

<https://medicinaprecisionandalucia.iavante.es> | #PANMEP

# PANMEP

## PROGRAMA ANDALUZ DE FORMACIÓN EN MEDICINA PERSONALIZADA Y DE PRECISIÓN

EXPERTO UNIVERSITARIO EN MEDICINA PERSONALIZADA Y DE PRECISIÓN

# BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA MOLECULAR EN ENFERMEDADES RARAS

FORMACIÓN  
**IAVANTE**  
Fundación  
Progreso y Salud

COLABORA

**Johnson & Johnson**

ORGANIZAN

**un**  
i Universidad  
Internacional  
de Andalucía  
**A**



**Junta de Andalucía**  
Consejería de Salud y Consumo

# Módulo 1

## Diagnóstico genético de las Enfermedades Raras.

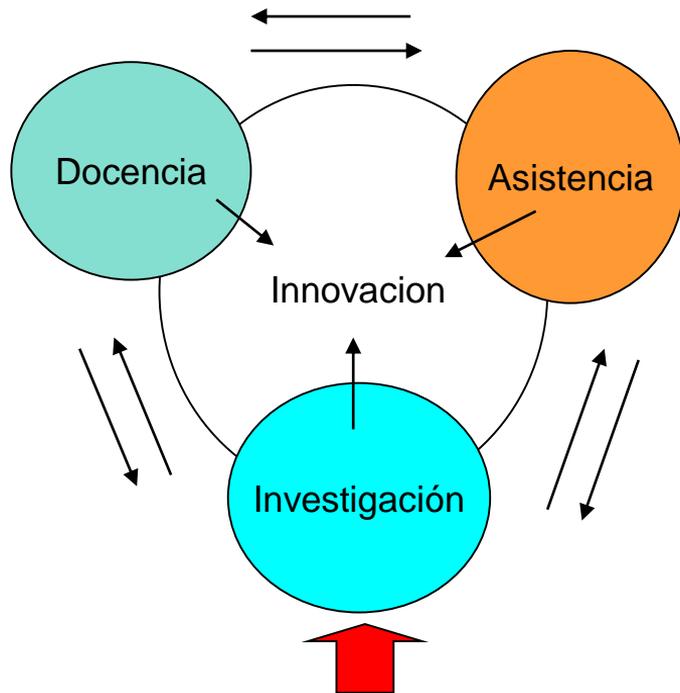
### OBJETIVOS GENERALES:

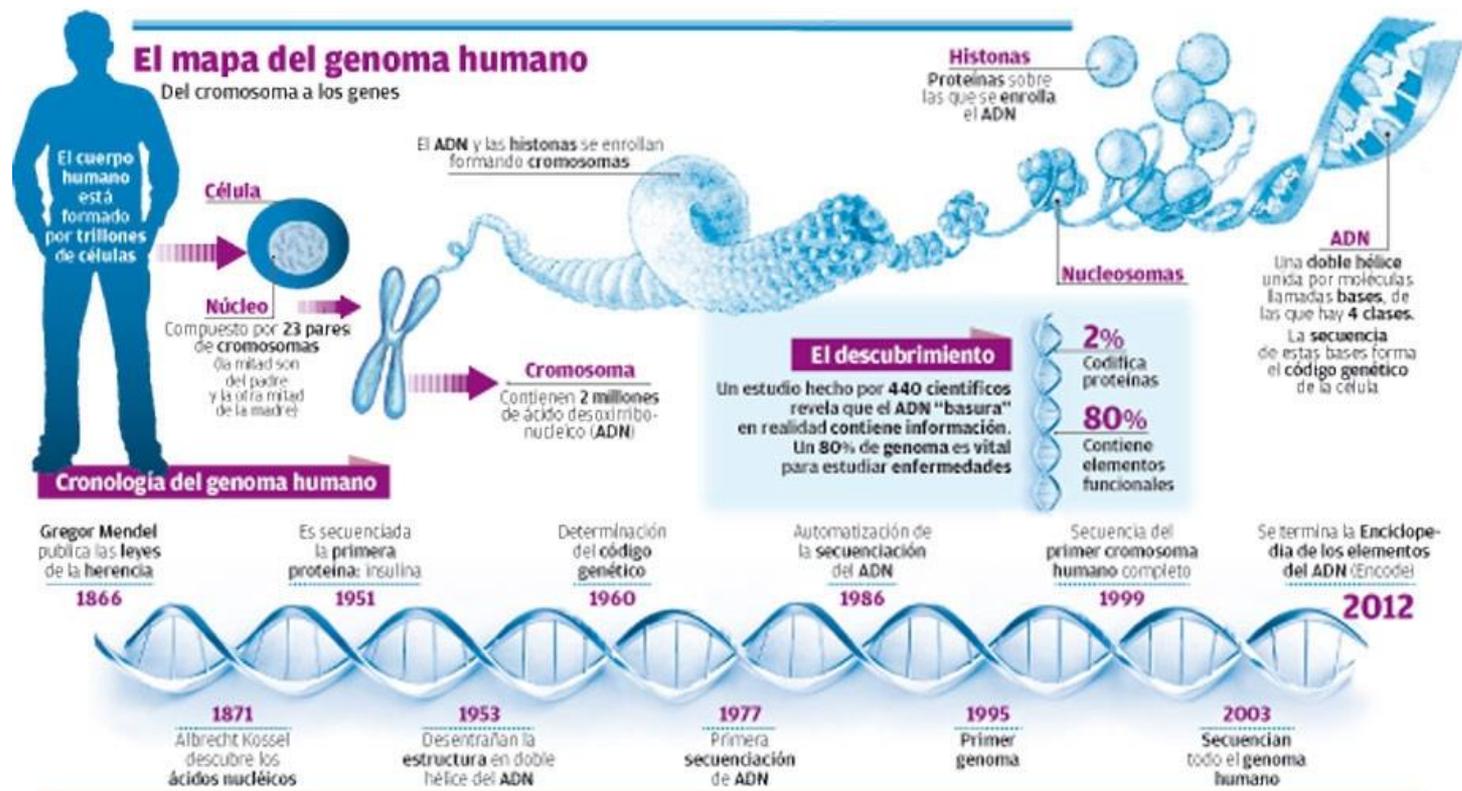
- Actualizar los conocimientos en el manejo de las enfermedades raras.
- Conocer el diagnóstico genético de las EERR.
- Conocer el proceso de la sospecha clínica al diagnóstico y tratamiento de las EERR.
- Conocer los principios básicos de la terapia génica y terapia celular en EERR.



