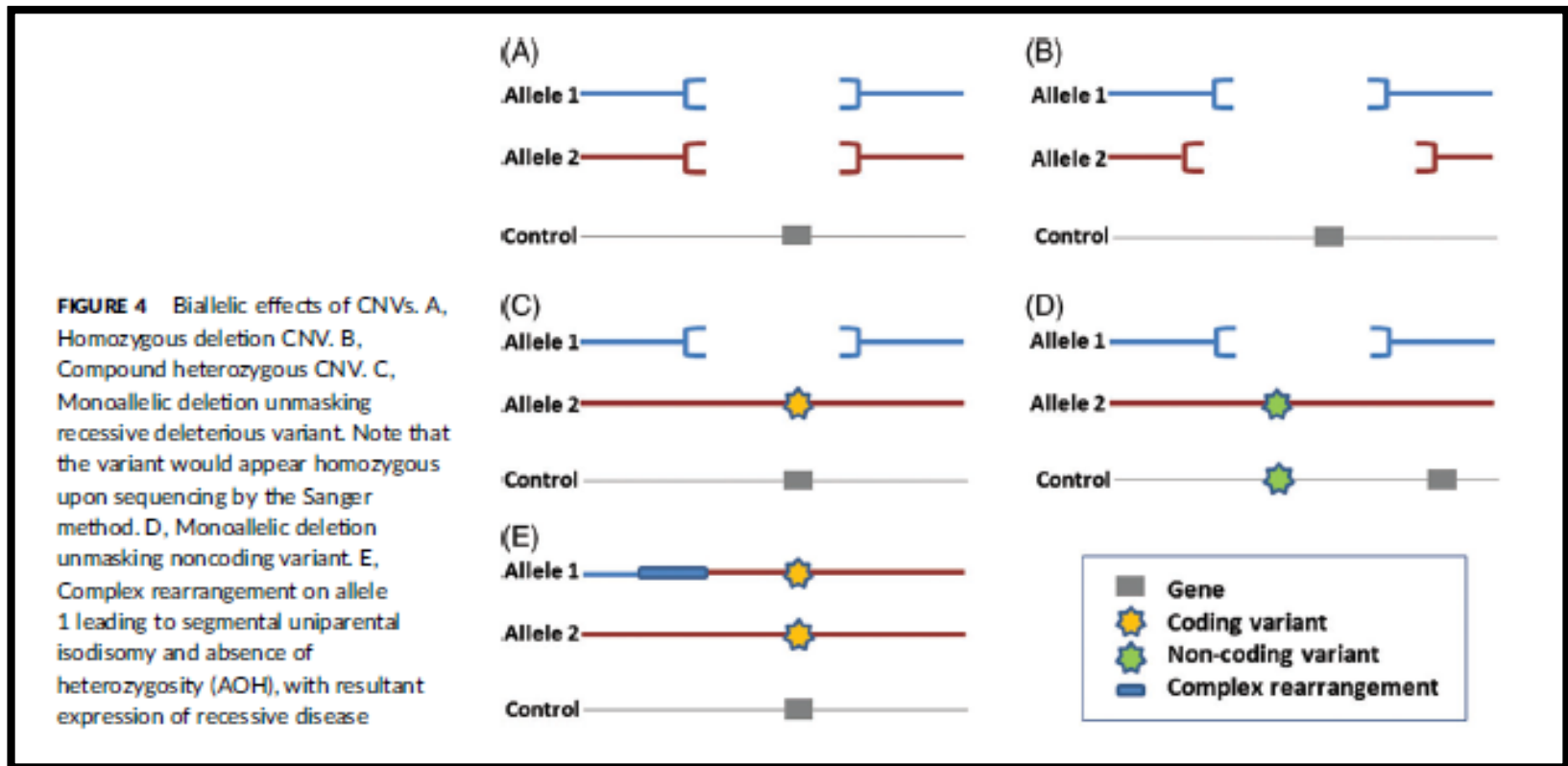
Mechanisms, kterými CNVs mohou ovlivňovat fenotyp I - monoalelické

Genová dávka, haploinsuficience, disrupce, fúze genů



Mechanisms, kterými CNVs mohou ovlivňovat fenotyp II - bialelické

Bialelická delece, projev recesivní alely, nekódující varianty...



Koncept „genomic disorders“!

- od poč. 21. století dochází ke změně pohledu na příčinu některých vrozených genetických onemocnění...
- **genocentrický (gene - specific)** vs. **genomický** přístup...
- **CNVs - genomová onemocnění (genomic disorders) - 1.7×10^{-6} to 1.0×10^{-4} per locus per generation**
- onemocnění vzniklá bodovými mutacemi - **$1.8-2.5 \times 10^{-8}$ per base pair per generation**
 - **genomová onemocnění u člověka vznikají 1000 až 10 000 častěji než onemocnění vyvolaná bodovými mutacemi !**

CNVs a jejich klinická klasifikace

□ CNVs

- benigní
- pravděpodobně benigní
- **patogenní**
- **pravděpodobně patogenní**
- nejasného významu (VOUS)

CNV Classification – the principles

Deletion OR Duplication

- Be consistent during analysis

Recurrent regions

Population data

Patients with similar imbalance & phenotype

- Lab data or published

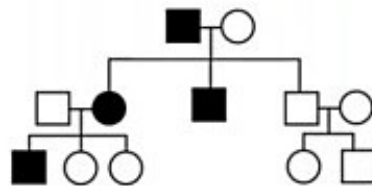
Inheritance and segregation

Size and gene content

- Evidence of dosage sensitivity

Inheritance & Family Studies

- Testing parents or siblings may help in interpretation
 - E.g. de novo variant or segregation
- Also important for recurrence risks
- Genetic counselling essential



Population Data

- Main databases for CNVs are DGV (including DGV Gold) and GnomadSV
- If same variant (specifically loss OR gain) >1% then can be called **benign**

Reported patients

- Patients with the same imbalance and phenotype can add pathogenicity evidence to your classification, especially if de novo!
- Many databases with excellent patient datasets such as:
 - Decipher
 - ClinVar (previously ISCA)
- Patients also reported in the literature
 - PubMed
 - Human Gene Mutation Database (HGMD)



Gene Content – OMIM Online Mendelian Inheritance in Man

122470

CORNELIA DE LANGE SYNDROME 1; CDLS1

Alternative titles: symbols

CDL; CDLS
 TYPIUS DEGENERATIVUS AMSTELODAMENSIS
 DE LANGE SYNDROME
 BRACHMANN-DE LANGE SYNDROME; BDL

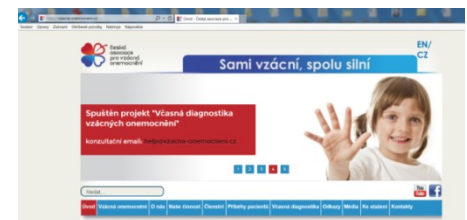
Phenotype-Gene Relationships

Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key	Gene/Locus	Gene/Locus MIM number
5p13.2	Cornelia de Lange syndrome 1	122470	AD	3	NDPL	60867

Clinical Synopsis Phenotypic Series Phenotype-Gene Graphics

Mikrodeleční/mikroduplikační syndromy (MMS) jako příklady patogenních CNVs

- příčina - drobné **mikrodelece (duplikace) DNA segmentů (2-4 Mb)**, které nejsou detekovatelné klasickými cytogenetickými metodami
- pacienti mají společné **specifické klinické příznaky**...dříve popis dle fenotypu („*phenotype first*“...)
- variabilní expresivita, neúplná penetrance
- **efekt genové dávky, haploinsuficience.**
- **rekurentní (LCRs) vs. nerekurentní**
- korelace genotyp – fenotyp – genetické poradenství
- **četnost menší než 1 : 2000 - vzácná „chromozomová“ onemocnění !**



Charakteristiky nejčastějších rekurentních mikrodelečních syndromů

Syndrome	Chromosome location	Deletion incidence	Parental origin	Deletion size (Mb)	Gene
Sotos	5q35	ND	Paternal (90%)	2.2	NSDI (10%)
Williams	7q11.23	1/20,000–1/50,000	Equal	1.6	CGS
8p deletion	8p23.1	ND	Maternal	5	CGS
Prader–Willi	15q11.2-13	1/20,000	Paternal	3.5	CGS
Angelman	15q11.2-13	1/20,000	Maternal	3.5	UBE3A (10–15%)
Smith–Magenis	17p11.2	1/25,000	Equal	4	RAI1 (ND)
Neurofibromatosis I	17q11.2	1/40,000–1/80,000	Maternal	1.5	NFI (90–95%)
Velocardiofacial	22q11.2	1/4,000	Equal	3 (1.5)	CGS

Abbreviations: ND, not determined; CGS, contiguous gene deletion syndrome

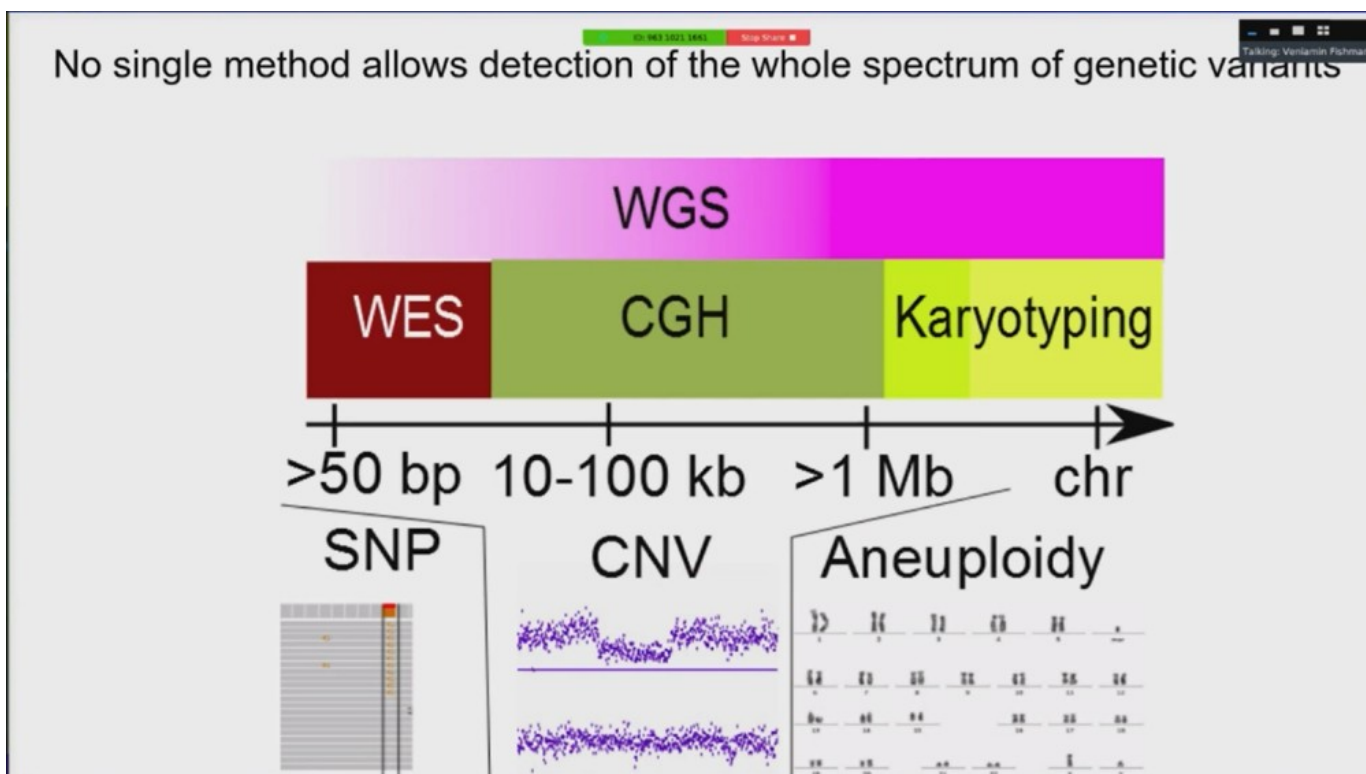
Pleiotropie, variabilní expresivita...

