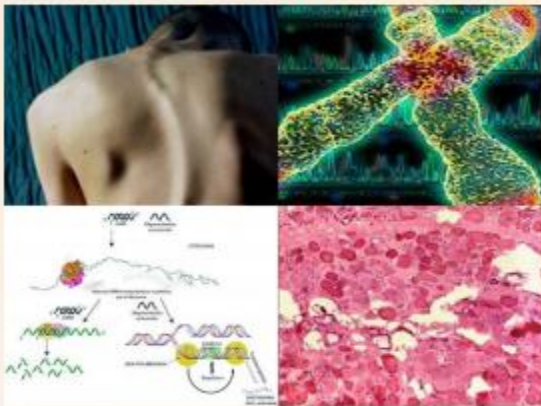




Hospital Universitario  
Ramón y Cajal  
Comunidad de Madrid



## Enfermedades Musculares en la Infancia y Adolescencia (XI)



**27 y 28 de Marzo de 2014**

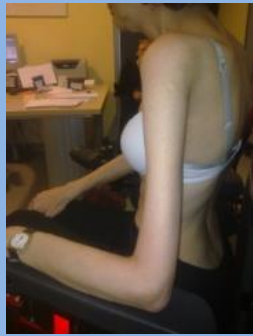
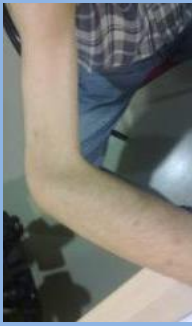
Salón de Actos. Planta 0 centro.  
Hospital Universitario Ramón y Cajal

**Inscripción: GRATUITA**, enviando un correo  
electrónico indicando nombre y filiación a  
[glorenzosanz@yahoo.es](mailto:glorenzosanz@yahoo.es)

### Directores:

Dr. G. Lorenzo Sanz      Neurología infantil S. de Pediatría.  
Dra. R. Buenache Espartosa      Neurología infantil S. de Pediatría.

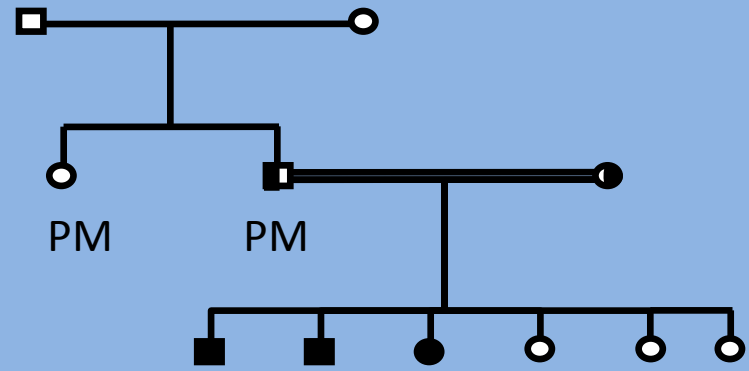
Aportación de la secuenciación  
de nueva generación a la  
práctica clínica  
Dr. A. Jiménez Escrig  
S. de Neurología  
Hospital Ramón y Cajal



1er afectado

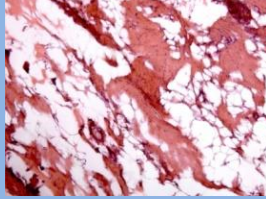
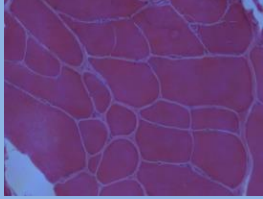
2º afectado

3er afectado



PM

PM



calpainina-3

δαβ-sarcoglicanos

diferitina

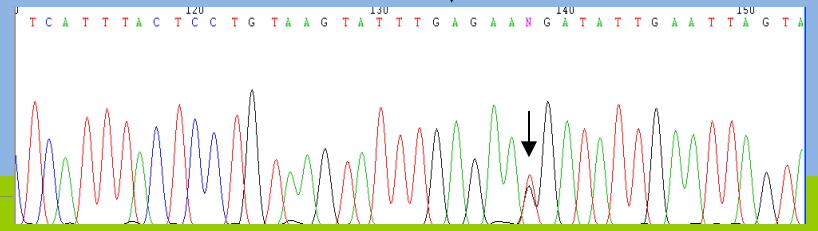
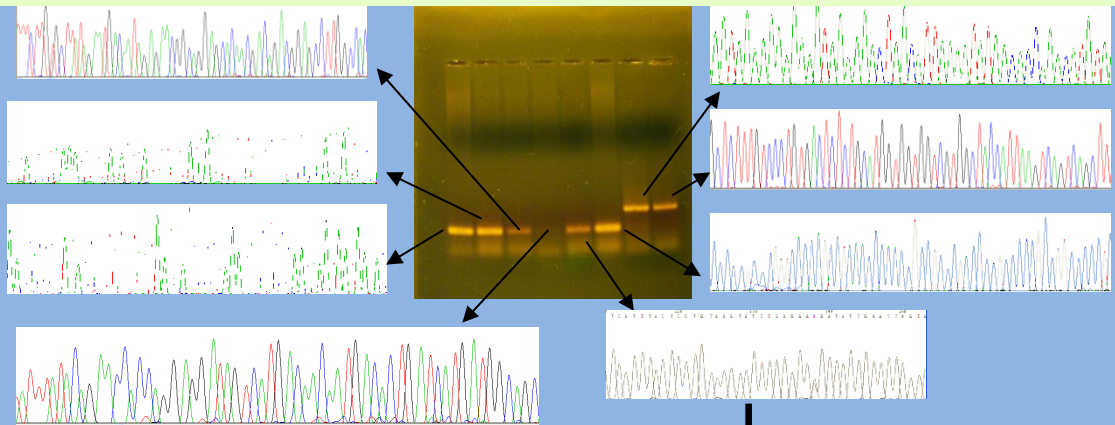
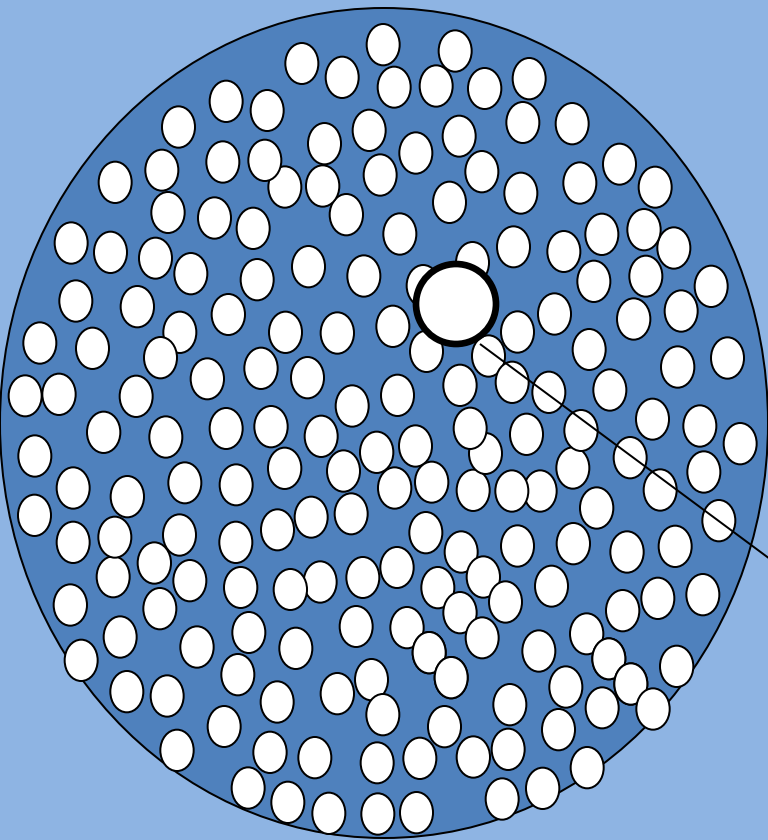
EXOMA

