



*Better health through
laboratory medicine.*

CÁPSULAS EN MEDICINA DE LABORATORIO

Nomenclatura de secuencias de ADN
e interpretación de variantes

Lora J. H. Bean, PhD, FACMG

Emory University

DOI:10.15428/CCTC.2013.214643



El Genoma Humano

- ~3 billones de pares de bases
 - Todavía existen huecos en la secuencia
 - Posición exacta de una base específica cambia con su construcción
 - Construcción actual - Hg19
- Variaciones
 - Millones de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs)*
 - Variación en el número de copias (CNVs)*
- Nomenclatura
 - Estándar
 - Histórico



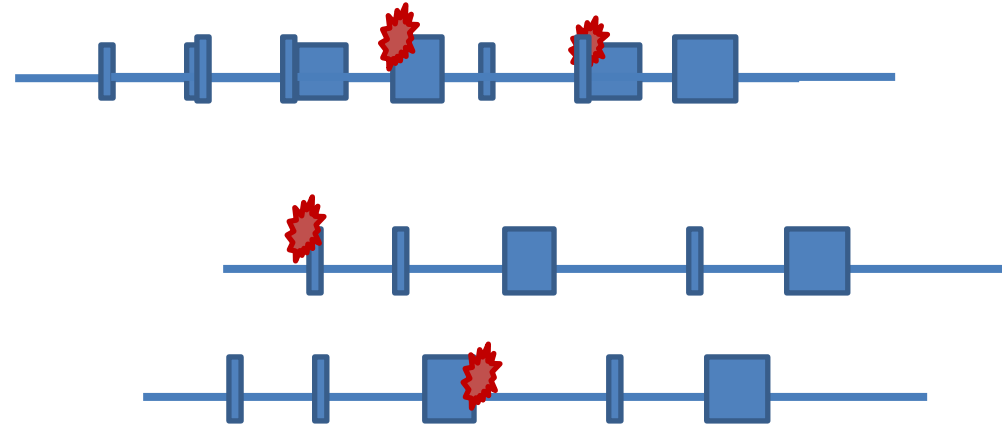
Secuenciación Clínica



Una o algunas variantes patógenas representan la mayoría de los casos en una población



Ensayos de genotificación dirigidos



Muchas variantes patógenas privadas o un espectro desconocido de mutaciones en la población.



Secuenciación genética completa



Nomenclatura Estándar

- El uso de la nomenclatura estándar permite la identificación precisa e inequívoca de una posición genómica
- Citar una secuencia de referencia específica es fundamental para la comprensión a largo plazo de los resultados
- Es necesaria para pruebas específicas e interpretación adecuada de estudios familiares

Nomenclatura Estándar

- Sociedad de Variaciones del Genoma Humano
- ADN / ARN / identidad proteica
 - Genómico denotado como “g.”
 - Codificación denotada como “c.”
 - Mitocondrial denotado como “m.”
 - ARN denotado como “r.”
 - Proteína denotada como “p.”
- Recomendaciones para
 - Cambios de pares de bases individuales
 - Deleciones pequeñas, duplicaciones, inserciones
 - Reordenamientos grandes
 - Cambios intrónicos
 - Casi cualquier escenario que se haya reportado

Recomendaciones de la Sociedad de Variaciones del Genoma Humano

Nomenclatura para la variación de la secuencia de referencia

Tipo de variación	Genómico	ADNc	Proteína
Cambio de sentido erróneo o contrasentido	g.5248232T>A	c.20A>T	p.Glu7Val or p.E7V
Cambio sin sentido	g.20763582C>A	c.139G>T	p.Glu47* or p.E47X
Delección	g.117199646_ 117199648delCTT	c.1521_1523delCTT	p.Phe508del or p.F508del
Cambio intrónico	g.103234177C>T	c.1315+1G>A	-

- Se considera crítico especificar la secuencia de referencia
 - Estos cambios pierden su sentido sin una referencia
 - Diferentes referencias dan como resultado diferentes formas correctas de describir una variante

Nomenclatura Estándar

La mutación más común de la enfermedad de células falciformes

Historia clínica

Histórico

Hemoglobin S

HbS

HBB: Glu6Val

NP_000509.1:p.Glu7Val

Referencia

dbSNP:rs334

dbSNP:rs77121243 (retired)