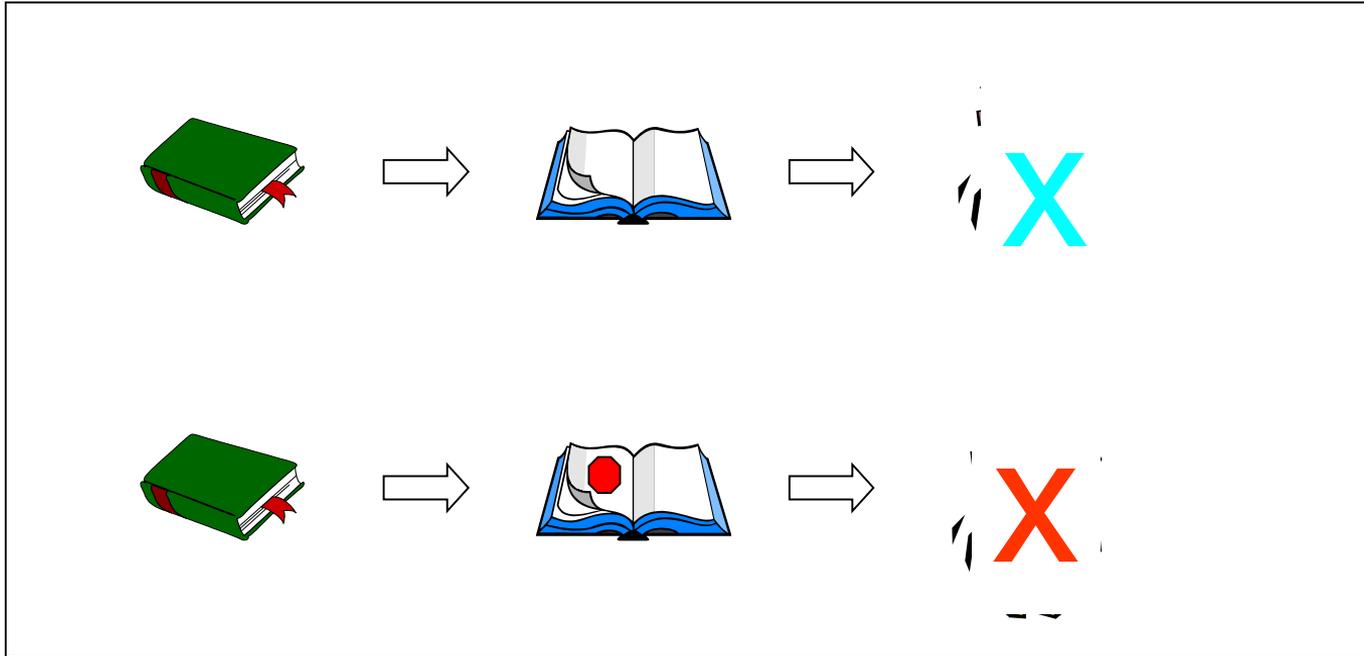
## SERGEN HRyC

Equipo multidisciplinar trabajando por y para el paciente





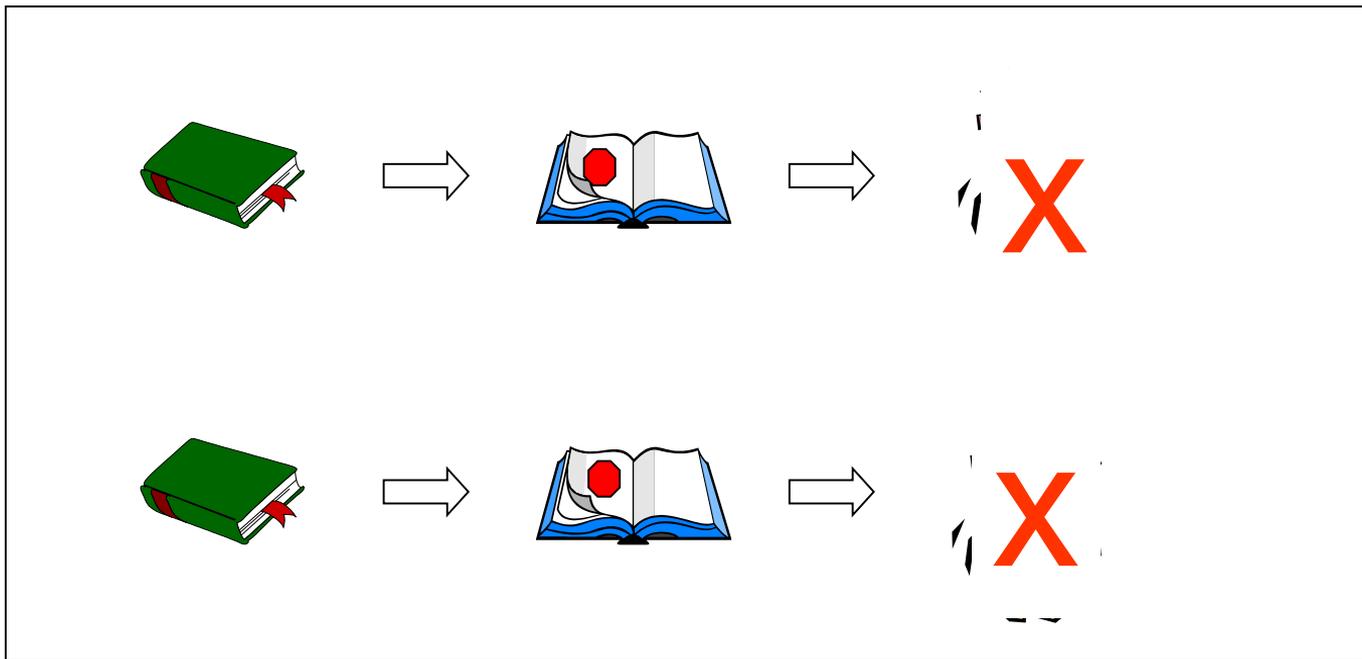
# LAS MUTACIONES SON ERRORES EN LAS PÁGINAS DEL MANUAL



Una sola copia defectuosa: Herencia dominante



# LAS MUTACIONES SON ERRORES EN LAS PÁGINAS DEL MANUAL

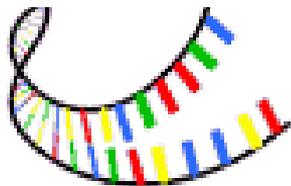


Dos copias defectuosas: Herencia recesiva



# CAMBIOS DE UNA SOLA BASE

## SNP

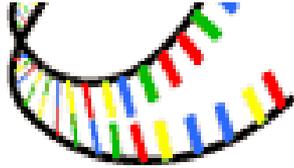


## Mutación



# CAMBIOS EN MAS DE UNA BASE

## Mutación



A C T C A G T T G A

población  
General

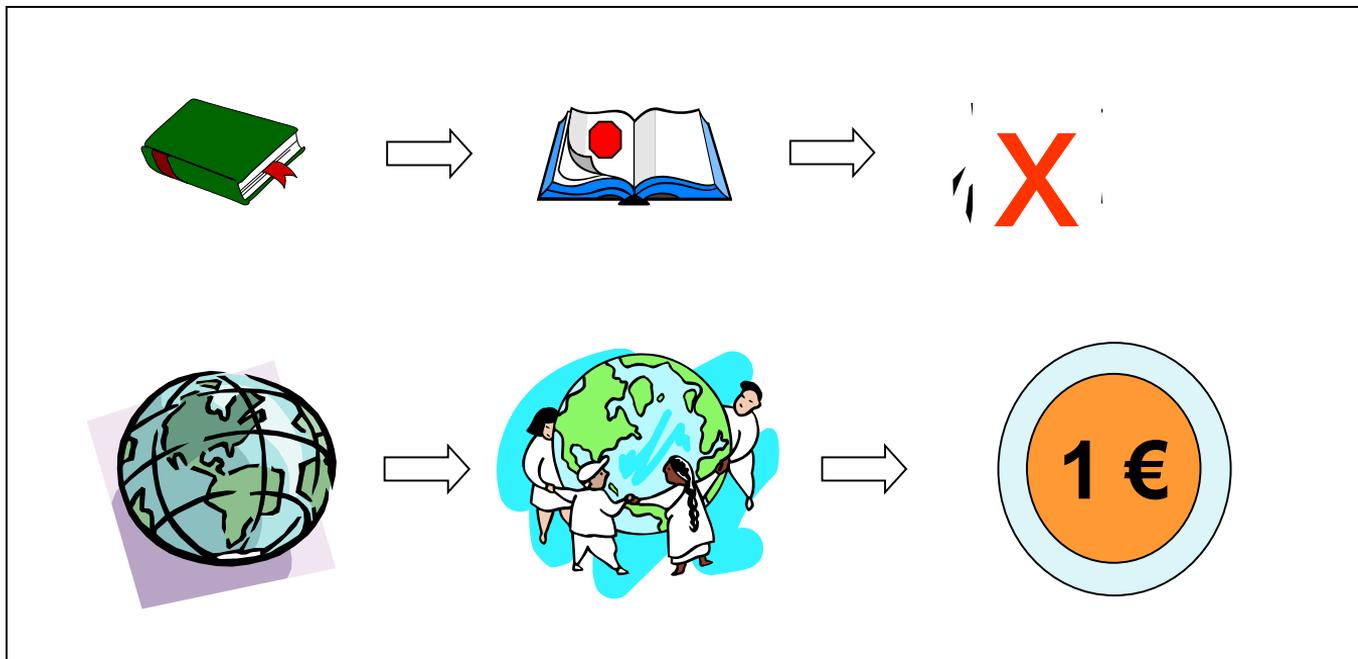
A C T C A G T T G C

Mutación

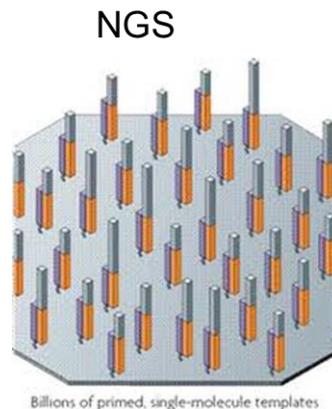
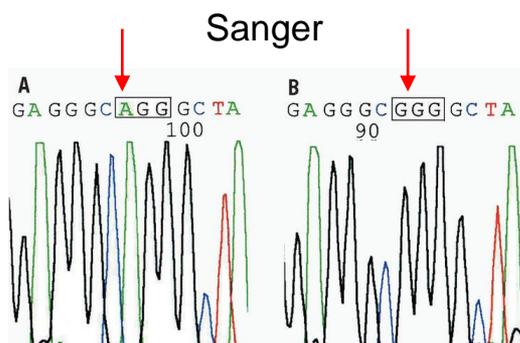


# A QUE RETO NOS ENFRENTAMOS

---



# Sanger vs NGS sequencing



Solo analizamos un fragmento de un gen

Secuencia A: sano  
Secuencia B: paciente

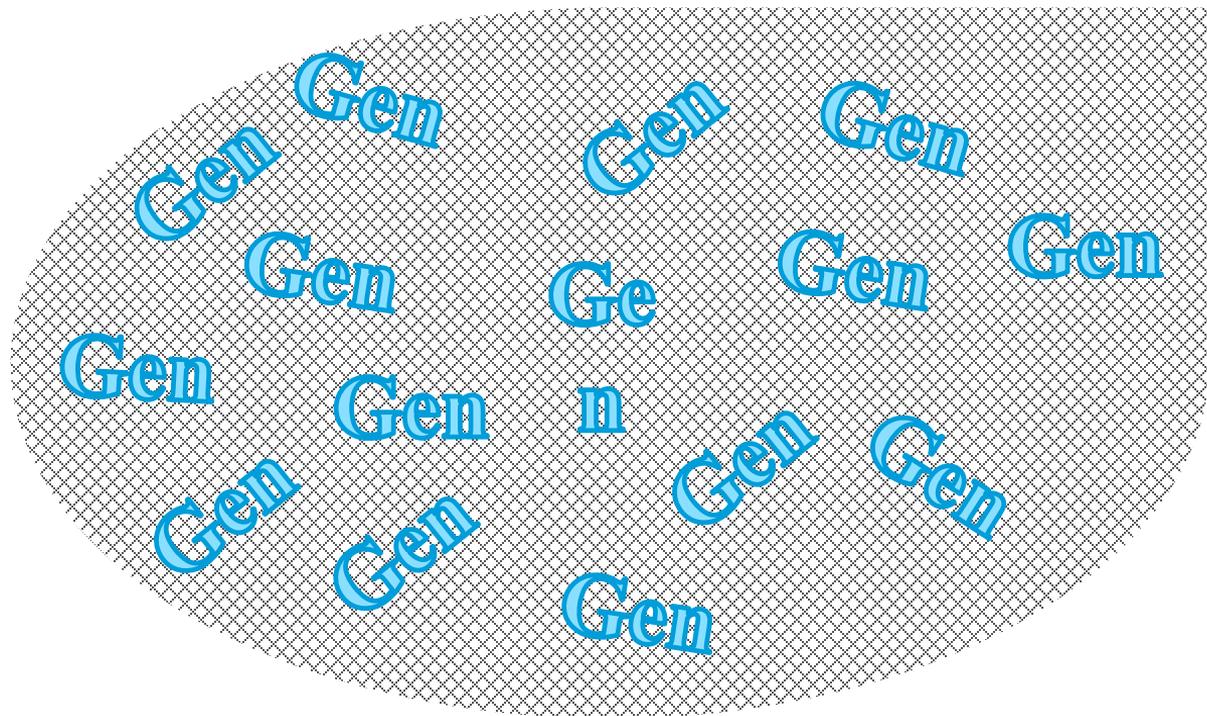
Mutación: A>G

-Analizamos miles de genes en paralelo

-Obtenemos cientos de mutaciones en un individuo por comparación con un genoma de referencia