Limb girdle dystrophies: <b>Dominant</b>	Limb girdle dystrophies: <b>Recessive</b>
<b>1A:</b> Myotilin; 5q31; Dysarthria	<b>2A:</b> Calpain-3 ;15q15
<b>1B:</b> Lamin A/C; 1q21; + Cardiac	<b>2B:</b> Dysferlin; 2p13.1
<b>1C:</b> Caveolin-3; 3p25; Child onset	<b>2C:</b> γ-Sarcoglycan; 13q12
<b>1D:</b> 7q36	<b>2D:</b> α-Sarcoglycan; 17q21
<b>Dilated Cardiomyopathy</b> (?1E): 6q23	<b>2E:</b> β-Sarcoglycan; 4q12
<b>1F:</b> 7q32	<b>2F:</b> δ-Sarcoglycan; 5q33
<b>1G:</b> 4q21	<b>2G:</b> Telethonin; 17q12
<b>1H:</b> 3p23	<b>2H:</b> TRIM32; 9q31-q33
<b>Ankle contractures &amp; High CK</b>	<b>2I:</b> FKRP; 19q13.3
<b>Bethlem:</b> Collagen VI; 21q22 & 2q37	<b>2J:</b> Titin; 2q24
<b>Central core:</b> Ryanodine receptor (19q13)	<b>2K:</b> POMT1; 9q34
<b>Cytoplasmic body:</b> 2q24; 2q21 + Other	<b>2L:</b> ANOS; 11p14
<b>Distal mvopathies</b>	<b>2M:</b> Fukutin; 9q31
<b>MPD2:</b> 5q31; ? Same locus as <b>LGMD1A</b>	<b>2N:</b> POMT2; 14q24
<b>Emery-Dreifuss</b>	<b>MDDGC3:</b> POMGnT1; 1p32
<b>Lamin A/C;</b> 1q21	<b>Early + Ophthalmoplegia:</b> MYH2; 17q21.31
<b>SYNE1;</b> 6q25	<b>Merosin (Laminin α2)</b>
<b>SYNE2;</b> 14q23	<b>Absent:</b> 6q22
<b>Facioscapulohumeral:</b> 4q35	<b>Reduced:</b> 6q22
<b>Myofibrillar (Desmin storage)</b>	<b>Abnormal: LGMD 2I</b>
<b>Desmin:</b> 2q35; AD or AR	<b>Caveolin-3 mutations</b>
<b>αB-crystallin:</b> 11q22	<b>Myosclerosis:</b> COL6A2; 21q22.3
<b>Filamin C:</b> 7q32	<b>Myopathy +</b>
<b>LGMD 1A:</b> Myotilin; 5q31	<b>Cardiomyopathy:</b> DPM3; 1q12
<b>Congenital:</b> SEPN1; 1p36	<b>Lipodystrophy:</b> PTRF; 17q21
<b>ZASP mvopathy:</b> 10q22	<b>Mental Retardation:</b> DAG1; 3p21
<b>BAG3:</b> 10q25	<b>Plectin 1F:</b> 8q24
<b>Other</b>	

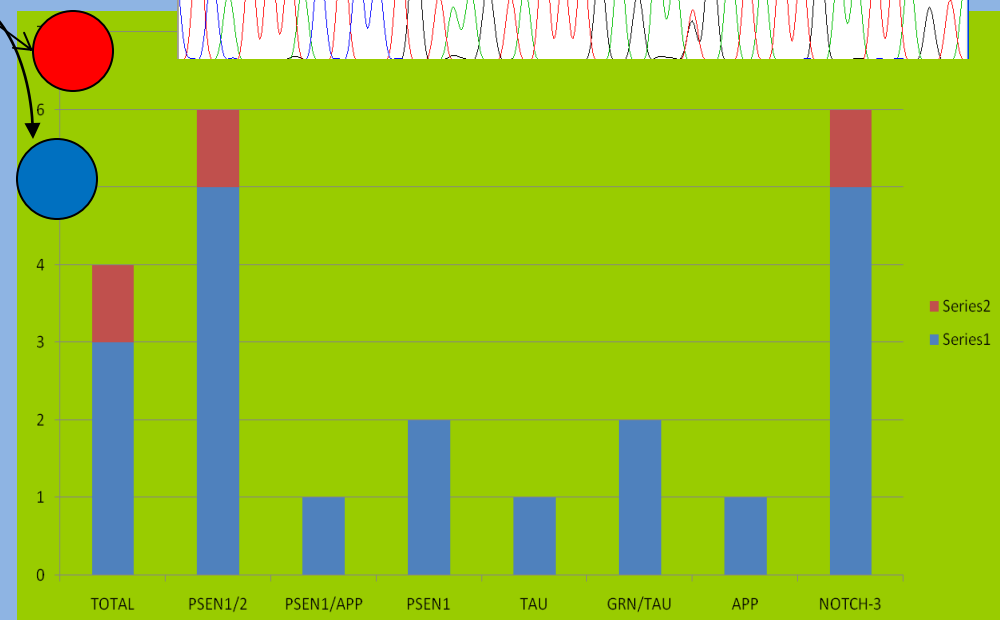
LMN A/C

# SECUENCIACION POR SANGER

PSEN1-021 >  
protein coding



Aproximacion por gen candidato (guiado por hipótesis)



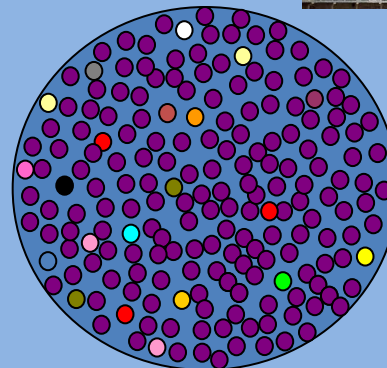
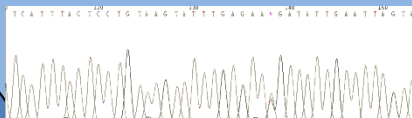
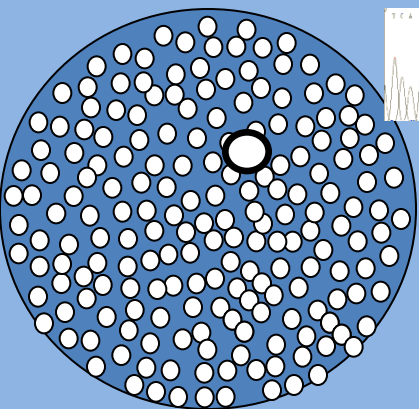
# SECUENCIACION DE NUEVA GENERACION



2h/200km/500\$



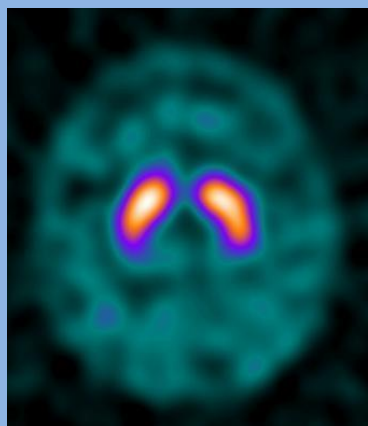
2/2.000/500\$



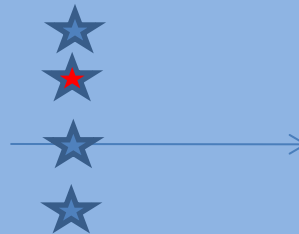
```

sgtaagta tcttgctc tgcctc caggct tca catgaaat .....
sgtaagta tcttgctc tgcctc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac.....
sgtaagta tcttgctc tgcctc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac gct tafaag g.....
sgtaagta tcttgctc tgcctc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaa .....
sgtaagta tcttgctc tgcctc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....
sgtaagta tcttgctc tgcctc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....
sgtaagta tcttgctc tgcctc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....
tc tgcctc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....
tc tgcctc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....
tc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....
tc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....
tc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....
tc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....
sgtaagta tcttgctc tgcctc caggct tca catgaaat gaaccgtaat ctcac cagct tataaatg .....

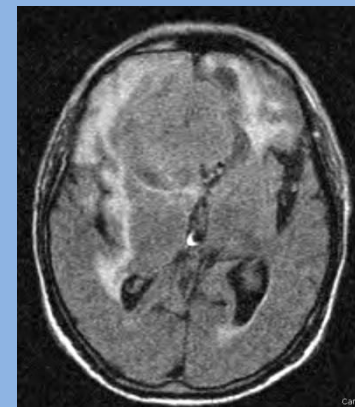
```