NC_000011.9:g.5248232T>A

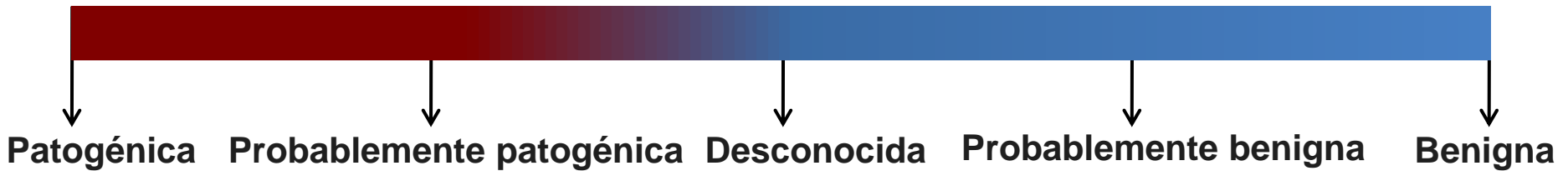
NM_000518.4:c.20A>T

Estándar

Plataformas de genotificación

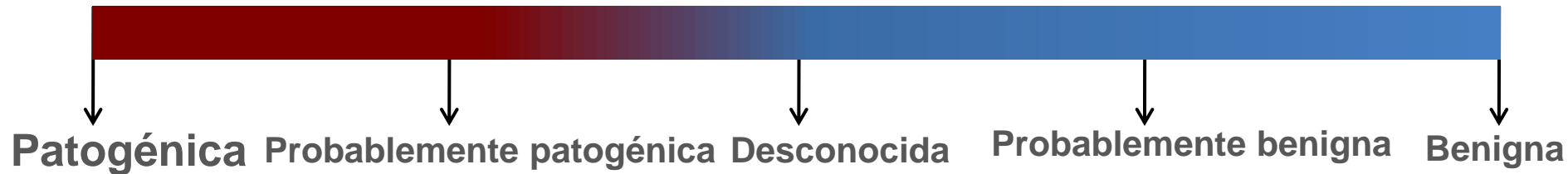
Literatura publicada





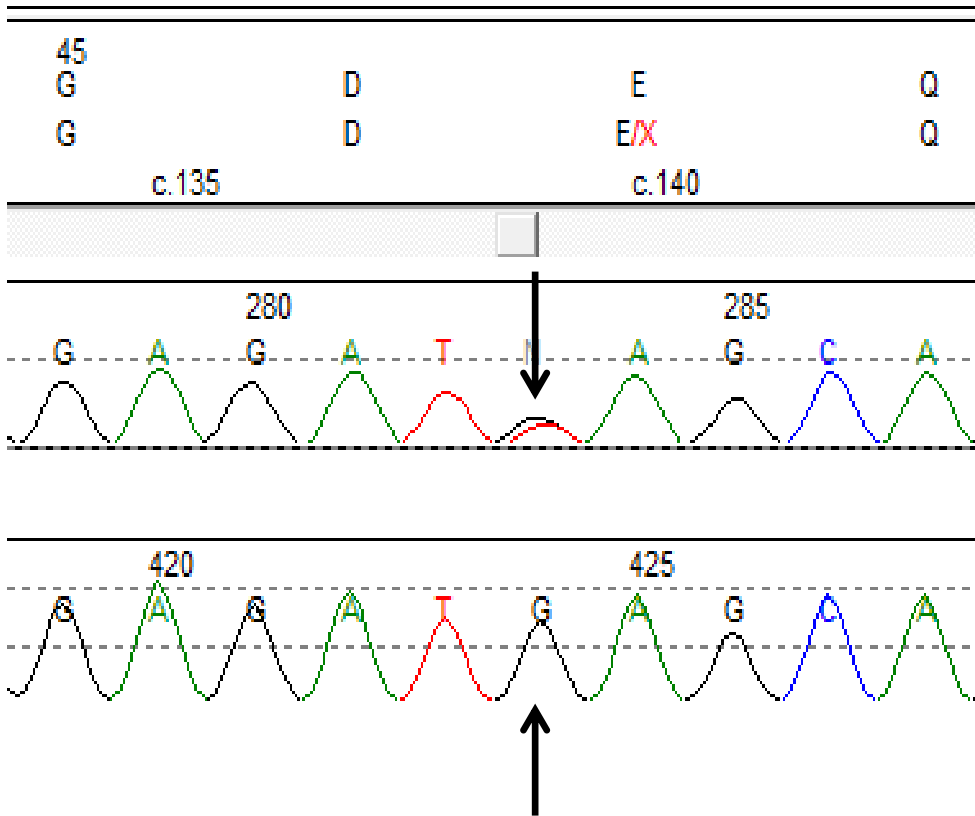
- Richards et al., Recomendaciones del Colegio Americano de Genética y Genómica Médica (ACMG, por sus siglas en inglés) para estándares para la interpretación y reporte de variaciones de secuencia: Revisiones 2007. Genet Med 2008: 10(4): 294-300.
- Maddalena et al., Normas y directrices técnicas: pruebas genéticas moleculares para trastornos ultrararos. Genet Med 2005: 10(8):571-583. Examinado and Revisado 2009.
- El Grupo de Trabajo del Comité de Prácticas de Laboratorio de la ACMG, Recomendaciones de la ACMG para estándares e interpretación de variantes de secuencia. Genet Med 2000: 2(5): 302-303.

