

Exomsekvensering – fördjupad teknisk information

Sekvensbibliotek skapades med SureSelect XT HS Clinical Research Exome V2 (CREv2 kit, Agilent) och sekvenserades med NextSeq 500 (Illumina). Basbestämning utfördes med bcl2fastq (Illumina), sekvensinpassning och variantbestämning utfördes enligt GATK "Best Practices for Germline SNP & Indel Discovery in Whole Genome and Exome Sequence" med genomversion GRCh37/hg19 som referenssekvens (https://software.broadinstitute.org/gatk/best-practices/bp_3step.php?case=GermShortWGS). Resulterande varianter annoterades med bl.a. populationsfrekvens och proteinskadlighet med verktyget Variant Effect Predictor och rankades för deras sannolikhet att vara patogena med Genmod (<https://github.com/moonso/genmod>). För variantbedömning användes primärt verktyget Scout (<https://github.com/Clinical-Genomics/scout/>, SciLifeLab).

Nomenklaturen följer HGVS nomenklatur guidelines (<http://varnomen.hgvs.org/>)

Variantklassificering enligt ACMG-riktlinjer (Genetics in Medicine, 2015, PMID: 25741868)

Sekvensvarianter vilka tolkas som benigna, sannolikt benigna eller av oklar klinisk signifikans rapporteras ej, såtillvida det inte motiveras av möjlighet till uppföljande klinisk analys. Framtida kunskap kan komma att modifiera aktuell tolkning, varför det är möjligt att med förnyad remiss begära omanalys av framtagen data.

Den aktuella analysen täcker större delen av exomet (kodande sekvens), dock har vissa delar av exomet mindre bra täckning eller avsaknad av data. Beroende på klinisk indikation så kan tolkning ha skett endast inom angiven genlista (se individuellt labsvar).

Exomsekvensering har, på grund av begränsad längd på de fragment som sekvenseras, en lägre sensitivitet att detektera längre indels (inklusive trinukleotidexpansioner). Ej heller kan metoden detektera mitokondrie-DNA varianter och områden utanför den ovan beskrivna täckningen. Kopietalsanalys utgående från exomsekvenseringsdata är ej kliniskt validerad i dagsläget. Vid ev. misstanke om patogen kopietalsavvikelse kan därför kompletterande genomisk array komma att utföras (om array sedan tidigare ej är utförd). Syftet med analysen är att upptäcka orsaken till ett tillstånd hos patienten, inte att upptäcka bärarstatus av recessiva sjukdomar. Bärarstatus av en given sjukdom kan förfrågas i specifika situationer, t.ex. vid konsanguinitet, eller om partner till patienten har en molekylärgenetiskt bekräftad sjukdom/bärarskap.