

Применение технологии мономолекулярного секвенирования для ДНК-диагностики гипертрофической кардиомиопатии

Салахов Р.Р.¹, Голубенко М.В.¹, Павлюкова Е.Н.², Марков А.В.¹,
Бабушкина Н.П.¹, Канев А.Ф.², Валиахметов Н.Р.¹, Назаренко М.С.¹

1 — Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН
6304050, г. Томск, ул. Набережная Ушайки, 10

2 — Научно-исследовательский институт кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН
634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

В работе представлены результаты секвенирования пяти генов, ассоциированных с гипертрофической кардиомиопатией, с использованием технологии мономолекулярного секвенирования компании Oxford Nanopore Technologies. В результате анализа данных с помощью различных алгоритмов были выявлены миссенс-варианты в исследованных генах, которые могут являться причиной заболевания у пациентов.

Ключевые слова: гипертрофическая кардиомиопатия, мономолекулярное секвенирование, ДНК.

Для цитирования: Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Павлюкова Е.Н., Марков А.В., Бабушкина Н.П., Канев А.Ф., Валиахметов Н.Р., Назаренко М.С. Применение технологии мономолекулярного секвенирования для ДНК-диагностики гипертрофической кардиомиопатии. *Медицинская генетика* 2020; 19(5): 9-10.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.9-10

Автор для корреспонденции: Салахов Рамиль Ринатович, **e-mail:** ramil.salakhov@medgenetics.ru.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации МК-1093.2020.7.

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Application of monomolecular sequencing technology to the diagnostics of hypertrophic cardiomyopathy

Salakhov R.R.¹, Golubenko M.V.¹, Pavlukova E.N.², Markov A.V.¹,
Babushkina N.P.¹, Kanev A. F.², Valiahmetov N.R.¹, Nazarenko M.C.¹

1 — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences
Naberezhnaya Ushaiki 10, Tomsk, 6304050, Russia

2 — Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences
Kievskaya str. 111a, Tomsk, 634012, Russia

The paper presents the results of sequencing of five genes associated with hypertrophic cardiomyopathy, using monomolecular sequencing (Oxford Nanopore Technologies). As a result of data analysis with various algorithms, missense variants were identified in the studied genes that may be the cause of the disease in the patients.

Keywords: Hypertrophic cardiomyopathy, monomolecular sequencing, DNA.

For citation: Salakhov R.R., Golubenko M.V., Pavlukova E.N., Markov A.V., Babushkina N.P., Kanev A.F., Valiahmetov N.R., Nazarenko M.C. Application of monomolecular sequencing technology to the diagnostics of hypertrophic cardiomyopathy. *Medical genetics*. 2020; 19(5): 9-10. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.05.9-10

Corresponding author: Ramil R. Salakhov, **e-mail:** ramil.salakhov@medgenetics.ru.

Funding. The study was supported by a grant from the President of the Russian Federation MK-1093.2020.7.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

В основе гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП) лежат, главным образом, мутации в генах белков, образующих саркомер. Чаще всего мутации выявляются в генах *MYH7*, *MYBPC3*,

TNNT2, *TPM1* [1]. Для ГКМП характерно отсутствие мажорных мутаций. Высокопроизводительное секвенирование позволяет усовершенствовать ДНК-диагностику таких заболеваний. Методы секвениро-

вания «третьего поколения» (секвенирования отдельных молекул ДНК) появились относительно недавно, и оценка их применимости для ДНК-диагностики является актуальной.

Цель исследования: поиск патогенных вариантов генов, ассоциированных с кардиомиопатией, с использованием технологии мономолекулярного секвенирования «третьего поколения».

Материалы и методы

В исследование включены 12 пациентов, обследованных в НИИ кардиологии Томского НИМЦ, с клиническим диагнозом ГКМП: 9 женщин и 3 мужчины. Средний возраст в выборке составил 53 года. Для поиска генетических вариантов была разработана панель ПЦР-продуктов для определения полной последовательности 4 основных генов ГКМП. Секвенирование выполнено на ячейке MinIon v9.4.1 (Oxford Nanopore Technologies). Преобразование профиля сигналов тока в нуклеотидную последовательность и демультиплексирование проводили с помощью программного обеспечения «Girru v.3.2.2». После выравнивания на референсную последовательность поиск вариантов проводили с применением двух различных алгоритмов: «Nanopolish» [2] и «Clairvoyante» [3].

Результаты и выводы

Всего выявлено 9 кандидатных вариантов, относящихся к миссенс- или нонсенс-мутациям, частота которых в популяциях (по данным проекта ExAC) не превышала 0,01%. Из них 8 вариантов обнаружены при применении первого алгоритма, а 5 — второго; 4 варианта были идентифицированы обоими алгоритмами. После верификации методом секвенирования по Сэнгеру подтверждены лишь 4 варианта, обнаруженные обоими алгоритмами: три в гене *MYH7* и один в гене *MYBPC3*. Для этих вариантов была проведена оцен-

ка патогенности с помощью критериев, представленных в рекомендациях по интерпретации данных высокопроизводительного секвенирования [4]. По итогам оценки три варианта в гене *MYH7* отнесены к вероятно патогенным, а вариант в гене *MYBPC3* — к классу вариантов с неизвестным клиническим значением. Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что применение технологии мономолекулярного секвенирования может представлять интерес для развития методов ДНК-диагностики наследственных заболеваний.

Литература

1. Elliott P., Andersson B., Arbustini E. et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2008; (2): 270–276.
2. Loman N.J., Quick J., Simpson J.T. A complete bacterial genome assembled de novo using only nanopore sequencing data. *Nature methods* 2015; (8): 733–735.
3. Luo R., Sedlazeck F.J., Lam T.W., Schatz M.C. A multi-task convolutional deep neural network for variant calling in single molecule sequencing. *Nat Commun* 2019; (1): 998.
4. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б. и др. Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS). *Медицинская генетика* 2019; (2): 3–23.

References

1. Elliott P., Andersson B., Arbustini E. et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2008; (2): 270–276.
2. Loman N.J., Quick J., Simpson J.T. A complete bacterial genome assembled de novo using only nanopore sequencing data. *Nature methods* 2015; (8): 733–735.
3. Luo R., Sedlazeck F.J., Lam T.W., Schatz M.C. A multi-task convolutional deep neural network for variant calling in single molecule sequencing. *Nat Commun* 2019; (1): 998.
4. Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prohorchuk E.B. et al. Rukovodstvo po interpretacii dannyh, poluchennyh metodami massovogo parallel'nogo sekvenirovaniya (MPS). [Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants]. *Medicinskaya genetika [Medical Genetics]* 2019; (2): 3–23. (In Russ.)