Variantes patogénicas



- Puede interpretarse como patogénico
 - Sin sentido
 - Cambio de marco de lectura (delección, duplicación, o inserción)
 - Mutaciones en el sitio de empalme (posición intrónica (+ 1 o + 2))
- Puede interpretarse como patogénico
 - Cambios contrasentido o en el marco con evidencia suficiente
 - Cambio silencioso o intrónico que ha demostrado interrumpir el empalme o splicing

Variantes patogénicas: GJB2: c.139G>T (p.E47X)

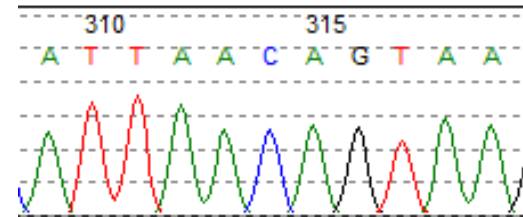
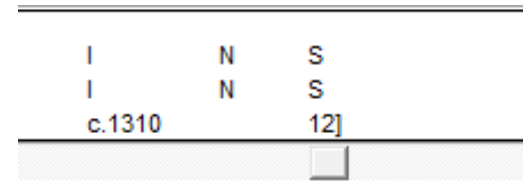
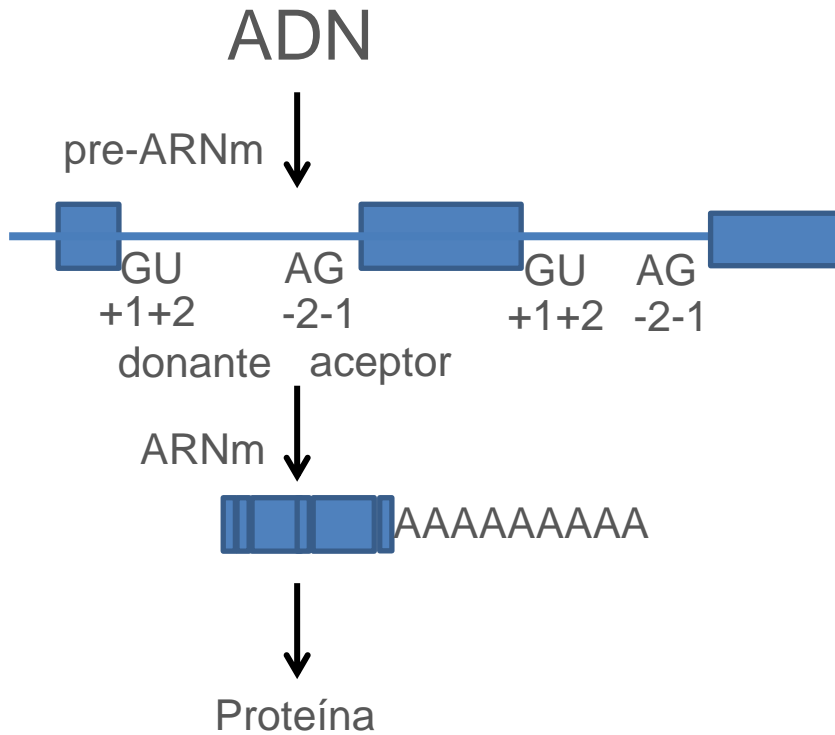