-Debemos filtrar y priorizar aquellas que sean "Patogénicas"





# Enfermedades raras

- Una enfermedad se considera rara cuando el número de personas afectadas es inferior a 5:10000 (1/2000).
- Hay mas de 6000 enfermedades raras.
- **El 80% con una base genética.**
- El 75% de las enfermedades raras afectan a los niños.
- 30% de los pacientes de enfermedades raras mueren antes de los 5 años.
- **En Europa hay mas de 30 millones de personas afectadas de una enfermedad rara**
- **En España hay más de 3 millones de personas afectadas.**



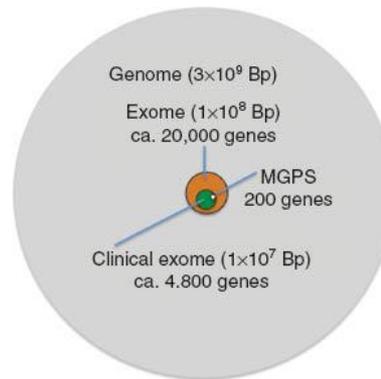
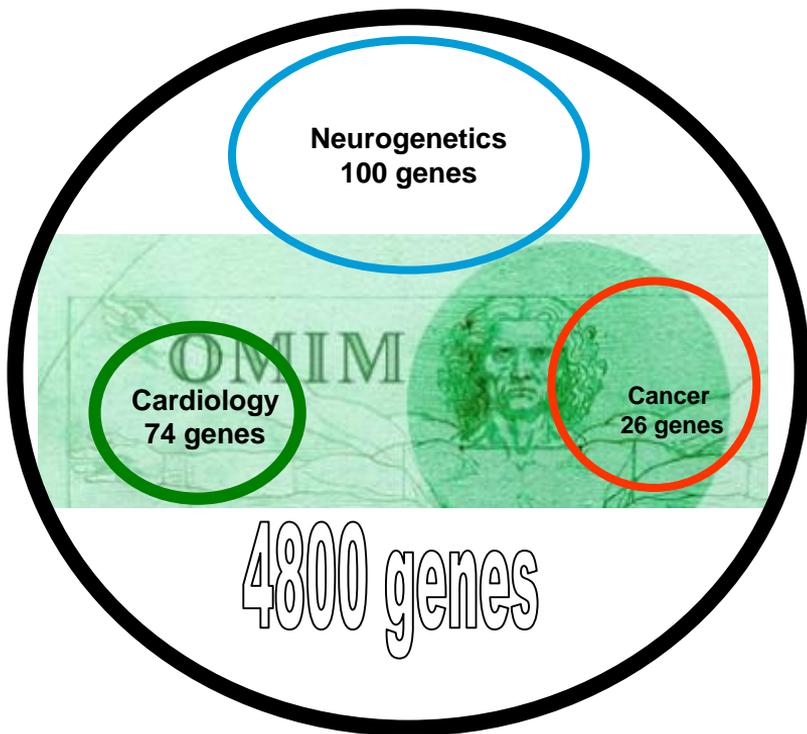
## Resecuenciación: genoma, exoma y panel de genes

**IMPORTANTE:** es *resecuenciación* porque hay un **genoma de referencia**

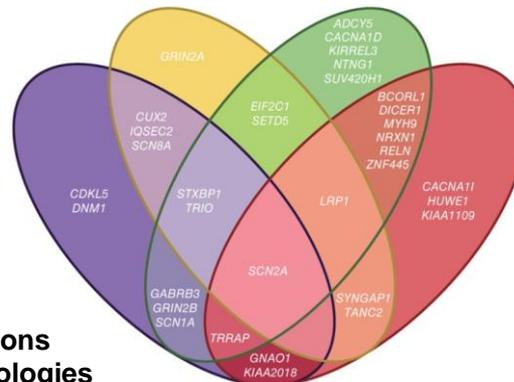
- **Genoma:**
  - Ventaja: no requiere **enriquecimiento** (“seleccionar los blancos”)
  - Desventajas: baja profundidad (10-12x), alto coste
- **Exoma:** sólo las regiones codificantes (con o sin UTRs)
  - Ventaja: mayor profundidad (~50x) que el genoma a menor coste
  - Desventajas: requiere **enriquecimiento**, profundidad intermedia, problemas de cobertura
- **Panel:** sólo algunas regiones de interés
  - Ventaja: máxima profundidad (>250x), menor coste
  - Desventajas: requiere **enriquecimiento**, puede haber problemas de cobertura



# Clinical Exome



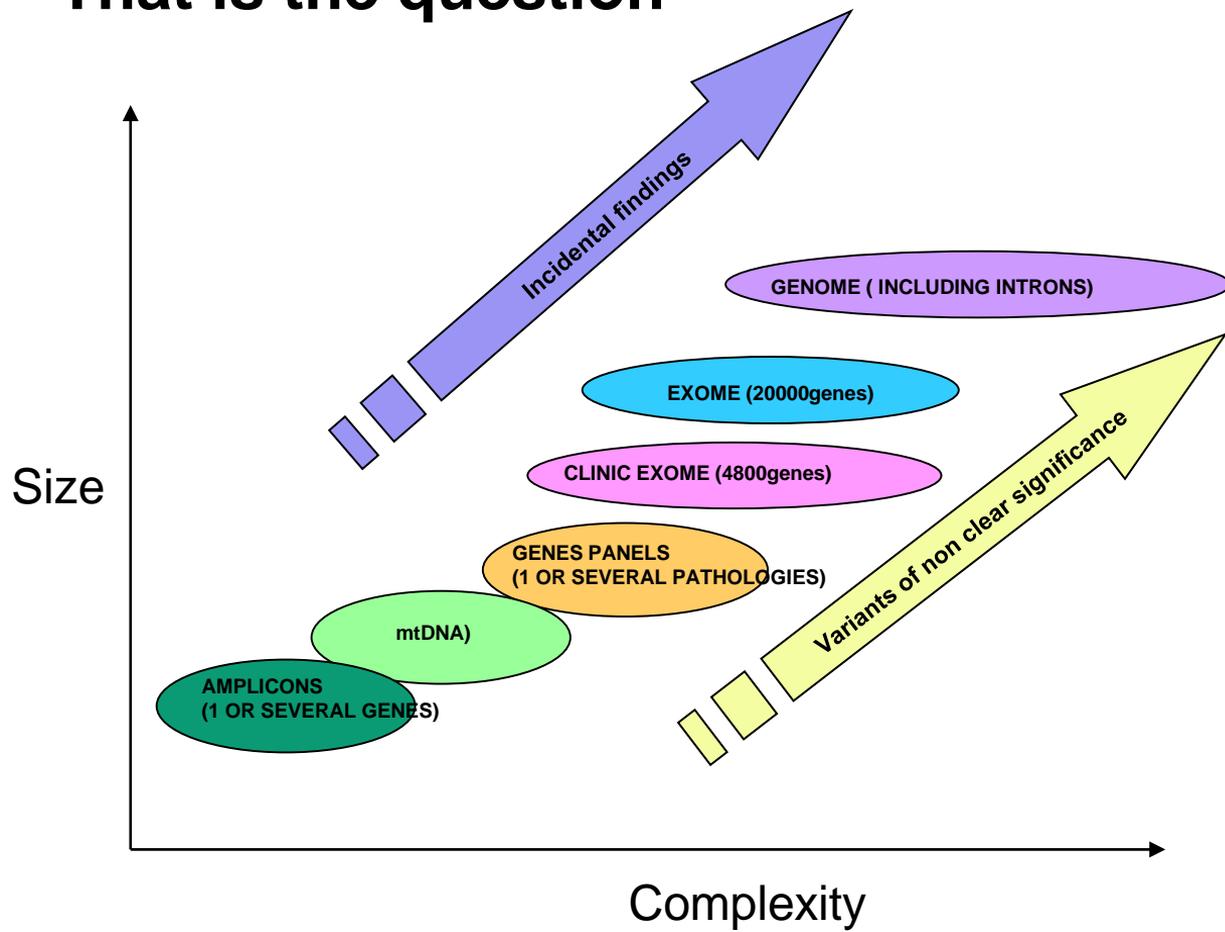
■ Epileptic encephalopathies ■ Severe intellectual disability ■ Autism spectrum disorders ■ Schizophrenia disorders