4/15 dias/1000\$



25.000/15 dias/1.000\$



# PLATAFORMAS DE SECUENCIACION



454 LIFE CYCLER



SOLID

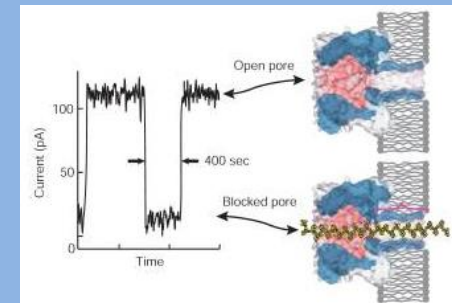


ILLUMINA

ION TORRENT-PGM

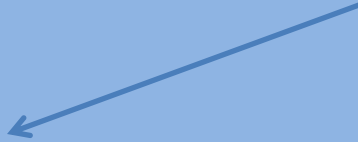


OXFORD NANOPORE



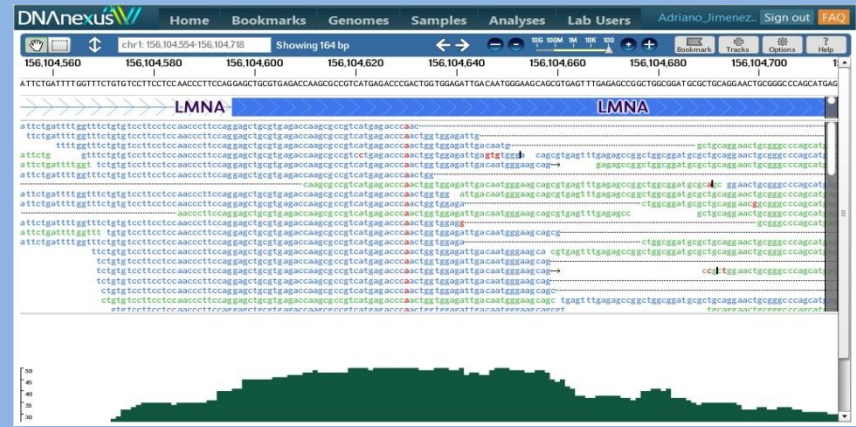


wet lab



## BIOINFORMATICA

- Alinear las secuencias
- Extraer las variantes
- Anotar las variantes
- Filtrar los resultados



Variant ID	Position	Gene	Annotation	Other
16114 SNP	156,104,554	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16115 SNP	156,104,555	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16116 SNP	156,104,556	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16117 SNP	156,104,557	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16118 SNP	156,104,558	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16119 SNP	156,104,559	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16120 DEL	156,104,560	LMNA	rs111111111	Deletion
16121 DEL	156,104,561	LMNA	rs111111111	Deletion
16122 DEL	156,104,562	LMNA	rs111111111	Deletion
16123 SNP	156,104,563	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16124 SNP	156,104,564	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16125 SNP	156,104,565	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16126 SNP	156,104,566	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16127 SNP	156,104,567	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16128 SNP	156,104,568	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16129 SNP	156,104,569	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16130 SNP	156,104,570	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16131 SNP	156,104,571	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16132 SNP	156,104,572	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16133 SNP	156,104,573	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16134 SNP	156,104,574	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16135 SNP	156,104,575	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16136 SNP	156,104,576	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16137 SNP	156,104,577	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16138 SNP	156,104,578	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16139 SNP	156,104,579	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16140 SNP	156,104,580	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16141 SNP	156,104,581	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16142 SNP	156,104,582	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16143 SNP	156,104,583	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16144 SNP	156,104,584	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16145 SNP	156,104,585	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16146 SNP	156,104,586	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16147 SNP	156,104,587	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16148 SNP	156,104,588	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16149 SNP	156,104,589	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16150 SNP	156,104,590	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous
16151 SNP	156,104,591	LMNA	rs111111111	Non-Synonymous

1-4 genes

1-100 genes

Genomas pequeños, ej. Mitochondria

Exoma ~ 180.000 exones

Genoma humano



60000



100000



600000

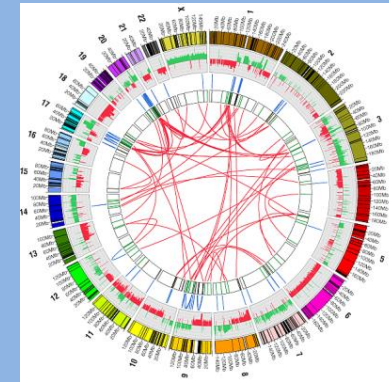
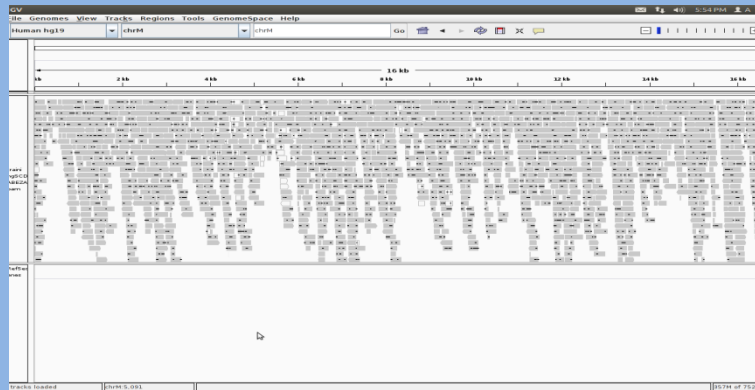
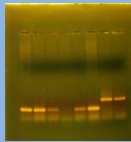
10000  
500

10<sup>6</sup>  
700

10<sup>6</sup>  
300

10<sup>8</sup>  
600

10<sup>10</sup>  
1000



Claro gen candidato  
Examen de mutaciones conocidas

Síndrome clínicos: miopatías, ataxias, CMT,..

Enfermedades mitocondriales

Ausencia de hipótesis, Genes grandes Paneles de genes

Grandes reordenamientos Trastornos intrónicos

## Next generation sequencing for molecular diagnosis of neurological disorders using ataxias as a model

AFG3L2	TTBK2	SYNE1	FLVCR1	WFS1	GBA2
CACNA1A	ANO10	TDP1	FOLR1	ZNF592	KCND3
FGF14	APTX	CYP27A1	GOSR2	POLG	FAM36A
ITPR1	CABC1	HEXA	KCNJ10	GRM1	ABCB7
KCNA1	KIAA0226	HEXB	OPHN1	ATP8A2	ATCAY
KCNC3	MRE11A	AAAS	PIK3R5	DNMT1	DARS2
PDYN	MTPAP	AARS	RELN	WDR81	SLC2A1
PRKCG	SACS	AP1S2	RNF170	SYT14	
SPTBN2	SETX	CASK	SLC9A6	VAMP1	
TGM6	SIL1	VLDLR	SRD5A3	PRRT2	

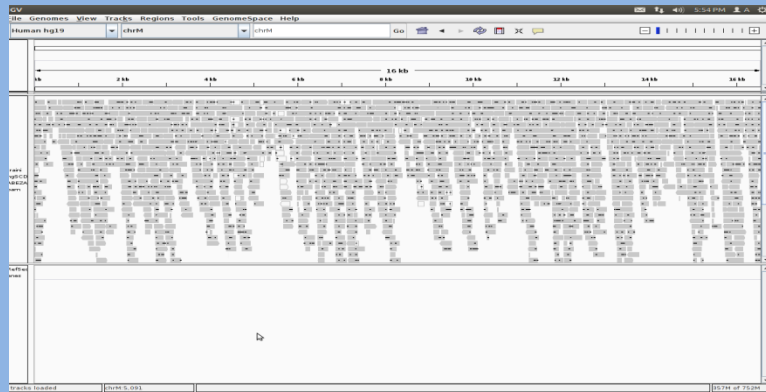
Referrals are accepted from Clinical Geneticists, Neurologists and Paediatric Neurologists for patients who have had the standard testing for Spinocerebellar ataxias 1-3, 6, 7, 17 and Friedreich ataxia. For late onset cases we also recommend testing for FX-TAS. We aim to report routine diagnostic tests within 80 days and the cost of the Ataxia NGS panel is £1173.00.

### Laboratory Contact

Dr Penny Clouston Tel: 01865 225592  
 penny.clouston@ouh.nhs.uk



# Estudio de genética mitocondrial con NGS



Enfermedades mitocondriales:  
-mutaciones puntuales  
-deleciones, duplicaciones

Trastornos mitocondriales  
S. Fatiga crónica  
HiperCKemia  
Intolerancia ejercicio

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS COMPUTATIONAL BIOLOGY

## Next-Generation Sequencing of Human Mitochondrial Reference Genomes Uncovers High Heteroplasmy Frequency

Maria Ximena Sosa<sup>1,9</sup>, I. K. Ashok Sivakumar<sup>1,2,9</sup>, Samantha Maragh<sup>1,3</sup>, Vamsi Veeramachaneni<sup>4</sup>, Ramesh Hariharan<sup>4</sup>, Minothi Parulekar<sup>4</sup>, Karin M. Fredrikson<sup>5</sup>, Timothy T. Harkins<sup>5,6</sup>, Jeffrey Lin<sup>2</sup>, Andrew B. Feldman<sup>2</sup>, Pramila Tata<sup>4</sup>, Georg B. Ehret<sup>1</sup>, Aravinda Chakravarti<sup>1\*</sup>

**1** McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins School of Medicine, Baltimore, Maryland, United States of America, **2** Johns Hopkins University Applied Physics Laboratory, Laurel, Maryland, United States of America, **3** National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, United States of America, **4** Strand Life Sciences, Bangalore, India, **5** Roche Diagnostics, Indianapolis, Indiana, United States of America, **6** Life Technologies, Beverly, Massachusetts, United States of America

### Abstract

We describe methods for rapid sequencing of the entire human mitochondrial genome (mtgenome), which involve long-range PCR for specific amplification of the mtgenome, pyrosequencing, quantitative mapping of sequence reads to identify sequence variants and heteroplasmy, as well as *de novo* sequence assembly. These methods have been used to study 40 publicly available HapMap samples of European (CEU) and African (YRI) ancestry to demonstrate a sequencing error rate  $< 5.63 \times 10^{-4}$ , nucleotide diversity of  $1.6 \times 10^{-3}$  for CEU and  $3.7 \times 10^{-3}$  for YRI, patterns of sequence variation consistent with earlier studies, but a higher rate of heteroplasmy varying between 10% and 50%. These results demonstrate that next-generation sequencing technologies allow interrogation of the mitochondrial genome in greater depth than previously possible which may be of value in biology and medicine.

## Secuenciación de genoma completo: un salto cualitativo en los estudios genéticos

Adriano Jiménez-Escrig, Isabel Gobernado, Antonio Sánchez-Herranz

**Resumen.** En estos momentos se encuentra en plena expansión la llamada secuenciación paralela o de síclon –next generation sequencing (NGS)–, que establece un salto de varios órdenes de magnitud en la fragmentos secuenciados y la rapidez de su secuenciación. La NGS permite la secuenciación de un genoma completo en el tiempo y el coste económico de secuenciar dos o tres genes grandes con la técnica de Sanger. A se pasa de examinar genes específicos seleccionados mediante estudio del fenotipo a explorar genomas pos humanos o de otras especies. Esto está permitiendo conocer no sólo cómo es un genoma individual, bta el genoma humano de persona a persona, cómo difieren los genomas entre diferentes grupos hum cómo difiere el genoma de un tumor respecto del genoma sano del hosped.

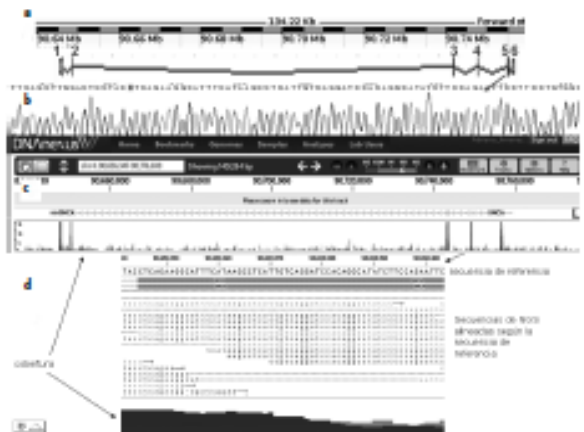
**Palabras clave.** Exoma. Genoma. Next generation sequencing. Secuenciación.

### Introducción

La secuenciación del ADN consiste en determinar el orden de las bases A, C, G y T en un fragmento de ADN. La secuenciación utilizada hasta la fecha se realiza por el método descrito por Sanger et al en 1977 [1], que permite obtener la secuencia de un fragmento determinado de ADN, un gen o parte de éste, como, por ejemplo, uno o varios exones (Figura, a). Con esta técnica se obtienen secuencias de hasta 500 bases aproximadamente (Figura, b). Sin embargo, la alta demanda de secuenciación ha llevado al desarrollo de tecnologías de secuenciación masiva basadas en realizar múltiples secuencias con-

4]. Mediante la NGS es posible la secu genoma humano completo de un indivi mo tiempo y coste económico que la se dos o tres genes grandes con la técnica.

La secuenciación del ADN ha prodi bto radical en la manera de entende por la cual se ha pasado de estudiar la síndose en patrones de transmisión o bilísticas a conocer cuáles son las ca esta herencia. Sin embargo, sus limita lógicas han centrado los estudios gené duos con un fenotipo definido y ení herencia mendeliana producida por dos o a la búsqueda de genes causale



## Tabla I. Indicaciones de estudios de exoma.

### Enfermedades hereditarias con amplia lista de genes candidatos (>3)

Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT)

Miopatías

Enfermedad de Parkinson familiar, distonías y otros movimientos anormales

Epilepsia

Leucodistrofias: CADASIL y otros

Esclerosis lateral amiotrófica

Demencias hereditarias

### Indicaciones

### Enfermedades progresivas de causa no aclarada

### Procesos largos y costosos

Esclerosis múltiple

Polineuropatía crónica inflamatoria desmielinizante

### Otras indicaciones

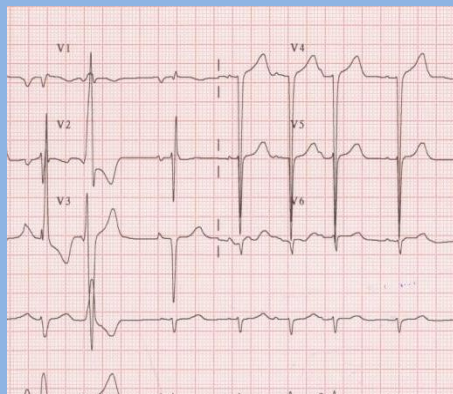
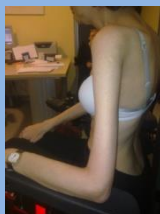
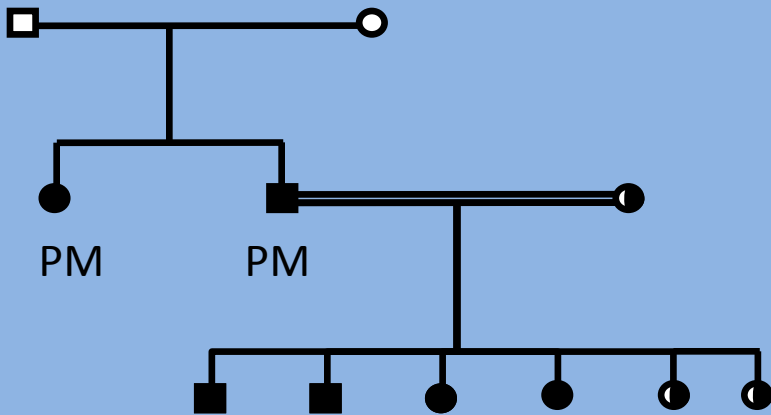
### Si existe un fuerte gen candidato (enfermedad de Huntington, CMT tipo 1)

### Enfermedades producidas por expansiones (por ejemplo, heredoataxias)

### Enfermedades producidas por reordenamientos del genoma (por ejemplo, distrofia facioescapulohumeral)

### No indicado

### ¿Variaciones en el número de copias?



### CASE OF THE MONTH

## AUTOSOMAL RECESSIVE EMERY-DREIFUSS MUSCULAR DYSTROPHY CAUSED BY A NOVEL MUTATION (R225Q) IN THE LAMIN A/C GENE IDENTIFIED BY EXOME SEQUENCING

ADRIANO JIMENEZ-ESCRIG, MD, PhD,<sup>1,2</sup> ISABEL GOBERNADO, MD,<sup>2,3</sup> MERCEDES GARCIA-VILLANUEVA, MD, PhD,<sup>4</sup> and ANTONIO SANCHEZ-HERRANZ, BS, PhD<sup>2,5</sup>

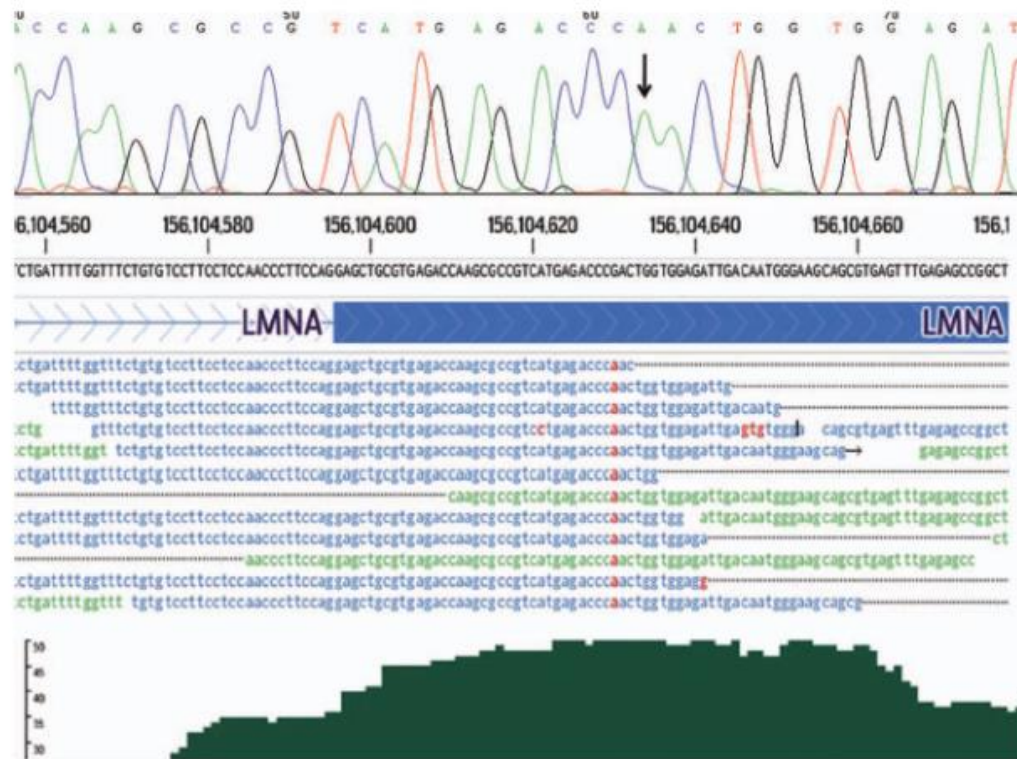


FIGURE 3. Next-generation sequencing multiple alignments at *LMNA* gene exon 4, showing the G→A mutation; and Sanger sequencing at this locus (top). [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com).]

ACTIVO CONSULTA REMITIDA PARA ESTUDIO METABOLICO POR RETRASO PSICOMOTOR SEVERO.  
**ENFERMEDAD ACT.** HEMBRA DE 3 A. NACIDA EN LA PAZ DE EMBARAZO A TERMINO CON PARTO NORMAL DE 4 L. DE DURACION TOTAL CON EXPULSION DE 30 MIN. PRESENTA CIREFACION Y REGAR NORMAL. RECLSA POTA 22 HORAS. DESDE LOS PRIMEROS DIA DE VIDA SUCCION Y LLANTO DEBTL. MANTUVO CAPEZA A LOS 42 MESES DE VIDA SIN SENTIR SIN APRIJA A LOS 24-26 MESES. DIAGNOSTICADA DE RETRASO PSICOMOTOR DESDE EL 1800MO MES CON TAC-REG NORMALES. DESDE ENTONCES REHABILITACION. NUNCA EPISODIOS CONVULSIVOS. CRISTOTONOS FRECUENTES EN LOS PRIMEROS MESES DE VIDA.

**ANTEC. PERSON.** APARTE DE LOS YA REFERIDOS. VACUNA TRIPLE VIRICA A LOS 13 MESES ANTICUERPOS ANTIRUBELLA (POSITIVO) DESPUES DE LA VACUNA. BIOPSIA HEPATICA Y DE PIEL NORMALES (INI 3 JESUS). EMBARAZO RX DIENTES EN EL 3 MES. DUDA DE CONTACTO CON RUBELA EN LAS PRIMERAS SEMANAS. MEDICIA CLINICA PAULATINA CON ESTIMULACION SIN PERDIDA DE HITOS ADQUIRIDOS.

**ANTEC. FAMIL.** PADRES VIVEN SANOS. SIN ANTECEDENTES FAMILIARES. HIJA UNICA.

**EXPL. CLINICA** PESO 10,3 KG. (P. 3-10) TALLA 87 CM. (P. 3-10) PC 47,3 CM. (P. 3-10) BUEN ESTADO GENERAL. PIEL Y MUCOSAS NORMALES. FIJA LA MIRADA DE VIZ EN CUANDO (SI LE INTERESA), SUARIE A VECES (NO SIEMPRE CUE EL EXPLORADOR QUIERE). MANTIENE CAPEZA Y SE MANTIENE SENTADA EN JOCASTINOS SE DESOCCOCTA TOTALMENTE EMITINDO RESCPIIDOS SIN CONVULSIONES. CRANEO NORMAL. NO SOPLOS. TORAX Y ABCCOMOS NORMALES. PARES CRANIALES NORMALES. MACULA NORMAL. FONDO DE OJO EN SAL Y PIMBENTA CON PAPILAS LIGERAMENTE PALIDA Y TRANSPARENCIA PETITIANA QUIR PERMITE VISUALIZAR RED CROIDEA. NO SE PARECIA MANCHA ROJO - CAPEZA. POT SIMETRICOS Y VIVOS. TONO MUSCULAR NORMAL. PLANTAR EI EXTENSION. NO IMPORR. NO SE MANTIENE DE PIE.

**ANALITICA** SANGRE ESTUDIOS VIRUS RUBELLA 1/64. CITOMEGALOVIRUS 1/18. HERPES 1/32. VARICELL 1/18. EN LCR TODI NEGATIVO. RESUMEN INFECCION SANGRE A RUBELLA (VACUNACION). CULTER 1.200 LEUCOCITOS CON FORMULA NORMAL. HB 12,4 G% CON N°HE, VCM, HCM NORMALES. HITACHI NORMALES. PH Y GASES NORMALES. IHA ANTES Y DESPUES DE APORTE DE 7 GR. PROTEINAS NORMALES.

**RADIOLOGIA** TAC RIGUROSAMENTE NORMAL.

**EXPL. COMPL.** CARIOTIPO 46XX FEMENINO NORMAL. BRG EN VENTILIA Y SUERO SIN PATOLOGIA. LCR NORMAL. SEMIUNICIONES EN SANGRE - URINA Y ~~MESES~~ NORMALES. POTENCIALES EVOCADOS AUDITIVOS NORMALES. BIOPSIA RETINAL NO SE CONSIGUE HACER TOMA LO SUFICIENTEMENTE PROFUNDA PARA DETENER NEURONAS. TRAS HABLAR CON LOS PADRES Y TENIENDO BIOPSIA DE PIEL NORMAL. SE DECIDE NO REPETIR. ESTUDIO EN BARCELONA. SE REALIZO MUESTRAS DE SUERO Y URINA PARA

**PAG. 2**  
 DESCARTAR DEFICIT DE SULFATASAS - HEXOSAMINIDASAS. AUNQUE CLINICAMENTE DESCARTAMOS LA POSIBILIDAD DE NIEMUN PICK (HEXOSAMINIDASAS), KRAEHLI (BETAGALACTOGLUCOSIDASA), GANGLIOSIDOSIS (HEXOSAMINIDASAS) Y LEUCODISTROFIA METACROMATICA (ACILINILFATASAS). NO SE REMITE A ETIOLÓGICOS PUES EL RESULTADO DE OTRA ANALITICA ASI COMO LA EVOLUCION DE LA NI 4 PARECE DESCARTAR ENFERMEDAD DE ORIGEN METABOLICO.

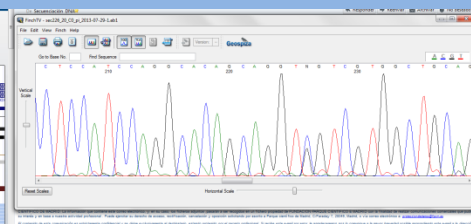
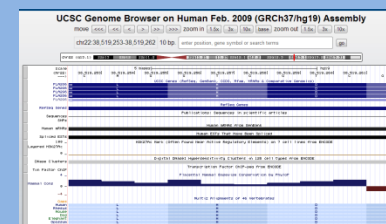
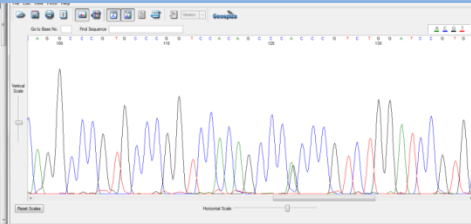
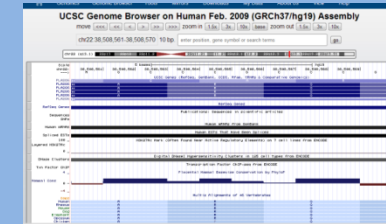
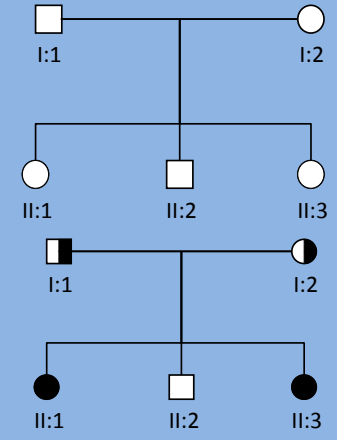
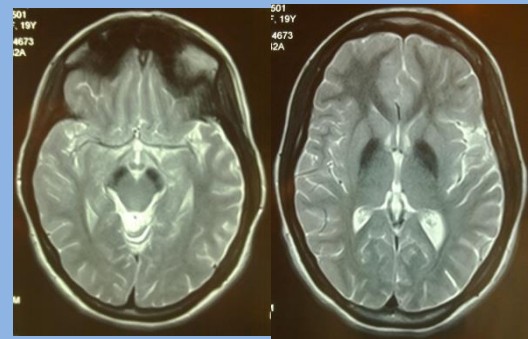
**DIAGNOSTICO** POR RETRASO DE ADQUISICION DE HITOS DE DESARROLLO. MEDICINA CON ESTIMULACION. NO PERDIDA DE HITOS ADQUIRIDOS. AUSENCIA DE APROXACION EN EL TAC. CE SPITENCIA BLANCA YFC O'IS. AUSENCIA DE LESION OFTALMOLOGICA. AUSENCIA DE DEPOSITOS EN PIEL E HIGADROBIOPSIA DE CTRC CENTRO HOSPITALARIO). AUSENCIA DE TRANSORNOS EN METABOLISMO AMINACIDOS. AUSENCIA DE APROXACION EN PRIT. LCR. POTENCIALES EVOCADOS. CRECIMOS RUEDAS TRATARSE DE ENCEFALOPATIA MODERADA - SEVERA DE PATALE ETIOLOGIA (HIPOXIA YFC INFECCIOSA). PENDIENTES DE SULFATASAS Y DE HEXOSAMINIDASAS.

**TRATAMIENTO** REHABILITACION Y ESTIMULACION.

**RECOMENDACIONES** CONSEJO GENETICO. NO TENEMOS DATOS PARA INDICAR LA LIMITACION DE FUTURIS EMBARAZOS, SALVO LA EDAD ACTUAL DE MADRE, 30 A.

Tabla I. Indicaciones de estudios de exoma.

Enfermedades progresivas de causa no aclarada



exonic PLA2G6 nonsynonymous SNV PLA2G6:NM\_003560:exon16:c.C2221T:p.R741W 0.01 0.968233

exonic PLA2G6 synonymous SNV PLA2G6:NM\_003560:exon11:c.C1494T:p.I498I

exonic PLA2G6 nonsynonymous SNV PLA2G6:NM\_003560:exon11:c.C1435G:p.H479D 0.01 0.964521

**MOTIVO CONSULTA** NIÑO CON ESTUDIO METABOLICO POR RETRASO PSICOMOTOR SEVERO.  
**ENFERMEDAD ACT.** NIÑA DE 3 A. NACIDA EN LA PZ DE EMBARAZO A TERMINO CON PARTO NORMAL DE 9 L. DE DURACION TOTAL CON EXPULSION DE 30 MIN. PRESENTACION VERTICAL Y REGIA NORMAL. RECLAMATA 12 HORAS. DESDE LOS PRIMEROS DIAS DE VIDA SUCCION Y LLANTO DEBIL. MANTUVO CABEZA A LOS 12 MESES DE VIDA DE SENTIR SIN AYUDA A LOS 24-26 MESES. DIAGNOSTICADA DE RETRASO PSICOMOTOR DESDE EL DECIMO MES CON TAC-ERG NORMALES. DESDE ENTONCES REHABILITACION. NUNCA EPISODIOS CONVULSIVOS. EPISODIOS FRECUENTES EN LOS PRIMEROS MESES DE VIDA.

**ANTEC. PERSON.** APARTE DE LOS YA REFERIDOS VACUNA TRIPLE VIRICA A LOS 13 MESES ANTICUROPES ANTIARUBELA (POSITIVO) DESPUES DE LA VACUNA. BICPSIA HEPATICA Y DE PIEL NORMALES (NI 3 JESUS). EMBARAZO RX DIENTES EN EL 8 MES. DUDA DE CONTACTO CON RUBOLA EN LAS PRIMERAS SEMANAS. MEJORIA CLINICA PAULATINA CON ESTIMULACION SIN PERDIDA DE HITOS ADQUIRIDOS.

**ANTEC. FAMIL.** PADRES VIVEN SANOS. SIN ANTECEDENTES FAMILIARES. HIJA UNICA.

**EXPL. CLINICA** PESO 10,8 KG. (P.3-10) TALLA 107 CM. (P.3-10) PC 47,3 CM. (P.3-10) BUCA ESTADO GENERAL. PIEL Y MUCOSAS NORMALES. FIJA LA MIRADA DE VIZ EN CUANDO (SI LE INTERESA), SMILIE A VECES (NO SIEMPRE CLE EL EXPLORADOR QUIERE). MANTIENE CABEZA Y SE MANTIENE SENTADA EN JOCASTIONES SE DESCONECTA TOTALMENTE EMITINDO RESCPLIDOS SIN CONVULSIONES. CRANEO NORMAL. NO SOPLOS. TORAX Y ABDOMEN NORMALES. PARES CRANIALES NORMALES. MACULA NORMAL. FONDO DE OJO EN SAL Y PIMIENTA CON PAPILA LIGERAMENTE PALIDA Y TRANSPARENCIA RETINIANA QUE PERMITE VISUALIZAR RED COCAIDEA. NO SE PARECE MANCHA ROJO - CEREZA. PRT SIMETRICOS Y VIVOS. TENC MUSCULAR NORMAL. PLANTAR SI EXTENSION. NO MARCHA. NO SE MANTIENE DE PIE.

**ANALITICA** SANGRE ESTUDIOS VIRUS RUBOLA 1/64. CITOMEGALOVIRUS 4/8. HERPES 1/32. VARICELLA 4/8. EN LCR TODI NEGATIVO. RESUMEN INFECCION PASAJE A RUBOLA (VACUNACION). CULTER SANGRE LEUCOCITOS CON FORMULA NORMAL. HB 12,8 G/L CON N° HB, VCM, HCM NORMALES. HITACHI NORMALES. PH Y GASES NORMALES. UR4 ANTES Y DESPUES DE APORTE DE 7 CR. PROTEINAS NORMALES.

**RADIOLOGIA** TAC RIGOROSAMENTE NORMAL.

**EXPL. COMPL.** CARIOTIPO 46XX FEMENINO NORMAL. ERG EN VITRELA Y SUERO SIN PATOLOGIA. LCR ANTICUROPES EN SANGRE - URINA Y *suero* NORMALES. POTENCIALES EVOCADOS AUDITIVOS NORMALES. BIOPSIA RECTAL NO SE CONSIGUE HACER TOMA LO SUFICIENTEMENTE PROFUNDA PARA DETENER NEURONAS. TRAS HABLAR CON LOS PADRES Y TENIENDO ATENCIÓN A SU PIEL NORMAL. SE DECIDE NO REPETIR. DETECTADO EN BIOPSIA. SE REALIZAN MUESTRAS DE SUELO Y ORINA PARA

PAG. 2  
 DESCARTAR DEFICIT DE SULFATASAS - HEXOSAMINIDASAS. AUNQUE CLINICAMENTE DESCARTAMOS LA POSIBILIDAD DE NISSON PICK (ESFINGOMIELINASA), KRAEHL (BETA-GALACTOGLUCOSINASA), GANGLIOSIDOS (HEXOSAMINIDASAS) Y LEUCODISTROFIA METABOLICA (ACILNIFATASAS). NO SE REHITEN ESTUDIOS PUES EL RESULTADO DE OTRA ANALITICA ASI COMO LA EVOLUCION DE LA NIJA PARECE DESCARTAR ENFERMEDAD DE ORIGEN METABOLICO.

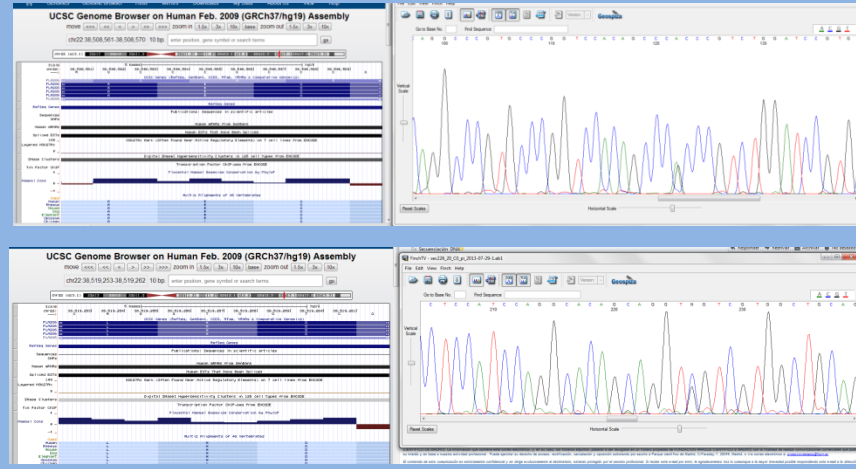
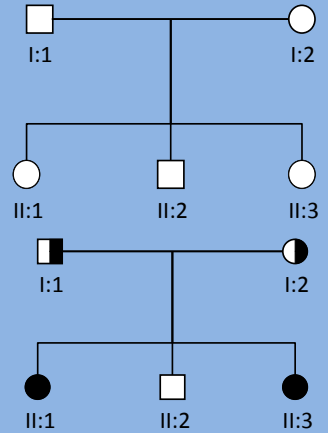
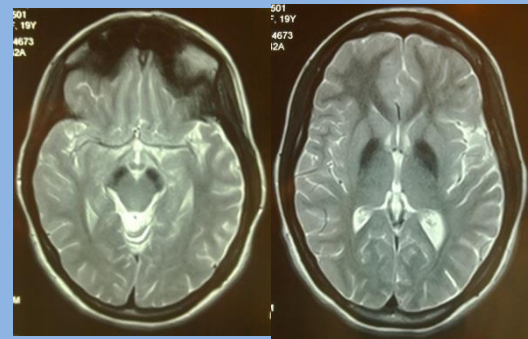
**DIAGNOSTICO** POR RETRASO DE ADQUISICION DE HITOS DE DESARROLLO. MEJORIA CON ESTIMULACION. NO PERDIDA DE HITOS ADQUIRIDOS. AUSENCIA DE APTACION EN EL TAC, DE SPTENCIA BLANCA Y/G RIAS. AUSENCIA DE LESION OFTALMOLOGICA. AUSENCIA DE DEPOSITOS EN PIEL E HIGADO (BIOPSIA DE CTRC CENTRO HOSPITALARIO). AUSENCIA DE TRANSORNOS EN METABOLISMO AMINACIOS. AUSENCIA DE APTACION EN PRT. LCR. POTENCIALES EVOCADOS. CREAMOS PUEDE TRATARSE DE ENCEFALOPATIA MODERADA - SEVERA DE PROBABLE ETIOLOGIA ADQUIRIDA (HIPOXIA Y/O INFECCIOSA). PENDIENTES DE SULFATASAS Y DE HEXOSAMINIDASAS.

**TRATAMIENTO** REHABILITACION Y ESTIMULACION.

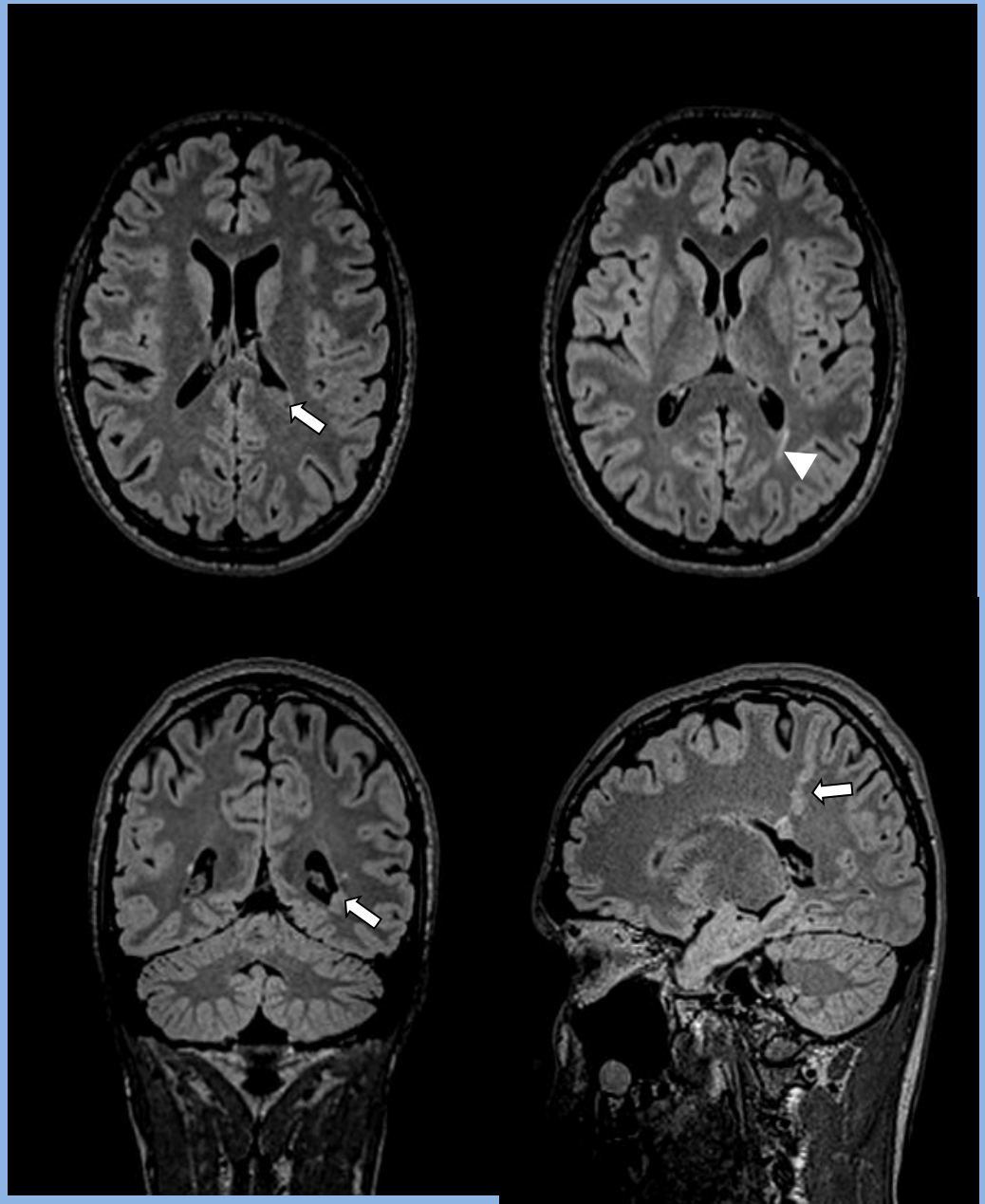
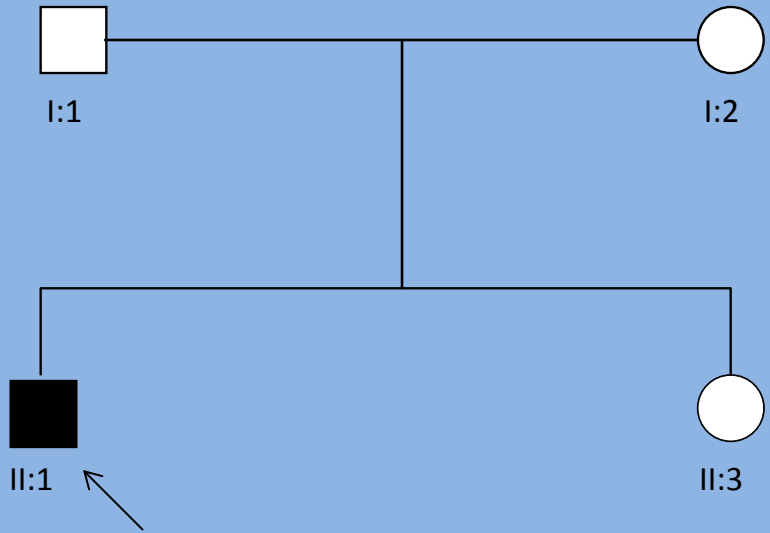
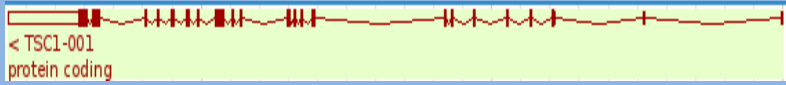
**RECOMENDACIONES** CONSEJO GENETICO. NO TENEMOS DATOS PARA INDICAR LA LIMITACION DE FUTURIS EMBARAZOS, SALVO LA EDAD MADRE, 30 A.