Paciente:
GAG -> glutamato (GLU or E)
TAG -> STOP (PARADA)

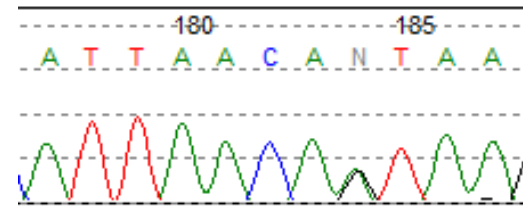
Referencia:
GAG -> glutamato (GLU or E)

Secuenciación de trazos de un paciente (arriba) con un codón de parada prematuro heterocigoto en comparación con una secuencia de referencia (abajo). El codón de parada se interpreta como un cambio patogénico.

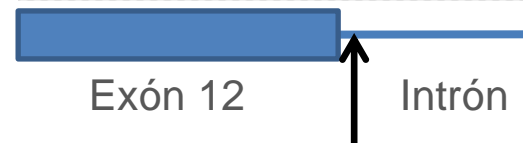
Variantes patogénicas: PAH: IVS12+1G>A



Referencia

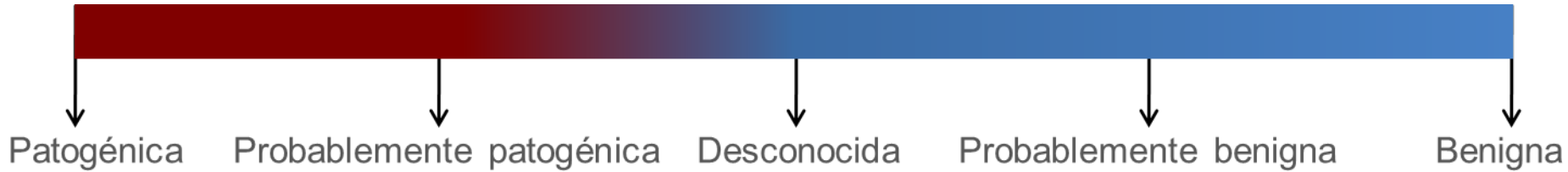


Paciente
c.1315+1G>A
(or IVS12+1G>A)



Secuenciación de trazos de un paciente (abajo) con una variante patogénica en el sitio donante consensuado del exón 12 / intrón 12 del gen *HAP* en comparación con una secuencia de referencia (arriba)