Pathologies sharing symptoms  
Genes involved in several pathologies

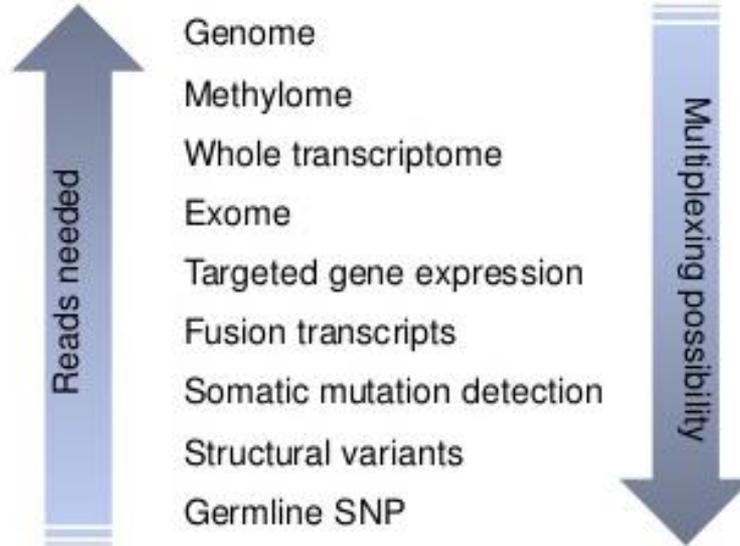


# What approach do you choose ? That is the question



Read Budget is platform specific and determines multiplexing capacity

Read budget requirements differ for different applications



# Caso problema 1

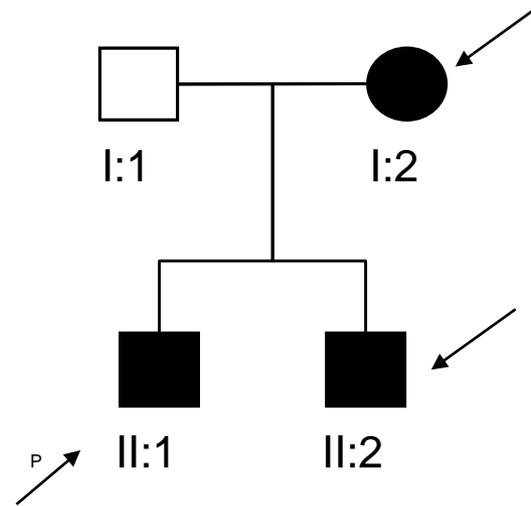
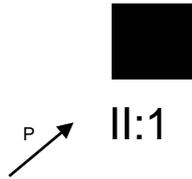


# La importancia del árbol genealógico *versus* un individuo aislado

? AR

? AD de novo

? Ambiental



## Clinical features of the family

Paciente	Fístulas Branquiales	Fositas Preauriculares	Hipoacusia	Anomalías Renales	Anomalías Oculares	Anomalías del Oído	Otros
I:2	-	-	-	-	R	-	-
II:1	+	+	H.M	A	M, R, V	C	P, Ce
II:2	-	-	H.C	-	M, R, V	T	P, L

H.C= hipoacusia conductiva  
H.M= hipoacusia mixta  
A= agenesia renal  
C= malformaciones cocleares  
T= malformaciones del tubo o conducto auditivo  
P= Fisura del paladar, L= labio leporino  
R= desprendimiento de retina  
M= miopía  
V= anomalía vítrea congénita  
Ce= ceguera  
- = ausencia del fenotipo  
+= presencia del fenotipo



## BOR syndrome

---

- Hipoacusia
- Positas (orificios) preauriculares
- Anomalías renales
- Fístulas branquiales
- Anomalías del pabellón auricular
  
- Lesión preauricular
- Stenosis del conducto lagrimal
- Paladar corto
- Retrognatia: Mandíbula posterior o retrasada
- Tumor benigno intracraneal
- Fisura del Paladar
- Displasia congénita de las caderas
- Bocio tiroideo
- Parálisis de los nervios faciales
- Excesiva secreción lagrimal
- Quistes en el páncreas
- Otros

## STICKLER syndrome

---

- Anomalía de la audición/sordera
- Cataratas
- Miopía
- Hiperlaxitud ligamentaria
- Desprendimiento de retina
  
- Astigmatismo
- Fisura palatina
- Hidartrosis/artrosis
- Nariz plana
- Retraso mental moderado / ligero
- Ceguera
- Paladar corto
- Retrognatia/micrognatia
- Epífisis anomalía
- Cara plana



# GENOTYPING

---

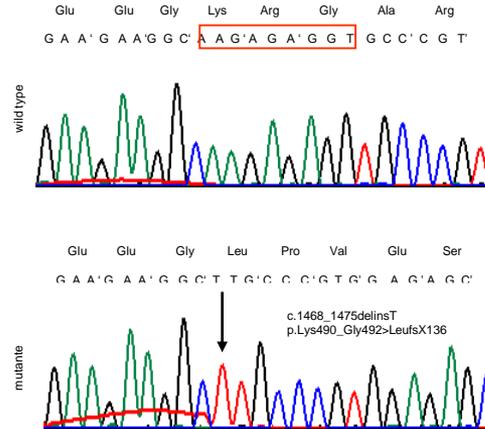
Síndrome STICKLER

COL2A1 12q13.1  
COL11A1 1p21  
COL11A2 6p21.3  
COL9A1 6q12-q13



# Sequencing analysis

## COL2A1

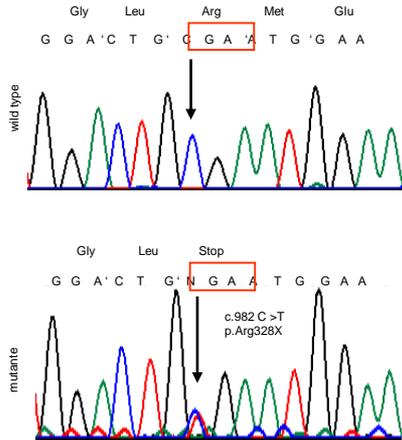


**p.Lys490\_Gly492>LeufsX136**  
**I:2; II:1; II:2**

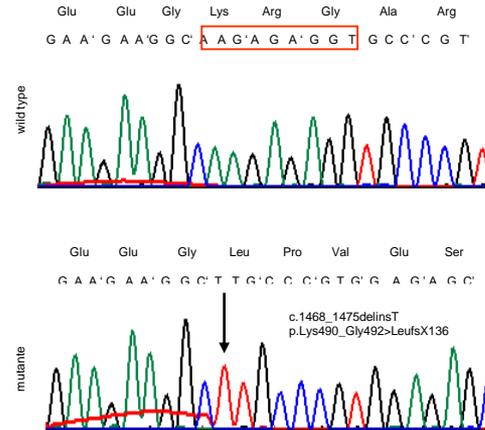


# Sequencing analysis

## EYA1



## COL2A1

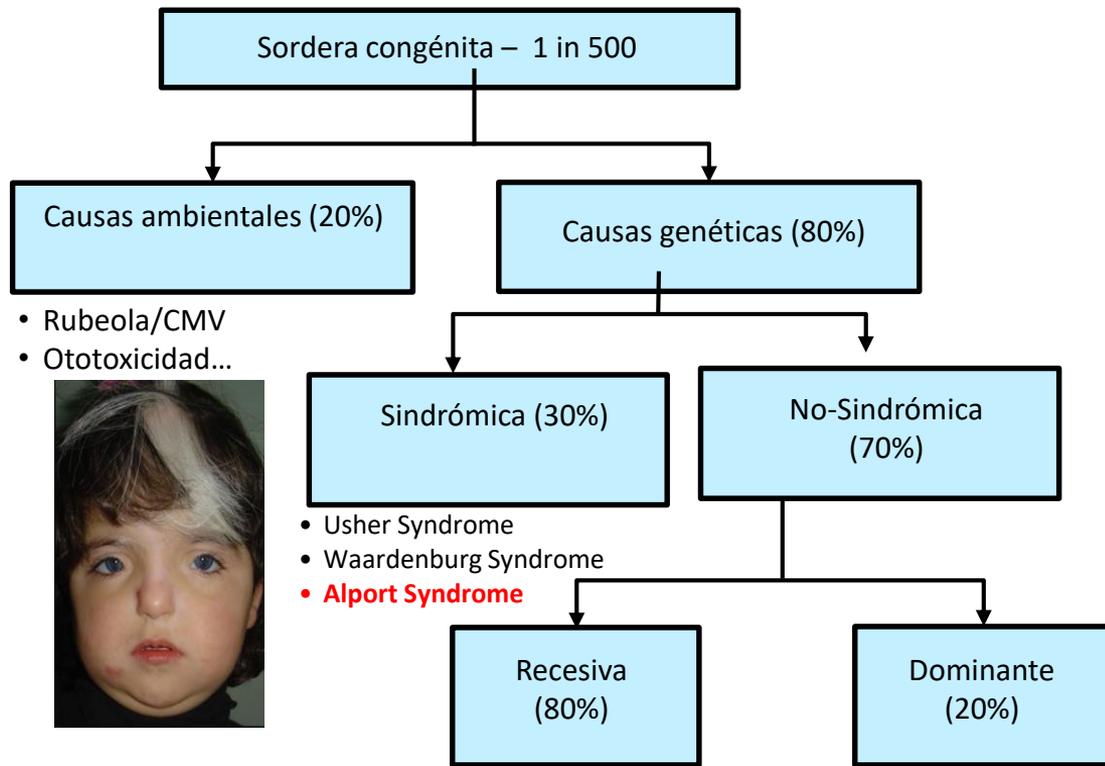


First case reported of BOR-STICKLER



# Caso problema 2



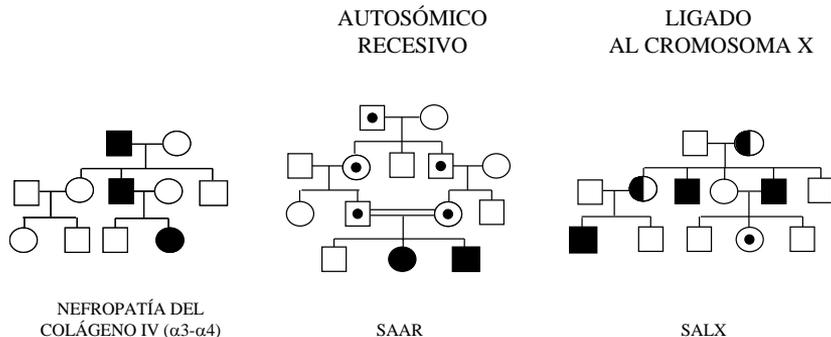


~ 130 genes  
>1500 mutaciones identificadas



# Síndrome de Alport

- Se estima que su prevalencia en la población general es de 1:50.000
- El síndrome de Alport está causado por mutaciones en los genes que codifican colágenos tipo IV.
- Según la herencia se pueden clasificar en
  - **SALX** (ligado al X)
    - El más frecuente: 80% al 85% de los casos
    - Causado por mutaciones en el gene *COL4A5*
  - **SAAR** (recesivo)
    - 15% de los casos
    - Causado por mutaciones en los gene *COL4A3* o *COL4A4*
  - **SAD** (formas dominantes)
    - Es la forma mas rara afecta aproximadamente al 5% de los casos
    - Causado por mutaciones en los genes *COL4A3*.