Viz. přednáška Cytogenetika

Devriendt and Vermeesch 2004

Moderní metody detekce SV

- *sekvenování*
- *optické genomové mapování*



Problémy s detekcí strukturní variability (SV) - pomocí NGS

- 1.) SVs are important
- 2.) SVs happen in complex regions
- 3.) Classical NGS is not ideal for SV detection

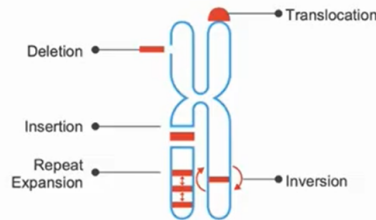
Structural Variations are the hardest to detect genomic variants



A-G-C-T-A-C-T
| | | | |
T-C-A-A-T-G-A

Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

1 base pair (bp)



Structural Variations (SVs)

100s bp to Millions bp



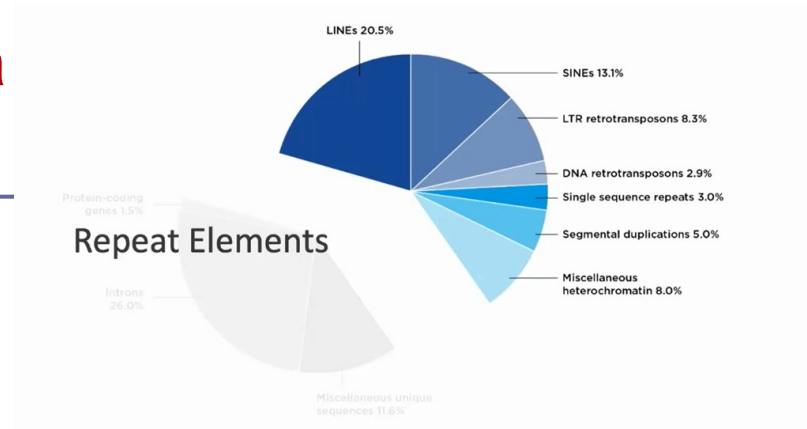
Aneuploidy

Full Chromosomes



NGS a strukturní variabilita

NGS attempts to puzzle together fragmented DNA molecules to detect Structural Variation



2/3 of the genome is repetitive and SVs in repeat regions are often invisible by whole genome sequencing

Short Read Sequencing



- krátká čtení <300 pb Illumina, nedetekují >70 % SV větší než 50 pb, přítomnost repetitivních sekvencí (telomery, centromery, akrocentr. chromozomy...)

CNVs a sekvenování

NGS – vhodné pro detekci sekvenčních variant

Problémy s CNVs:

- krátká čtení <300 pb Illumina, nedetekují >70 % SV větších než 50 pb, přítomnost repetitivních sekvencí (telomery, centromery, akrocentr. oblasti)
- WES - pozice CNVs....hledání nových bioinformatických přístupů...
- WGS - nákladné

Možná řešení

- Long-read sequencing (čtení 10 – 100 kb SMRT, Oxford Nanopore Technology)
- Low-pass whole genome sequencing
- (hloubka čtení 0,1 – 10x)
- **Optické mapování**

TECHNOLOGY SNAPSHOT: LOW-PASS WHOLE GENOME SEQUENCING



	LP-WGS	WGS	WES	Arrays
Coverage	Low	Medium	High	N/A
Relative Cost	Low	High	Medium	Low
Novel SNP Detection	✓	✓	Limited†	✗
Structural Variant Detection	✗	✓	Limited†	✗
Copy Number Variant Detection	✓	✓	Limited†	Limited

† WES coverage is limited to genic/exonic regions; hence, structural variants and copy number variants present only in these regions can be resolved

NGS vs. cytogenetika

Určité strukturní změny chromozomů nemusí být zachyceny pomocí NGS !!!!

Pomocí WGS nelze spolehlivě detekovat aberace v případě:

- A) malých mozaiek či klonů...
- B) Robertsonovských translokací...
- C) malých markerových chromozomů...
- D) balancovaných translokací s místem zlomu v nekódujících sekvencích...

8% of postnatal abnormal results are missed by current sequencing by synthesis WGS

retrospective study of all postnatal referrals 2006-2015 in Utrecht (n= 15,017 with 1,455 abnormal)
Hochstenbach et al. (2018) Eur J Med Genet doi: 10.1016/j.ejmg.2018.09.010

European Journal of Medical Genetics 62 (2019) 103543



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Medical Genetics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejmg



A survey of undetected, clinically relevant chromosome abnormalities when replacing postnatal karyotyping by Whole Genome Sequencing



Ron Hochstenbach*, Ellen van Binsbergen, Heleen Schuring-Blom, Arjan Buijs, Hans Kristian Ploos van Amstel

Department of Genetics, University Medical Centre Utrecht, Utrecht University, Utrecht, P.O. Box 85090, 3508 AB, Utrecht, the Netherlands

Table 1

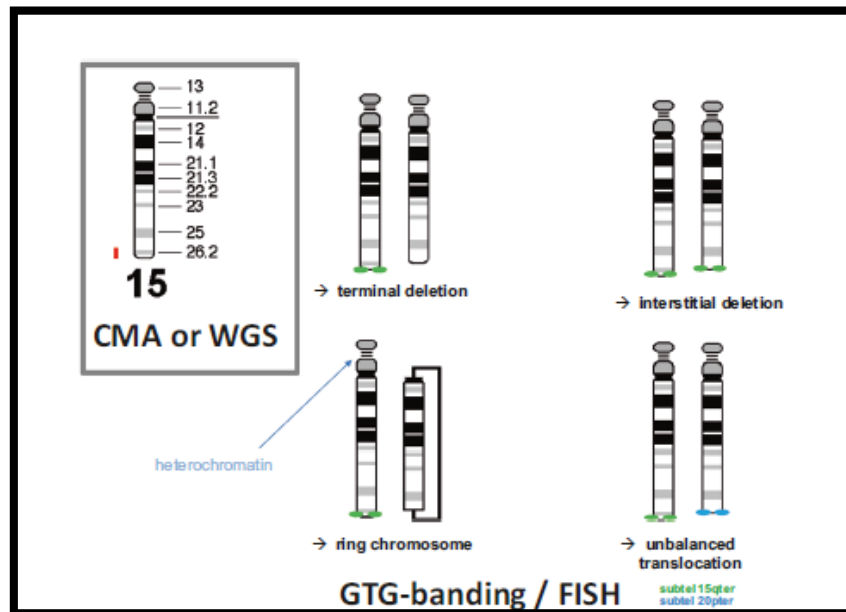
Numbers of abnormalities undetectable by WGS in referrals for postnatal karyotyping to our laboratory during 2006–2015^a.

referral reason (subcategories/explanation)	number of referrals	number of abnormal results (percentage of referrals)	undetected by WGS		
			number	percentage of abnormal	percentage of total
recurrent miscarriage (couples who had at least two unexplained miscarriages)	5881	86 (1.5%)	22	25.6%	0.37%
multiple congenital abnormalities and/or mental retardation (products of conception, stillbirths, suspicion of trisomy 13 or trisomy 18, all other postnatal patients, from newborns to adults, including cytogenetic follow-up of abnormal microarray results)	3952	521 (13.2%)	14	2.7%	0.35%
Down syndrome (suspicion of trisomy 21, usually in newborns)	635	398 (62.7%)	1	0.25%	0.14%
disorders of sexual development					
child (usually newborn) with ambiguous genitalia	53	7 (13.2%)	0	0.0%	0.00%
woman > 36 years of age with POF	228	15 (6.6%)	11	73.3%	4.82%
child with short stature (< -3 x SD)	693	24 (3.5%)	4	16.7%	0.57%
girl with suspicion of Turner syndrome	310	20 (6.5%)	2	10.0%	0.65%
boy or male with suspicion of Klinefelter syndrome	253	45 (17.8%)	4	8.9%	1.58%
reduced male fertility (infertile/subfertile male electable for ICSI)	1047	57 (5.4%)	27	47.4%	2.58%
carrier of chromosomal rearrangement (family member has Down syndrome; family member has other chromosomal rearrangement)	1905	282 (14.8%)	33	11.7%	1.73%
total	14,957	1455 (9.7%)	118	8.1%	0.79%

^a We did not include referrals of postnatal follow-up of abnormal prenatal findings in our survey.



Změny detekované na úrovni DNA mohou být způsobeny různými strukturálními přestavbami chromozomů!



Příklad

Ztráty DNA sekvencí (array-CGH, NGS) mohou být způsobeny **různými strukturálními změnami chromozomů !!!**

Fig. 1 This example shows that a loss of a terminal segment of a chromosome arm, as detected by CMA or WGS (in red), can be caused by four different structural rearrangements. Current WGS methods based on short-read, paired-end sequencing are not suited to discriminate between these possible rearrangements because breakpoints that are located within repetitive DNA sequences are not recognized [4]. In contrast, these rearrangements can be discriminated by microscopy, using karyotyping and/or FISH. The simplest structural rearrangement is a terminal deletion although an interstitial deletion, a ring chromosome, or a derivative chromosome representing an unbalanced translocation involving chromosome 15 and the very terminal end of another chromosome arm (here 20p) can underlie such a terminal loss. As emphasized in current guidelines for cytogenomic investigation [7], identification of the underlying rearrangement is essential for determining the recurrence risk for the parents of the patient, for genetic counseling and for the identification of family members who are at an increased risk of having imbalanced progeny.

Chromosomes in the genomic age. Preserving cytogenomic competence of diagnostic genome laboratories

Ron Hochstenbach¹ · Thomas Liehr² · Rosalind J. Hastings³

Received: 6 April 2020 / Revised: 26 October 2020 / Accepted: 17 November 2020
© The Author(s) 2020

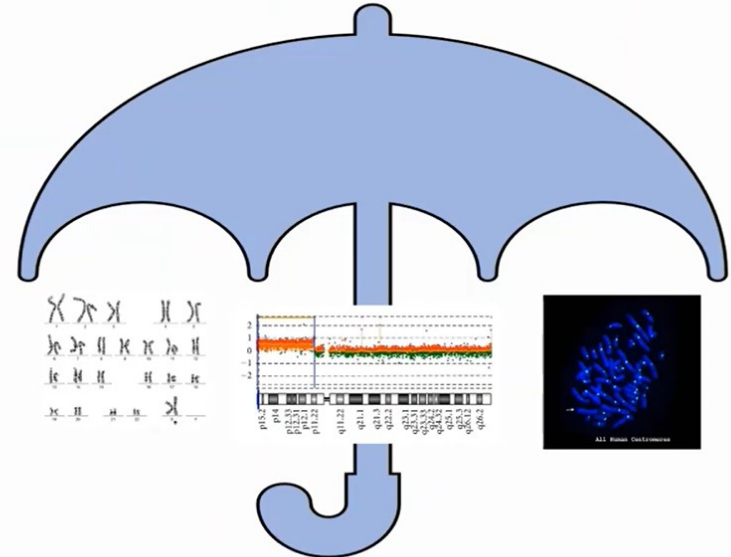
Důležité pro genetické poradenství !

Existuje univerzální metoda, která by nahradila vše?



Cytogenetic Analysis

OPTICAL GENOME MAPPING



Next-Generation Cytogenomics with Optical Genome Mapping is Here! To stay!