Variantes benignas



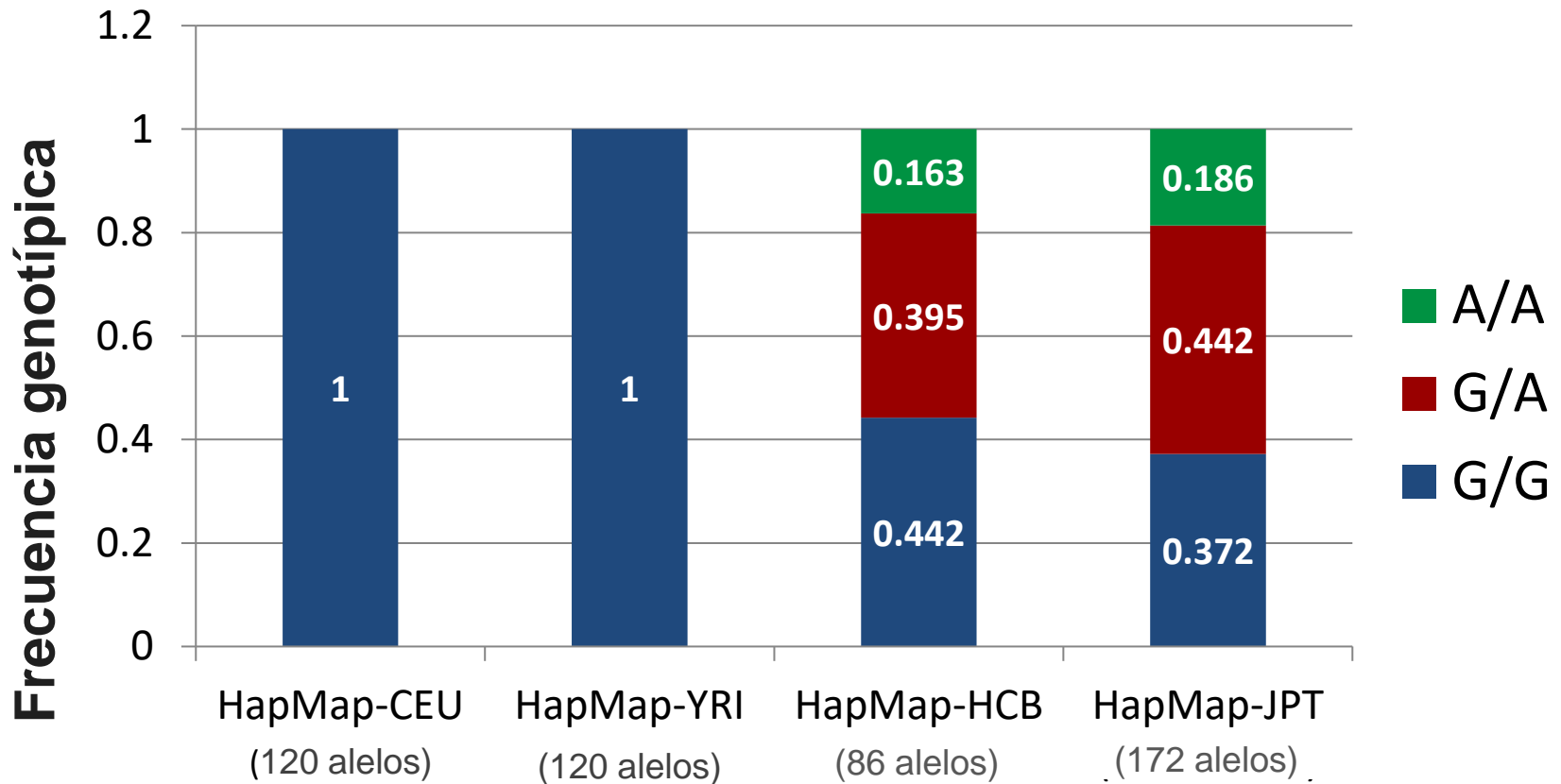
- Frecuencia poblacional inconsistente con la enfermedad
 - Frecuencia en la población general
 - Frecuencia en la población control
- La variante no tiene efecto sobre la función de acuerdo a evidencia publicada en la literatura

Variación benigna GJB2

- El Proyecto de Secuenciación del Exoma NHLBI GO
 - Proyecto de secuenciación de próxima generación a gran escala
 - Enfocado en los trastornos cardíacos, pulmonares y sanguíneos
 - Poblaciones europeas y afroamericanas
- GJB2: c.-34C>T
 - Frecuencia alélica europea: 0.08% (A=7 / G=8587)
 - Frecuencia alélica africana: 23.38% (A=1030 / G=3376)
- GJB2: c.79G>A (p.V27I)
 - Frecuencia alélica europea: 0.21% (A=18 / G=8582)
 - Frecuencia alélica africana: 0.34% (A=15 / G=4391)



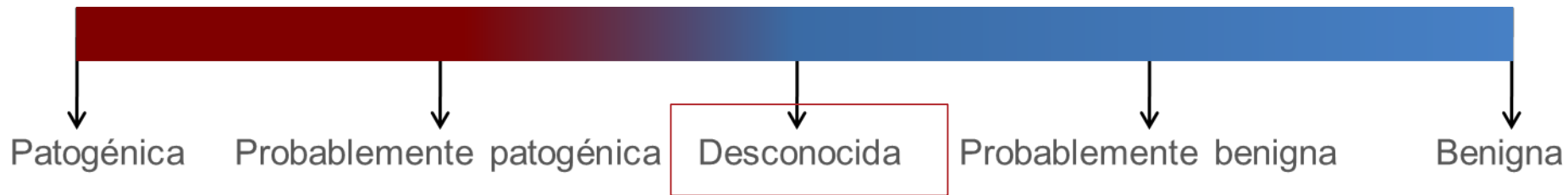
Variación benigna GJB2: c.79G>A (p.V27I)a