# Síndrome de Alport

- Manifestaciones clínicas
  - Renales: fallo renal
    - Hematuria: en el 100% de hombres y más del 90% de las mujeres afectadas tienen microhematuria en caso de SALX
    - Proteinuria, hipertensión e insuficiencia renal desarrollan con la edad todos los hombres con SALX y en todos los hombres y mujeres con SAAR
  - Auditivas
    - Sordera neurosensorial bilateral progresiva afectando a frecuencias altas
  - Oculares
    - Lentícono (parte central del cristalino con una protuberancia) Se produce en el 15% -20% de los casos y típicamente se hace evidente en la adolescencia tardía o en etapa adulta temprana.
    - motas perimaculares ocurren en aproximadamente el 30% de los individuos con síndrome de Alport.



# Síndrome de Alport

- **Diagnóstico / pruebas.**
  - Historia y examen físico, que puede incluir
    - audiológica
    - renal
    - Oftálmológica
  - Historia familiar detallada
    - análisis de orina en familiares de primer y segundo grado
  - El análisis inmunohistoquímico de la expresión basal de colágeno IV
    - usando piel
    - y/o muestras de biopsia renal
  - El examen de las muestras de biopsia renal mediante microscopía electrónica.
  - **Diagnostico genético**



# Síndrome de Alport

Table 1. Characteristics of *COL4A5*, *COL4A3* and *COL4A4* genes and the corresponding proteins.

	<i>COL4A5</i> <sup>1</sup>	<i>COL4A3</i> <sup>2</sup>	<i>COL4A4</i>
Gene name	NP_033380.2	NP_000091.4	NP_000092.4
Chromosomal location	Xq22	2q35-37	2q35-37
Family	* <i>COL4A1-like</i>	* <i>COL4A1-like</i>	* <i>COL4A2-like</i>
Number of exons	53	52	48
Size	257,623 bp	150,228 bp	159,344 bp
Total number of amino acids in mature protein	1665	1642	1652
Signal peptide	26	28	38
Amino terminus	15	14	23
Collagenous domain (residues)	1301	1268	1284
Number of non-collagenous interruptions	22	23	26
Carboxy terminus (residues)	229	232	231

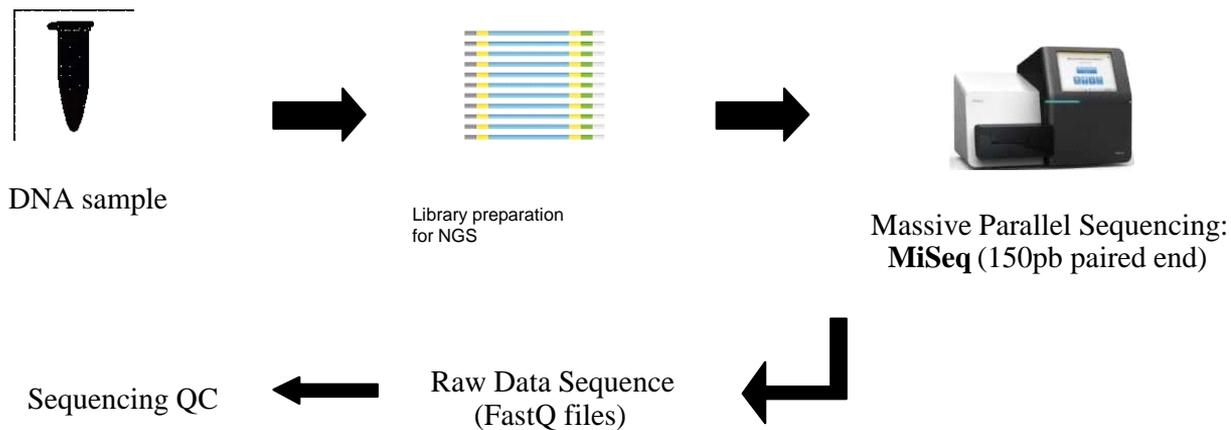
\**COL4A*-like or *COL4A2*-like genes represent families that have arisen from common progenitors, *COL4A1* or *COL4A2*, and thus have structural similarities

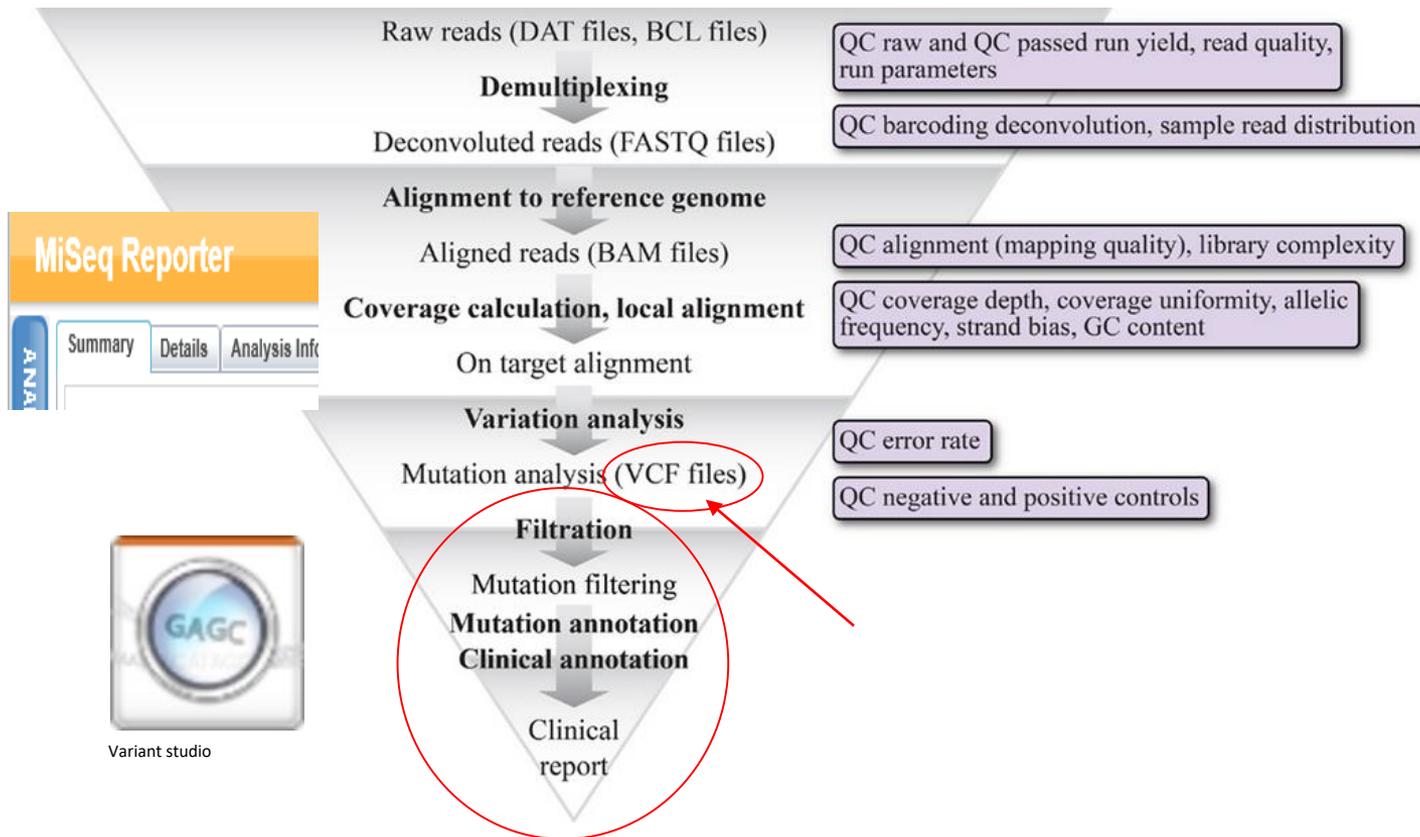
Table 2. Frequency of variants in *COL4A5*, *COL4A3* and *COL4A4* genes in LOVD databases.