Alka Chaubey, Ph.D., FACMG
Chief Medical Officer, Bionano Genomics

2021



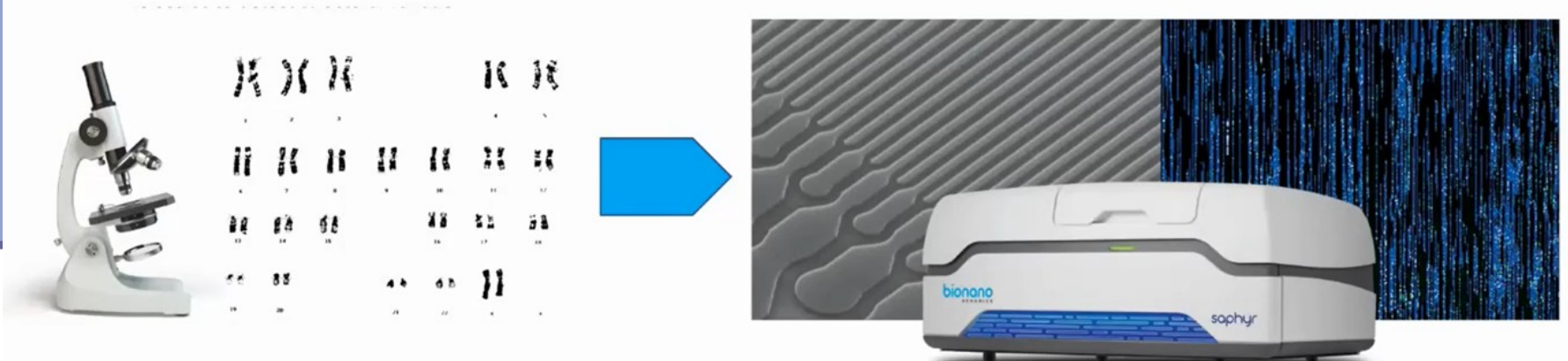
bionano
GENOMICS



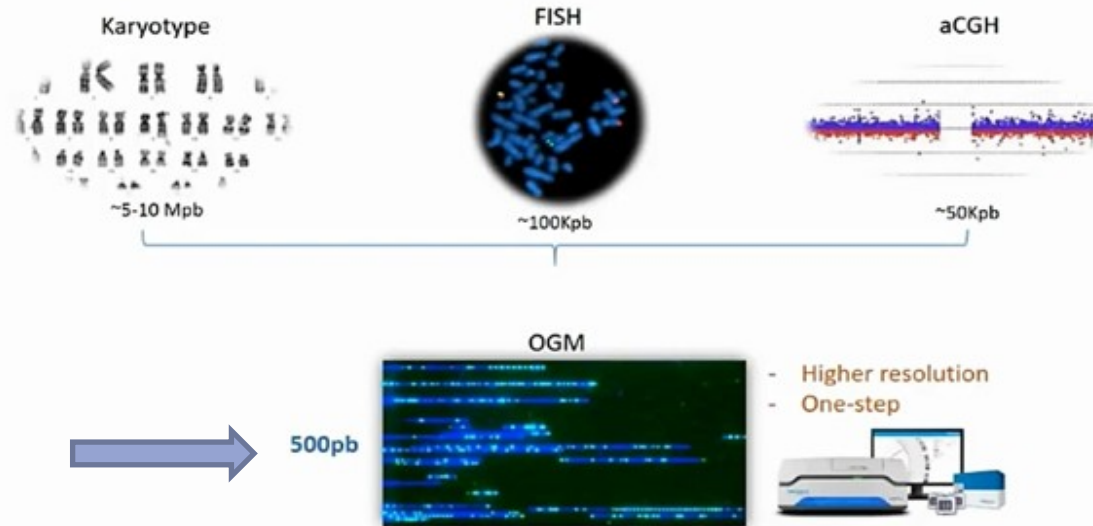
REVOLUTIONIZING CYTOGENOMICS



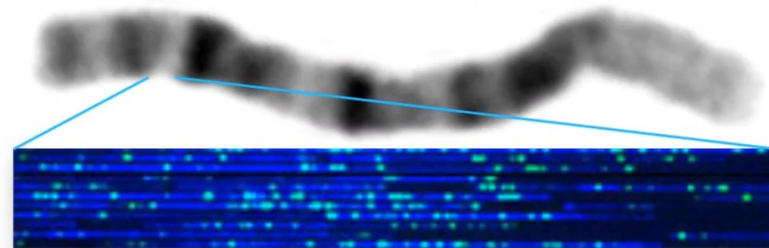
Bionano visualizes patterns on intact DNA molecules to detect Structural Variation



OGM vs traditional cytogenetic techniques



Next generation cytogenetics



Cytogenetics with 500,000 'bands' i.e. labels ~10,000 improved sensitivity!

- Genomewide analysis
- Positional information
- Single molecule resolution

Co umí optické genomové mapování (OGM)



OGM detects all classes of SVs

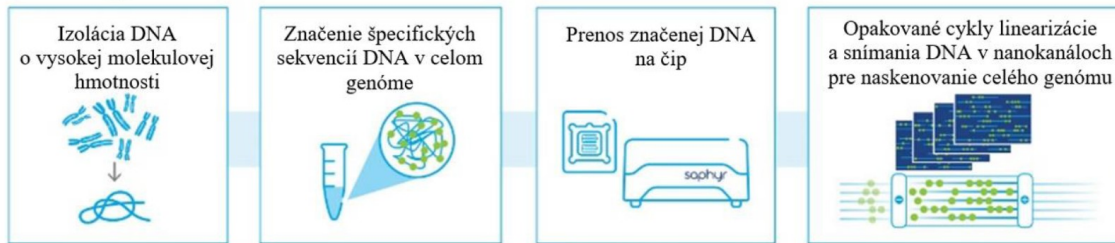
VARIANT TYPE	KARYOTYPE	FISH	CMA	NGS	OGM
Aneuploidy	✓	✓ Targeted	✓	✓	✓
Deletion	✓ > 5-10 Mbp	✓ Targeted	✓	✓	✓
Duplication	✓ > 5-10 Mbp	✓ Targeted	✓	✓	✓
Translocation	✓ > 5-10 Mbp	✓ Targeted	✗	✓ Restricted to targeted panels	✓
Inversion	✓ > 5-10 Mbp	✓ Targeted	✗	✗	✓
AOH	✗	✗	✓	✓	✓ Germline
Repeat expansion	✗	✗	✗	✓ Limited to short repeats	✓ Limited to large repeats
Repeat Contraction	✗	✗	✗	✗	✓
SNV	✗	✗	✗	✓	✗

Optické mapování genomu - postup

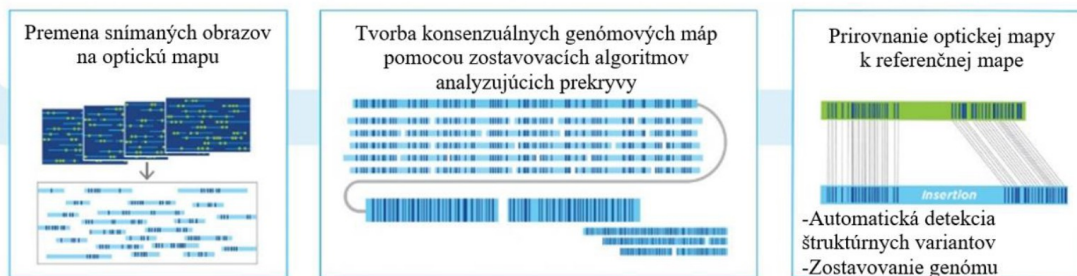
- long linear single DNA molecules (median size >250 kb)

Vzorka:
krv/tkanivo
bunky/baktérie

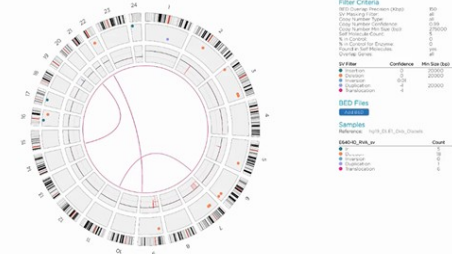
Značení - sekvenční motiv CTTAGG vyskytující se každých 5 kb v genomu



Efektívne snímanie molekúl DNA o dĺžke niekoľko megabáz s vysokým rozlíšením

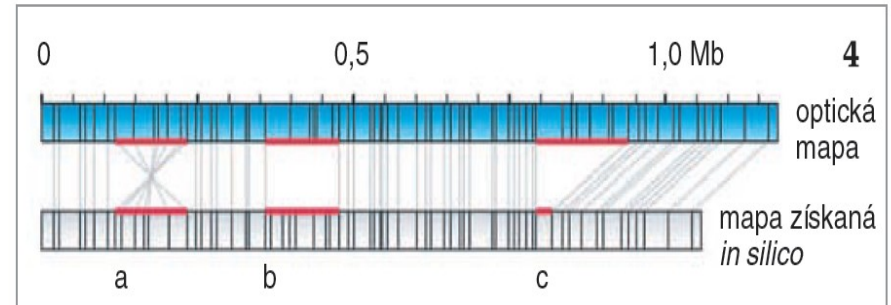
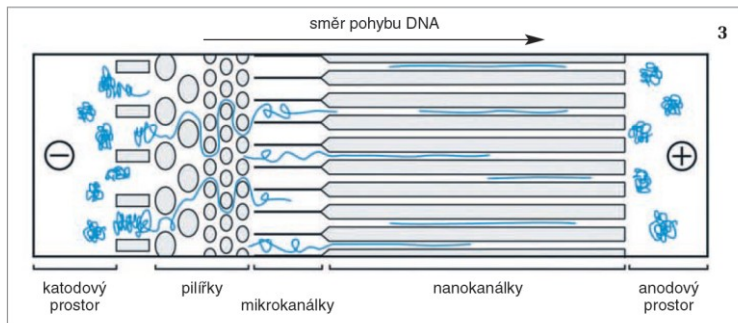
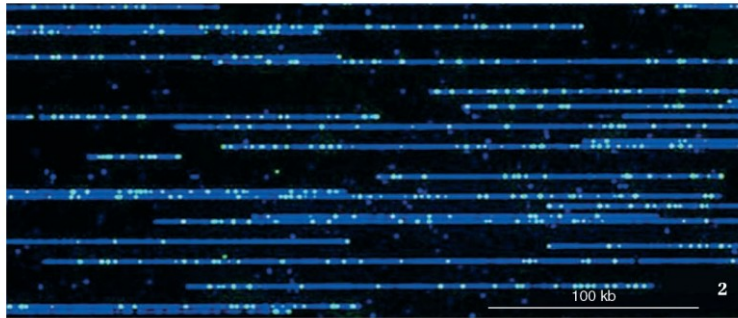


Visualize and Manipulate Maps and Structural Variants



Bionano Genomics (<https://bionanogenomics.com/technology/platform-technology/>)

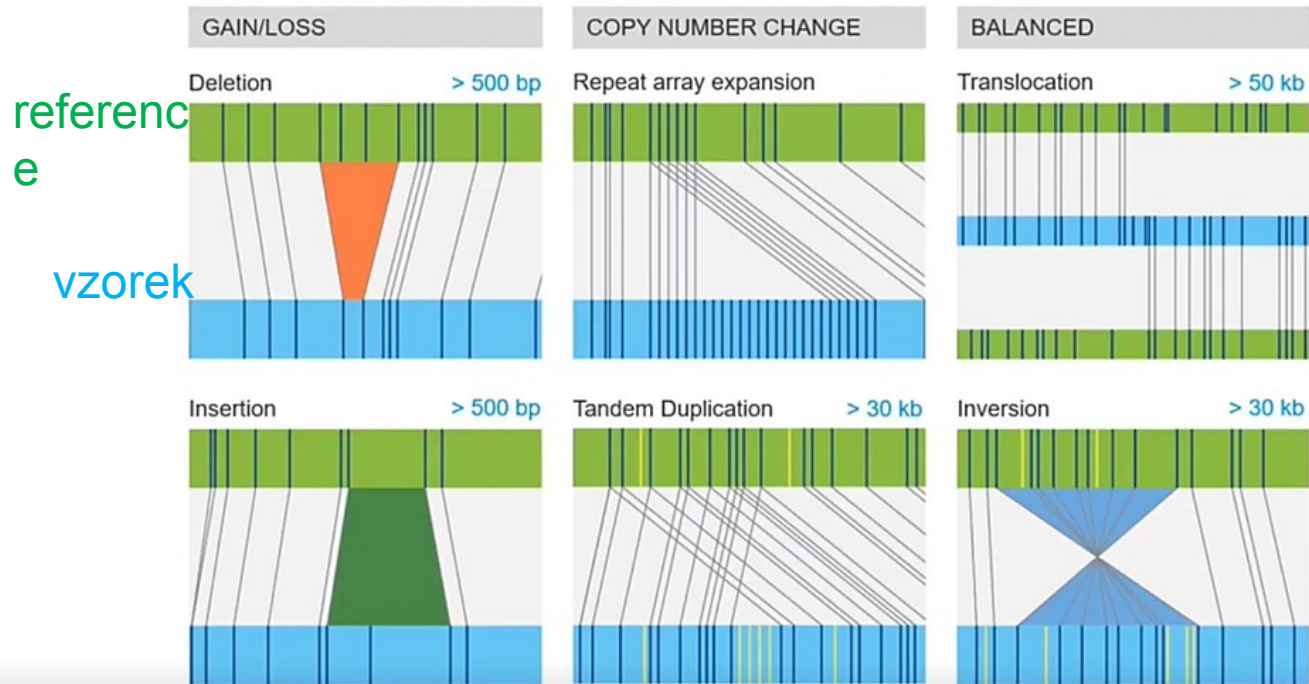
Bionano's technology is Optical Genome Mapping with Saphyr



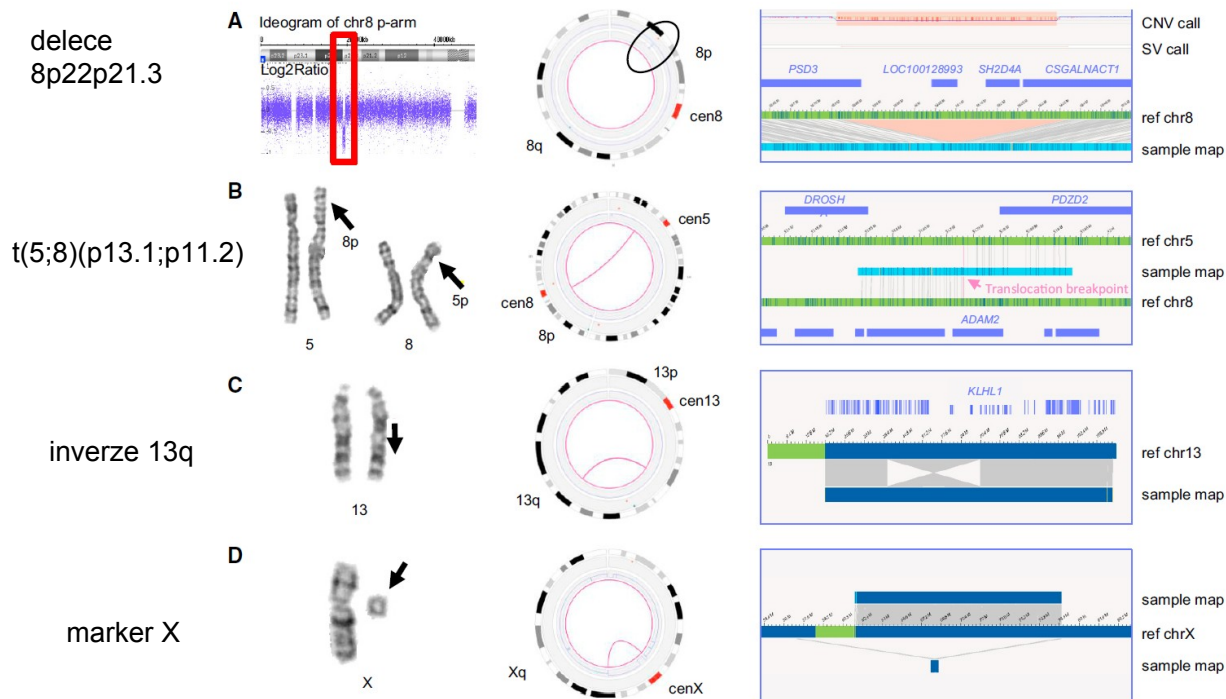
From 100x up to 1600X coverage
At no extra cost.