Frecuencias genotípicas de la variante c.79G> A (p.V27I) en poblaciones del HapMap.
CEU - Utah Residents, YRI - Yoruba in Ibadan, Nigeria, HCB - Han Chinese in Beijing, China,
JPT - Japanese in Tokyo, Japan

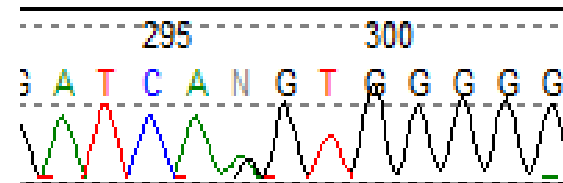
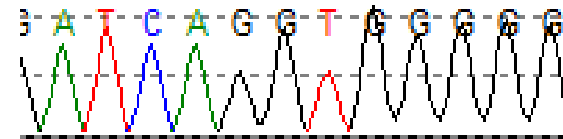
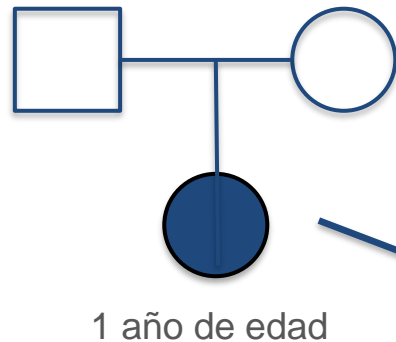


Variantes de significado incierto



- Cambios de sentido erróneo no reportados con anterioridad
- Deleciones y duplicaciones en el marco no reportadas con anterioridad
- Genes mutados en condiciones sin diagnóstico clínico o bioquímico definido

Variante de significado incierto: MLL2: c.10740G>A (p.Q3580Q)

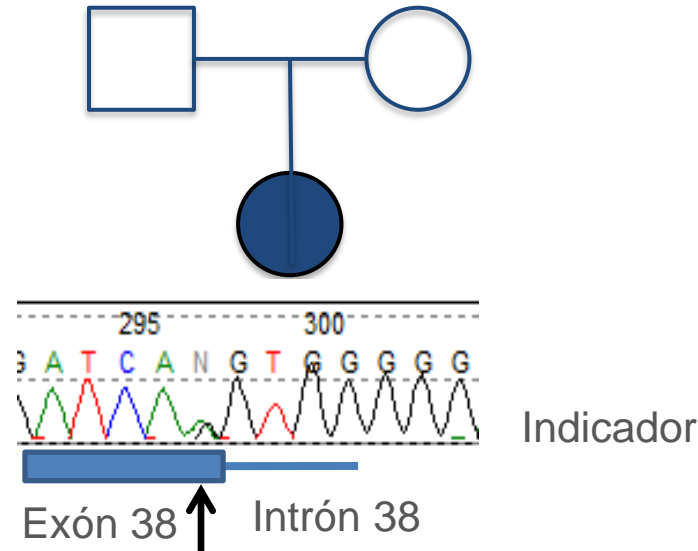


Síndrome de Kabuki:

- Dominante autosómico
- Síndrome de dismorfología
- Causado por mutaciones en *MLL2*

Secuencia de trazos de un paciente (abajo) con una variante heterocigota (marcada con una flecha) comparada a la secuencia de referencia (arriba).

Variante de significado incierto: MLL2: c.10740G>A (p.Q3580Q)