	<i>COL4A5</i> LOVD	<i>COL4A3</i> LOVD	<i>COL4A4</i> LOVD
Total number of variants	1168 unique (1951 total)	266 unique (518 total)	268 unique (490 total)
Rearrangements or deletions, copy number variants	76 (7%)	0	3 (1%)
Duplications	13 (1%)	3 (1%)	4 (1%)
Insertions	55 (5%)	8 (3%)	8 (3%)
Deletions (1-26bp)	169 (14%)	31 (12%)	32 (12%)
Indels (with both insertions and deletions)	16 (1%)	3 (1%)	2 (1%)
Splicing variants	273 (152+ and 121-)* (23%)	25 (15+ and 10-)* (9%)	52 (25+ and 27-)* (19%)
Nonsense codons (direct)	73 (6%)	13 (5%)	13 (5%)
Total potential nonsense mutations (direct and downstream)	329 + 73 = 402 (34%)	45 + 13 = 47 (18%)	13 + 49 = 62 (23%)
Missense substitutions	504 (43%)	136 (51%)	107 (40%)
• Gly	391 (33%)	66 (25%)	46 (17%)
• Non-Gly	113 (10%)	70 (26%)	61 (23%)
Non-pathogenic changes	24	78	65
• Synonymous	11	44	28
• Non-Gly missense	7	28	14



# DIAGNOSTICO BASADO EN NGS: EXOMA CLINICO





**DATOS DE  
SECUENCIACIÓN  
EXOMA CLINICO**



**Sample Information**

Sample ID:	2
Sample Name:	C36
Runfolder:	D:\Illumina\MISeqAnalysis\170505_M03698_0090_00000000-AWT4M
Total PF Reads:	28,198,724
Percent Q30:	91.1%
Adapters Trimmed:	Yes
Median Read Length:	151 bp

**Read Level Enrichment**

Total Aligned Reads	Percent Aligned Reads	Targeted Aligned Reads	Read Enrichment	Padded Target Aligned Reads	Padded Read Enrichment
28,072,916	99.6%	15,070,002	53.7%	17,056,563	60.8%

**Base Level Enrichment**

Total Aligned Bases	Targeted Aligned Bases	Base Enrichment	Padded Target Aligned Bases	Padded Base Enrichment
3,974,974,952	1,534,283,978	38.6%	2,331,065,819	58.6%

**Coverage Summary**

Mean Region Coverage Depth	Uniformity of Coverage (Pct > 0.2*mean)	Target Coverage at 1X	Target Coverage at 10X	Target Coverage at 20X	Target Coverage at 50X
128.4X	96.3%	99.4%	98.4%	97.2%	89.3%

**Software Versions**

Software	Version
Isis (Analysis Software)	2.6.2.3
BWA (Aligner)	0.7.9a-isis-1.0.1
SAMtools	0.1.18 (r982:295)
GATK (Variant Caller)	v1.6-23-gf0210b3
Picard (Calculate HS Metrics)	NA



Illumina VariantStudio

Home Annotation & Classification Reports Help

New Open Save Save As Import VCF Add Variants to Sample Import Folder Remove Sample Current Sample: Current: Filter Favorites Manage Favorites Save Select All Copy Column Order Smaller Larger Save As Default Apply Default Restore Default Layout

Project Samples Filter Favorites Table Options Layout

Filters

General

Variant

Gene

Consequence

Population Frequency

Cross Sample Subtraction

Family Based

Custom

Classification

Apply Filters =>

Clear Filters

Gene View

Gene	Variant	Chr	Coordinate	Classification	Type	Genotype	Exonic	Filters	Quality	GQX	Inherited From	Alt Variant Freq	Read Depth	Alt Read Depth	Allelic Depths	Custom Annotation	C
------	---------	-----	------------	----------------	------	----------	--------	---------	---------	-----	----------------	------------------	------------	----------------	----------------	-------------------	---

Variant 0 of 0

Show Population Frequencies Show Transcript Info Show Custom Annotations Show ClinVar Show Cosmic



# Variant studio

# Variant studio

Home Annotation & Classification Reports Help

New Open Save Save As Import VCF Add Variants to Sample Import Folder Current Sample: SS62\_S2 Remove Sample Current: Manage Favorites Save Select All Copy Column Order Layout A Smaller A Larger Table Options

Filters

- General
- Variant
- Gene
- Consequence
- Population Frequency
- Cross Sample Subtraction
- Family Based
- Custom
- Classification

Apply Filters => Clear Filters

Gene View

Gene	Variant	Chr	Coordinate	Classification	Type	Genoty...	Exonic	Filters	Quality	GQX	Inherited From	Alt Variant	Read Depth	Alt Read	Alle Dpfl
AGRN	T>T/C	1	977330	...	snv	het	yes	PASS	71004	99		57,8	64	37	27,3
AGRN	A>A/G	1	981931	...	snv	het	yes	PASS	111455	99		37	124	44	75,4
AGRN	T>T/C	1	982994	...	snv	het	yes	PASS	129205	99		35,4	147	52	95,5
AGRN	T>T/C	1	984302	...	snv	het	yes	PASS	42660	99		52,5	40	21	19,2
AGRN	C>C/T	1	987200	...	snv	het	yes	PASS	101723	99		54,3	70	38	32,3
AGRN	C>T/T	1	990280	...	snv	hom	yes	PASS	122720	93		100	41	41	0,41
TAS1R3	T>C/C	1	1269554	...	snv	hom	yes	PASS	600635	99		100	210	209	0,20
CDK11A	C>C/G	1	1647778	...	snv	het	yes	PASS	56358	99		28,6	98	28	70,2
CDK11A	T>T/C	1	1647814	...	snv	het	yes	PASS	55930	99		27,5	102	28	74,2
CDK11A	T>T/C	1	1647871	...	snv	het	yes	PASS	43570	99		24,5	94	23	71,2
CDK11A	C>C/T	1	1647893	...	snv	het	yes	Low...	900	9		8,8	80	7	73,7
CDK11A	A>A/G	1	1647928	...	snv	het	yes	PASS	146278	99		84,5	58	49	9,49
CDK11A	C>T/T	1	1653028	...	snv	hom	yes	PASS	219828	99		100	67	67	0,67
GABRD	T>T/C	1	1957037	...	snv	het	yes	PASS	197493	99		58,6	128	75	53,7
SKI	C>C/A	1	2235818	...	snv	het	yes	Low...	332	3		11,1	27	3	24,3
PEX10	C>C/T	1	2337277	...	snv	het	yes	PASS	122403	99		51,6	93	48	45,4
PEX10	T>T/C	1	2340200	...	snv	het	yes	PASS	139031	99		44,3	141	62	78,6
MMEL1	T>C/C	1	2528133	...	snv	hom	yes	LowDP	37626	30		100	11	11	0,11
MMEL1	G>A/A	1	2560882	...	snv	hom	yes	PASS	76868	54		100	36	36	0,36
MMEL1	T>G/G	1	2560903	...	snv	hom	yes	PASS	67506	48		100	30	30	0,30
TP73	C>T/T	1	3638674	...	snv	hom	yes	PASS	455319	99		100	144	144	0,14
NPHP4	T>T/C	1	5926507	...	snv	het	yes	PASS	65154	99		58,7	46	27	19,2
NPHP4	A>T/T	1	5935162	...	snv	hom	yes	LowDP	57044	45		100	15	15	0,15
NPHP4	G>G/A	1	5937168	...	snv	het	yes	SB	18849	99		28	25	7	18,7
NPHP4	G>G/A	1	5940243	...	snv	het	yes	PASS	100459	99		50,6	83	42	41,4
KCNAB2	T>C/C	1	6142308	...	snv	hom	yes	PASS	214141	99		100	74	74	0,74
KCNAB2	A>A/G	1	6158562	...	snv	het	yes	PASS	100884	99		48,1	81	39	42,3

Variant 1 of 9756

Show Population Frequencies Show Transcript Info Show Custom Annotations Show ClinVar Show Cosmic

Variants Genes No-Call Regions

Filter History

Sample: SS62\_S2 Cross-Samples: (2002\_0756) < (2002\_0756)



# Variant studio

Ilumina VariantStudio

Home Annotation & Classification Reports Help

New Open Save Save As Import VCF Add Variants to Sample Import Folder Current Sample: SS62\_S2 Remove Sample Current: Manage Favorites Save Select All Copy Column Order A Smaller A Larger Layout

Project Samples Filter Favorites Table Options

Filters

General

Variant

Gene

Disease

Include List

Exclude List

Min Variant Alleles 2

where custom gene annotation contains:

AND  OR

where optional gene annotation contains:

Consequence

Population Frequency

Cross Sample Subtraction

Family Based

Custom

Classification

Apply Filters =>

Clear Filters

Filter History

Gene View

Gene Variant

AGRN T>T/C

AGRN A>A/G

AGRN T>T/C

AGRN T>T/C

AGRN C>C/T

AGRN C>T/T

TAS1R3 T>C/G

CDK11A C>C/G

CDK11A T>T/C

CDK11A T>T/C

CDK11A C>C/T

CDK11A A>A/G

CDK11A C>T/T

GABRD T>T/C

SKI C>C/A

PEX10 C>C/T

PEX10 T>T/C

MMEL1 T>C/C

MMEL1 G>A/A

MMEL1 T>G/G

TP73 C>T/T

NPHP4 T>T/C

NPHP4 A>T/T

NPHP4 G>G/A

NPHP4 G>G/A 1 5940243 ... snv het yes

KCNAB2 T>C/C 1 6142308 ... snv hom yes

KCNAB2 A>A/G 1 6158562 ... snv het yes

Variant 1 of 9756

Show Population Frequencies Show Transcript Info Show Custom Annotations Show ClinVar Show Cosmic

Variants Genes No-Call Regions

Edit Included Gene List

Gene List

COL4A5

COL4A3

COL4A4

OK Cancel

Filters	Quality	GQX	Inherited From	Alt Variant	Read Depth	Alt Read	Alle Depl
PASS	71004	99		57,8	64	37	27,3
PASS	111455	99		37	124	44	75,4
PASS	129205	99		35,4	147	52	95,5
PASS	42660	99		52,5	40	21	19,2
PASS	101723	99		54,3	70	38	32,3
PASS	122720	93		100	41	41	0,41
PASS	600635	99		100	210	209	0,20
PASS	56358	99		28,6	98	28	70,2
PASS	55930	99		27,5	102	28	74,2
PASS	43570	99		24,5	94	23	71,2
LowDP	900	9		8,8	80	7	73,7
PASS	146278	99		84,5	58	49	9,49
PASS	219828	99		100	67	67	0,67
PASS	197493	99		58,6	128	75	53,7
LowDP	332	3		11,1	27	3	24,3
PASS	122403	99		51,6	93	48	45,4
PASS	139031	99		44,3	141	62	78,6
LowDP	37626	30		100	11	11	0,11
PASS	76868	54		100	36	36	0,36
PASS	67506	48		100	30	30	0,30
PASS	455319	99		100	144	144	0,14
PASS	65154	99		58,7	46	27	19,2
LowDP	57044	45		100	15	15	0,15
SB	18849	99		28	25	7	18,7
PASS	100459	99		50,6	83	42	41,4
PASS	214141	99		100	74	74	0,74
PASS	100884	99		48,1	81	39	42,3



# Variant studio

Ilumina VariantStudio

Home Annotation & Classification Reports Help

New Open Save Save As Import VCF Add Variants to Sample Import Folder Current Sample: SS62\_S2 Remove Sample Current: Manage Favorites Save Select All Copy Column Order Layout

Project Samples Filter Favorites Table Options

Filters

General

Variant

Gene

Disease

Include List

Exclude List

Min Variant Alleles 2

where custom gene annotation contains:

AND  OR

where optional gene annotation contains:

Consequence

Population Frequency

Cross Sample Subtraction

Family Based

Custom

Classification

Apply Filters =>

Clear Filters

Gene View

Gene	Variant	Chr	Coordinate	Classification	Type	Genoty...	Exonic	Filters	Quality	GQX	Inherited From	Alt Variant	Read Depth	Alt Read	Allelic Depths
COL4A3	T>C/C	2	228111435	...	snv	hom	yes	PASS	120439	90		100	38	38	0,38
COL4A3	A>G/G	2	228113175	...	snv	hom	yes	PASS	383908	99		100	121	121	0,121
COL4A3	C>T/T	2	228128540	...	snv	hom	yes	PASS	98482	75		100	30	30	0,30
COL4A3	G>G/A	2	228128568	...	snv	het	yes	PASS	48880	99		44,7	47	21	26,21
COL4A3	A>A/G	2	228131169	...	snv	het	yes	PASS	88776	99		40,9	88	36	52,36
COL4A3	G>G/A	2	228131752	...	snv	het	yes	PASS	218283	99		58,5	142	83	59,83
COL4A3	C>C/T	2	228135631	...	snv	het	yes	PASS	125999	99		59	83	49	34,49
COL4A3	C>C/T	2	228158021	...	snv	het	yes	PASS	74309	99		45,3	64	29	35,29
COL4A4	G>G/A	2	227872182	...	snv	het	yes	PASS	136918	99		50,9	108	55	53,55
COL4A4	T>T/C	2	227872995	...	snv	het	yes	PASS	51153	99		42,3	52	22	30,22
COL4A4	A>A/G	2	227873028	...	snv	het	yes	PASS	56049	99		46,8	47	22	25,22
COL4A4	A>A/G	2	227886773	...	snv	het	yes	PASS	113654	99		51,1	88	45	43,45
COL4A4	C>C/T	2	227892619	...	snv	het	yes	PASS	123476	99		55,4	83	46	37,46
COL4A4	C>C/T	2	227892720	...	snv	het	yes	PASS	97219	99		54,3	70	38	32,38
COL4A4	C>C/G	2	227896652	...	snv	het	yes	PASS	95551	99		44,1	93	41	52,41
COL4A4	C>C/T	2	227896886	...	snv	het	yes	PASS	101232	99		55,1	69	38	31,38
COL4A4	C>C/T	2	227896976	...	snv	het	yes	PASS	72660	99		45,2	62	28	34,28
COL4A4	G>G/A	2	227954599	...	snv	het	yes	PASS	107814	99		49,5	93	46	47,46
COL4A5	C>T/T	X	107823778	...	snv	hom	yes	PASS	203878	99		100	59	59	0,59
COL4A5	G>G/GT	X	107827760	...	insertion	het	yes	RB	5055	51		28,6	22	6	15,6

Variant 1 of 20

Show Population Frequencies  Show Transcript Info  Show Custom Annotations  Show ClinVar  Show Cosmic

Filter History



# Variant studio

The screenshot displays the Illumina VariantStudio application window. The interface includes a menu bar (Home, Annotation & Classification, Reports, Help), a toolbar with various file and project management icons, and a main workspace divided into a 'Filters' sidebar and a 'Gene View' table.

**Filters Panel:**

- Variant:** Dropdown menu.
- Gene:** Dropdown menu.
- Disease:** Search field.
- Include List
- Exclude List
- Min Variant Alleles: 2
- where custom gene annotation contains: [ ]
- Logic:  AND  OR
- where optional gene annotation contains: [ ]
- Consequence:** Dropdown menu.
- Population Frequency:**
  - Global Frequency < 1
  - American Pop 100
  - Asian Pop Frequency 100
  - African Pop 100
  - European Pop 100
  - EVS Frequency < 100
- Set all to: 5 [Set All]
- 
- 

**Gene View Table:**

Gene	Variant	Chr	Coordinate	Classification	Type	Genoty...	Exonic	Filters	Quality	GQX	Inherited From	Alt Variant	Read Depth	Alt Read	Allelic Depths
COL4A3	C>C/T	2	228158021	...	snv	het	yes	PASS	74309	99		45,3	64	29	35,29
COL4A5	C>T/T	X	107823778	...	snv	hom	yes	PASS	203878	99		100	59	59	0,59
COL4A5	G>G/GT	X	107827760	...	insertion	het	yes	R8	5055	51		28,6	22	6	15,6

**Bottom Panel:**

- Variant navigation: Variant 1 of 3
- Show Population Frequencies
- Show Transcript Info
- Show Custom Annotations
- Show ClinVar
- Show Cosmic
- Buttons: Variants, Genes, No-Call Regions



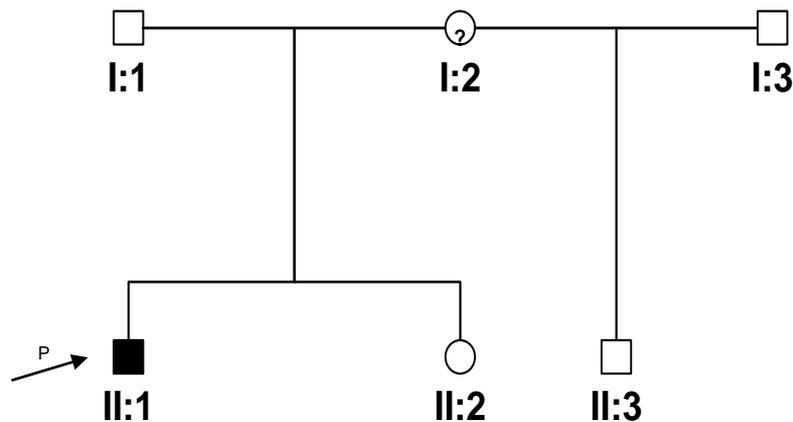
## Por qué es necesario el binomio clínico-genetista?

- El abordaje multidisciplinar permite llegar a un diagnóstico certero en base al reanálisis clínico-genético

A propósito de un caso de sospecha de  
síndrome de Alport.....?????



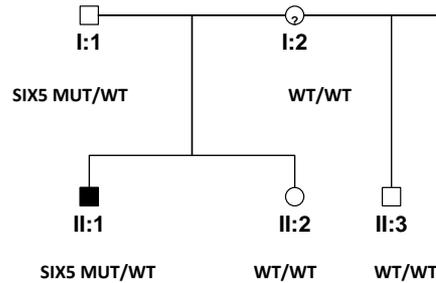
# Familia SS70



- II:1 index case with suspected Alport Syndrome
- No mutations detected by Trusight One in the Alport virtual panel
- Simplex case? Lack of penetrance?
- Alport Syndrome? BOR syndrome? Other?



# Familia SS70: BOR syndrome?????

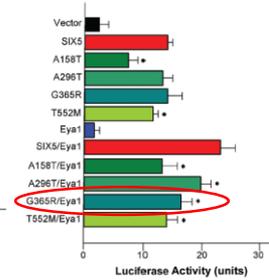


Mutación descrita en *SIX5* que no segrega!!!!  
p.(Gly365Arg) c.1093G>A

## REPORT

### Transcription Factor *SIX5* Is Mutated in Patients with Branchio-Oto-Renal Syndrome

Bethan E. Hoskins, Carl H. Cramer II, Derek Silvius, Dan Zou, Richard M. Raymond Jr., Dana J. Orten, William J. Kimberling, Richard J. H. Smith, Dominique Weil, Christine Petit, Edgar A. Otto, Pin-Xian Xu,\* and Friedhelm Hildebrandt\*



Mutations in *SIX5* reduce its ability to activate transcription of the MEF3 promoter.