Tabla I. Indicaciones de estudios de exoma.

Enfermedades progresivas de causa no aclarada



exonic PLA2G6	nonsynonymous SNV	PLA2G6:NM_003560:exon16:c.C2221T:p.R741W	0.01	0.968233
exonic PLA2G6	synonymous SNV	PLA2G6:NM_003560:exon11:c.C1494T:p.I498I		
exonic PLA2G6	nonsynonymous SNV	PLA2G6:NM_003560:exon11:c.C1435G:p.H479D	0.01	0.964521



## What can exome sequencing do for you?

Jacek Majewski,<sup>1,2</sup> Jeremy Schwartzentuber,<sup>1</sup> Emilie Lalonde,<sup>1,2</sup>  
Alexandre Montpetit,<sup>1</sup> Nada Jabado<sup>2,3</sup>

### ABSTRACT

Recent advances in next-generation sequencing technologies have brought a paradigm shift in how medical researchers investigate both rare and common human disorders. The ability cost-effectively to generate genome-wide sequencing data with deep coverage in a short time frame is replacing approaches that focus on specific regions for gene discovery and clinical testing.

an estimated cost of \$2.7 billion.<sup>6-8</sup> In 2008, by comparison, a human genome was sequenced over a 5-month period for approximately \$1.5 million<sup>9</sup> and now, in 2011, sequencing a whole genome is done over a period of a few days and is soon projected to cost less than \$1000. The latter accomplishment was made possible by the commercial launch of the first massively parallel synome-

exome, non-coding RNAs, highly conserved regions of the genome, disease-associated ID blocks or other regions of interest. Because the exome represents only approximately 1% of the genome or about 30 Mb, vastly higher sequence coverage can be readily achieved using second-generation sequencing platforms with considerably less raw sequence and cost than WGS. For example, whereas 90 Gb of sequence is required to obtain 30-fold average coverage of the genome, 75-fold average coverage is achieved for the exome with only 3 Gb of sequence using the current state-of-the-art platforms for targeting.<sup>17, 18</sup> However, there are inefficiencies in the targeting process. For example, uneven capture efficiency across exons can result in exons with low sequence coverage, and off-target hybridisation means that at least 20% of reads come from genomic DNA outside the exome. In addition, exome capture is not complete. Indeed, the

simply reflect the wish to know what genetic information they are born with. Until 2008 such questions usually remained unanswered because, even for some Mendelian disorders, we did not know how to identify causative mutations within our genome. Indeed, our individual genomes contain variants which may protect us against or increase our susceptibility to our environment and the multiple stressors we encounter during our lifespan. Knowing these variants can perhaps allow us to better prepare or to avoid the negative impacts they might have on our health, lifespan and offspring. In the short years since the first commercial platform became available, NGS has dramatically accelerated multiple areas of genomics research, enabling experiments that previously were not technically feasible or affordable. In this paper we describe the major ongoing applications of NGS as they pertain to WES.

### ➤ Herramienta diagnóstica que es:

- no invasiva
- económica
- tiempo de realización corto

→ 1er nivel de screening de pacientes con miopatías

### ➤ Aplicabilidad en casos “no genéticos”

### ➤ Medicina personalizada

- Un escalón más en el diagnóstico
- Interacción de genes/hallazgos incidentales/farmacogenómica

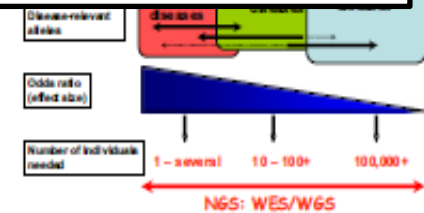
→ Programas de pacientes sin diagnóstico

ent in 1988<sup>1</sup> and revolutionised our approach to the study of DNA, and that in turn revolutionised the molecular analysis of mammalian genes. In 1977 two landmark articles describing methods for DNA sequencing were published.<sup>4, 5</sup> The approach reported by Sanger and colleagues was further refined and commercialised leading to its dissemination throughout the research community and, ultimately, into clinical diagnostics. In an industrial high-throughput configuration, Sanger technology was then used in the sequencing of the first human genome which was completed in 2001 through the Human Genome Project, a 13-year effort with

gigabases of nucleotide sequence from a single instrument run, depending on the platform. Targeted sequencing approaches have the general advantage of increased sequence coverage of regions of interest—such as coding exons of genes—at lower cost and higher throughput compared with random shotgun sequencing methods.<sup>9-12</sup> Most large-scale methods for targeted sequencing use a variation of a hybrid selection approach. Complementary nucleic acid “baits” are used to “fish” for regions of interest in the total pool of nucleic acids, which can be DNA<sup>13-15</sup> or RNA.<sup>16</sup> Any subset of the genome can be targeted, including

**Table 1** Comparison of commercially available technologies for human whole exome capture (numbers taken from their respective data sheets)

Probe size	Agilent 120 bases	RocheGen 55–105 bases	Illumina 95 bases
Target region size	50 Mb	44.1 Mb	62 Mb
Probe type	RNA	DNA	DNA
No. of probes	561824	2.1M	340427
No. of targeted exons	188280	~300 000	201121
Reads on target (%)	> 85	> 85	> 85
On target: ≥200 bases (%)	77	83	80
Reads with > 0.2× mean read coverage (%)	> 85	> 85	> 85



**Figure 1** Roadmap for the application of next generation sequencing technologies for the identification of disease-relevant genomic variations.

Muchas gracias