Detekce chromozomových aberací pomocí optického mapování

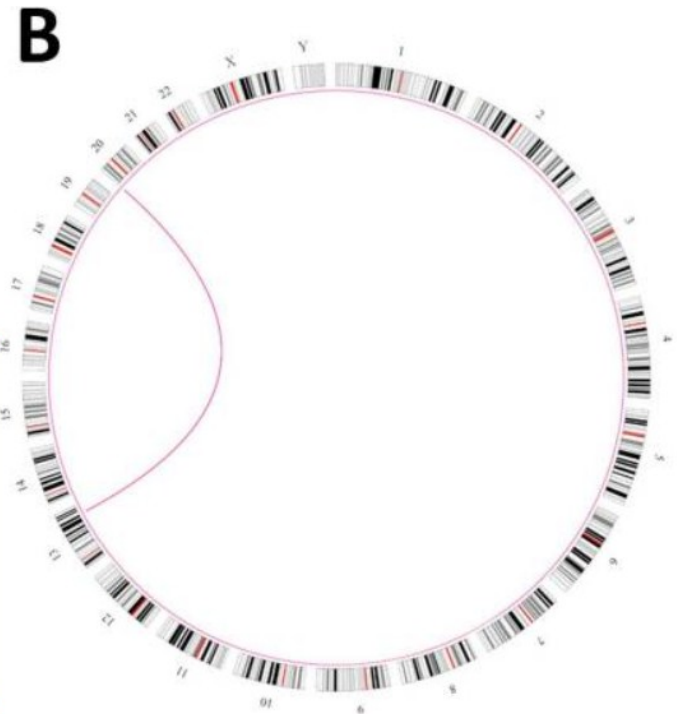
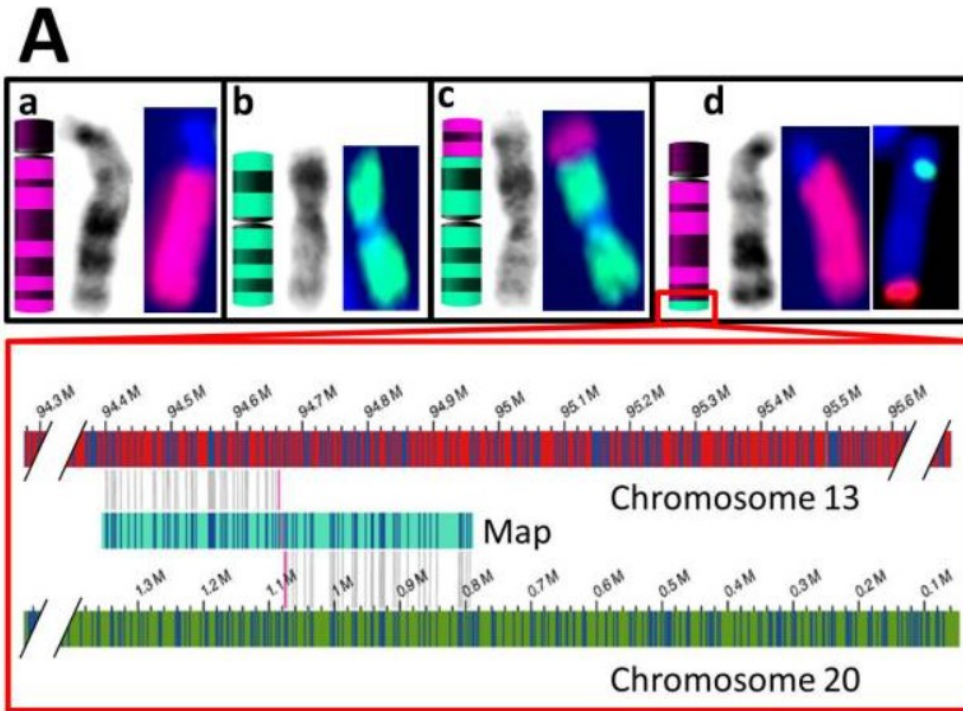
Structural variant calling by optical mapping



OGM – příklady chromozomových aberací



OGM - příklad translokace (13;20)(q32;p13)



OGM – cytogenetika budoucnosti?



European consortium comparing Bionano to standard of care in constitutional cohort

Laila El Khattabi, PharmD PhD
Associate professor,
APHP Cochin
Paris Descartes University,
Paris, France



Alexander Hoischen, PhD
Associate professor,
Radboud Medical Center,
Nijmegen, The Netherlands

Radboudumc
university medical center



AJHG

Available online 7 July 2021
In Press, Corrected Proof

July 2021



Article

Optical genome mapping enables constitutional chromosomal aberration detection

Tuomo Mantere^{1, 2, 3, 12}, Kornelia Neveling^{1, 4, 12}, Céline Pebrel-Richard⁵, Marion Benoit⁶, Guillaume van der Zande¹, Ellen Kater-Baats¹, Imane Baatout⁶, Ronald van Beek¹, Tony Yammine^{7, 8}, Michiel Oorsprong¹, Faten Hsourni⁹, Daniel Olde-Weghuis¹, Wed Majdali⁹, Susan Vermeulen¹, Marc Pauper¹, Aziza Lebbar⁹, Marian Stevens-Kroef¹, Damien Sanlaville^{7, 9} ... Laila El Khattabi^{9, 10, 12} et al.

Show more



100%

concordant with the standard of care methods (array-based technology and Karyotyping)

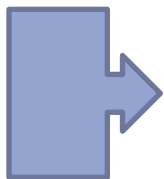
Komplexní SV

Komplexní chromozomové přestavby (complex chromosomal rearrangements – CCRs)

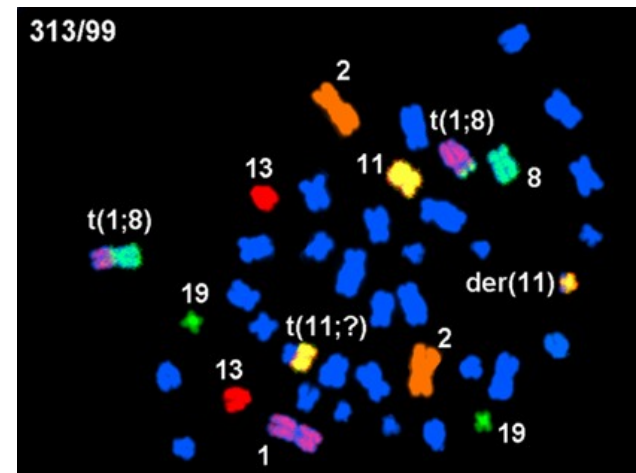
- strukturní přestavby (*de novo* či zděděné) při kterých dochází ke **3 a více zlomům postihující 2 a více chromozomů**
- časté chromozomové změny u mnoha nádorů – **získané aberace**
- vzácné chromozomové změny – **vrozené aberace** (cca 300 případů na celém světě)

CCRs jsou klasifikovány do 3 skupin:

- **chromothripsis**
- **chromoplexis**
- **chromoanasythesis**



chromoanagenesis



Příklad komplexního karyotypu u nádoru

2011 – objev „chromotripsis“ u pacientky s CLL

Cell, 2011 Jan 7;144(1):27-40. doi: 10.1016/j.cell.2010.11.055.

Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development.

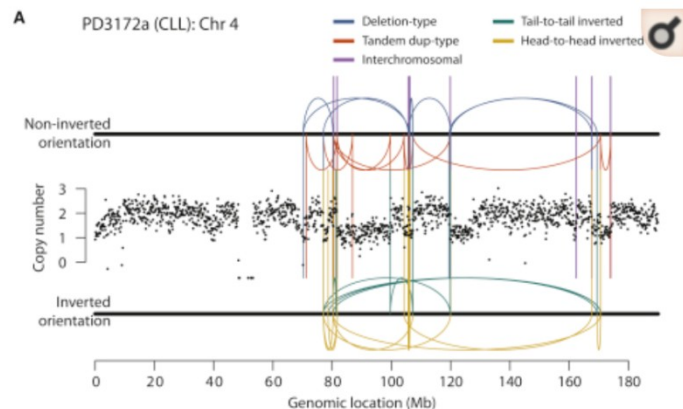
Stephens PJ¹, Greenman CD, Fu B, Yang F, Bignell GR, Mudie LJ, Pleasance ED, Lau KW, Beare D, Stebbings LA, McLaren S, Lin ML, McBride DJ, Varela J, Nik-Zainal S, Leroy C, Jia M, Menzies A, Butler AP, Teague JW, Quail MA, Burton J, Swerdlow H, Carter NP, Morsberger LA, Jacobuzio-Donahue C, Follows GA, Green AR, Flanagan AM, Stratton MR, Futreal PA, Campbell PJ.

Author information

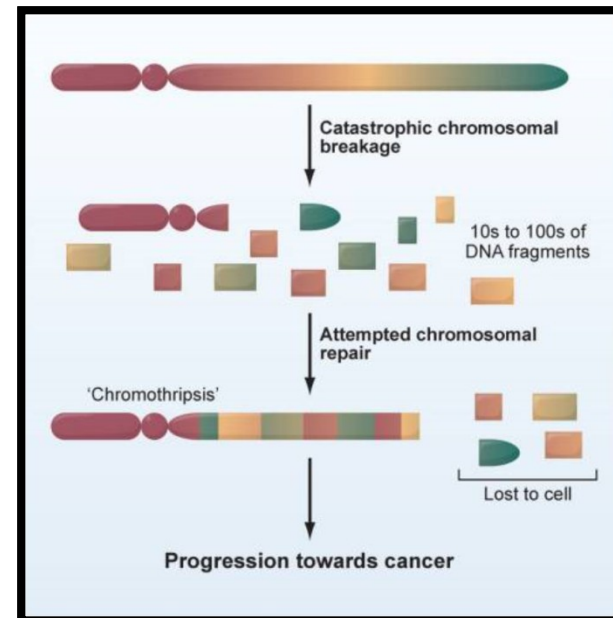
Abstract

Cancer is driven by somatically acquired point mutations and chromosomal rearrangements, conventionally thought to accumulate gradually over time. Using next-generation sequencing, we characterize a phenomenon, which we term chromothripsis, whereby tens to hundreds of genomic rearrangements occur in a one-off cellular crisis. Rearrangements involving one or a few chromosomes crisscross back and forth across involved regions, generating frequent oscillations between two copy number states. These genomic hallmarks are highly improbable if rearrangements accumulate over time and instead imply that nearly all occur during a single cellular catastrophe. The stamp of chromothripsis can be seen in at least 2%-3% of all cancers, across many subtypes, and is present in ~25% of bone cancers. We find that one, or indeed more than one, cancer-causing lesion can emerge out of the genomic crisis. This phenomenon has important implications for the origins of genomic remodeling and temporal emergence of cancer.

NGS - 42 genomových přestaveb



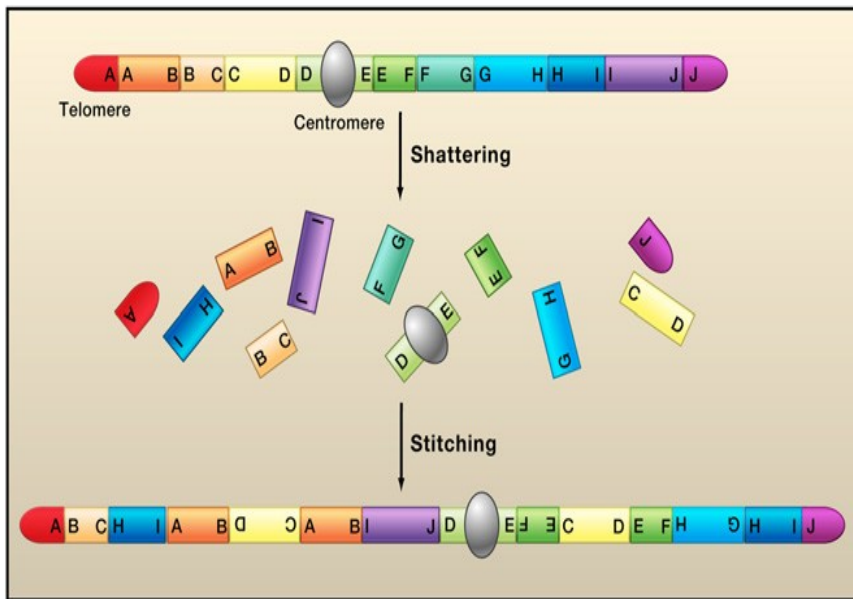
Rearrangements on Chromosome 4q in a Patient with Chronic Lymphocytic Leukemia



Chromothripsis aneb chromozomy v krizi

- **chromothripsis** (z řeckého chromos – chromozom a thripsis – rozdělení na kousky)
- jedná se o desítky až stovky přestaveb na jednom či více chromozomech vzniklé **náhle** při jedné katastrofické události
- chromozom nebo jeho část je roztržštěn na malé kousky a ty jsou pak následně pomocí reparačních mechanismů náhodně poskládány zpět
- toto složení ovšem není úplně přesné, některé části mohou být sestaveny v jiném pořadí, mohou chybět či být duplikovány
- **chromothripsis prokázána u různých typů nádorů, ale též u vrozených genetických onemocnění (PMR, vývojové vady)**

Chromothripsis - charakteristika



- desítky až stovky přestaveb vzniklých při **jedné náhlé události**
- postižen je pouze jeden nebo několik málo chromozomů
- místa zlomů vytváří shluky ve specifické oblasti chromozomu
- přestavěné chromozomy vykazují **delece, duplikace** či „copy-number“ **neutrální přestavby** (translokace, inverze)
- **oscilace 1, 2 či 3 kopií**

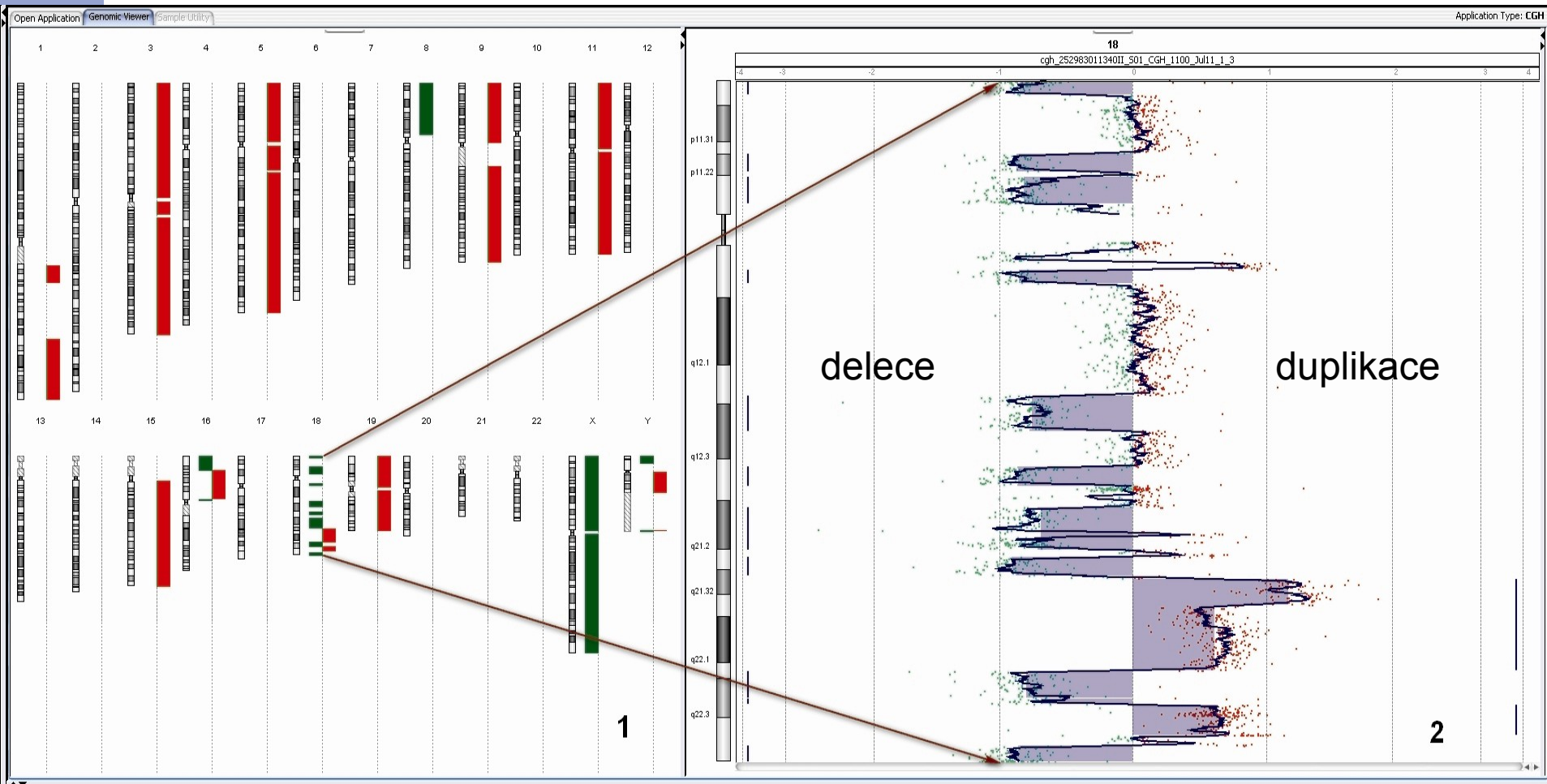
Cytogenetické důsledky - komplexní přestavby



- **delece tumor supresorových genů, amplifikace onkogenů, vznik fúzních genů...**

Meyerson and Pellman 2011

Profil array-CGH - chromothripsis 18 (pacient s mnohočetným myelomem)



1) H-MM profil (+3,+5,+9, +11, +15,+19), zisk v oblasti 1q21 a 16p12.1 - 16p13.3, ztráty materiálu v oblasti 8p, 16p13.3; -X

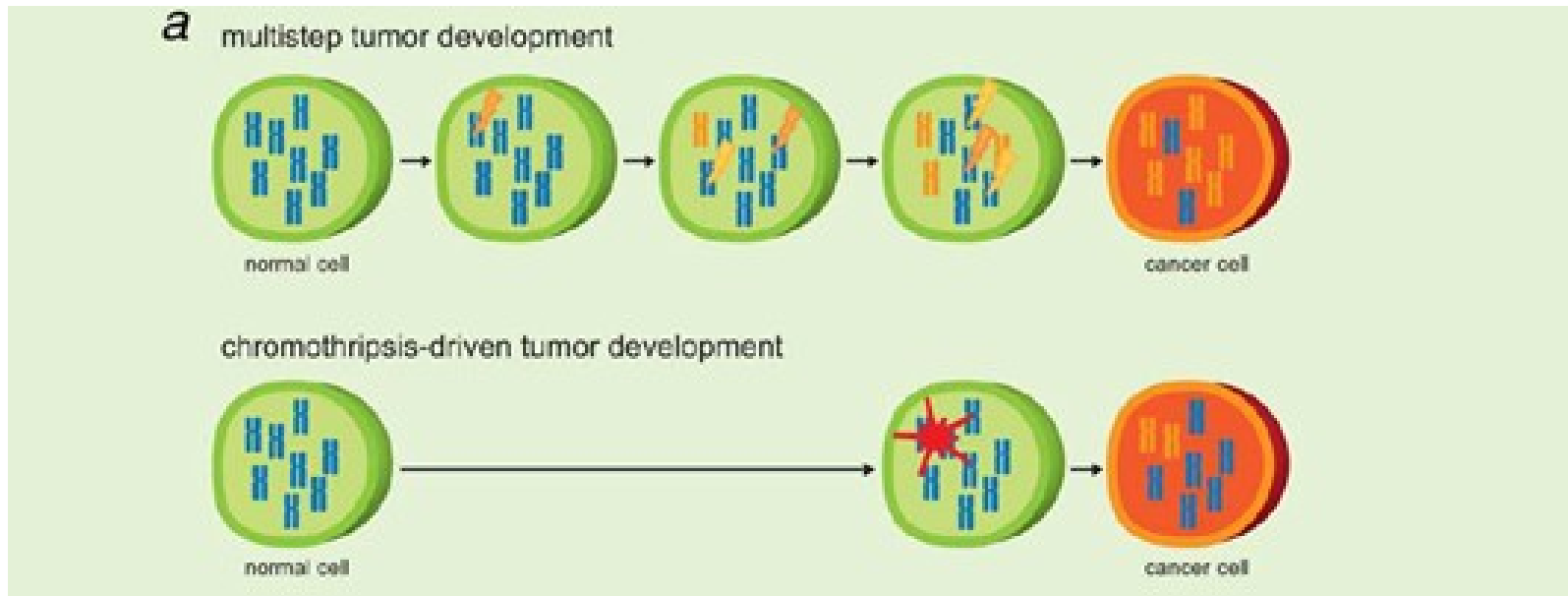
2) **arr18p11q32.3(64748-78012829)cth**

12x delece, 4x zisk, 2x amplifikace

Objev chromothripsis přinesl nový pohled na úlohu chromozomových změn při tvorbě nádoru !

a) model of „multistep tumor development“ -
postupná kumulace mutací a genomových změn

b) „chromothripsis – driven tumor development“ –
jedna katastrofická událost



Chromothripsis u nádorových onemocnění

- **výskyt 3 – 5 %** všech nádorových onemocnění
- **chromothripsis** prokázána u leukémií, mnohočetného myelomu, karcinomu tlustého střeva, meduloblastomu, neuroblastomu...
- častý výskyt u **nádorů kostí (až 25 %)**- osteosarkom, Ewingův sarkom, chondrosarkom
- **chromothripsis – horší prognóza !!!** – rozsáhlé přestavby - delece, duplikace, inverze, inzerce - deregulace velkého počtu genů !!!
- selekční výhoda, proliferace buněk....

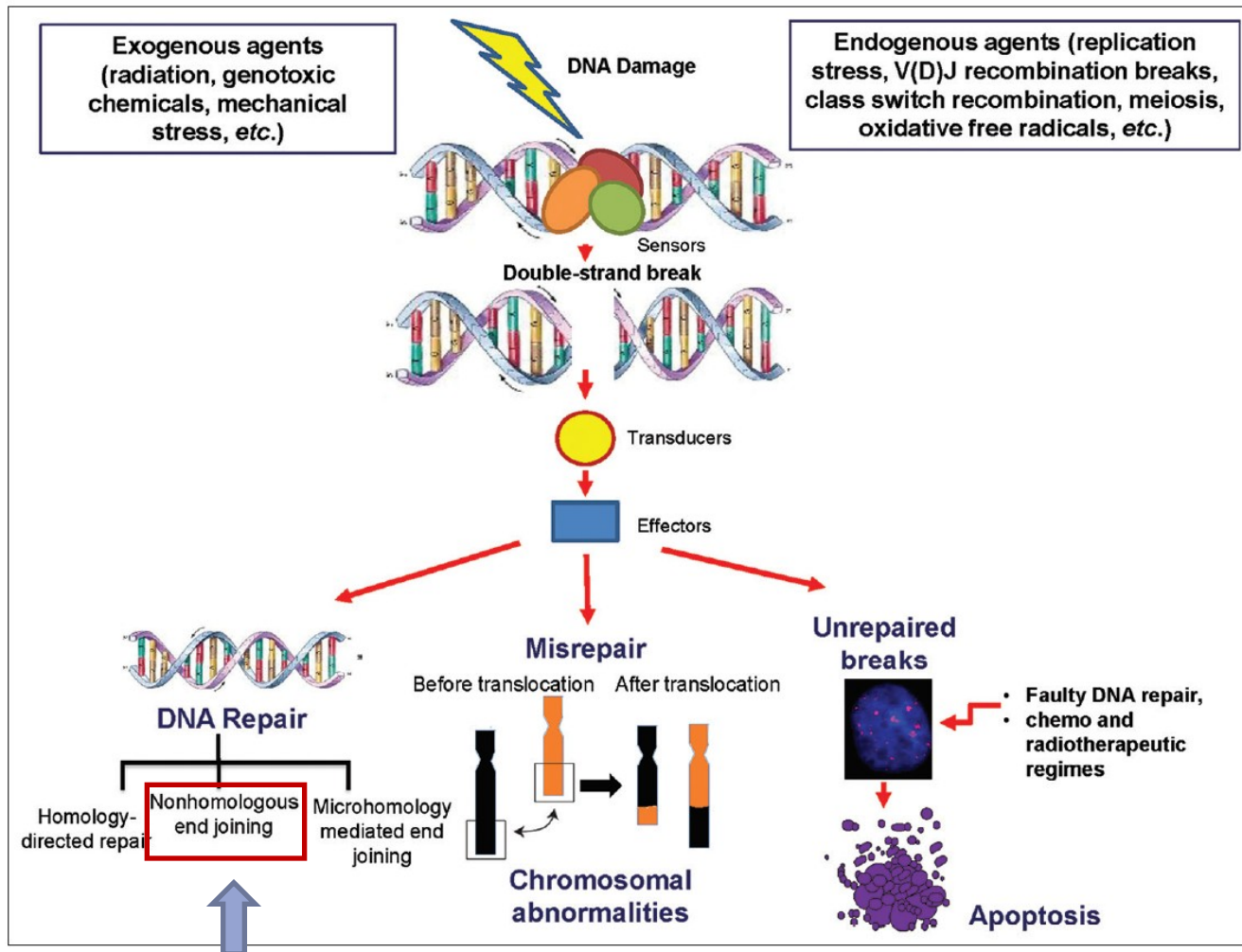


Chromothripsis in Treatment Resistance in Multiple Myeloma

Kyoung Joo Lee¹, Ki Hong Lee¹, Kyong-Ah Yoon², Ji Yeon Sohn³, Eunyoung Lee⁴,
Hyewon Lee^{4,5}, Hyeon-Seok Eom^{1,4}, Sun-Young Kong^{1,3,4,6*}

**Pacienti s MM a chromothripsis –
rezistence k nejmodernějším
protinádorovým lékům – Bortezomid
(Velcade) ?**

Molekulární mechanismus rozpadu chromozomů = mnohonásobný dvouřetězcový zlom (DSB)

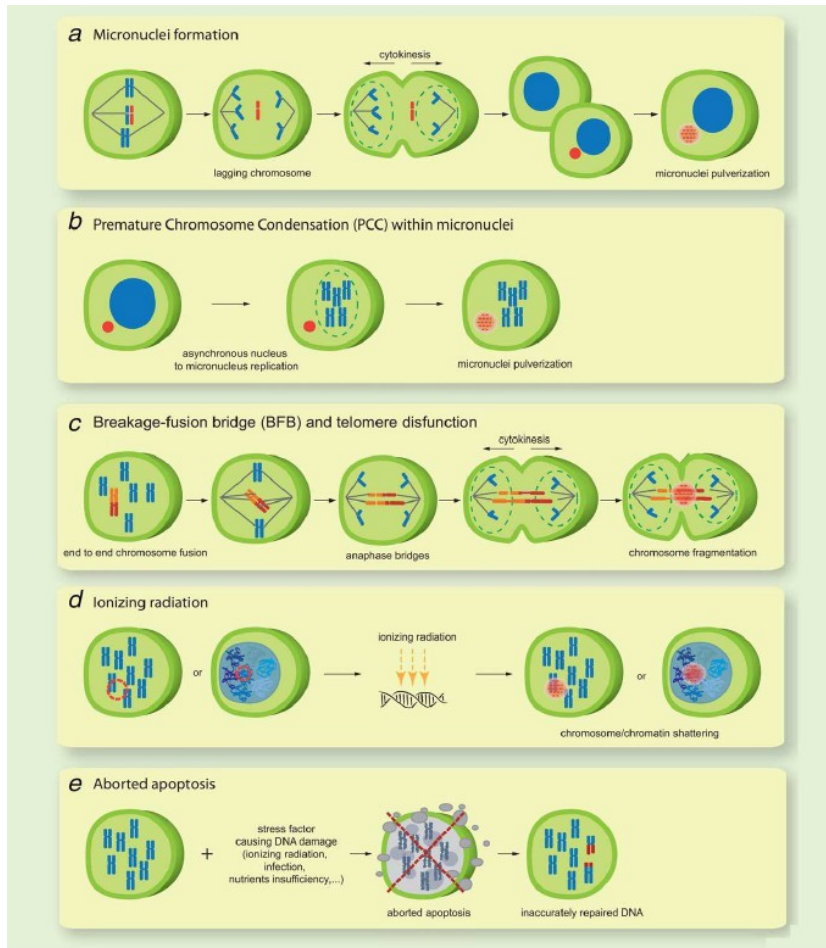


Co může spustit rozpad chromozomů vnější faktory

- Virové infekce
- Ionizující záření
- Cannabis exposure

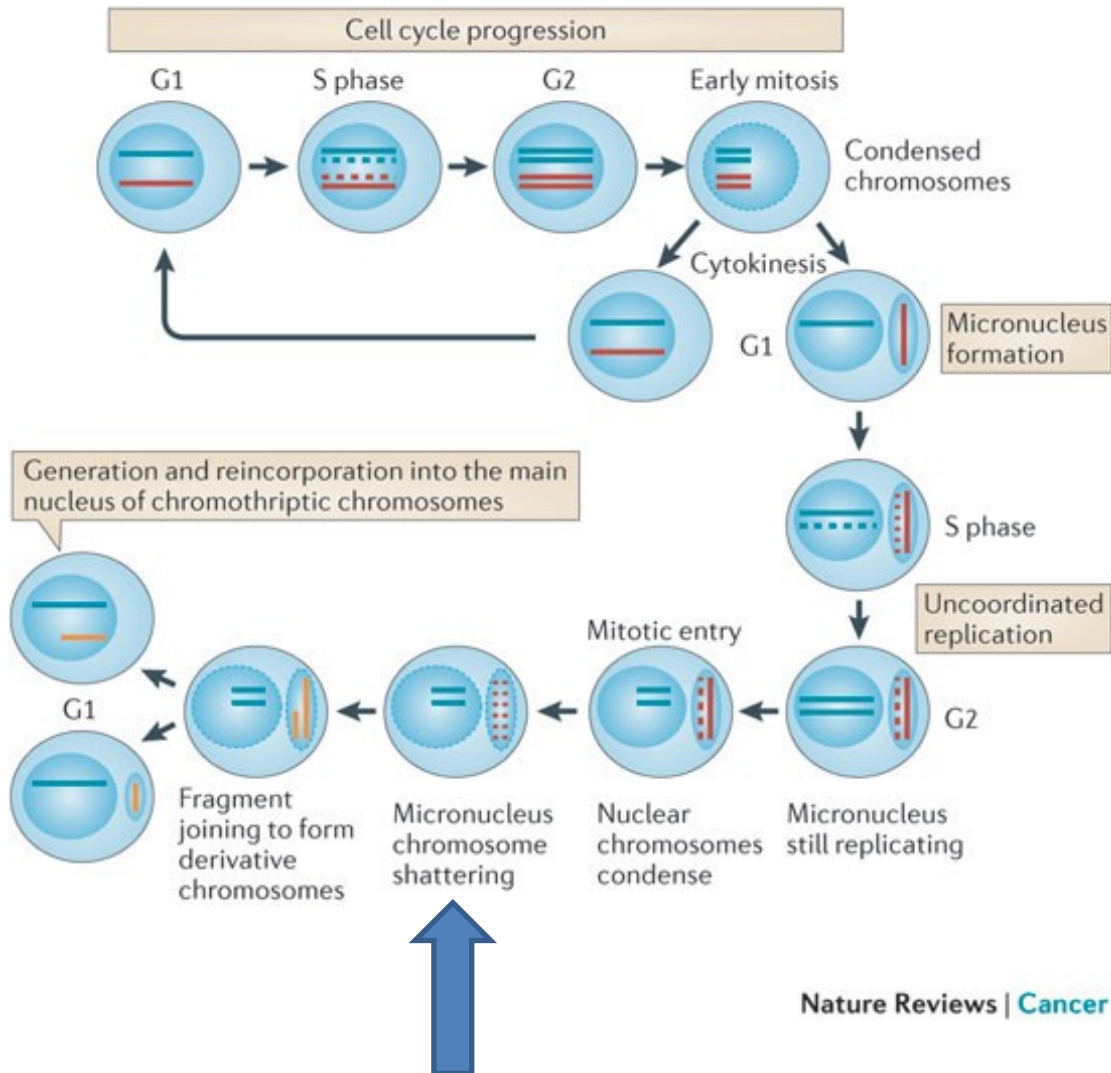
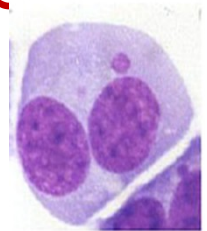


Co může spustit rozpad chromozomů vnitřní faktory



- chyby při segregaci chromozomů – vznik mikrojadra....
- předčasná kondenzace chromozomů (PCC) v mikrojadře
- porucha telomer – zkrácení, fúze sesterských chromatid, masivní rozpad...
- selhání apoptózy
- mutace genu *p53*
- replikační stres – inhibice DNA polymerázy...

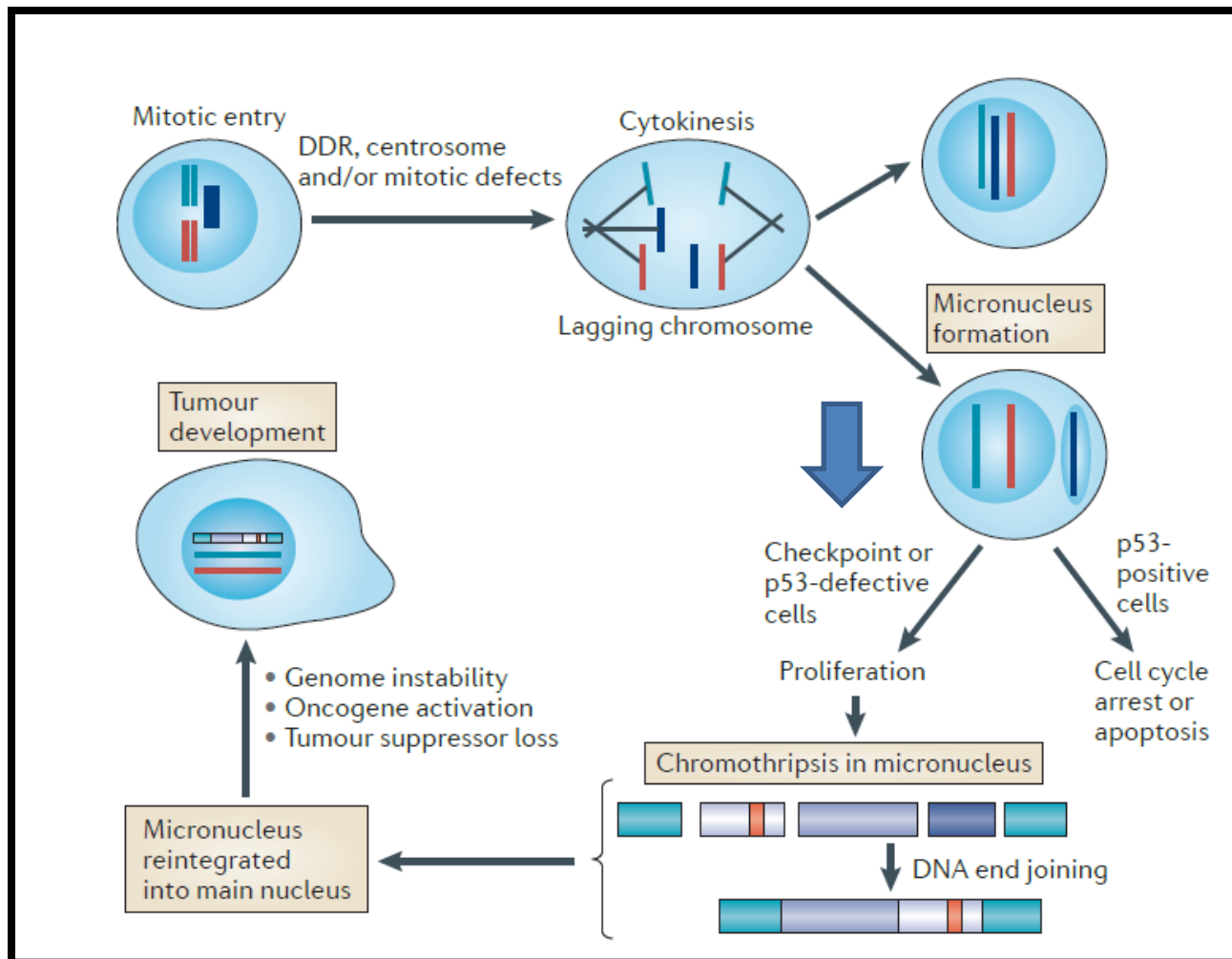
Jak vzniká chromothripsis - A model of chromothripsis and aneuploidy via micronucleus formation



- vznik mikrojádra
- defektivní a opožděná replikace chromozomu v mikrojádře – poškození DNA
- předčasná kondenzace chromozomu
- masivní rozpad chromozomu v mikrojádře
- spojení fragmentů – vznik derivovaného chromozomu s chromothripsis
- začlenění do jádra

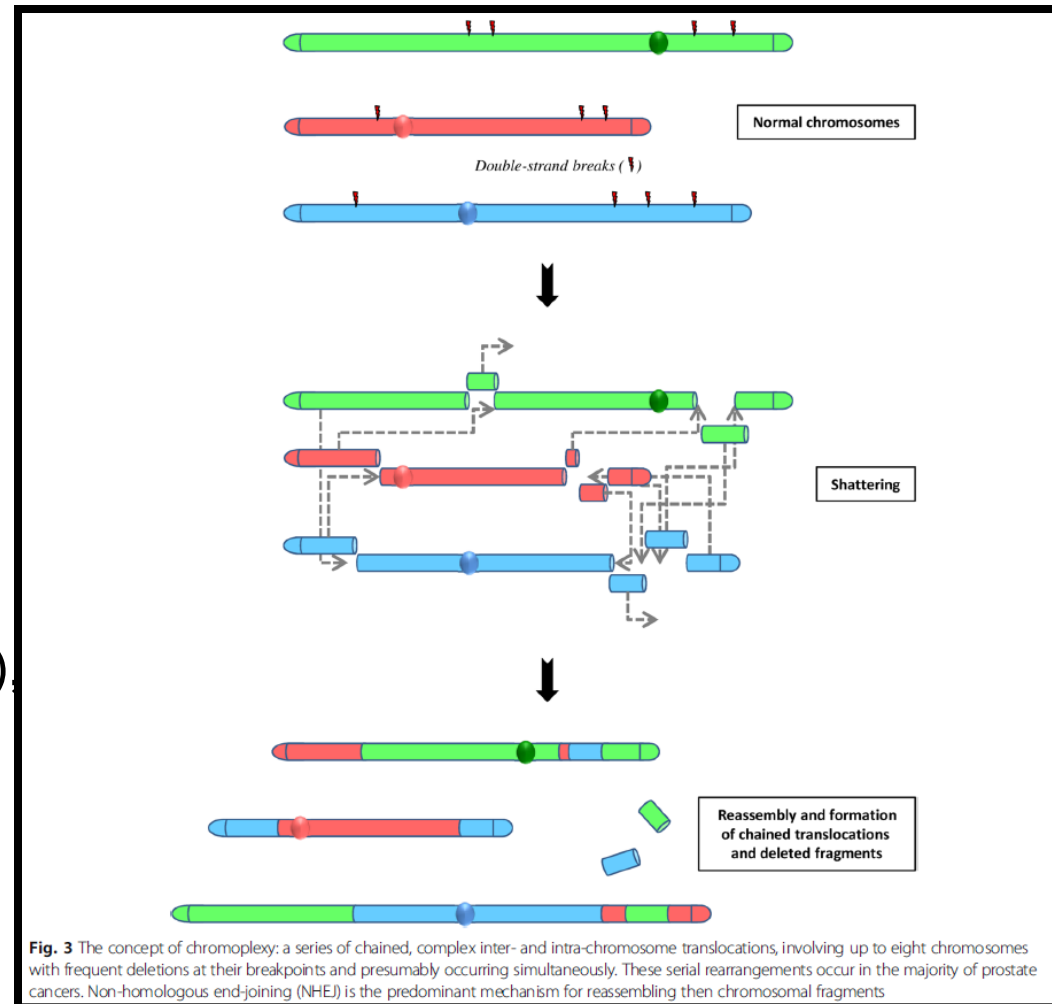
Forment et al. 2012

Chromothripsis a mutace genu p53 předchází mutace genu 53 chromothripsis?



Chromoplexis chromo – chromozom, plexis - restrukturalizace

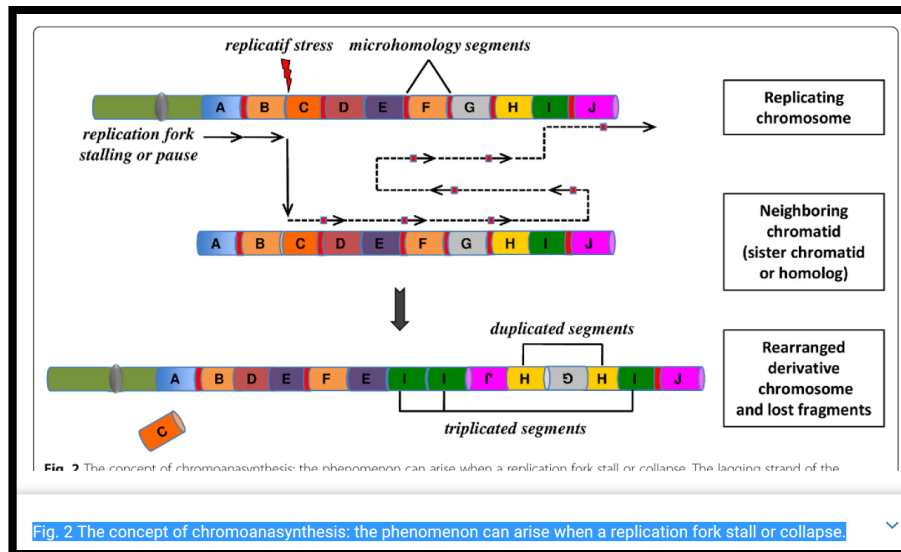
- jediná katastrofická událost....
- rozpad chromozomů - vznik **mnohonásobných translokací** a delecí postihující až **7 chromozomů** (vznik fúzních genů)
- nalezena u **nádoru prostaty** (delece genu PTEN či tvorba TMPRSS2-ERG fúzního genu), nádoru plic, melanomu...



Chromoanasythesis – mechanismy

ABERANTNI REPLIKACE v důsledku jedné katastrofické události

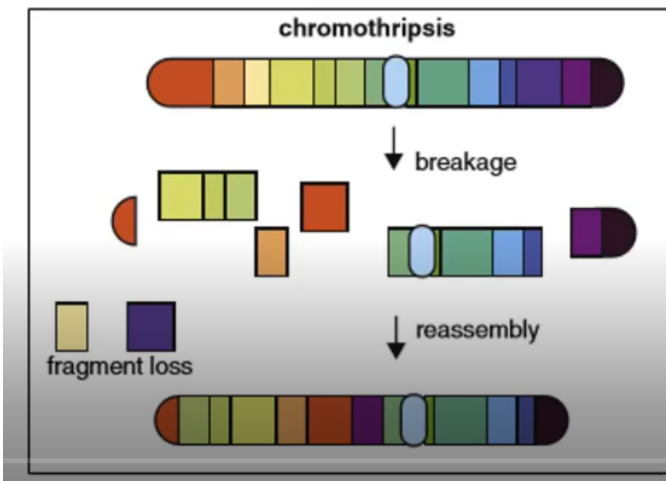
- **blokování replikační vidlice a změna templátového vlákna** (fork stalling and template switching, FoSTeS) nebo
- **replikace způsobená zlomem zprostředkovaná mikrohomologií** (microhomology-mediated break induced replication, MMBIR)
- tento typ komplexních přestaveb je spojován s výskytem častějších **duplikací, triplikací, inverzí.....vyskytuje se u vrozených VV, PMR.....**



Chromothripsis vs. chromoanasythesis – rozdíl

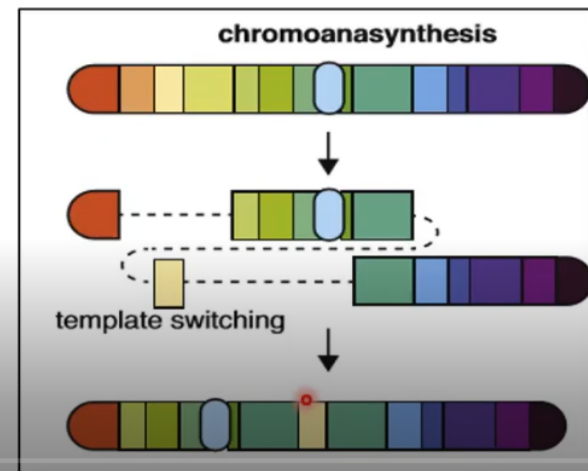
Chromothripsis

- Preferred repairing mechanism = NHEJ
- Balanced rearrangement or losses



Chromoanasythesis

- Preferred repairing mechanism = MMBIR/FoSTeS
- Duplications / Triplications (...) possible



Ukázka chromoanasyntesis s opakovanými amplifikacemi na chromozomech 22 a 18 u tří pacientů s PMR a VVV

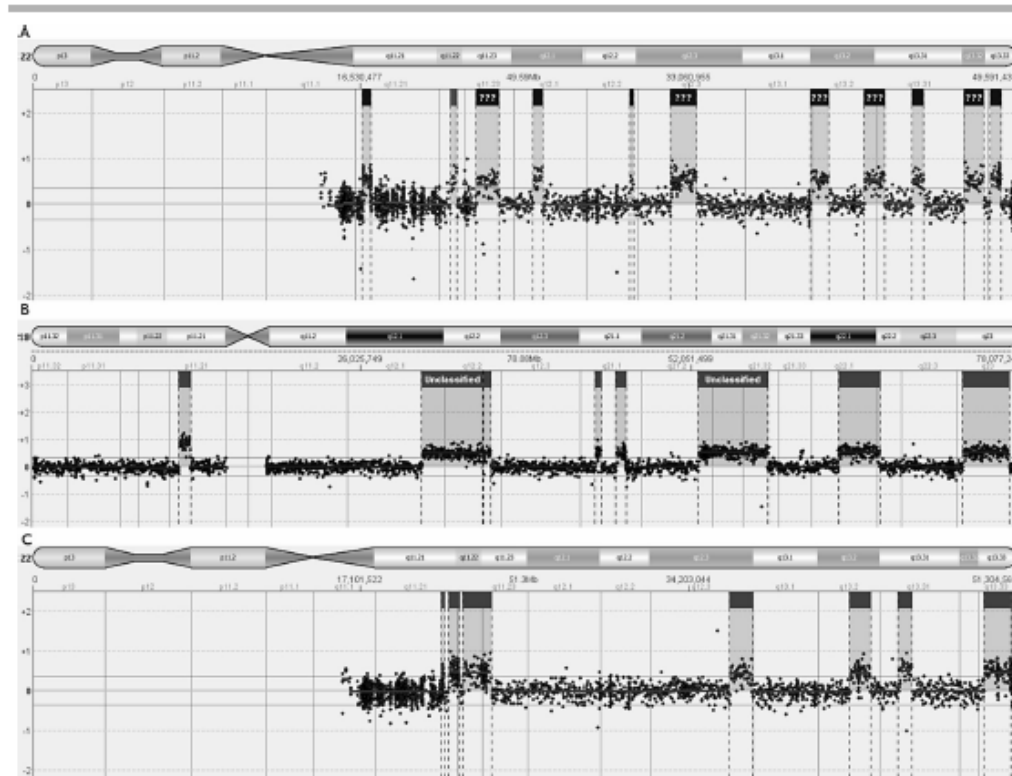


Figure 1. 180K array CGH copy number plots for (A) chr22 in patient 1, (B) chr18 in patient 2, and (C) chr22 in patient 3. Above each plot, an ideogram is shown of the involved chromosome. Copy number plots show the log₂ of the fluorescence intensity ratio on the y-axis and genomic position on the x-axis (patient 1: hg18, patient 2,3: hg19). Each dot represents a probe on the microarray. Amplifications are visualized as shaded regions.