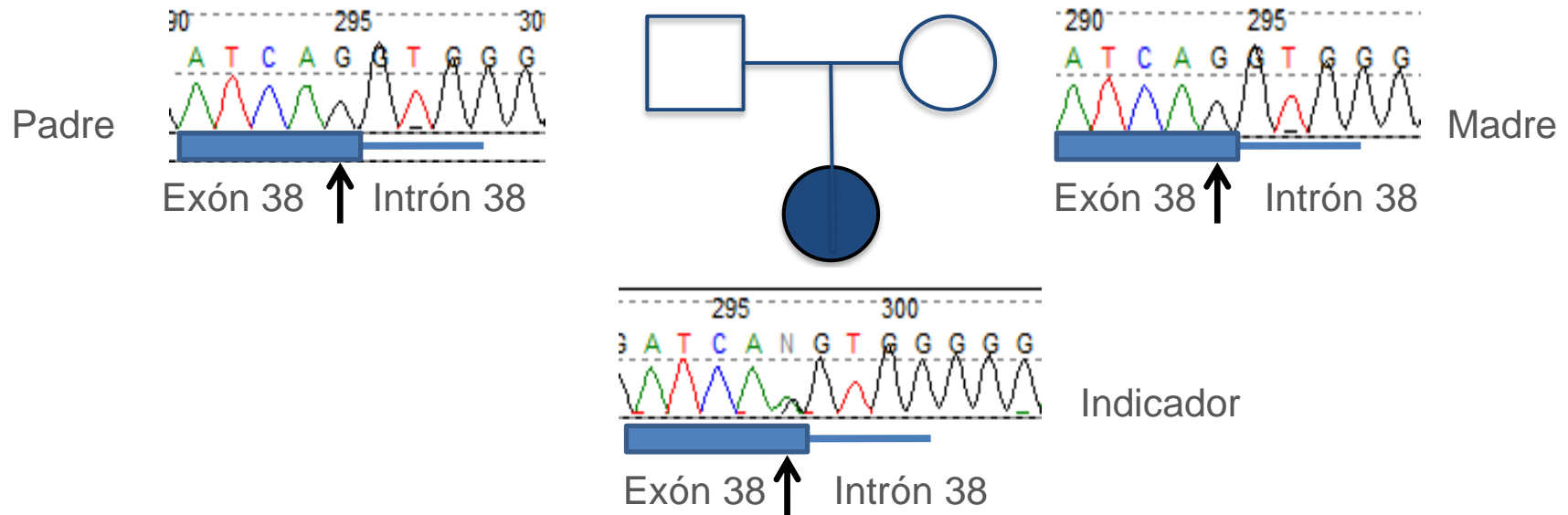


- No reportado en individuos con Síndrome de Kabuki
- No reportado en estudios poblacionales
- No se prevé que cambie el aminoácido en p.Q3580



Realizar prueba a los padres

Variante de significado incierto: MLL2: c.10740G>A (p.Q3580Q)

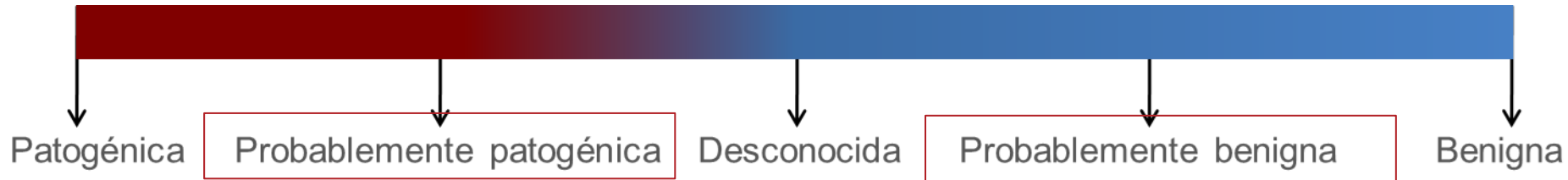


- No reportado en individuos con Síndrome de Kabuki
- No reportado en estudios poblacionales
- No se prevé que cambie el aminoácido en p.3580
- Los estudios de los padres demuestran que este cambio ocurrió *de novo* (se confirmó la identidad de los padres)



