

外显子组测序

外显子组是一个物种基因组中全部外显子区域的总和,是基因行使其功能最直接的体现。人类基因组约有180,000个外显子,其序列约占全基因组序列的1%,但85%的疾病相关变异位于外显子区。外显子组测序是通过序列捕获技术富集外显子区域的DNA并进行高通量测序。由于外显子组测序数据有效覆盖深度高、分析针对性强、性价比优;亦可结合大量的公共数据库,更好地解释所得变异结构之间的关联和致病机理。目前,外显子组测序已被广泛应于基础研究和临床诊疗。

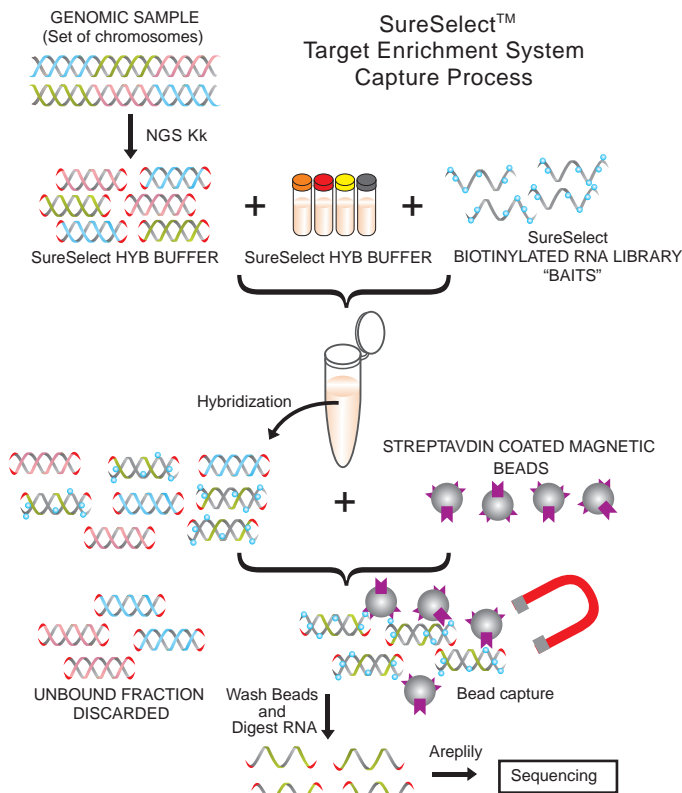


图1. 外显子捕获示意图

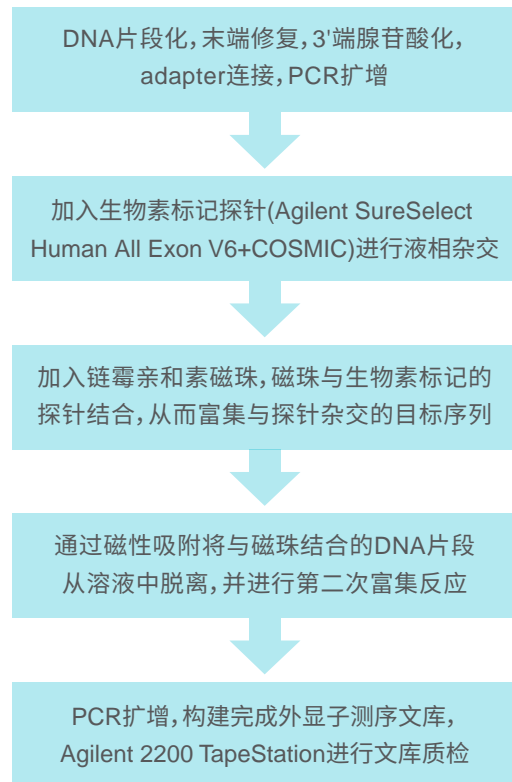


图2. 外显子建库流程图

技术优势

性价比高: Agilent V6+COSMIC Kit单样品捕获, 捕获效率高, 主要数据库注释超过99%。

检测精准: 更高测序深度覆盖目标区域, 高灵敏检测低频甚至罕见突变。

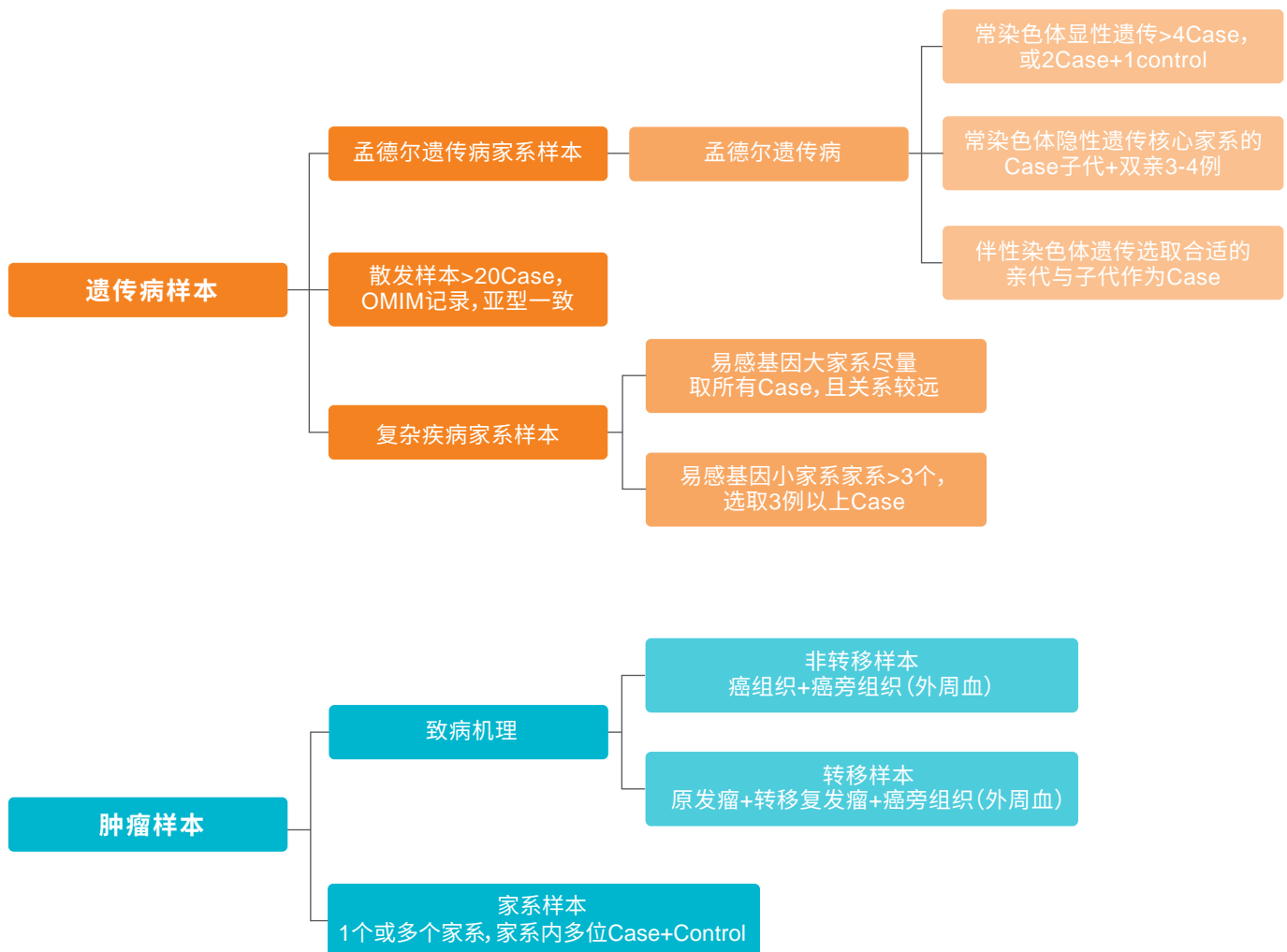
分析升级: 深入挖掘致病信息, TCGA或OMIM数据库分析策略随心定制。

额外协助: 测序、分析方法英文描述提供。

推荐测序模式及数据量

Illumina PE150测序模式, 12G clean data

选样策略

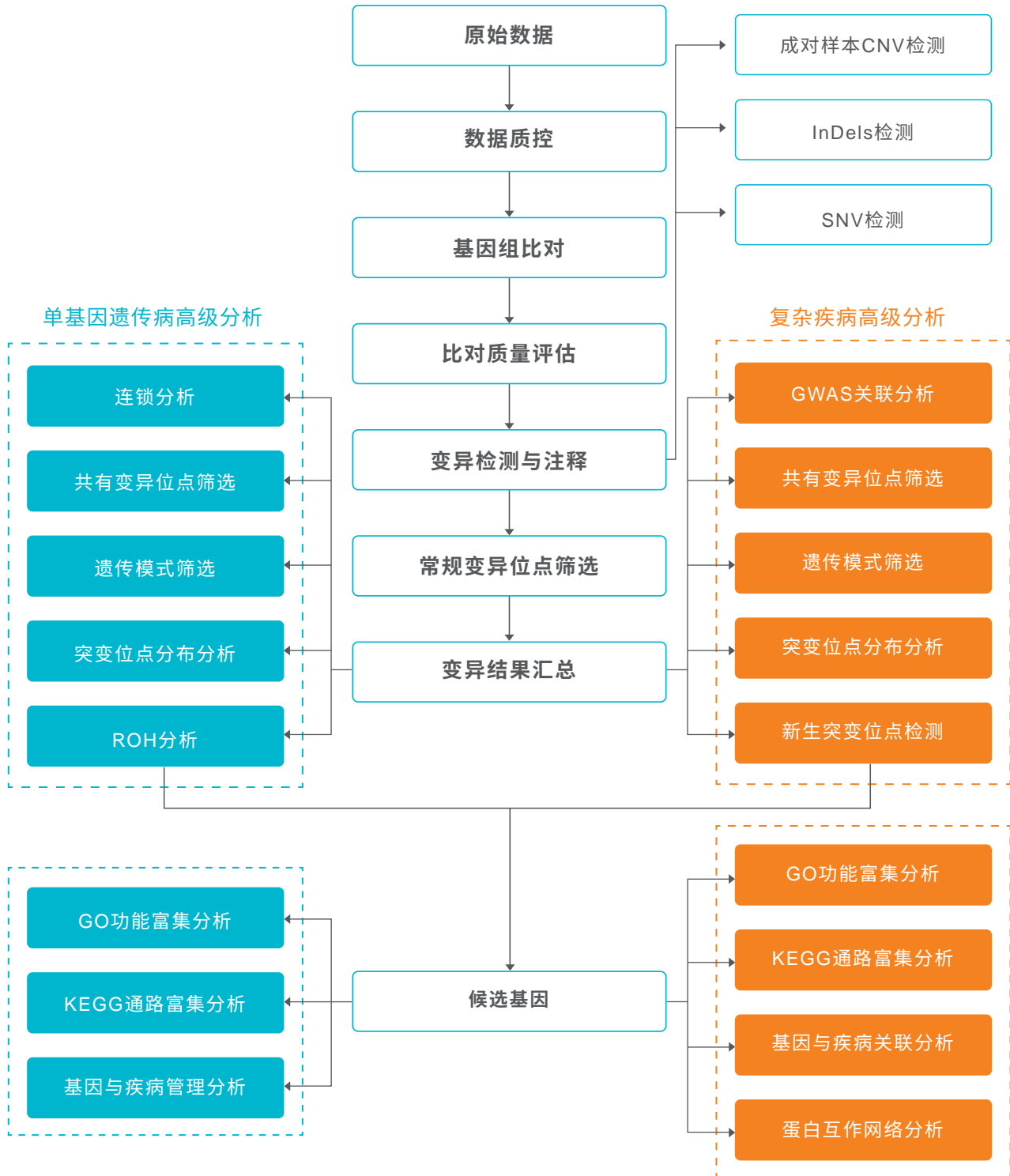


生物信息学分析 *

肿瘤项目分析流程



单基因遗传病 / 复杂疾病项目分析流程



*更多分析详细内容请向当地销售工程师索取!

案例解读

【案例一】变形性骨炎患者中ZNF687突变与骨巨细胞瘤的相关性研究

(Divisato G, et al. *The American Journal of Human Genetics*, 2016)

变形性骨炎 (PDB) 可导致畸形骨骼, 有常染色体显性遗传倾向。一些病人患病部位会发生致瘤性转化而形成骨巨细胞瘤 (GCT), 使过多的破骨细胞失控而引起骨溶解。受到PDB影响的GCT可形成多发病灶, 并具家族聚集性。选取三个代表家系以及大量散发样本进行WES, 同时与数据库中数百万欧洲和北美的患者做比较, 最后进行实验验证。

研究结果:

1、ZNF687第六外显子的c.2810C>G突变可以精确区分疾病的表型, 此位点具有保守性。Sanger测序验证家系1中的其他成员与家系2中的成员, 发现仅患者发生此突变。

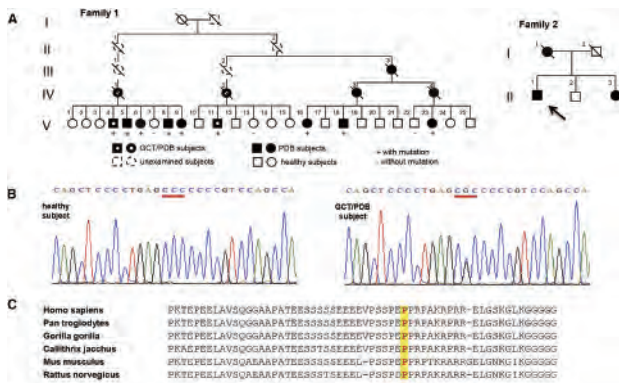


图3. 在ZNF687中鉴定到的c.2810C>G突变

2、在家系3中检测到患者的ZNF687存在c.725G>T的新突变。致病突变SOSTM1和ZNF687突变均对病灶数量产生影响, 但不影响患者发病年龄。

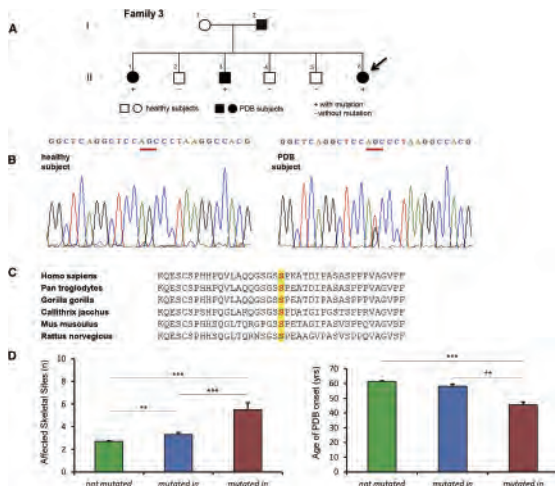


图4. 在ZNF687中鉴定到的c.725G>T突变

3、斑马鱼尾鳍实验验证, 发现其芽基的ZNF687表达上调, 在造血和破骨细胞生成时期均上调。

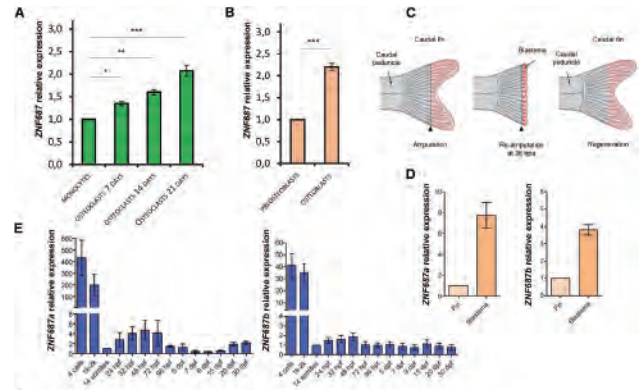


图5. ZNF687突变在表达与功能上的特征

【案例二】WES分析炎症性肠病与结肠直肠癌相关性 (Robles A I, et al. *Gastroenterology*, 2016)

长期受炎症性肠病 (IBD) 困扰, 会增加患者患结肠直肠癌 (CRC) 的风险。已有研究表明, 同患IBD与CRC的患者, 肿瘤发展不同于未患IBD的患者。利用WES分析31名同患IBD与CRC患者的癌组织和癌旁组织, 结合已公布散发性CRC外显子数据, 研究不同患者的肿瘤基因图谱, 用于指导临床诊疗。

研究结果:

1、对32例 (来自31名IBD与CRC同患者, 其中15名溃疡性结肠炎UC、14名节段性回肠炎CD和2名病因不明的结肠炎IC) FFPE样本进行平均11.6Gb的WES, 绘制同患IBD与结肠癌患者的体细胞突变频谱。

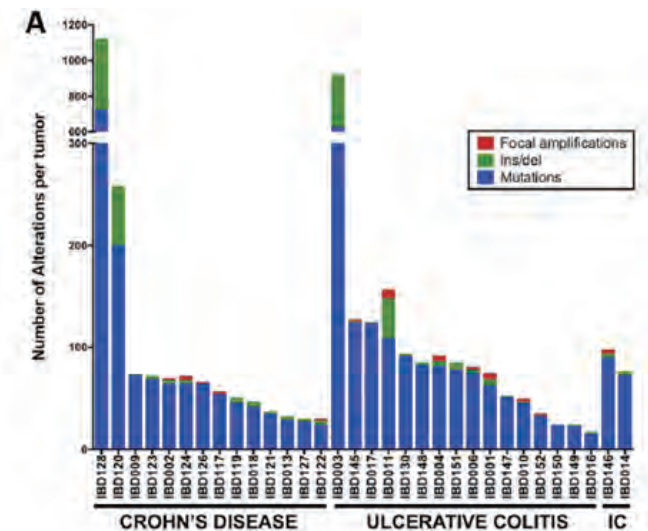


图6. 体细胞突变数目和突变类型在不同疾病亚型的变化

2、非高频突变IBD和CRC共患样本中碱基突变模式主要有6种,C>T突变模式占比62%,且其中48%C>T发生在5'-CpG-3'位点。UC和CD患者组间的碱基突变模式无明显的差异,排除2例高频突变样品,UC患者(77)的突变数量中位数上略高于CD患者(53)。

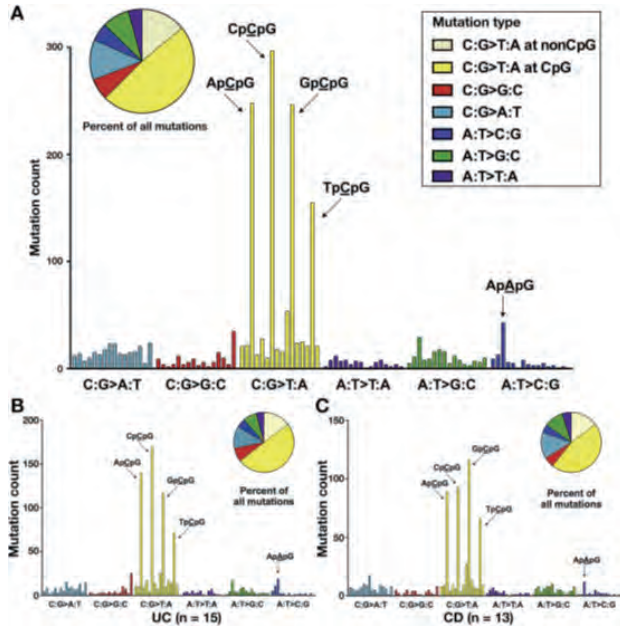


图7. 不同疾病亚型的碱基突变模式与突变数目

3、相比健康人群,受结肠粘膜持续发炎困扰的UC和CD患者(特别是同患大肠炎患者),患CRC的风险会大大提高。通过分析32例样本的肿瘤相关信号通路,10例UC与CRC共患样本,在 Rho/Rac信号通路受影响,而仅在3例CD与CRC共患样本存在。

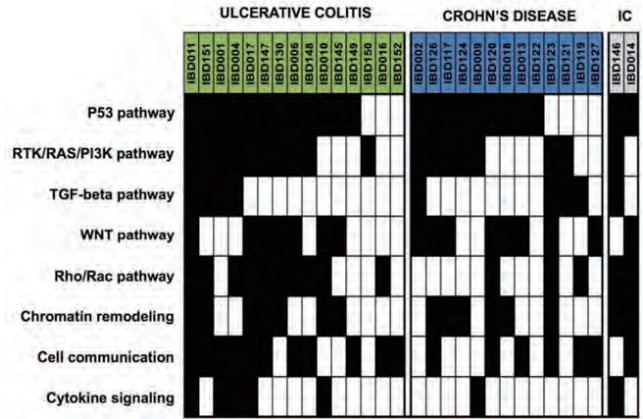


图8. 不同疾病亚型涉及的信号通路存在差异

参考文献

1. Divisato G, Formicola D, Esposito T, et al. ZNF687 mutations in severe Paget disease of bone associated with giant cell tumor[J]. *The American Journal of Human Genetics*, 2016, 98(2): 275-286.
2. Robles A I, Traverso G, Zhang M, et al. Whole-Exome Sequencing Analyses of Inflammatory Bowel Disease- Associated Colorectal Cancers[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4): 931-943.