Chromoanasythesis při gametogenezi

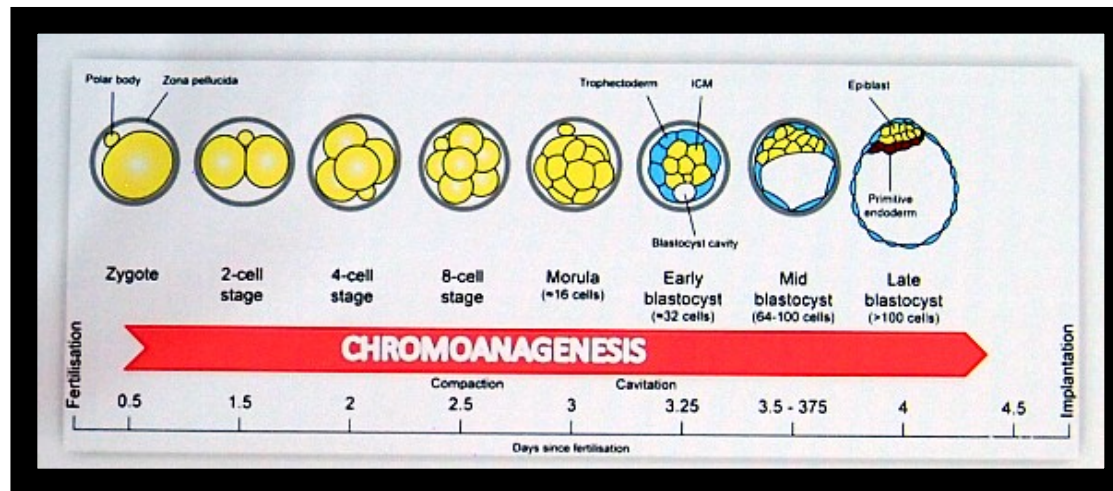
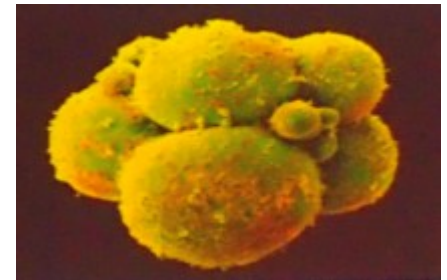
- **konstituční chromothripsis** může vznikat ve spermiích, vajíčkách, raných embryích....
- častěji postižen původem **otcovský chromozom** (spermatogeneze citlivější k poškození DNA ...vysoký počet dělení, omezená reparační kapacita)
- vznik komplexních přestaveb, delece, duplikace, inverze, translokace...ale méně změn...
- pouze chromothripsis vedoucí k **balancovaným aberacím je životaschopná !**
- důsledkem jsou pacienti s **dysmorfickými rysy, vývojovými vadami, PMR...**

Chromoanagenesis v preimplantačních embryích

Lidská preimplantační embrya vykazují vysoký stupeň chromozomové instability:

- aneuploidie, chaotický karyotyp - 60%
- mozaicismus - 20-50 %
- **často chromoanagenesis !**

Příčiny: rychlé dělení, mitotické chyby, replikační stres, tvorba mikrojader.....



Chromothripsis u vrozených chorob - příklad

Loeys–Dietz syndrome type 4, caused by chromothripsis,
involving the *TGFB2* gene



Paolo Fontana ^{a,*}, Rita Genesisio ^a, Alberto Casertano ^b, Gerarda Cappuccio ^b, Angela Mormile ^a, Lucio Nitsch ^a,
Achille Iolascon ^a, Generoso Andria ^b, Daniela Melis ^b

^a Department of Molecular Medicine and Medical Biotechnology, Federico II University, Naples, Italy

^b Department of Translational Medical Sciences, Division of Pediatrics, Federico II University, Naples, Italy

Loeys-Dietzův syndrom - je autozomálně dominantní genetické onemocnění, které se podobá **Marfanovu syndromu**.

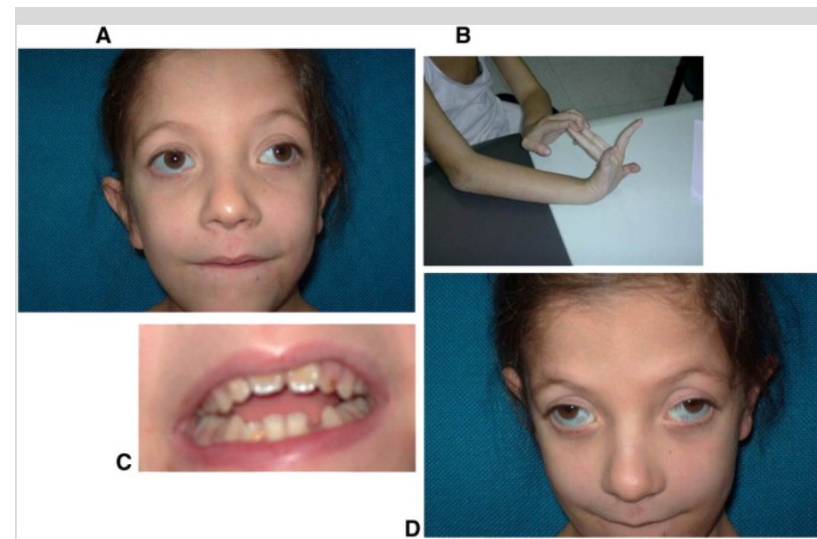
Toto onemocnění je způsobeno mutací v genech kódující **TGF- β signální dráhu**. Tato dráha reguluje buněčnou proliferaci, diferenciaci a reguluje několik funkcí **pojivové tkáně**. Narušení genů kódujících TGF- β signální dráhu nebo jejích složek je příčinou několika lidských patologií, jako jsou **aneurisma aorty, skolióza, arachnodaktylie, hrudní deformace, hyperflexibilitu kloubů a mentální postižení**.

Loeys–Dietzův syndrom a chromothripsis

Kazuistika - 18 letá ženy nízkého vzrůstu, která měla nízké IQ (70), vývojové vady, srdeční anomálie, skoliózu, morfologické anomálie kostí, hyperflexibilitu kloubů a mnoho dalšího, které odpovídají mutaci v genech pro TGF- β signální dráhu - *Fontana, et al. (2014)*

- Genetická analýza pomocí aCGH prokázala **6 zlomových míst** (čtyři na chromozomu 1, jedno na chromozomu 9 a jedno na chromozomu 21) a čtyři **de novo delece zahrnující 20 genů**
- Array-CGH identified the interstitial **deletion of four regions**: 1q41, that was approximately 5.23 Mb in size; 1q43 (1.33 Mb); 9p24.3 (158.71 kb); and 21q22.12 (826 kb).
- Deletované OMIM geny - SMYD2, PTPN14, CENPF, KCNK2, KCTD3, USH2A, ESRRG, SPATA17, RRP15, **TGFB2 (1q41)**; CHRM3 (1q43); KANK1 (9p24.3); RCAN1, CLIC6, RUNX1 (21q22.12).
- Tyto aberace se shodují s kritérii pro **chromotripsis**, konkrétně v bodech:
Na jednom chromozomu, rameni chromozomu nebo v jedné oblasti chromozomu se vyskytuje více komplexních přestaveb. Může se také objevit i více přeskupení mezi dvěma a více chromozomy.

Fenotyp pacientky s Loeys–Dietzovým syndromem



Na obrázku lze vidět morfologické anomálie kostí a extrémní prohnutí kolenou (*Fontana, et al., 2014*)

Constitutional chromoanasythesis: description of a rare chromosomal event in a patient

Julie Plaisancié^{a,*}, Pascale Kleinfinger^b, Claude Cancès^c, Anne Bazin^b, Sophie Julia^a, Detlef Trost^b, Laurence Lohmann^b, Adeline Vigouroux^d

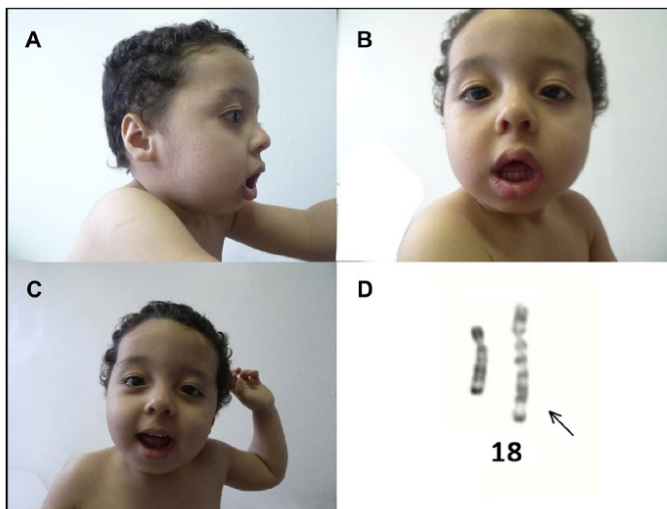


Fig. 1. A, B, C: Photographs of the proband at the age of 30 months. Note the round hypotonic face, the telecanthus with the downslanted palpebral fissures and the low and posteriorly rotated ears, and D: RFG-banding showing complex rearrangement of one of the copies of chromosome 18 of the patient (the derivative chromosome is marked by an arrow).

Pacient s faciální dysmorfii – abnormální chromozom 18

- 7 duplikovaných segmentů na 18q
- 1 triplikace 18p
- 20 Mb navíc

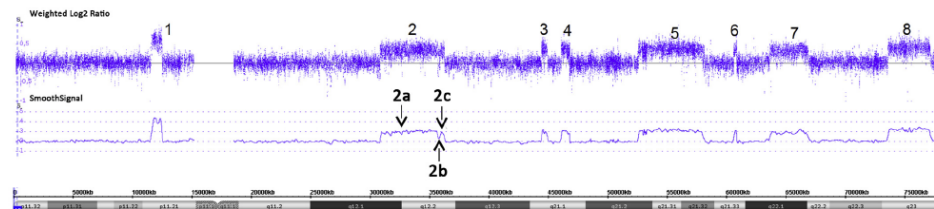


Fig. 2. Results of the SNP-array (40 Kb) showing the duplications and triplication observed in the patient. It consisted of seven duplicated segments of the long arm of chromosome 18 and one triplicated segment of the short arm. The size of these regions ranged from 200 Kb to 5 Mb, representing around 20 Mb of surplus chromosomal material.

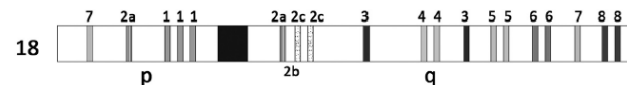
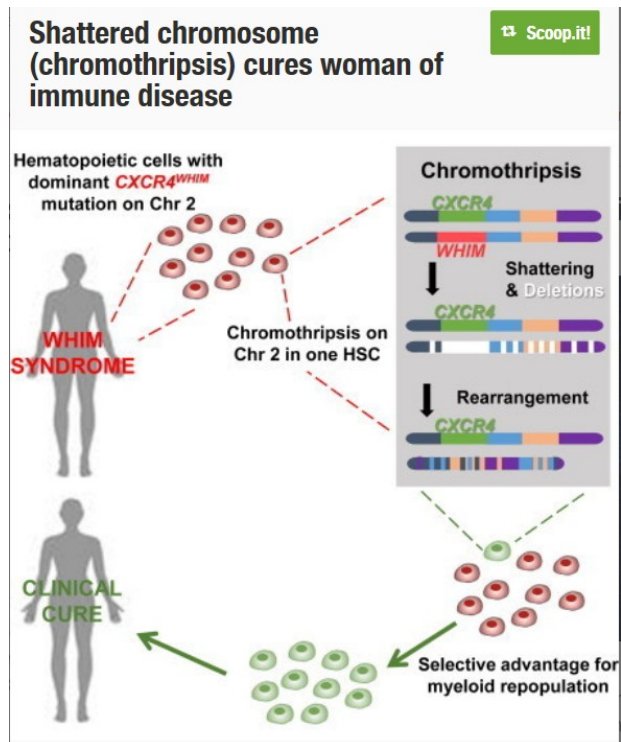


Fig. 3. Schematic representation of the complex chromosomal rearrangement identified in our patient. Duplications and triplication observed by SNP-array were localized by FISH analysis using BAC probes.

Může být chromothripsis užitečná?

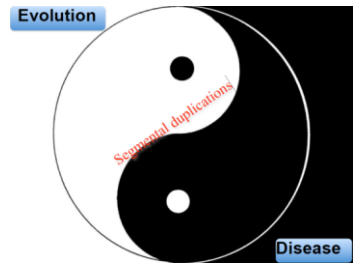
• WHIM syndrom

- WHIM - warts, hypogammaglobulinemia, infections and myelokathexis syndrome
- **vzácný syndrom vrozené imunodeficience** – opakované bakteriální a virové infekce
- **příčina – mutace genu *CXCR4* (2q22.1) ...autozomově dominantní**



- 59 letá pacientka, 2 postižené dcery s mutací *CXCR4*
- sama 20 let bez potíží
- cytogenetické vyšetření – nález o 15 % kratší chromozom 2
- NGS – **chybí mutovaná alela *CXCR4* a dalších 163 genů**
- **delece genu po reparaci - chromothripsis léčí?**

Závěr



- SV představuje hlavní zdroj polymorfismu a genetické variability mezi jedinci, má velký význam z hlediska diversity a evoluce lidského genomu

Patogenní CNVs mohou způsobovat závažná genomová onemocnění

jak s mendelovským způsobem dědičnosti tak mohou ovlivňovat komplexní znaky i nádory

nová kategorie genetických chorob?

- monogenní onemocnění
- chromozomové syndromy (např. +21)
- **„genomic disorders“?**



12th ECA conference - The Trisomy Legacy - O. Zuffardi