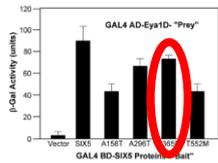


Table 1. Clinical and Genetic Data on Five Patients with *SIX5* Mutations

Patient	Branchial Defect	Hearing Loss	Renal Defect	Nucleotide Change	Amino Acid Change
A441	PT <sup>R</sup>	-	DK <sup>R</sup>	c.472G>A	A158T
A477	CF <sup>R</sup> , HM <sup>R</sup> , PS <sup>R</sup> , PM <sup>R</sup>	+ <sup>L</sup> , + <sup>R</sup>	DK <sup>R</sup> , ↓ function	c.886G>A	A296T
A416	ND	ND	ND	c.1093G>A	G365R
A483	CF	-	HK	c.1695C>T	T552M
A500	CF <sup>R</sup>	+ <sup>L</sup> , + <sup>R</sup>	A <sup>L</sup> , HK <sup>R</sup>	c.1655C>T	T552M

Note: — = absent, + = affected, ++ = more affected; <sup>L</sup> = left, <sup>R</sup> = right, <sup>B</sup> = bilateral; PT = preauricular tag, DK = dysplastic kidneys, CF = cervical fistulae, HM = hemifacial microsomia, PS = preauricular sinus, PM = pinna malformation, ↓ function = diminished renal function, HK = hypoplastic kidneys, A = agenesis; ND = no data available.



# Familia SS70

## Population Frequencies

Population	Allele Count	Allele Number	Number of Homozygotes	Allele Frequency
East Asian	1	386	0	0.002591
European (Non-Finnish)	1	4346	0	0.0002301
African	0	672	0	0
European (Finnish)	0	52	0	0
Latino	0	348	0	0
Other	0	136	0	0
South Asian	0	7512	0	0
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>13452</b>	<b>0</b>	<b>0.0001487</b>

**Called variants** Potential variants

Sample count	Called variants	Potential variants
11 of 4021	0 of 1796	

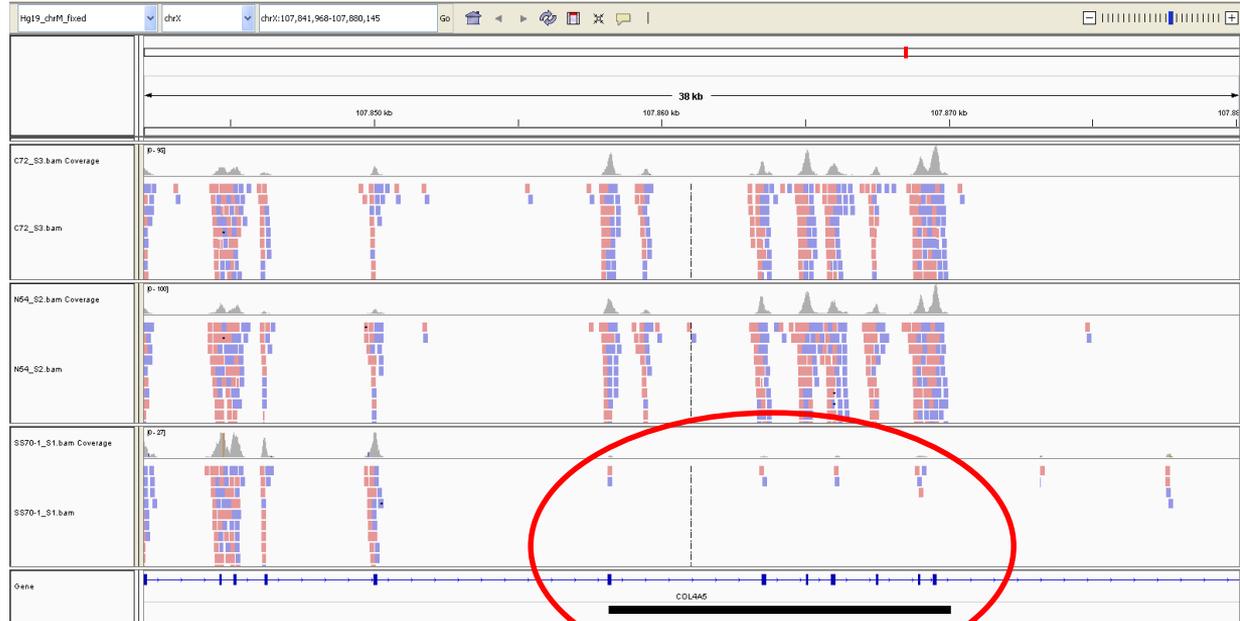
**NO ESTÁ**

Chr	Position	Allele	Gene	Id	MAF		1000G MAF (phase 3)		ExAC	ESP-6500		SPT	Polyphe	PhatCos	phyloP	GERP	CADD	ClinVar				
					0/0	0/1	1/1	J		O/Freq	1/Freq								MAF	ALL	EUR	ALL
19	46269007	A>G	AC037412.3.AC	rs77294249	176	1	0	39	0.999	0.001	0.001			0.09	0.986	0.593	0.555	3.380	3.990			
19	46269076	G>A	AC037412.3.AC	rs2014576	278	209	82	247	0.672	0.328	0.328	0.499	0.432	0.493	0.433	0.37	0.007	0.939	0.555	-0.700	0.790	
19	46269246	G>A	AC037412.3.AC	rs76311636	801	1	0	14	0.999	0.001	0.001			0.08	0.998	0.162	-1.152	4.410	4.210			
19	46269333	G>C	AC037412.3.AC	rs20143377	189	289	288	50	0.435	0.565	0.435	0.096	0.209	0.146	0.128	0.176	1	0.001	0.818	0.459	2.090	-0.670
19	46269394	G>A	AC037412.3.AC	rs205640688	815	1	0	0	0.999	0.001	0.001	0.001		0.003	0.001	0.001		0.002	-1.069	0.998	-0.090	
19	46269739	T>A	AC037412.3.AC		815	1	0	0	0.999	0.001	0.001			0.01	0.953	0.973	0.161	4.230	4.0			
19	46269753	G>A	AC037412.3.AC	rs200467992	814	2	0	0	0.999	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
19	46269851	G>A	AC037412.3.AC	rs269540038	815	1	0	0	0.999	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		
19	46269974	G>A	AC037412.3.AC		815	1	0	0	0.999	0.001	0.001			0.54	0.001	0.000	-2.741	-1.200	-1.400			
19	46270178	C>A	AC037412.3.AC		815	1	0	0	0.999	0.001	0.001			0	0.849	0.722	0.561	1.720	5.640			

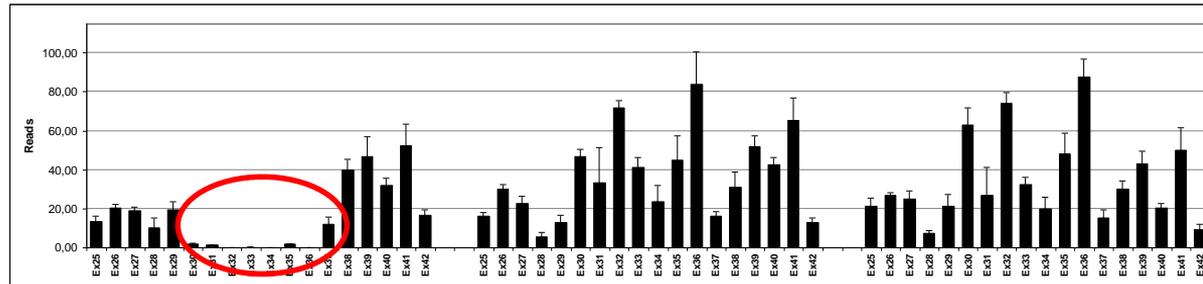
¿Mutación? EN SIX5 p.(Gly365Arg) c.1093G>A



# Familia SS70: IGV analysis

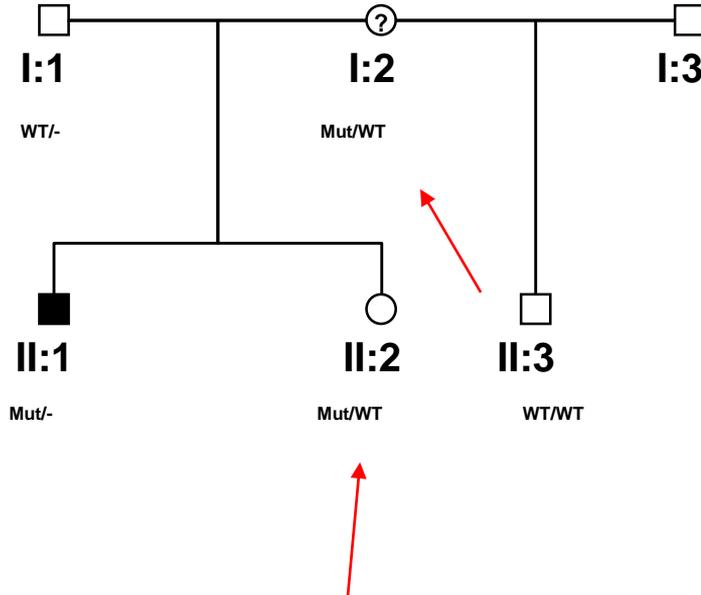


Ex30 al 36





# Familia SS70



Delección exones 30 al 36



## Consideraciones y reflexiones:

**1- La investigación traslacional es el motor que permite la implantación progresiva de la NGS en la práctica clínica para el diagnóstico de las enfermedades raras**

**2- Ningún método diagnóstico es infalible.....la NGS tampoco.**

**Más puede ser menos**

**3- Paneles vs exoma clínico.**

**4- Factores como la estructura de la familia, la posibilidad de obtener datos clínicos fiables, la posibilidad de crear binomios formados por genetista-clínico especializados en grupos de patologías hereditarias concretas, la realización de ensayos funcionales.....etc.....determinarán en gran medida el poder reducir el número de variantes con significado incierto (VUS).**



FORMACIÓN **IAVANTE** Fundación Progreso y Salud

# CENTRO DE SIMULACIÓN CLÍNICA AVANZADA

@IAVANTE\_FPS | #IAVANTEsimulación | [www.iavante.es](http://www.iavante.es)



Gracias por su atención

[www.IAVANTE.es](http://www.IAVANTE.es)



IAVANTE