Probablemente
patogénica

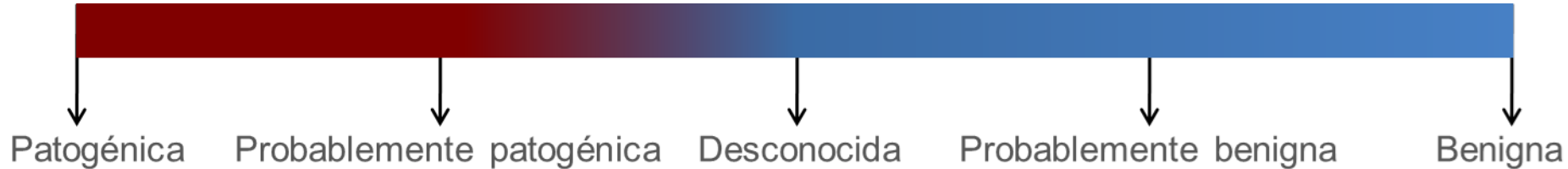
Variantes de significado incierto



- Se segrega con una enfermedad conocida que causa una variante patogénica en una persona afectada (recesivo) o se segrega con enfermedad en múltiples personas afectadas o producido de novo (dominante)
- Nucleótido y/o aminoácido en esa posición se conserva evolutivamente
- No se encuentra presente en bases de datos poblacionales disponibles al público en una frecuencia consistente con una variante benigna

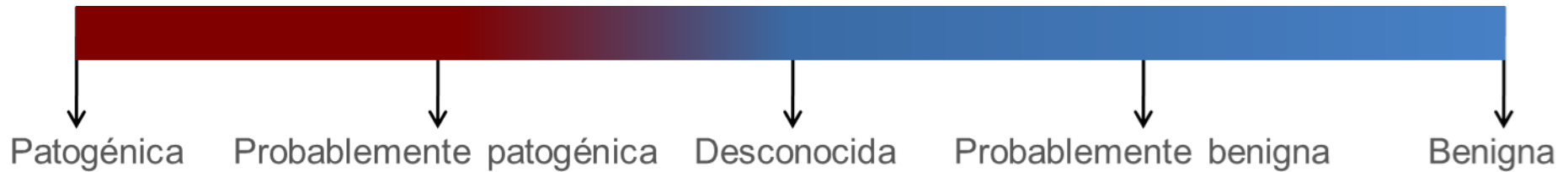
- Se encuentra en estado heterocigoto (dominante) u homocigoto (recesivo) en múltiples individuos no afectados.
- Se encuentra en CIS con una variante patogénica en múltiples individuos no relacionados
- Para los trastornos dominantes, el cambio se encuentra en un miembro de la familia no afectado

Interpretación de variantes de secuencia



- Bases de datos demográficos
- Bases de datos de enfermedades específicas
- Literatura
- Cambios previstos en las proteínas
- Información del paciente
 - edad
 - examen físico
- Información familiar
- Pruebas para los padres u otros miembros de la familia
- Resultados de laboratorio de apoyo (p. ej., pruebas bioquímicas)

Interpretación de variantes de secuencia



- ClinVar:
- www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
- Proyecto del Varioma Humano:
- www.humanvariomeproject.org/

Referencias

1. Maddalena A, Bale S, Das S, Grody W, Richards S. Technical standards and guidelines: molecular genetic testing for ultra-rare disorders. *Genet Med* 2005;7:571-83.
2. Ogino S, Gulley ML, den Dunnen JT, Wilson RB. Standard mutation nomenclature in molecular diagnostics: practical and educational challenges. *J Mol Diagn* 2007;9:1-6.
3. Richards CS, Bale S, Bellissimo DB, Das S, Grody WW, Hegde MR, et al. ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: Revisions 2007. *Genet Med* 2008;10:294-300.
4. The ACMG Laboratory Practice Committee Working Group. ACMG Recommendations for Standards and Interpretation of Sequence Variants. *Genet Med* 2000;2:302-3.

Declaraciones/Posibles Conflictos de Interés

Previa presentación de esta cápsula, el ponente completó el formulario de declaraciones de Clinical Chemistry. Declaraciones y/o conflictos de interés potenciales:

- **Empleo o Liderazgo:** Directora General, Laboratorio de Genética Molecular, Laboratorio de Genética Emory
- **Consultora o rol consultivo:** Ninguno declarado
- **Propiedad de acciones:** Ninguno declarado
- **Honorarios:** Ninguno declarado
- **Financiamiento para la investigación:** Ninguno declarado
- **Testimonio de expertos:** Ninguno declarado
- **Patentes:** Ninguno declarado

Agradecemos su participación en esta Cápsula
en Medicina de Laboratorio Clínico del *Clinical
Chemistry* Trainee Council

Puede encontrar nuestras próximas Cápsulas y
más información del Trainee Council en:

www.traineecouncil.org

Descargue la app gratuita de *Clinical Chemistry*
en iTunes para obtener contenido adicional

Síguenos en:

