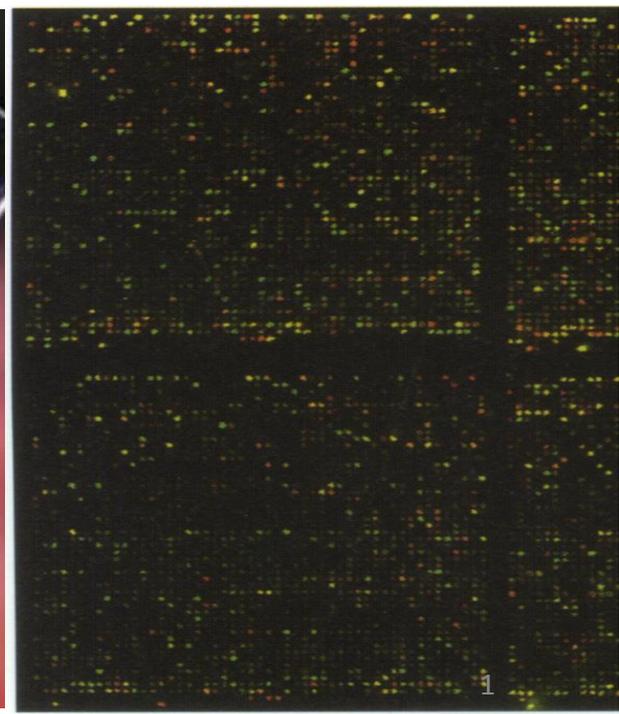


マイクロアレイ染色体検査 1 結果解釈の基礎知識

臨床遺伝センター 外木秀文



# 1 マイクロアレイ染色体検査の原理: CGHとSNIPアレイ

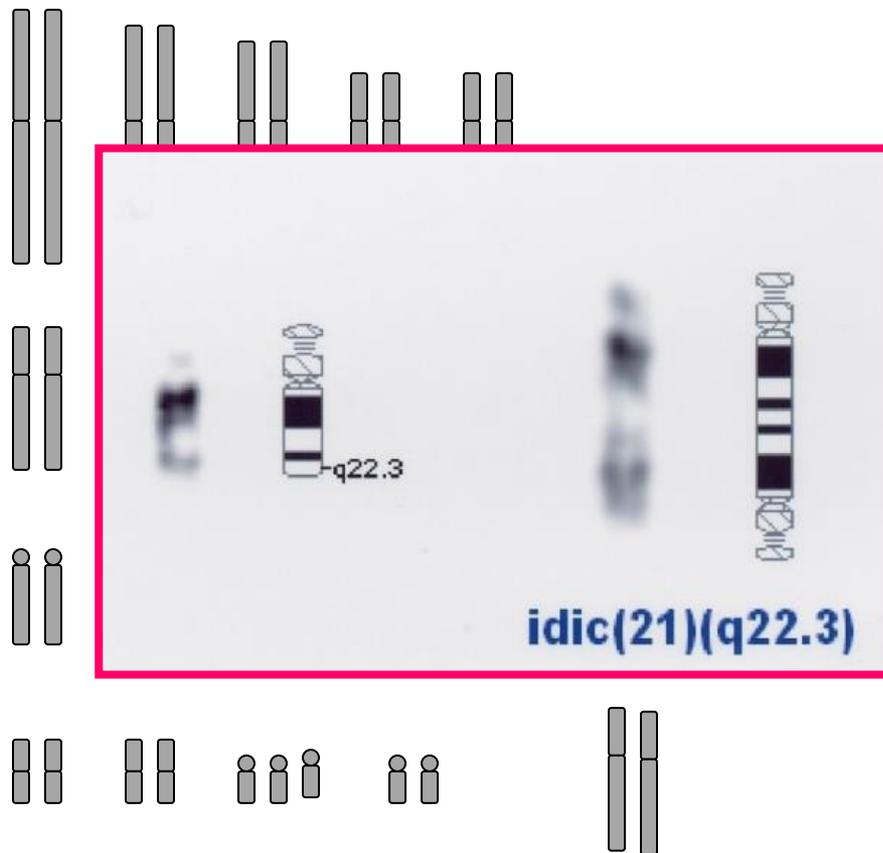
天使病院周産期センターで生まれたダウン症女児 TM

彼女には G-banding で染色体異常が認められた  
46,XX,t(13;21),idic(21)(q22)

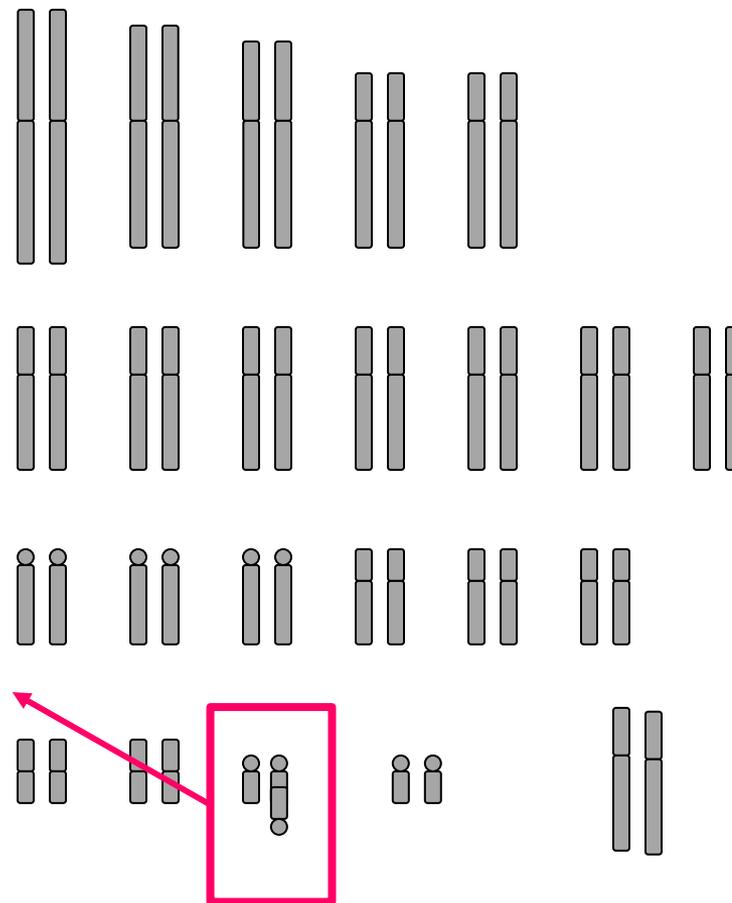


# この患者TMの染色体異常は

## トリソミー型ダウン症



## TM

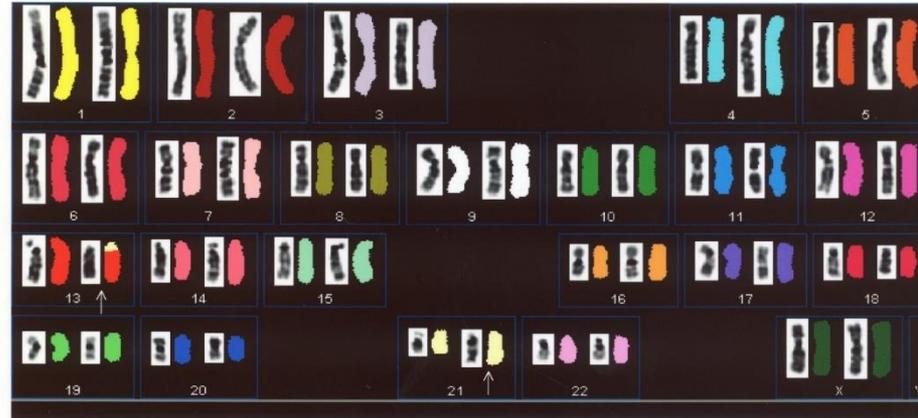


# いろいろ調べてみました

## A G-banding

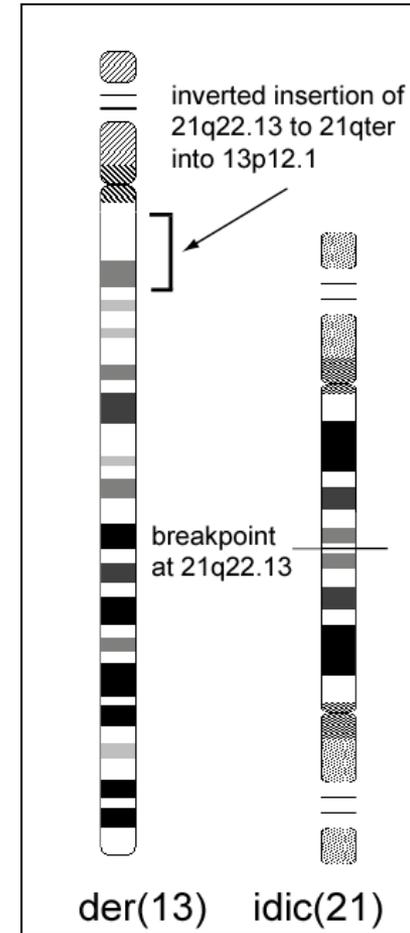


## B Multi-color FISH whole chromosome painting

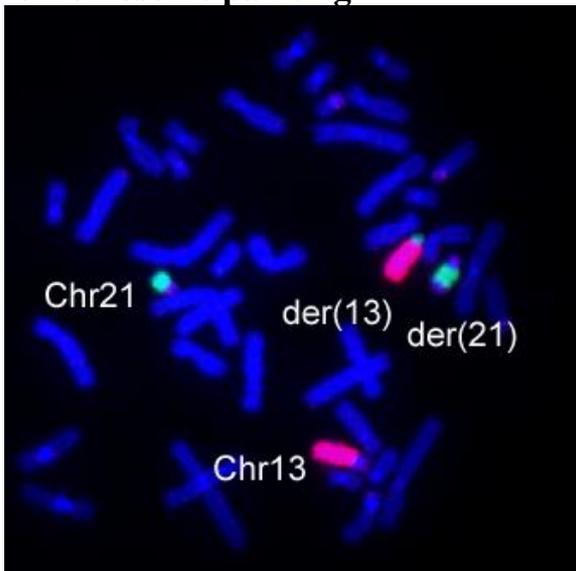


Comprehensive Karyotyping (left side: reverse DAPI; right side: SKY)

## E ideogram

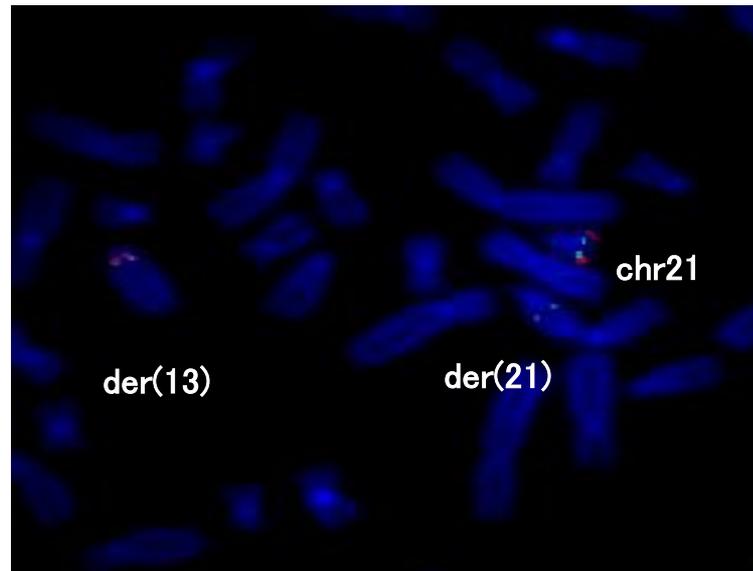


## C Two-color FISH whole chromosome painting



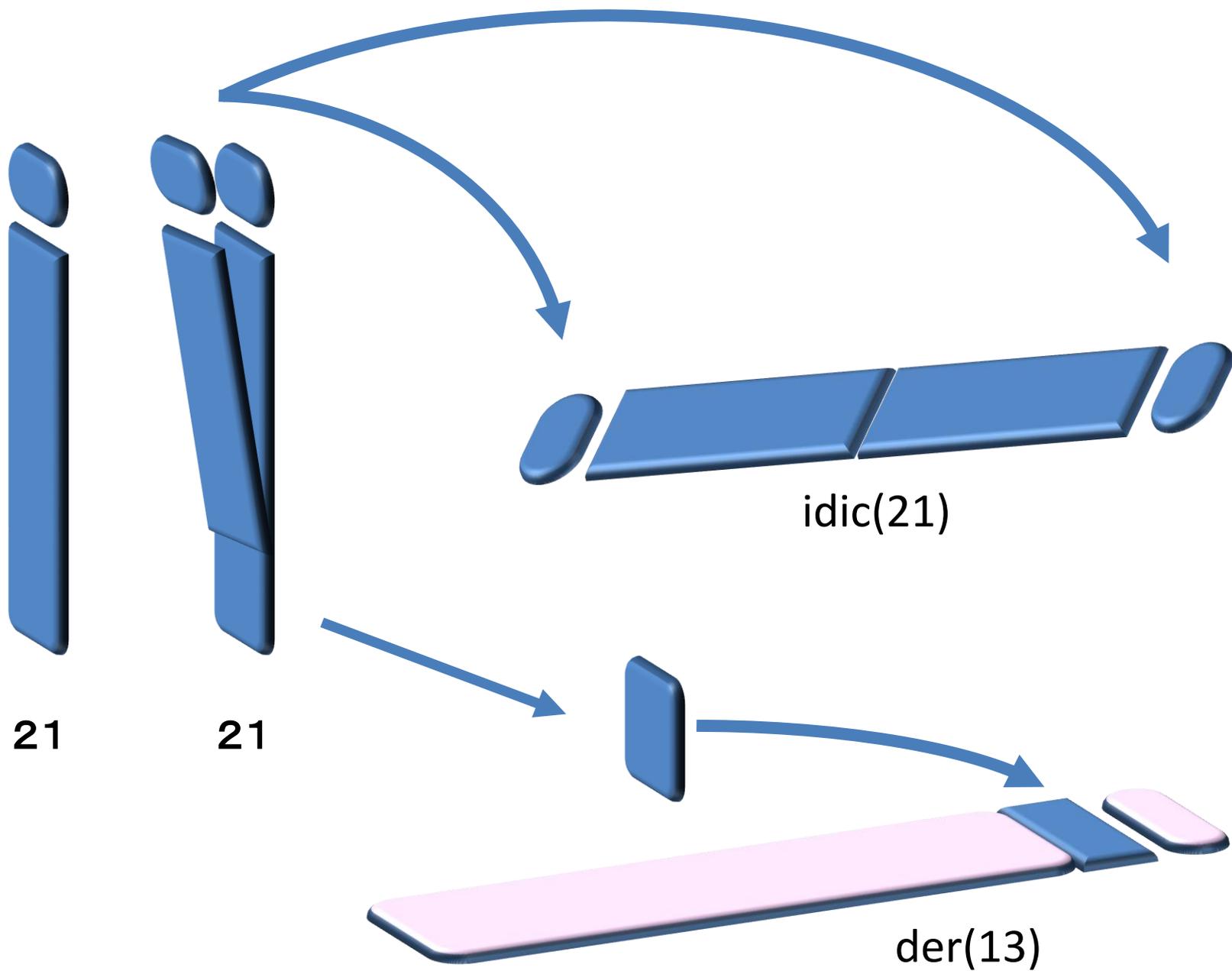
Chromosome 13: red  
chromosome 21: green

## D FISH with BAC clones on 21q22.13

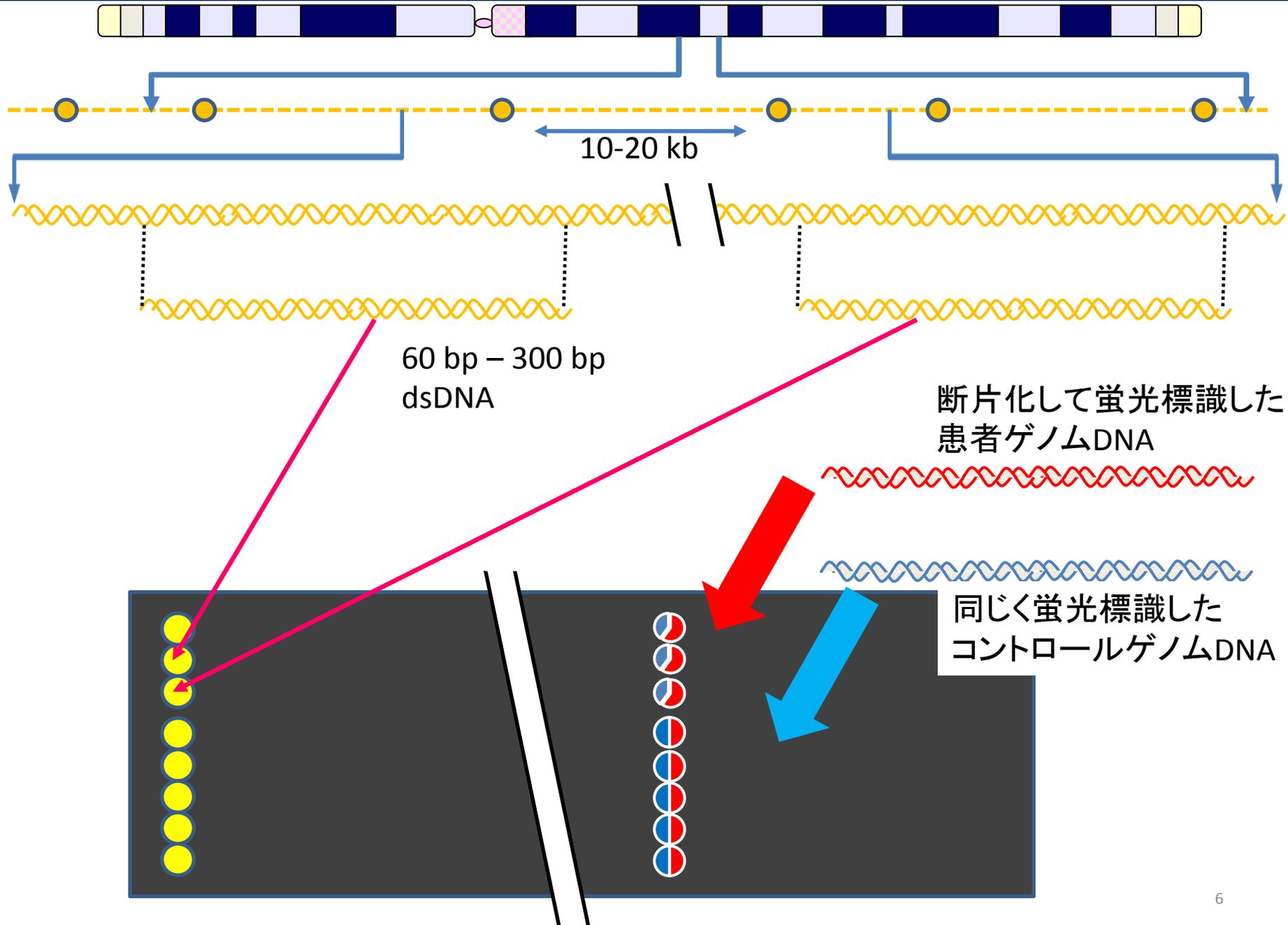


BAC RP11-1012D8 (green), hybridized to metaphase chromosomes from the patient, shows signals on both der(13) and der(21) as well as chromosome 21. This clone was located just on the 21q breakpoint. BAC RP11-124E9 (red) was seen on the normal chromosome 21 and der(13), but not observed on der(21).

# この患者TMの染色体異常を分かりやすく図示すると



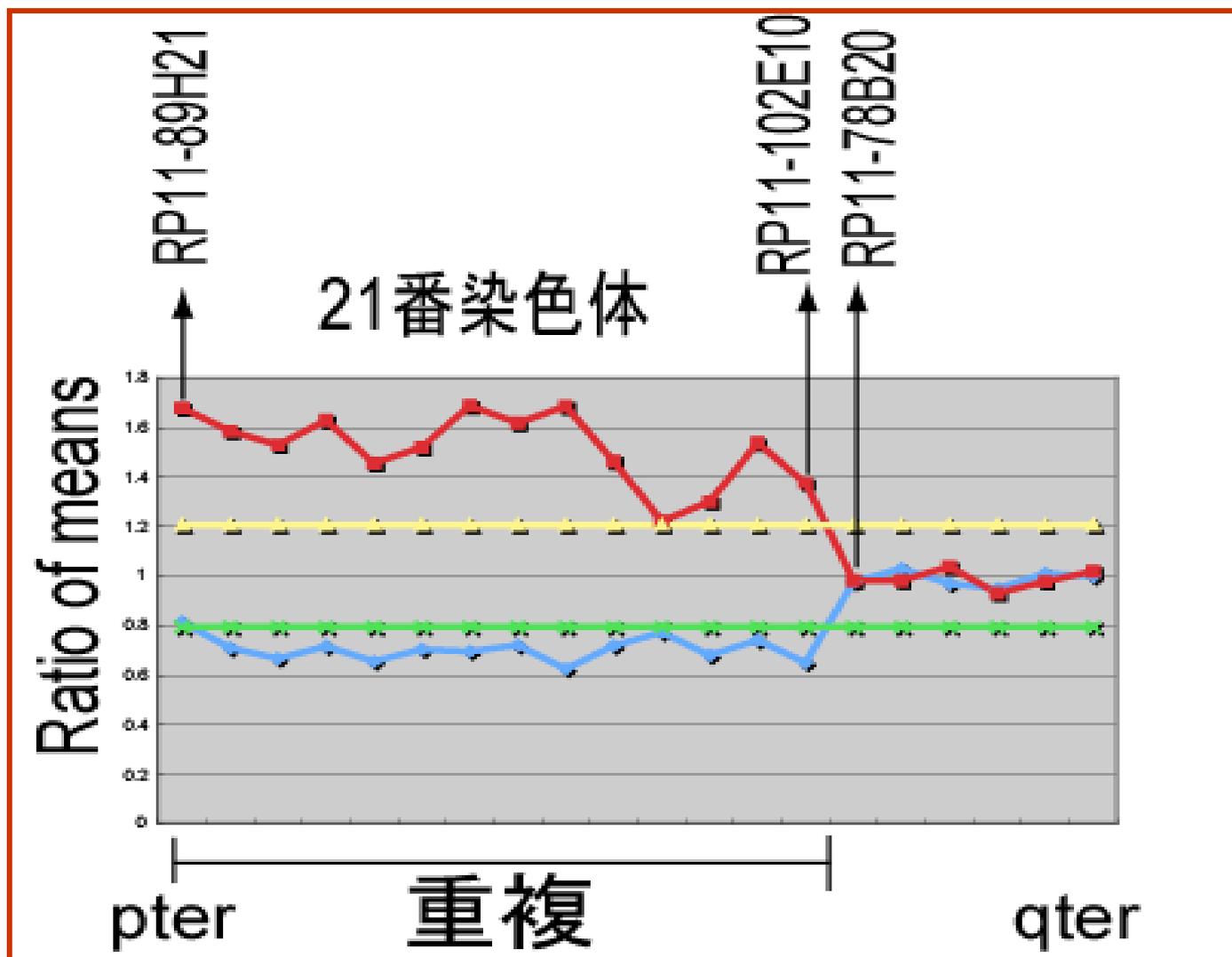
# アレイCGH comparative genomic hybridizationの原理

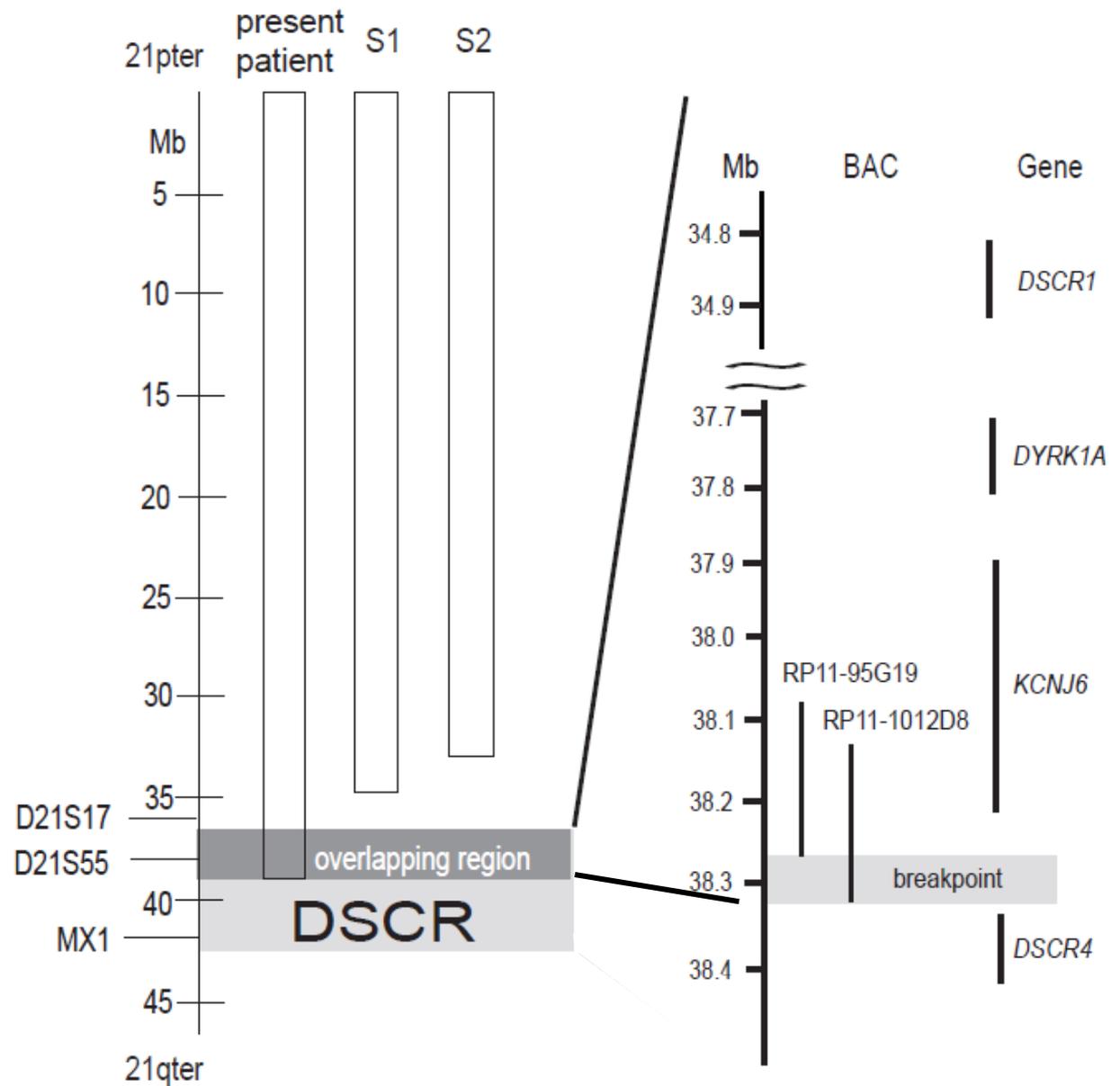


# TMのアレイCGHの結果

アレイCGHの結果:

切断点は21q22.13 上のRP11-102E10とRP11-78B20間にある





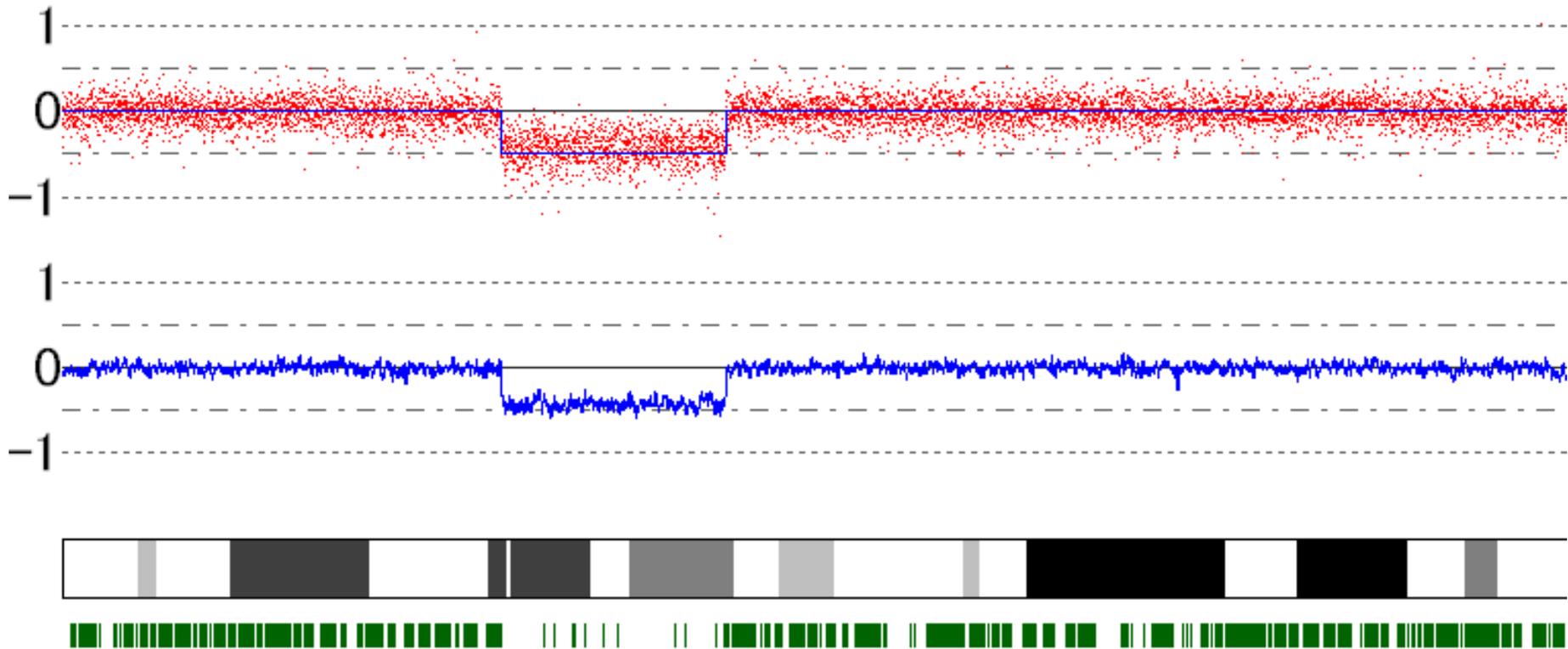
**b**

患者 KY (M) MCA/MR

10番染色体の欠失:

46, XY, del(10)(p13.1p12.1) inv(10)(p12.2q22.1)

Ch10

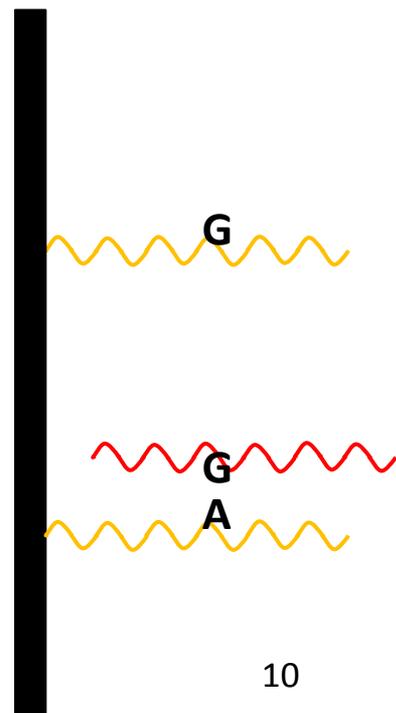
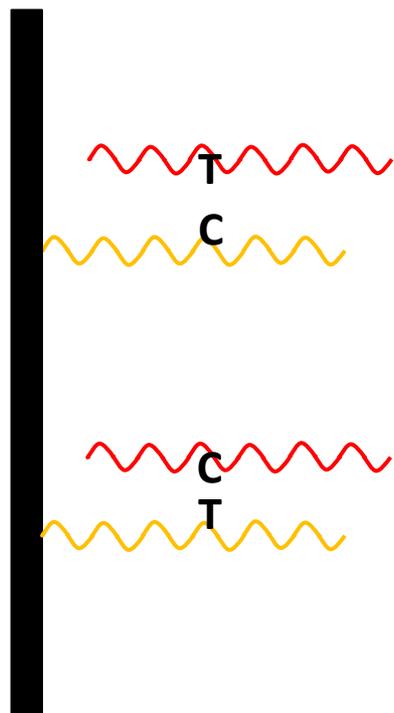
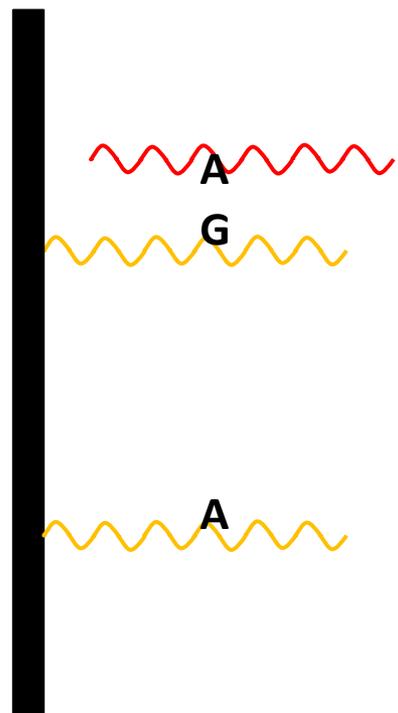


# アレイスニップアレイの原理

実際は2本鎖DNAですが、片方のstrandを記載、アレル間で1塩基の違いがところどころにある

AGGCTCTATT**A**CCACATA / GCGCCGCAG**T**CTAAAGTCT / TCTTACTGGAG**G**AGCTTT  
AGGCTCTATT**G**CCACATA / GCGCCGCAG**C**CTAAAGTCT / TCTTACTGGAA**A**AGCTTT

AGGCTCTATT**A**CCACATA / GCGCCGCAG**T**CTAAAGTCT / TCTTACTGGAG**G**AGCTTT  
AGGCTCTATT**A**CCACATA / GCGCCGCAG**C**CTAAAGTCT / TCTTACTGGAG**G**AGCTTT



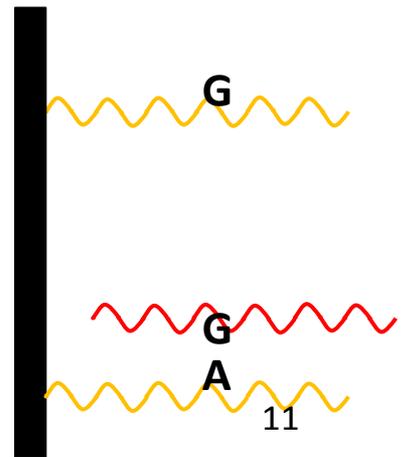
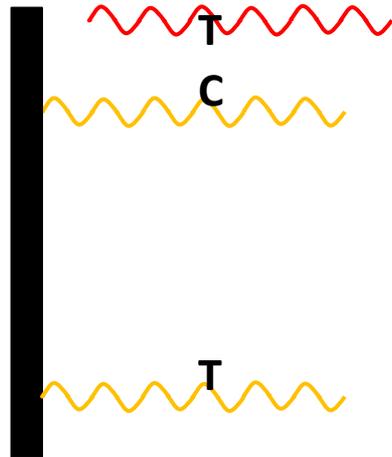
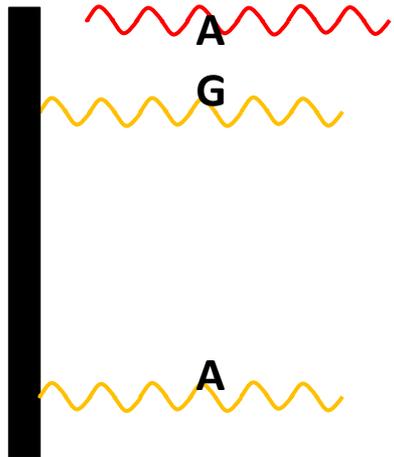
AGGCTCTATT ACCACATA / GCGCCGCAG TCTAAAGTCT / TCTTACTGGAG GAGCTTT  
 AGGCTCTATT GCCACATA / GCGCCGCAG CCTAAAGTCT / TCTTACTGGAA AAGCTTT

欠失

AGGCTCTATT ACCACATA / GCGCCGCAG TCTAAAGTCT / TCTTACTGGAG GAGCTTT  
 AGGCTCTATT GCCACATA / GCGCCGCAG CCTAAAGTCT / TCTTACTGGAG GAGCTTT

UPD

AGGCTCTATT ACCACATA / GCGCCGCAG TCTAAAGTCT / TCTTACTGGAG GAGCTTT  
 AGGCTCTATT ACCACATA / GCGCCGCAG TCTAAAGTCT / TCTTACTGGAG GAGCTTT



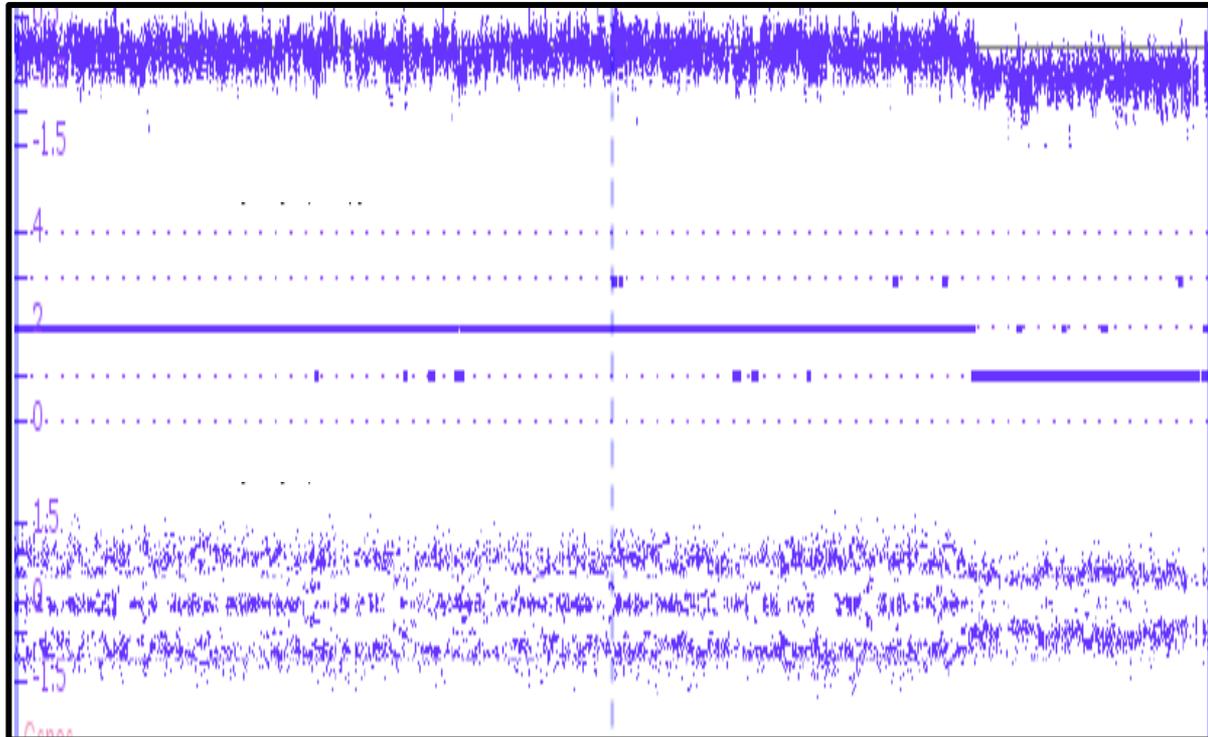
# 欠失例のアレイアウトプット例

患者 YW (M) MCA/MR

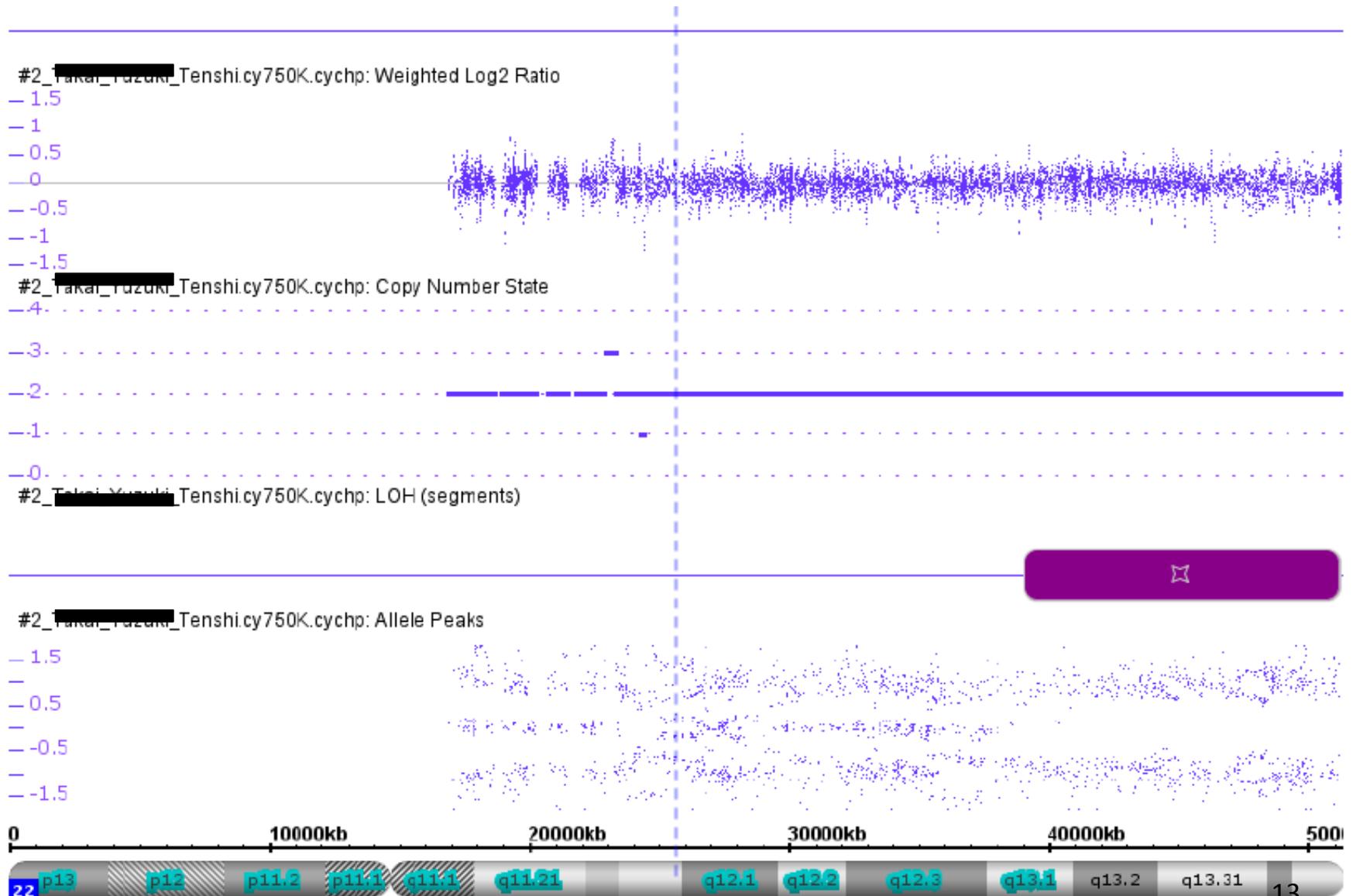
46, XY arr [hg19] 1q43q44 (242, 457, 297-249, 224, 684) x1

1q44 欠失症候群

CGHで6.8 Mbの欠失 (G-bandingでは検出不能)



# LOHのアレイアウトプット例



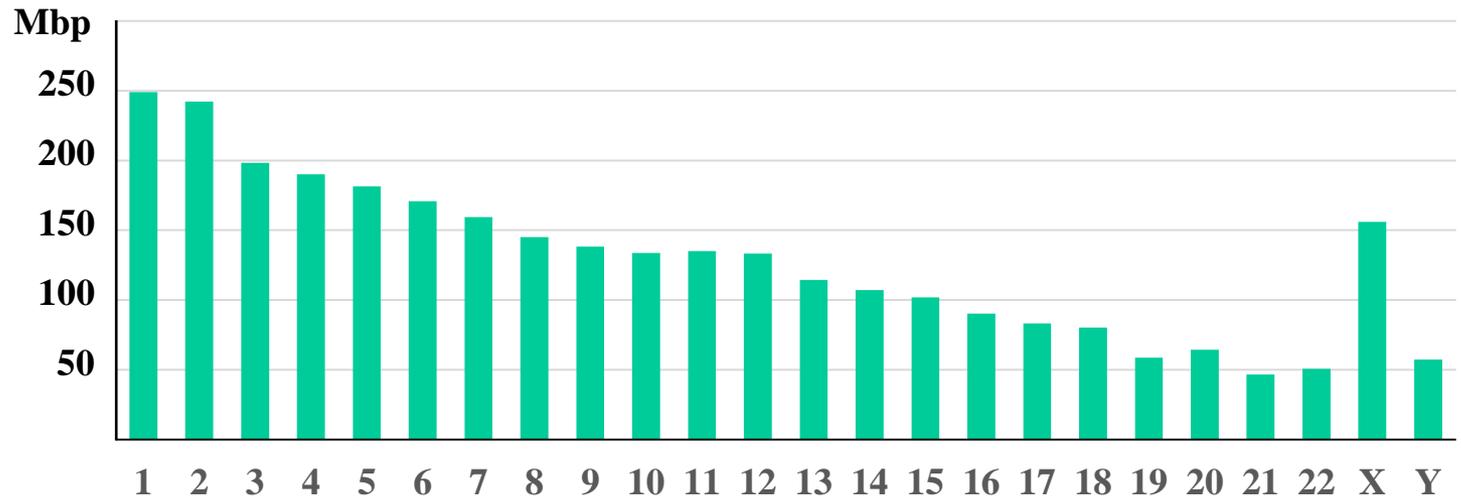
## 2 アレイ結果解釈のための基礎知識

- ゲノム (Genome) とは生物の持つすべての遺伝情報.
- ヒトには約60兆個の細胞:それぞれにゲノムがある.
- ヒトの核ゲノムはハプロイドあたり約32億塩基対 (3,200 Mb) 24種の2本鎖線状DNAに分かれ染色体を形成.
- ヒトには約21,000のたんぱく質をコードした遺伝子がある.
- それ以外にタンパクに翻訳されない遺伝子, 偽遺伝子などがある
- 染色体ごとに長大な二本鎖DNAがあり, p末端から, q末端にむけて塩基に番号が振られている.
- この染色体ごとの塩基番号は全ての人類共通の国際基準 (reference sequence: GRCh37(hg19), GRCh38)がある

# ヒトの染色体のサイズと遺伝子数

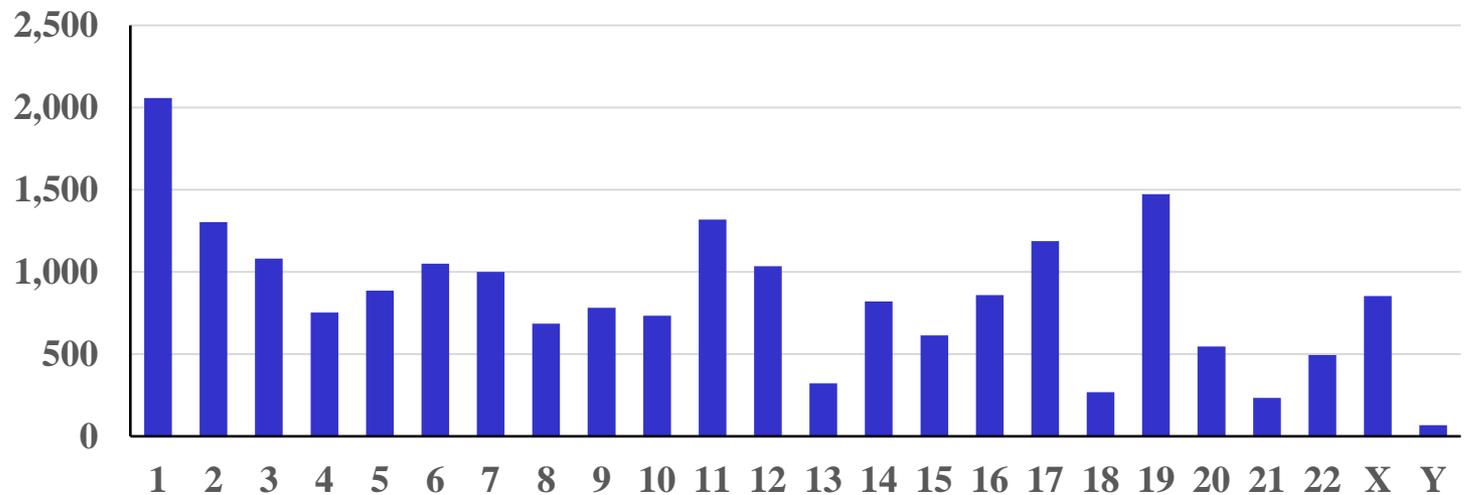
染色体の  
サイズ

合計  
3,088 Mbp



染色体の  
遺伝子数

ハプロイド  
あたり  
合計  
20,407 個

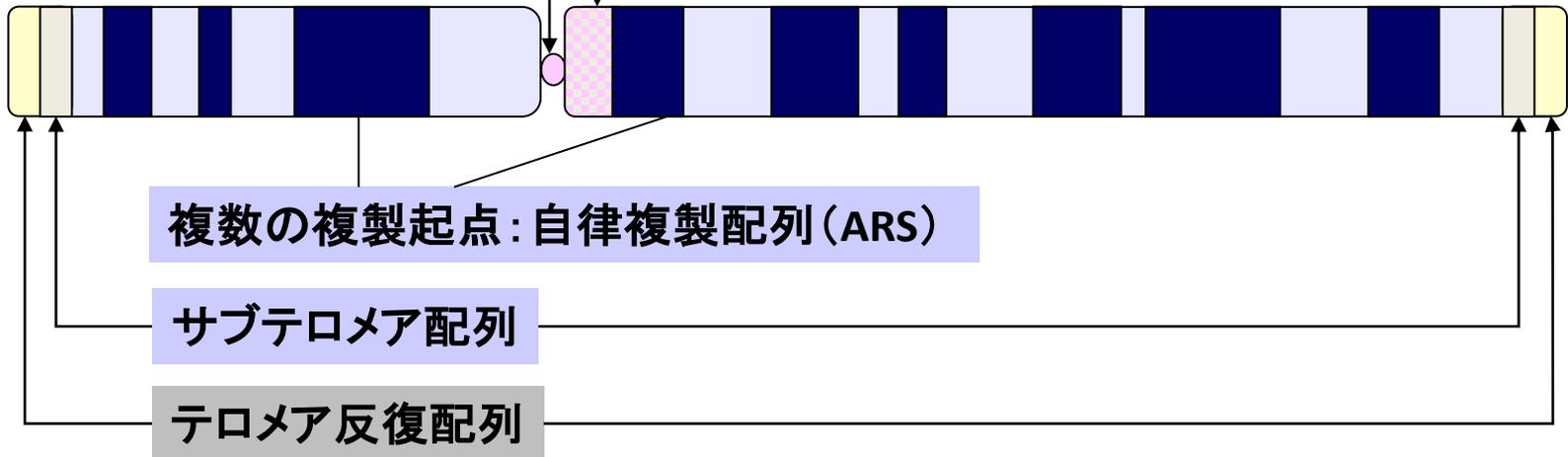


GRCh38.p13 (Genome Reference Consortium Human Build 38), INSDC Assembly

# 染色体の構成要素

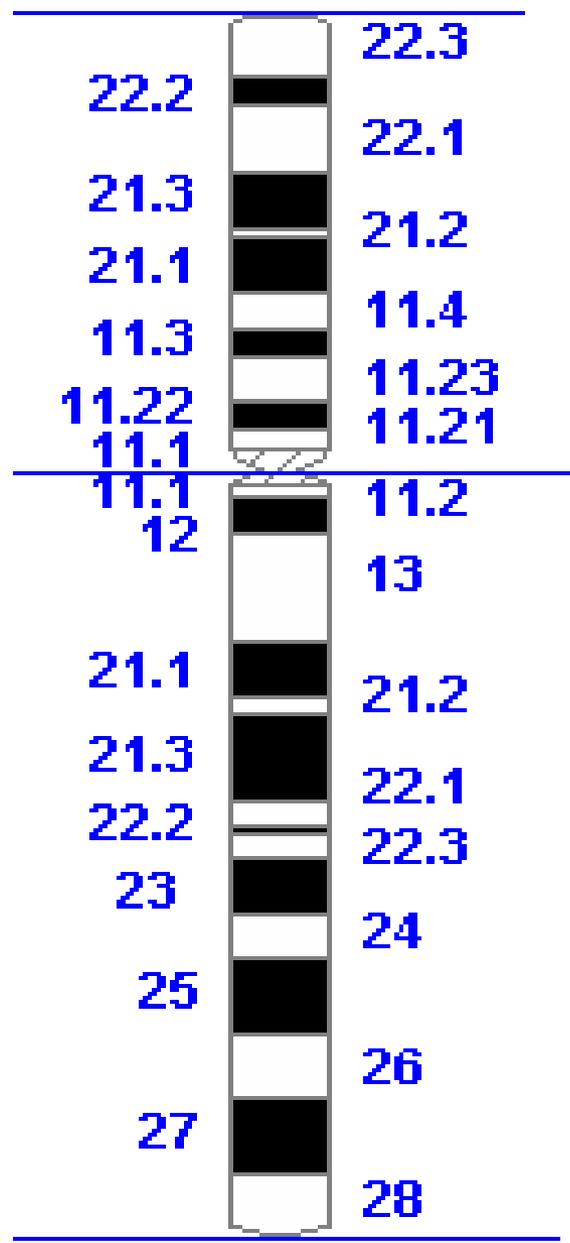
セントロメア:  $\alpha$ サテライトのDNA171塩基配列の反復 300-5,000 kb

構成的ヘテロクロマチン領域: 1q12, 9q12, 16q11



**サブテロメア** 細胞分裂期にはセントロメア局在しているシュゴシンタンパク質が、間期になるとサブテロメアにリクルートされ、knob構造の形成、サブテロメア遺伝子群の転写抑制、サブテロメア領域のDNA複製タイミングの維持に、重要な役割を果たしている

遺伝子は染色体上のバンドの位置状に住所登録している。その位置はレファレンス配列上の塩基番号で表示がなされる



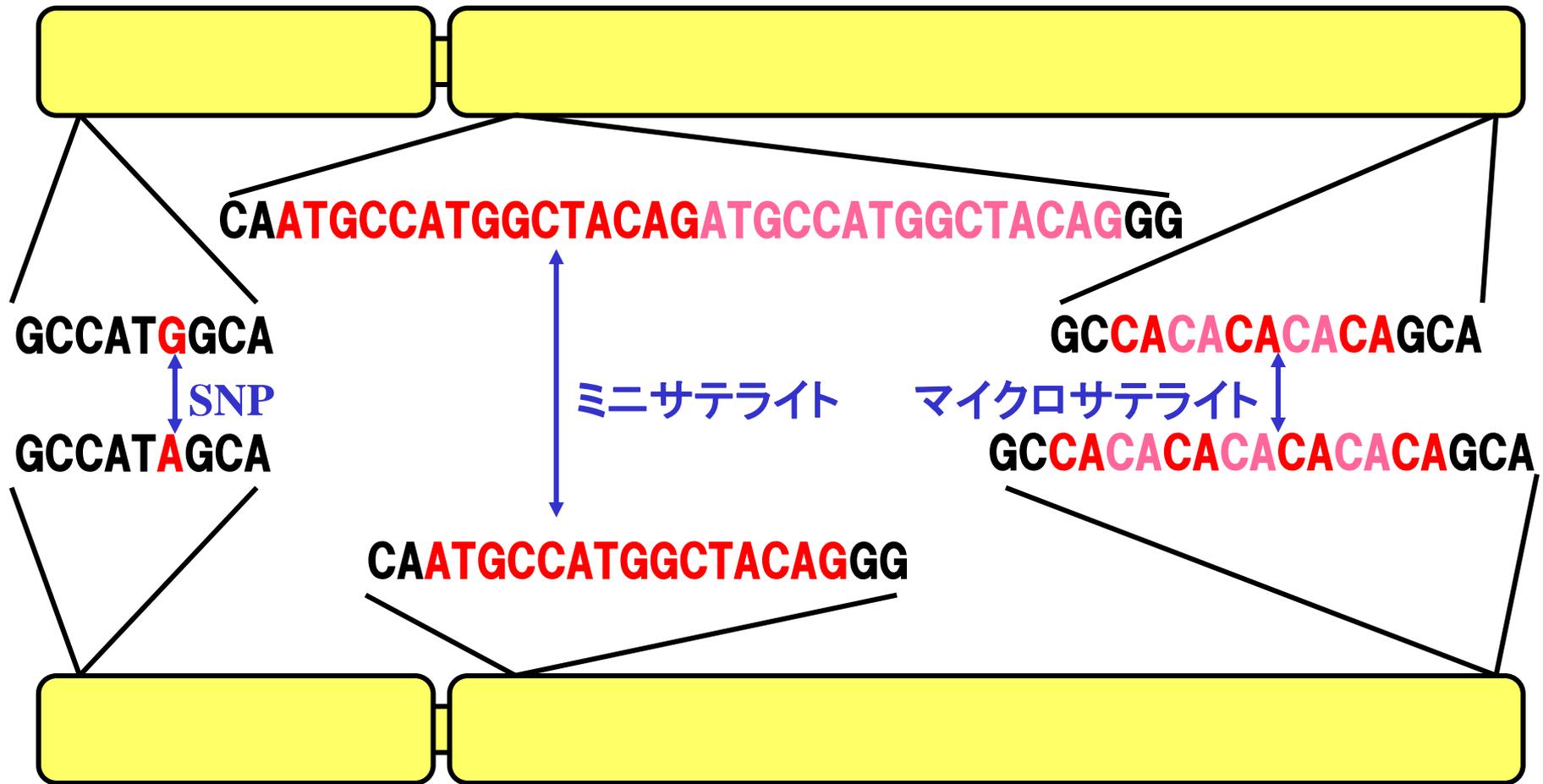
X染色体 参考資料

短腕 (p)	2	2.3 2.2 2.1 1.3 1.2 1.1	
	1	1.4 1.3 1.2 1.1	
長腕 (q)	1	1 2 3	
	2	1.1 1.2 1.3 2.1 2.2 2.3 3 4 5 6 7 8	



1. 現生する全ての人種を含む**現生人類**はヒト科ヒト亜科ヒト属の**ホモ・サピエンス**ただ一種.
2. ヒトゲノムはすべてのヒトに共通し、人種・民族を規定する遺伝子の差異はない.
3. すべてのヒトで遺伝的な多様性がみられる:  
CNV: copy number variation  
SNP: single nucleotide polymorphism

# 3つの代表的なDNA多型



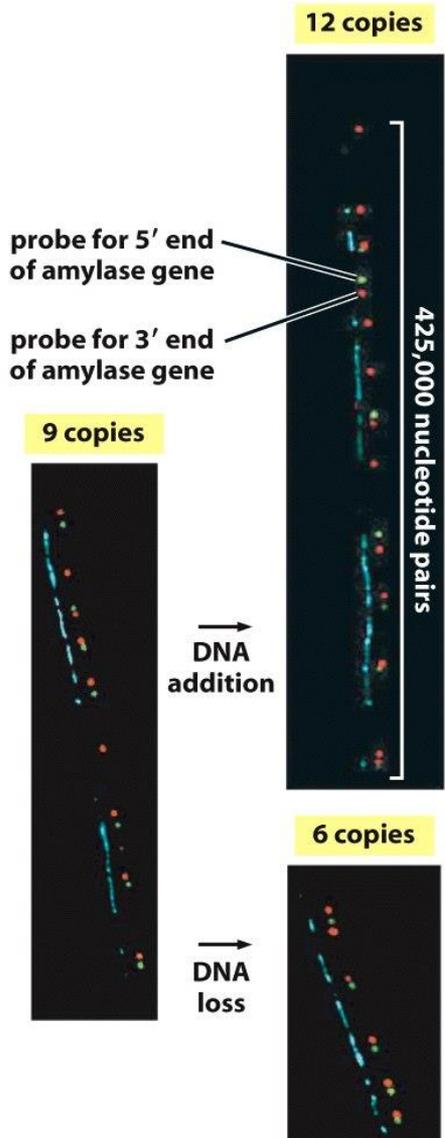
**CNVRs: copy number variable regions/ CNVs: copy number variations**

全ゲノム1,447か所 360 Mb (12 % of whole genome)

1つの平均サイズ 341kb

①欠失 ②重複 ③同じ部位の欠失と重複 ④複雑なもの

39のCNVがテロメアから500kb



**Table 1 | Functional sequences within CNVRs**

Functional sequence	WGTP CNVRs	500K EA CNVRs	Merged CNVRs
RefSeq genes	2,561	<b>1,139†</b>	<b>2,908†</b>
OMIM genes	251	<b>112†</b>	285
Ultra-conserved elements	<b>48†</b>	<b>16†</b>	<b>50†</b>
Conserved non-coding elements	<b>116,678*</b>	<b>55,937*</b>	<b>130,353*</b>
Non-coding RNAs	57	<b>29†</b>	67

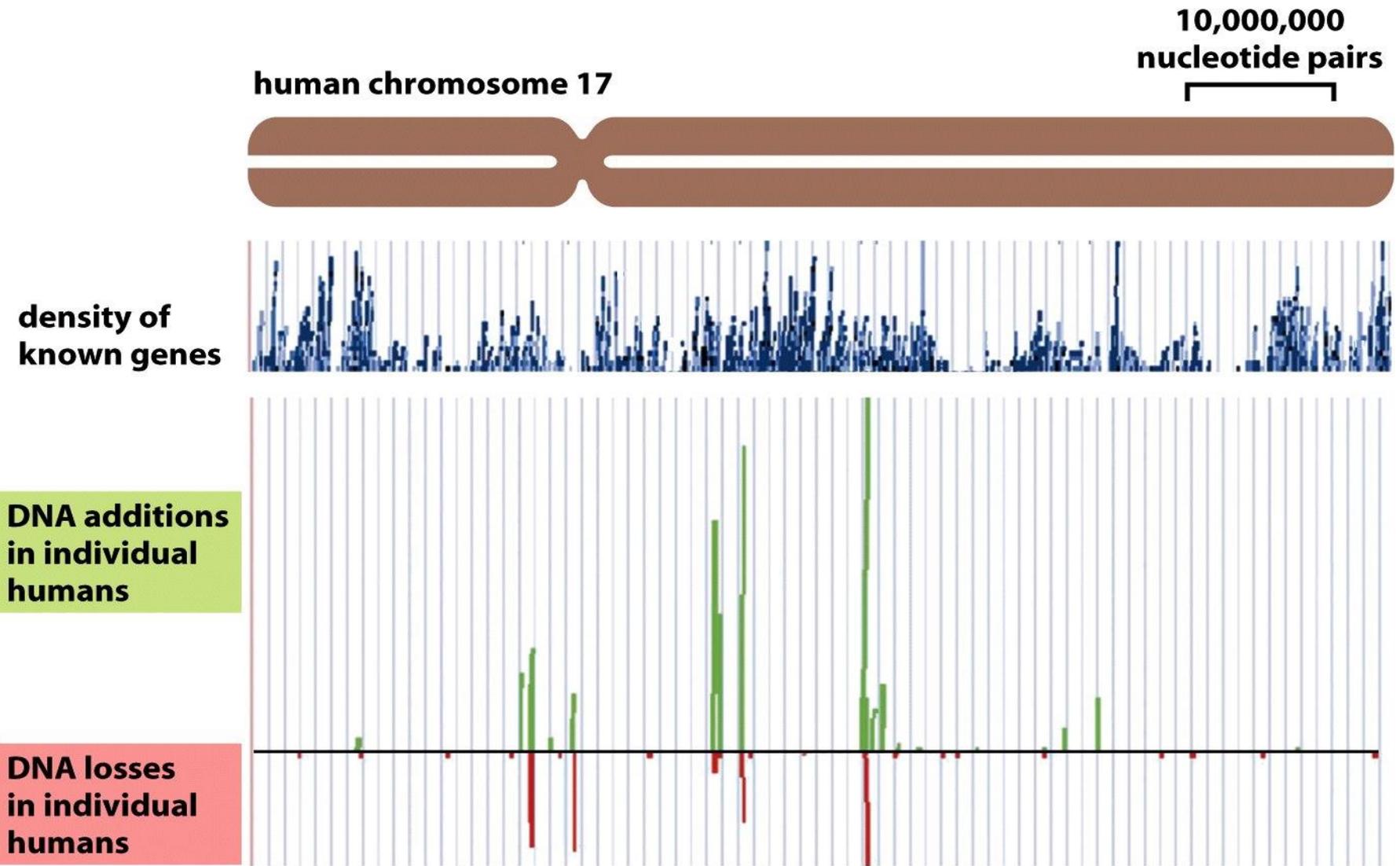
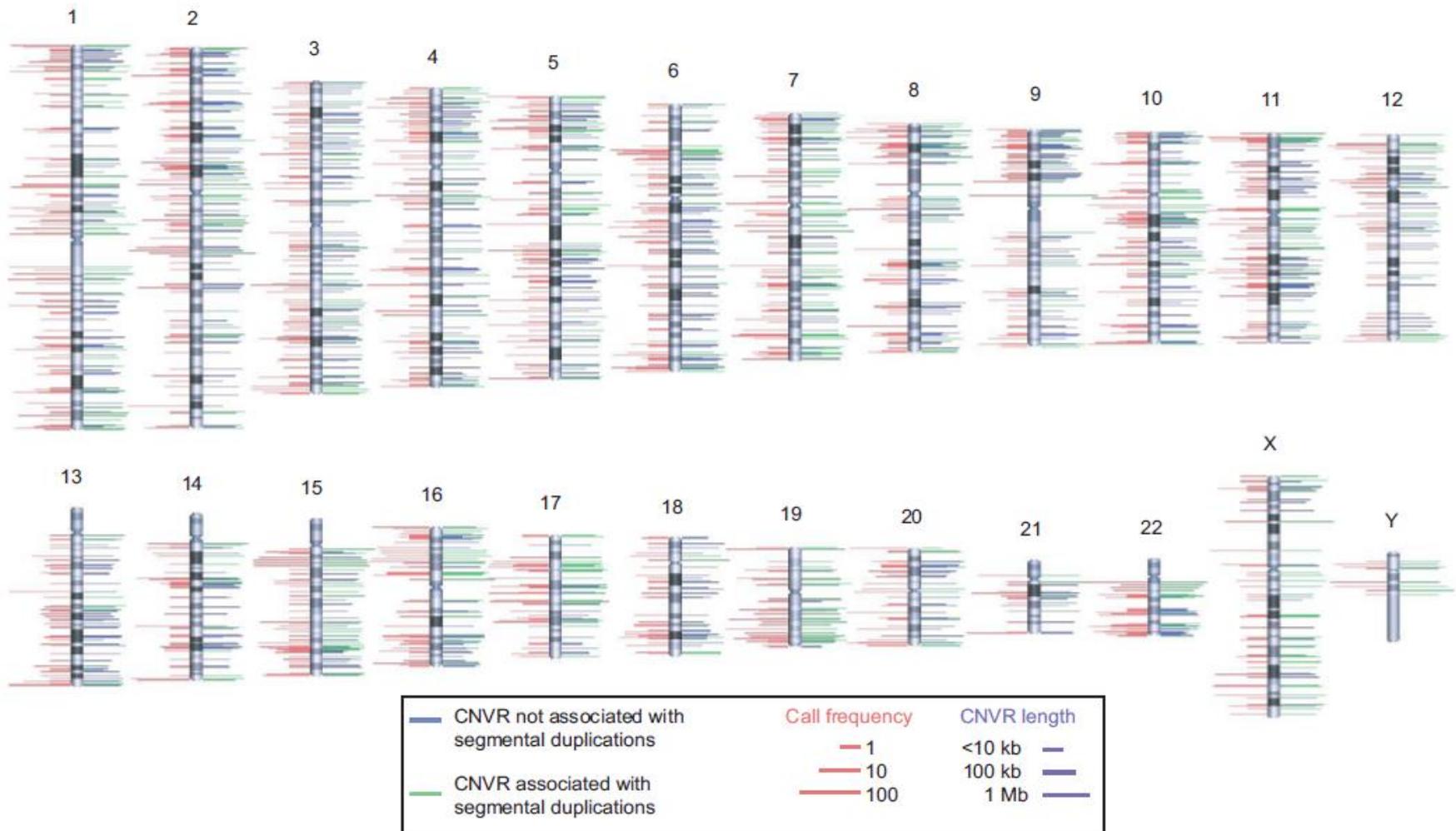
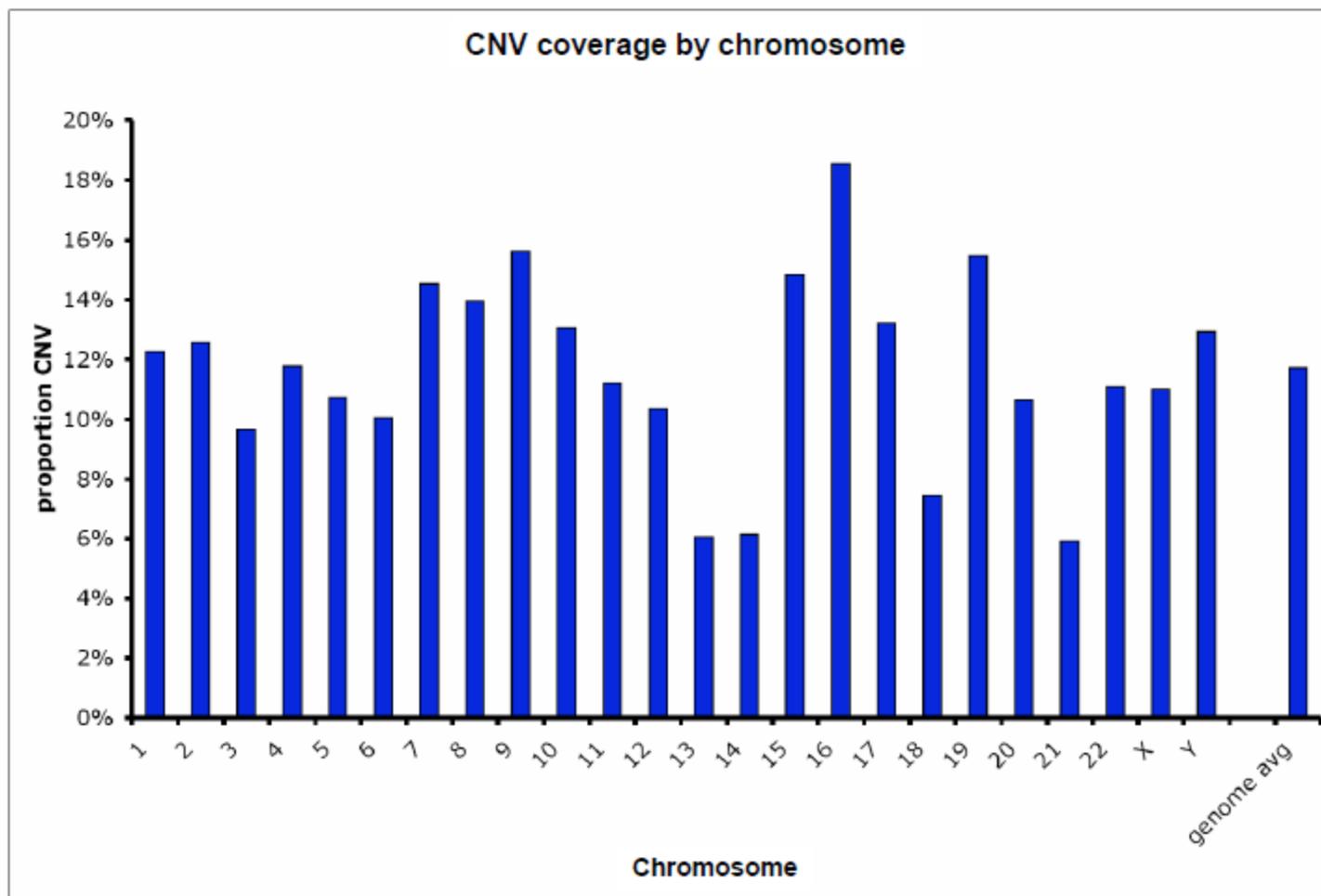


Figure 4-90 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# もう一つのゲノムバリエーション CNVRs



# CNVRの占める範囲(染色体別)



Supplementary Figure 7. Merged CNVR coverage separated by chromosome

# 3 アジレントアレイの報告書の読み方

## GenetiSure Dx Postnatal Assay 「アジレント」<sup>Ⓜ</sup>

製品	型番	包装単位
GenetiSure Dx DNA Labeling Kit	K1201-64100	検体および参照それぞれの 24 反応分 <ul style="list-style-type: none"> <li>GenetiSure Dx DNA Labeling Kit (型番: K1201-64105)</li> <li>GenetiSure Dx Labeling Kit Purification Columns (型番: K1201-64110)</li> </ul>
GenetiSure Dx Hybridization Kit	K1201-64200	ハイブリダイゼーションスライド 24 枚分
GenetiSure Dx Wash Buffer 1 GenetiSure Dx Wash Buffer 2	K1201-64300	<ul style="list-style-type: none"> <li>GenetiSure Dx Wash Buffer 1 (型番: K1201-64305): 4 L × 2 箱</li> <li>GenetiSure Dx Wash Buffer 2 (型番: K1201-64310): 4 L × 1 箱</li> </ul>
GenetiSure Dx Cot-1 Human DNA	K1201-64400	625 μL
GenetiSure Dx Postnatal Assay	K1201A	4 × 180 K マイクロアレイスライドおよびガスケットスライド 各 6 枚、スライドあたり 4 テスト <ul style="list-style-type: none"> <li>GenetiSure Dx Postnatal Array (型番: K1201-64500)</li> <li>GenetiSure Dx Gasket (型番: K1201-64600)</li> </ul>

製品	型番
SureScan Dx Scanner 「アジレント」 <sup>Ⓜ</sup>	G5761A
ハイブリダイゼーションチャンバキット、ステンレス製	G2534A
マイクロアレイハイブリダイゼーションオープン	G2545A
ハイブリダイゼーションオープン回転ラック	G2530-60029

180,000個のプローブ  
 約20 kbごとにプローブ  
 21番染色体で2500プローブ

<sup>Ⓜ</sup> : 体外診断用医薬品 / 医療機器

SureScan Dx Scanner 「アジレント」:  
 遺伝子解析装置 [特定保守管理医療機器 (設置)]  
 医療機器届出番号: 13B3X10204000005

# ゲイン/ロス領域表

## Gain/Loss Intervals Table

染色体 Chr	最小始点-終点(bp) 最大始点-終点(bp) Min Start-Stop(bp) Max Start-Stop(bp)	最小サイズ(kb) 最大サイズ(kb) Min Size(kb) Max Size(kb)	最小サイトバンド 最大サイトバンド Min Cytoband Max Cytoband	ゲイン/ロス Gain/Loss	アノテーション Annotations
chr2	89391346-90234023 89301215-90299637	842.678 998.423	p11.2 p11.2	-1.367984	
chr16	34482042-34743643 34452646-34777184	261.602 324.539	p11.2 - p11.1 p11.2 - p11.1	0.514115	LINC01566, FRG2DP, TP53TG3HP

ゲイン=ゲイン

Gain=Gain

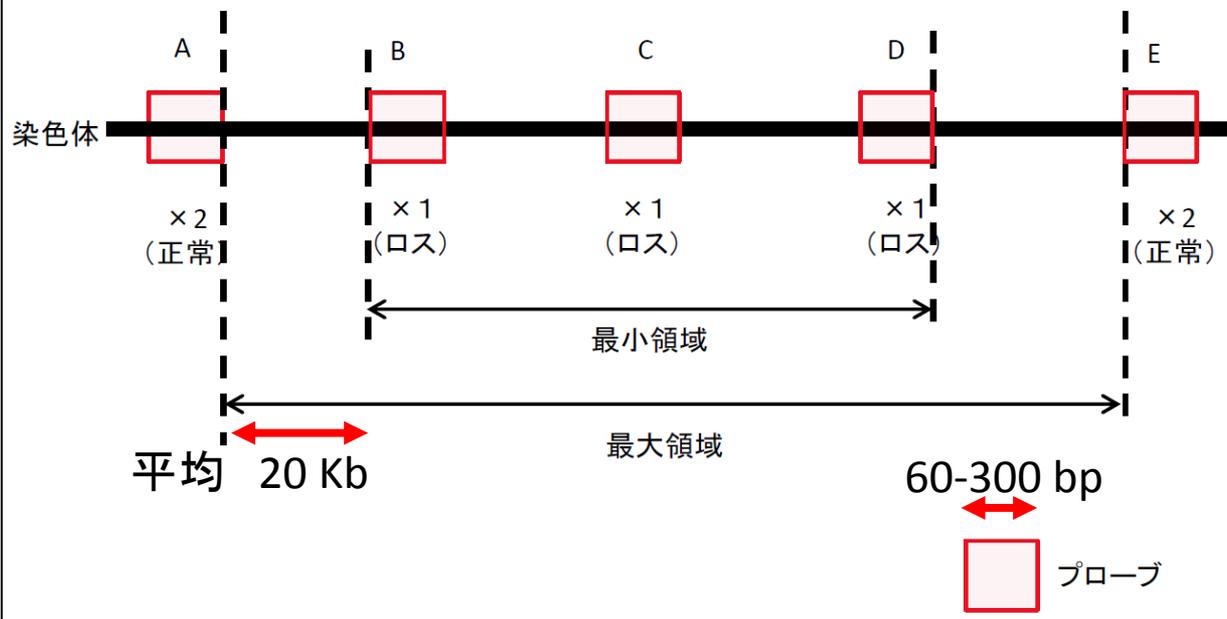
ロス=ロス

Loss=Loss

総ゲイン/ロス領域数: 2

Total Gain/Loss Intervals: 2

(イメージ図) 最大領域・最小領域のとりえ方



# ゲイン/ロス領域表

## Gain/Loss Intervals Table

染色体 Chr	最小始点-終点(bp) 最大始点-終点(bp) Min Start-Stop(bp) Max Start-Stop(bp)	最小サイズ(kb) 最大サイズ(kb) Min Size(kb) Max Size(kb)	最小サイトバンド 最大サイトバンド Min Cytoband Max Cytoband	ゲイン/ロス Gain/Loss	アノテーション Annotations
chr2	89391346-90234023 89301215-90299637	842.678 998.423	p11.2 p11.2	-1.367984	
chr16	34482042-34743643 34452646-34777184	261.602 324.539	p11.2 - p11.1 p11.2 - p11.1	0.514115	INC01566, FRG2DP, TP53TG3HP

ゲイン=ゲイン

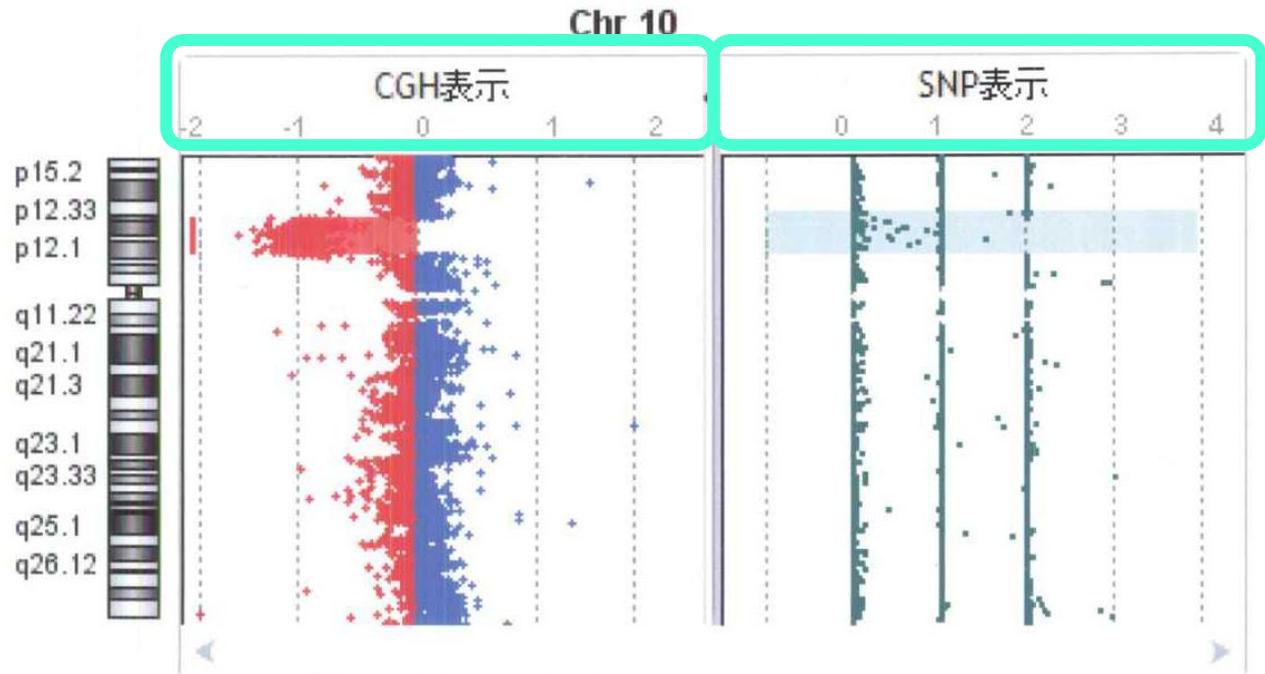
Gain=Gain

ロス=ロス

Loss=Loss

総ゲイン/ロス領域数: 2

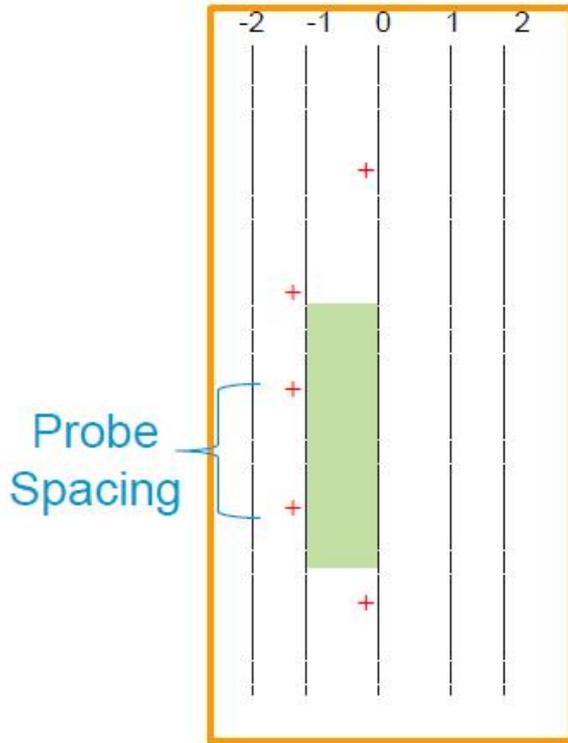
Total Gain/Loss Intervals: 2



# CGHデータの原理：アジレントのマイクロアレイは3プローブでコピー数変化を検出

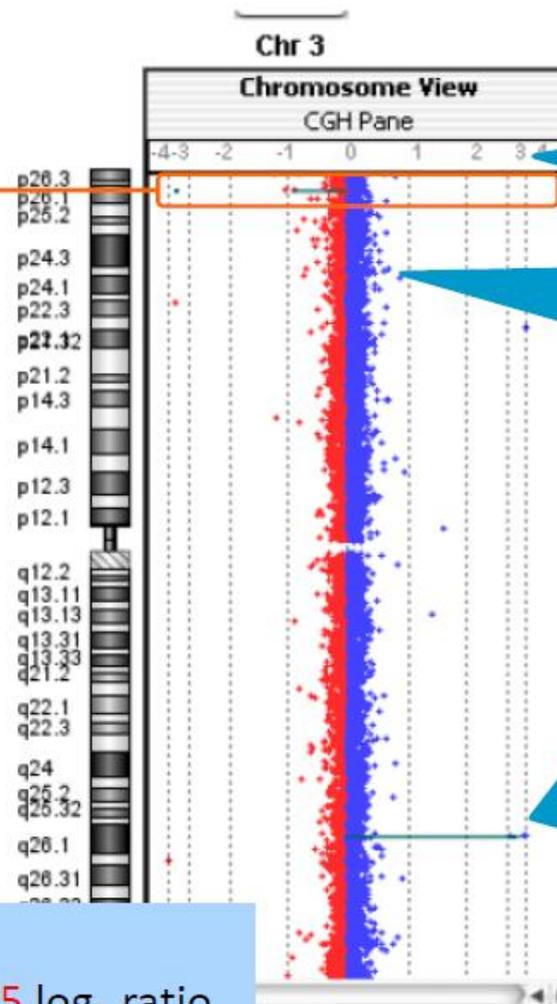
## 【拡大模式図】

Ratio: ¼ ½ 1 2 4



### 検出条件

- minimum of 3 probes、 $\geq 0.25 \log_2$  ratio
- minimum of 5 probes、 $\geq 0.15 \log_2$  ratio



Log<sub>2</sub>(Test/Reference)

各プローブデータの  
Log<sub>2</sub>(Test/Reference)  
比を配置・表示

アルゴリズムにより  
コピー数変化領域を  
検出・表示。  
Log<sub>2</sub>比 > 0 は gain、  
Log<sub>2</sub>比 < 0 は loss

$$\begin{aligned} \log_2 1.5 &= 0.6 \\ \log_2 1 &= 0 \\ \log_2 0.5 &= -1 \end{aligned}$$

## ゲイン/ロス領域表

### Gain/Loss Intervals Table

染色体 Chr	最小始点-終点(bp) 最大始点-終点(bp) Min Start-Stop(bp) Max Start-Stop(bp)	最小サイズ(kb) 最大サイズ(kb) Min Size(kb) Max Size(kb)	最小サイトバンド 最大サイトバンド Min Cytoband Max Cytoband	ゲイン/ロス Gain/Loss	アノテーション Annotations
chr2	89391346-90234023 89301215-90299637	842.678 998.423	p11.2 p11.2	-1.367984	
chr16	34482042-34743643 34452646-34777184	261.602 324.539	p11.2 - p11.1 p11.2 - p11.1	0.514115	LINC01566, FRG2DP, TP53TG3HP

ゲイン=ゲイン

Gain=Gain

ロス=ロス

Loss=Loss

総ゲイン/ロス領域数: 2

Total Gain/Loss Intervals: 2

- CNV領域に座位する遺伝子リスト
- 遺伝子の座位しない領域の場合は空欄
- 座位する遺伝子のCNVが病的意義を持つかの記載はなし

### 3 CNVsの吟味: DecipherとClinGenの活用

- 1 既存あるいは既報の染色体異常症か？
- 2 領域に病因遺伝子があるか？  
欠失領域ならハプロ不全が意義を持つ遺伝子  
重複領域なら重複が意義を持つ遺伝子
- 3 よくあるCNVか？中には病的意義を持つもの
- 4 de novoか？
- 5 CNV領域に偶発的にみつかると未発症の疾患リスクとなる遺伝子はないか？

Decipherに聞いてみよう

# 既存あるいは既報の染色体異常症か？

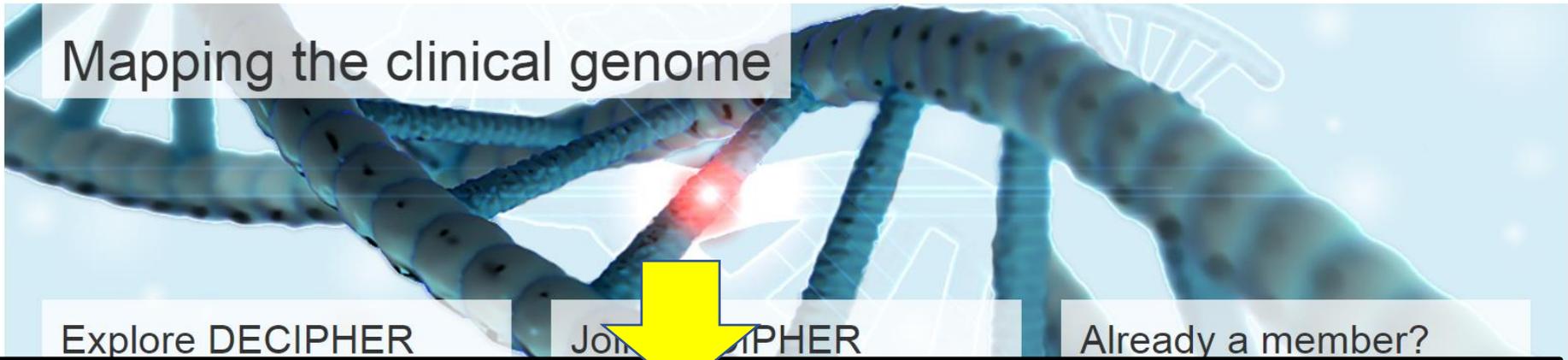
## 患者Xのアレイの結果

Chr 16 p11.2 32307284 – 33633239の重複  
log2値が0.60あり

1 Decipherにアクセス

<https://www.deciphergenomics.org/>

2 トップ画面上方中央のサーチ画面にいきなり  
入力: **grch37:16:32307284-33633239**で虫眼鏡ボタ  
ン



DECIPHER GRCh38 About Browse ▾ DDD (UK) Search DECIPHER Help Join Log in ↗

Search results for "grch37:16:32307284-33633239" GRCh38 16:32295963-33830772 (100% match) [\(Refine Search\)](#)

Patient variants 25 **CNV syndrome variants 0** DDD research variants 0 Genes 26

Results Browser

Syndrome Variants: No records found

Syndrome	Location	Genotype	Variant Class	Size	Phenotype(s)
No data available in table					

Patient variants 1052

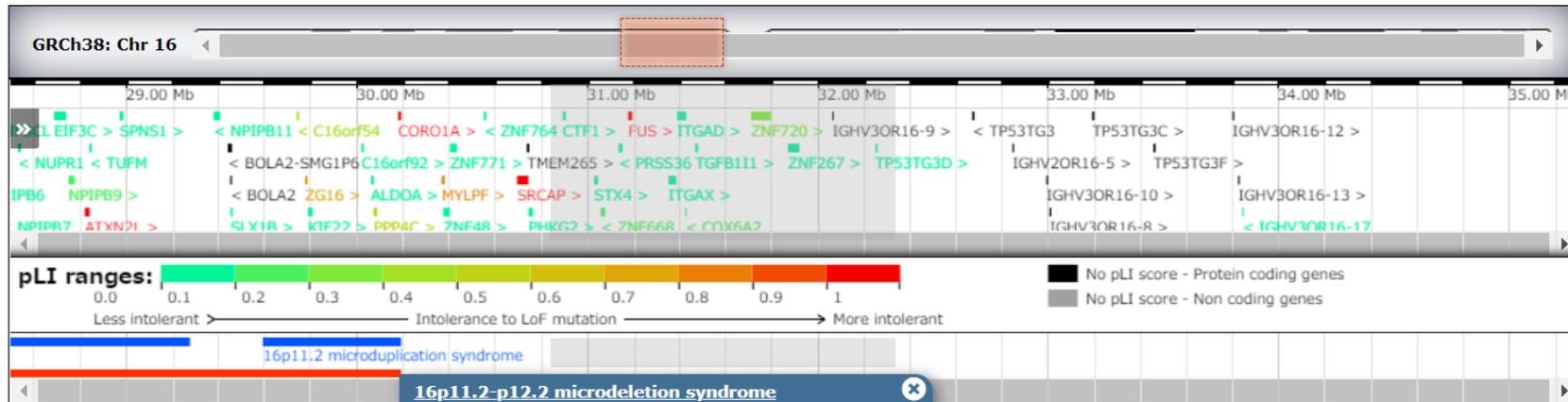
CNV syndrome variants 3

DDD research variants 25

Genes 216

Results

Browser



## Information

- [About DECIPHER](#)
- [Advisory Board](#)
- [Affiliations](#)
- [Project Proposal](#)

## Download

- [Ethical Approval](#)
- [Data Files](#)
- [Family Pack](#)

## Policies

- [Legal](#)
- [Cookies Policy](#)
- [Data Sharing](#)
- [Citing](#)

# Genome Browser

Please enter a position, gene name, or chromosome band name in the box above to load a genome browser for that position.

## Examples

- Position [20:63400208-63472677](#)
- GRCh37 position [grch37:20:62037542-62103993](#) (will be lifted over to GRCh38)
- Gene [SCN2A](#)
- Band [1q21.1](#)

Anyone can browse publicly available patient data on DECIPHER and request to be put in contact with the responsible clinician. Why? Because sharing benefits everyone.

[Explore DECIPHER's genome browser](#)

[Delve into the Human Phenotype Ontology](#)

[Search all open-access DECIPHER data](#)

100 of DECIPHER members has contributed to over 2000 published articles since 2004. It's still free, and you are in control of what data to make public.

[Join now](#)

[Find out more](#)

[Log in](#)

[Reset your password](#)

# Genome Browser

Jump to

Please enter a position, gene name, or chromosome band name in the box above to load a genome browser for that position.

## Examples

- Position [20:63400208-63472677](#)
- GRCh37 position [grch37:20:62037542-62103993](#) (will be lifted over to GRCh38)
- Gene [SCN2A](#)
- Band [1q21.1](#)

grch37:16:32307284-33633239と入力しGo

Patient variants 25

CNV syndrome variants 0

DDD research variants 0

Genes 26

Genes: 21 to 26 of 26

Show: All genes

Filter...

Name / Description	Location	pLI	LOEUF	sHet	%HI	GenCC	OMIM / Morbid	G2P	ClinGen	Links
SLC6A10P SLC6A10 family, member 10, pseudogene	16 32877469 32885501	-	-	-	-	-	-	-	-	<a href="#">View</a>
TP53TG3 TP53 target 3	16 32673528 32676732	-	-	-	94.39	-	OMIM	-	-	<a href="#">View</a>
TP53TG3B TP53 target 3B	16 33360274 33363478	-	-	-	92.24	-	-	-	-	<a href="#">View</a>
TP53TG3C TP53 target 3C	16 33193659 33196858	-	-	-	1.96	-	-	-	-	<a href="#">View</a>
TP53TG3E TP53 target 3 family member E	16 33303739 33306935	-	-	-	-	-	-	-	-	<a href="#">View</a>
TP53TG3F TP53 target 3 family member F	16 33459045 33462249	-	-	-	-	-	-	-	-	<a href="#">View</a>

10

Previous 1 2 3 Next

high ranks (e.g. 0-10%) indicate a gene is more likely to exhibit haploinsufficiency, low ranks (e.g. 90-100%) indicate a gene is more likely to NOT exhibit haploinsufficiency.

ClinGenで同じことをしてみよう トップページ(https://clinicalgenome.org/)からdosage sensitivityを開いて ボックスにGRCh37を確認して, chr16:32307284-33633239と入力しGo

## GRCh37 Search Results

Location: chr16:32307284-33633239

Genes: On Regions: On

25  
Total  
Genes

1  
Total  
Regions

Advanced Filters: None

Click on  below to view hidden columns

Search in table

GRCh37

Enter cytoband or genomic coordinates

Go!

Showing 1 to 25 of 26 rows 25 rows per page

Gene/Region	GRCh37	HI Score	TS Score	OMIM	Morbid	%HI	pLI	LOEUF	Report
 ACTR3BP3	16 32389948 32391589	-1 (Pseudogene)	-1 (Pseudogene)			-	-	-	 Not Reviewable

Gene/Region	GRCh37	HI Score	TS Score	OMIM	Morbid	%HI	pLI	LOEUF	Report
 SLC9B1P									
 PABPC1F			Evaluated						
 IGHV3OR16-13	16 33629833 33630126	Not Yet Evaluated	Not Yet Evaluated			-	-	-	 Awaiting Review
 ABCD1P:									
 ABHD17									 Complete
 ACTR3BP3	16 32389948 32391589	-1 (Pseudogene)	-1 (Pseudogene)			-	-	-	 Not Reviewable
 SLC9B1P5	16 32399452 32447686	-1 (Pseudogene)	-1 (Pseudogene)			-	-	-	 Not Reviewable

## ClinGenでCNVs領域の遺伝子の量的効果を確認しよう

**HI score** ハプロ不全(モノソミー)の病的効果

**TS score** トリソミーとなった場合の病的効果

Dosage sensitivity rating	Possible clinical interpretation
3	Sufficient evidence for dosage pathogenicity
2	Some evidence for dosage pathogenicity
1	Little evidence for dosage pathogenicity
0	No evidence for dosage pathogenicity
40	Evidence suggests the gene is not dosage sensitive (haploinsufficiency or triplosensitivity is unlikely)
30	Gene associated with autosomal recessive condition

**%HI** ハプロ不全の効果 <10%

**pLI** ハプロ不全の効果 >0.9

関連がありそうな遺伝子については 遺伝子情報やOMIM情報をチェック

# データベース上のCNVsを持つ患者をチェックする

## Genome Browser

Jump to position, gene or band

Go

Please enter a position, gene name, or chromosome band name in the box above to load a genome browser for that position.

## Examples

- Position [20:63400208-63472677](#)
- GRCh37 position [grch37:20:62037542-62103993](#) (will be lifted over to GRCh38)
- Gene [SCN2A](#)
- Band [1q21.1](#)

### Information

[About DECIPHER](#)  
[Advisory Board](#)  
[Affiliations](#)  
[Project Proposal](#) ↓

### Downloads

[Ethical Framework](#) ↓  
[Data Flowchart](#) ↓  
[Data Files](#)

### Forms

[Consent](#)  
[Assent](#)  
[Family Pack](#)

### Policies

[Legal](#)  
[Cookies Policy](#)  
[Data Sharing](#)  
[Citing](#)



報告書にあるCNVの位置情報を入力してGoをクリック  
今回は4p22.2のCNV(欠失例)を見てみましょう

塩基番号での領域指定の代わりに4q22.2で検索しました。 以下の画面でグレイゾーンが  
当該のバンドの範囲で上段に遺伝子が赤や緑のバーで表示されます。



About Browse ▾ DDD (UK)

Search DECIPHER

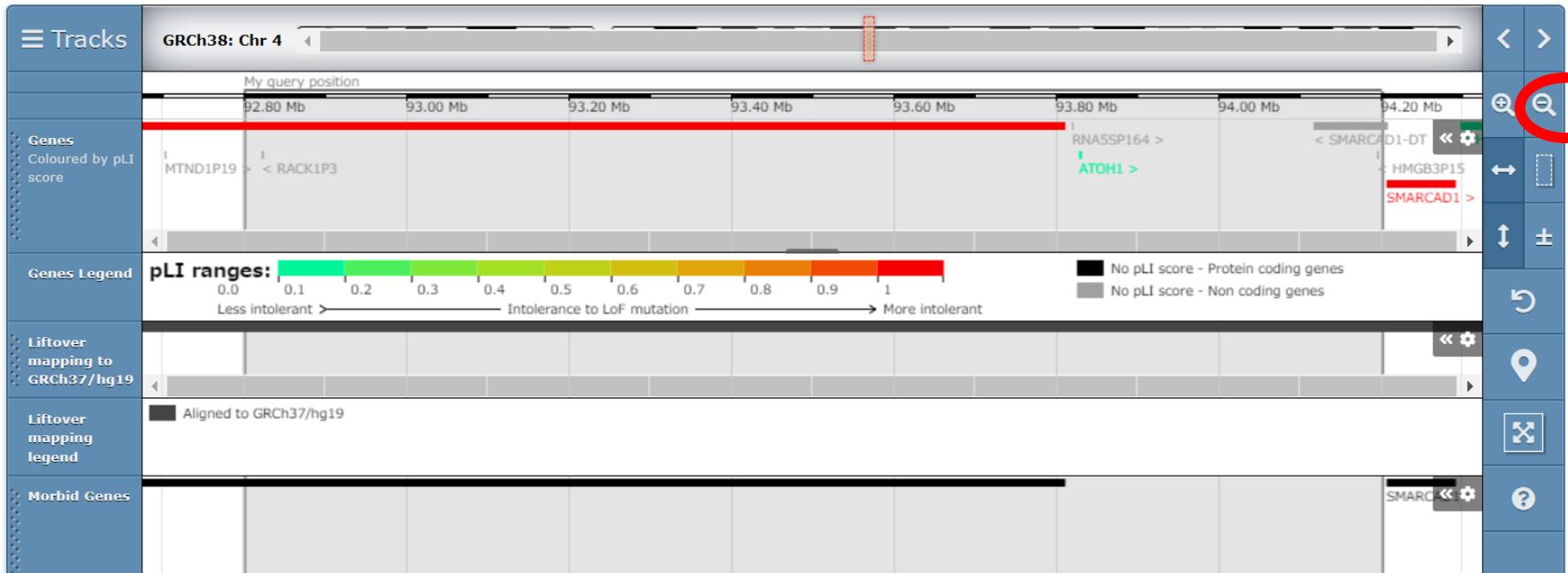


Help Join Log in ↗

## Genome Browser 4q22.2

Jump to position, gene or band

Go

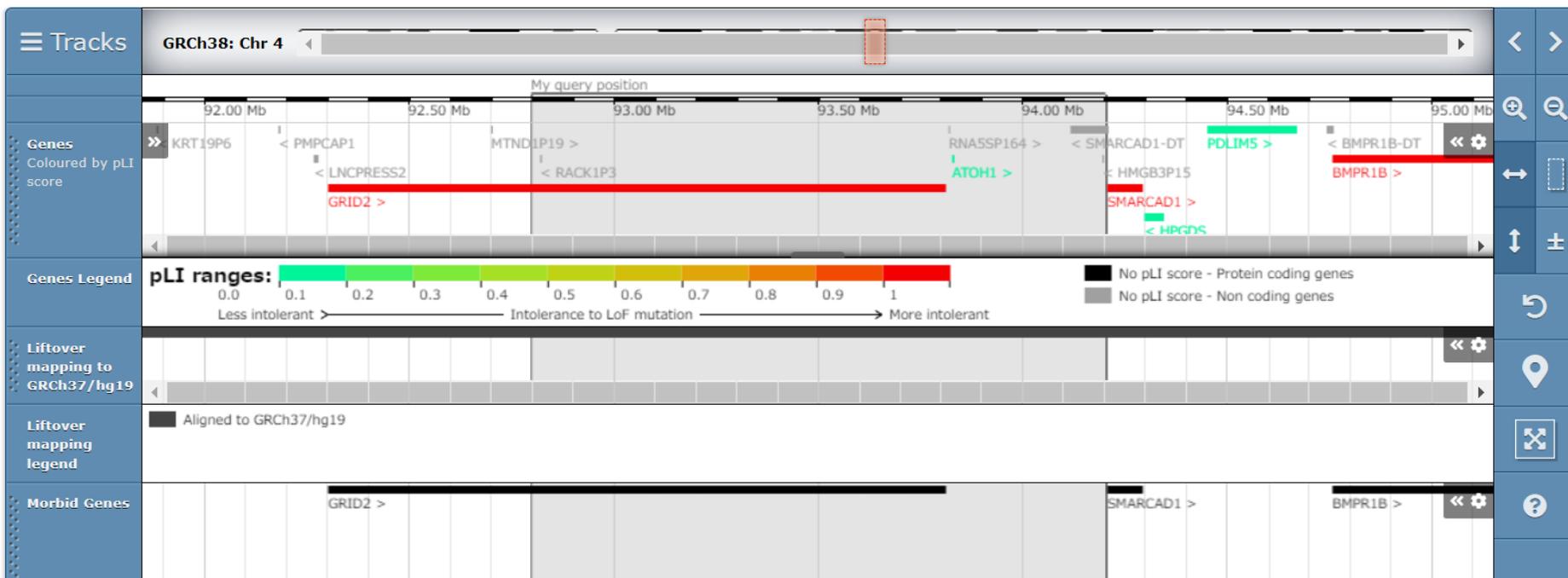


もう少し広い領域を見てみましょう 赤丸の虫眼鏡ボタンを押します

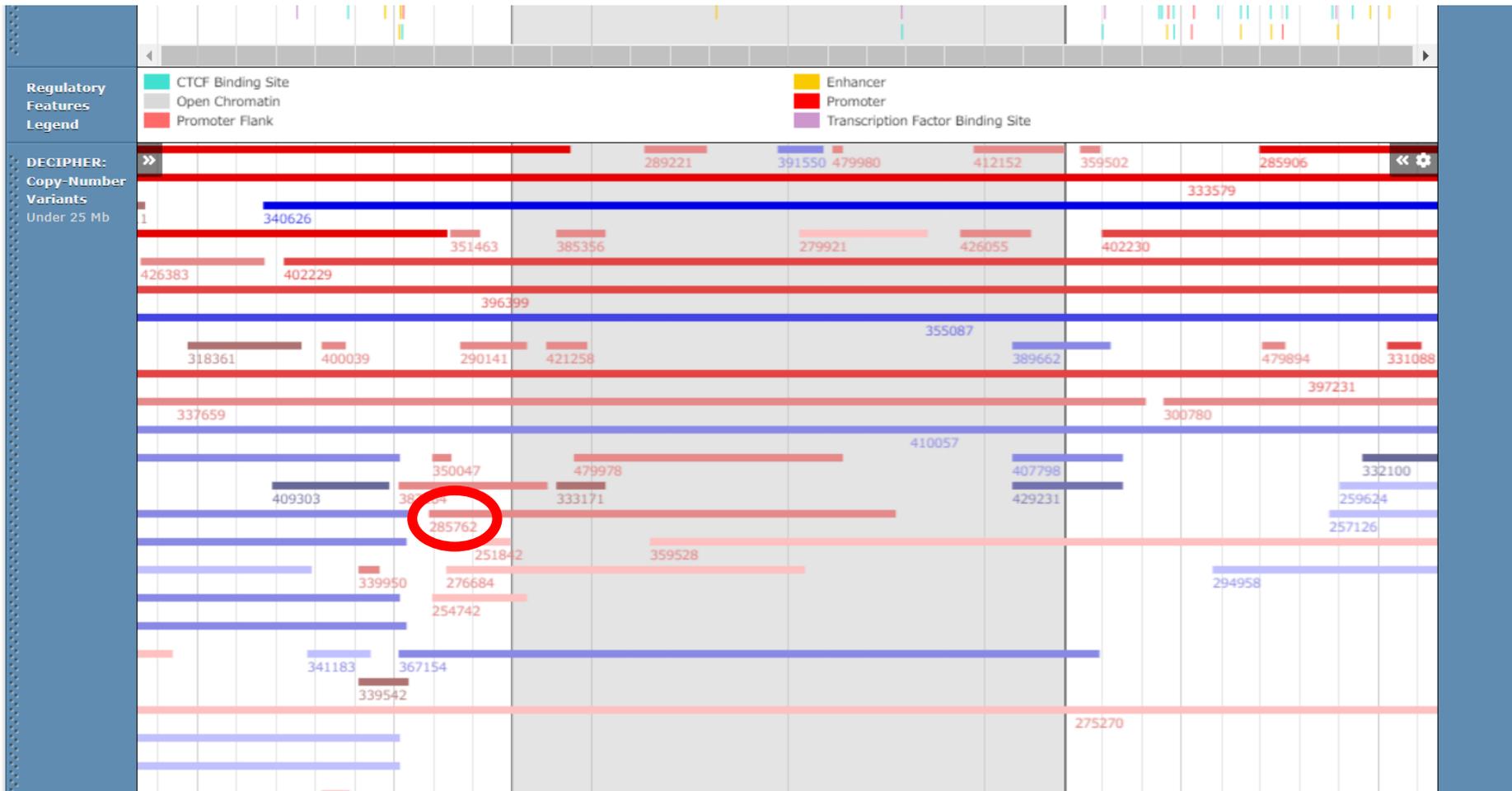
# Genome Browser 4q22.2

Jump to position, gene or band

Go

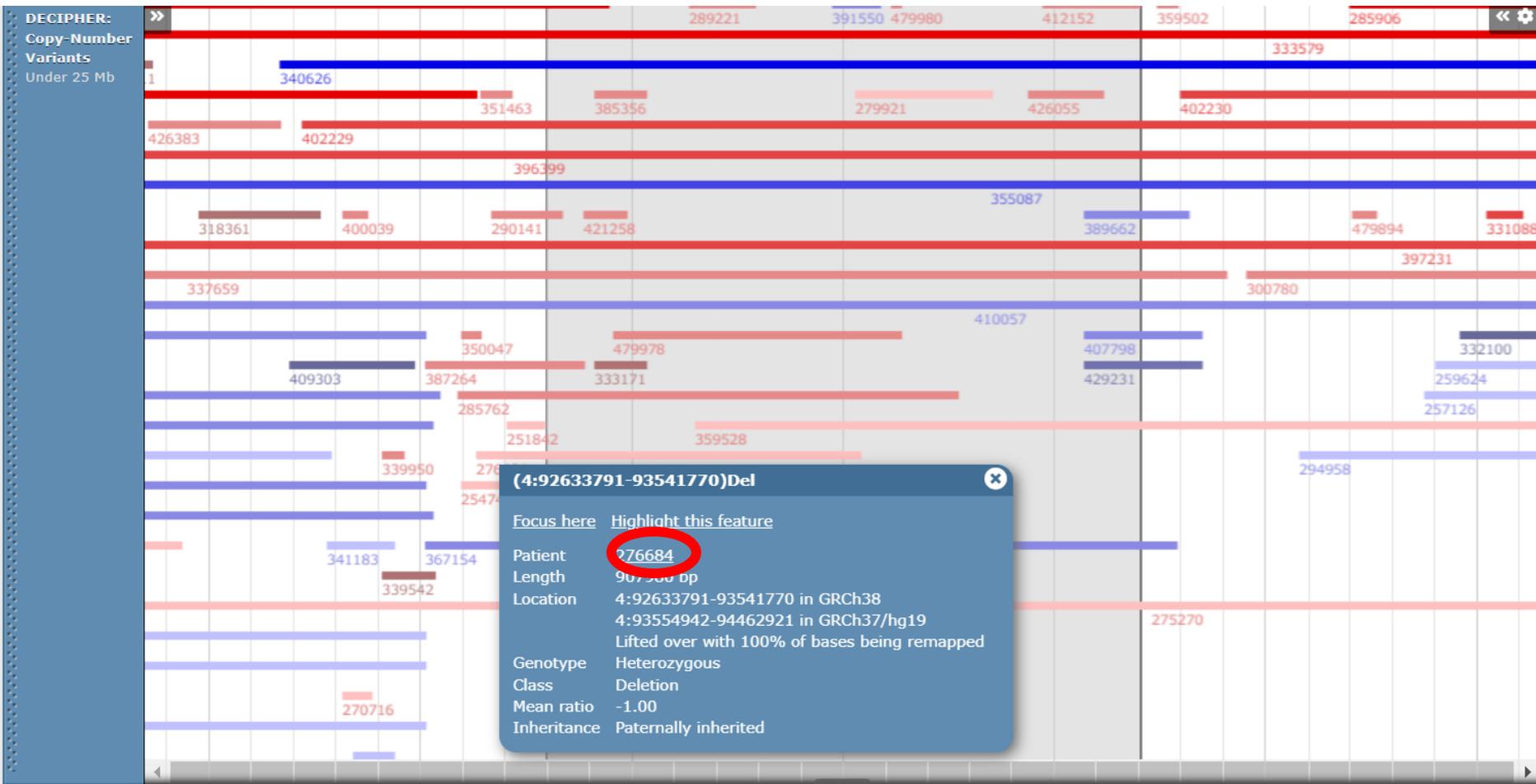


少し広がりました. 次にウィンドウの右端のスクロールボタンで1画面ほど下にスクロールしてみましょう



グレイゾーンで示された比較した領域と重なる赤や青のバーが示されますね。これらは登録された患者の欠失例（赤）重複例（青）の範囲を示したものです。色が濃いほど疾患との関連が強く示唆されるものです。（もう一つスクロールするとその説明が書いてあります） 例えばこの場合ですと、少し色は薄いけれど欠失範囲が似通っている**276684**の数字をクリックしてみましょう

するとその場にウィンドウが開きます。これが患者# **276684**の欠失に関する情報が出ます。そこで、ボックス内の**276684**をクリックします。



## この画面は患者 # 276684 の情報です

この部分に1があれば 当該欠失だけです。その他にCNVがあるとその分だけ数が増えます。従って、当該領域以外のゲノムの異常を考慮しなければならなくなります。1でかつぴったり範囲が重なり色の濃い症例を見つけるのが良いのです。ゲノムの情報は中段のブルーハイライトに表示されます。次に一番大事な表現型を見るため赤丸をクリックしましょう



About

Search DECIPHER



Help Join Log in

Patient: 276684

Overview

Genotype 1

Phenotypes 1

Assessments 0

Karyotype

Citations 0

Contact

Variants: 1 to 1 of 1

Show:

All

Filter...

Location	Type	Genes	Size	Annotations	Inheritance / Genotype	Pathogenicity / Contribution	Links
4 92633791 93541770 GRCh38	Deletion Mean ratio: -1	3	907.98 kb		Paternally inherited Heterozygous		Show more

Deletion 4:92633791-93541770

Browser

Genes 3

Matching patient variants 55

Matching CNV syndromes 0

Pathogenicity evidence

Tracks

GRCh38: Chr 4

2.40 Mb 92.60 Mb 92.80 Mb 93.00 Mb 93.20 Mb 93.40 Mb 93.60 Mb

44

たった一つ知的障害が表示されました。



About Browse ▾ DDD (UK)

Search DECIPHER



Help Join Log in →

Patient: 276684

Overview

Genotype 1

Phenotypes 1

Assessments 0

Karyotype

Citations 0

Contact

Patient 1

Mother 0

Father 0

## Patient phenotypes

Abnormality of the nervous system

Intellectual disability, moderate



### Information

[About DECIPHER](#)

[Advisory Board](#)

[Affiliations](#)

[Project Proposal](#) ↓

### Downloads

[Ethical Framework](#) ↓

[Data Flowchart](#) ↓

[Data Files](#)

### Forms

[Consent](#)

[Assent](#)

[Family Pack](#)

### Policies

[Legal](#)

[Cookies Policy](#)

[Data Sharing](#)

[Citing](#)

Wellcome Sanger Institute

[Report a bug or feed back](#)

## 4 アレイ結果の解釈と判定

- 報告されたCNVは間違いなくCNVか？  
サイズ, Log2値, ドット分布図
- CNV領域は病的意義を持つか？
  - 1 既存あるいは既報の染色体異常症か？
  - 2 領域に病因遺伝子があるか？  
欠失領域ならハプロ不全が意義を持つ遺伝子  
重複領域なら重複が意義を持つ遺伝子
  - 3 よくあるCNVか？中には病的意義を持つ
  - 4 de novoか？
  - 5 CNV領域に偶発的にみつかると未発症の疾患リスクとなる遺伝子はないか？

# マイクロアレイ染色体検査が小児遺伝領域に及ぼすインパクト

多発奇形に発達遅滞を伴うなどの臨床症状から先天異常症候群が疑われるものの、臨床的に確定診断が付けられないときは、まずGバンド染色体検査が行われることが一般的でした。先天異常患者におけるGバンド染色体検査の異常検出率は3~4%程度とされていますが、マイクロアレイ染色体検査はGバンド染色体検査の少なくとも10倍以上の解像力を有しており、コピー数異常の検出率は15~20%と考えられています。本法を用いて従来、診断が困難であった多くの症例の確定診断がなされることにより、患者へ適切な診療やフォローアップへつなげることができるようになるだけでなく、疾患や病態の原因となる責任遺伝子の特定や同じ遺伝要因をもつ症例の蓄積により、新たな研究の進展、および新しい医療の展開が期待されます。

# マイクロアレイ染色体検査の限界

1. 均衡型構造異常（相互転座，逆位など）は検出できない。
2. ゲノムコピー数異常に伴う染色体構成が確認できない。  
コピー数減少が検出された際に，単純な欠失か不均衡転座等に伴う欠失かの区別ができない。またコピー数増加が検出された際にも，同一領域の縦列重複なのか，他の染色体部位に挿入，あるいは端部に付加したもののなのかが特定できない。
3. そのため，マイクロアレイ染色体検査でコピー数異常が検出された際には，患者および/あるいは両親について当該領域にマッピングされるクローンDNAをプローブとしたmetaphase FISH解析等を追加し，染色体異常として総合的に解釈することが必要となる。
4. 原則として倍数体，低頻度モザイクの検出が困難である。

普通保険適応がないので，実質上実施困難。まずは一般G-bandとマルチカラーFISHなどを考慮<sub>48</sub>

# マイクロアレイ染色体検査の限界 続き

検出されたコピー数異常の解釈が困難である場合がある。

1. Copy number variations (CNVs) が検出されたとき、病的意義がある場合 (disease causing CNVs/pathogenic CNVs) と正常多型/病的要因の可能性が低い場合 (normal CNVs, benign CNVs) 両親に無い場合 (de novo) にはdisease causingである可能性が高い両親のいずれかに由来する場合には、原則的にはbenign.
2. 一部のCNVについては、家系内で伝達され、浸透率の差異や他のCNVの相互作用を受けて、その影響が世代間で大きく異なる場合もある
3. 無症状の人においても数十kb～数百kbの (稀にはMbにおよぶ) 正常変異と考えられるCNVが5つ程度は存在することが知られており、一般集団中で1%以上の頻度で検出されるものをCopy number polymorphism (CNPs)と称します。

**そうはいつでも、表現型正常の両親の検査は保険適応がありません。**

# マイクロアレイ染色体検査の報告書を受け取ったら

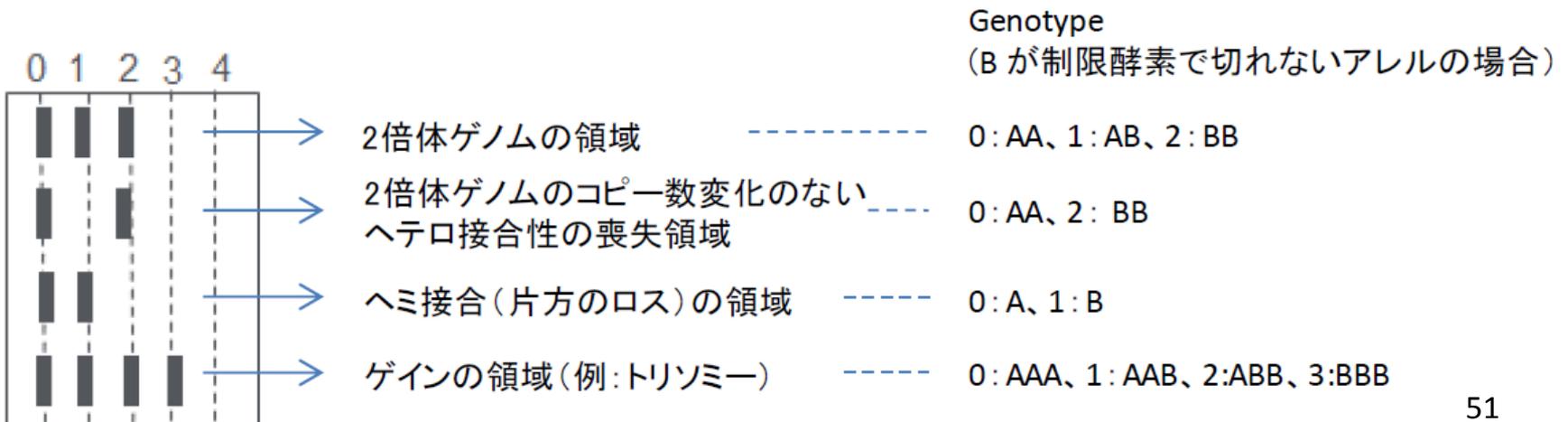
1. CNVsがあるかどうか見る
2. CNVsが既報の病的疾患に関連するか確認
3. CNVs領域にハプロ不全あるいはトリソミーで病的効果が出る遺伝子があるかどうか見る
4. あれば、それが臨床所見を説明するのもののか確認する.
5. 将来発症するような病的遺伝子がないか確認
6. カンファレンスをする
7. 患者に説明する. あいまいさを担保する.

# 5 LOHを忘れていませんか？

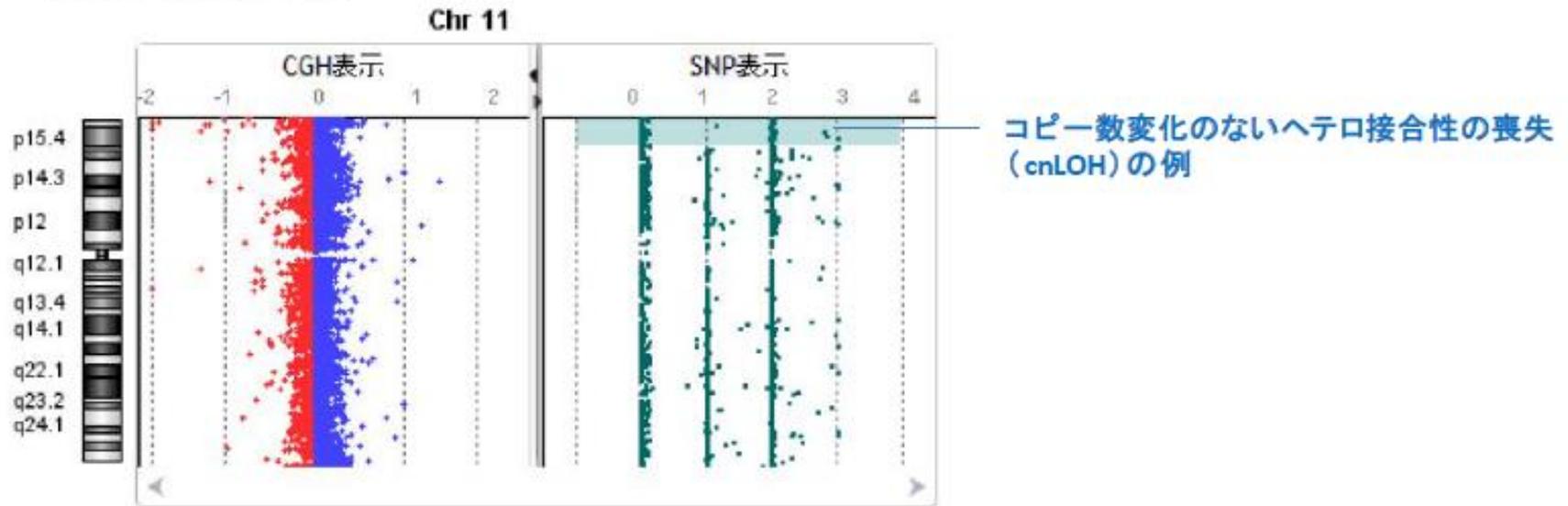
LOH領域表  
LOH Intervals Table

染色体 Chr	最小始点-終点(bp) 最大始点-終点(bp) Min Start-Stop(bp) Max Start-Stop(bp)	最小サイズ(kb) 最大サイズ(kb) Min Size(kb) Max Size(kb)	最小サイトバンド 最大サイトバンド Min Cytoband Max Cytoband	アノテーション Annotations
chr15	27517679-62435156 27491708-62616357	34,917.478 35,124.65	q12 - q22.2 q12 - q22.2	GABRG3, OCA2, HERC2, LOC645202, LOC100132202, GOLGA8F, GOLGA8G, MIR4509-1, MIR4509-2, MIR4509-3, HERC2P11, HERC2P9, GOLGA8M, WHAMMP2, LOC100289656, PDCD6IP2, GOLGA6L7, APBA2, FAM189A1, NSMCE3, LOC100130111, TJP1, GOLGA8J, ULK4P1, ULK4P2, ULK4P3, GOLGA8T, LINC02249, CHRFAM7A, DNM1P50, GOLGA8R, LOC100288203, LOC100996413, GOLGA8Q, LOC102725021, GOLGA8H, ARHGAP11B, LOC100288637, HERC2P10, FAN1, MTMR10, TRPM1, MIR211, LINC02352, LOC283710, KLF13, OTUD7A, CHRNA7, GOLGA8K, GOLGA8O,

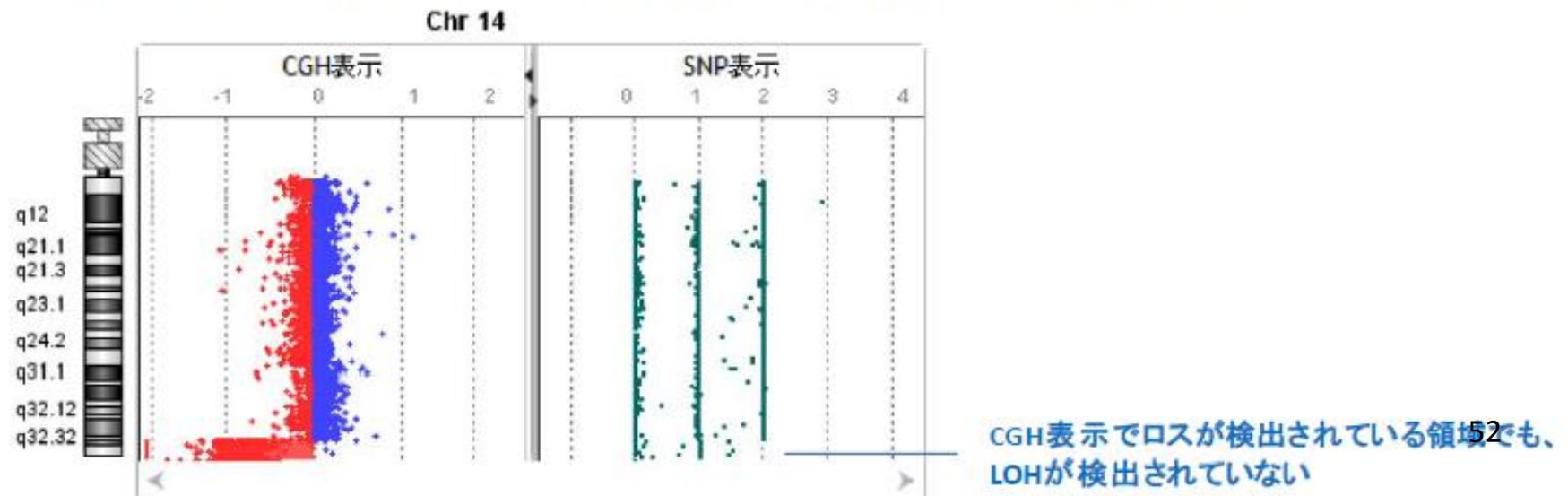
総LOH領域数: 1  
Total LOH Intervals: 1



## (cnLOHの表示例)



## (CGH表示でロスが検出されている領域でも、LOHが検出されていない例)



# LOHが示されたら

- 既報例: Chr 7 SRS, Chr 11 BWS/SRS, Chr 14 KOS/TS, Chr 15 PWS/ASではないか？
- 大きなサイズの場合は要検討
- 血族結婚がないかcheckを

SRS Silver Russell syndrome

BWS Beckwith Wiedemann syndrome

KOS Kagami Ogata syndrome

TS Temple syndrome

PWS Prader Willi syndrome

AS Angelman syndrome

# 最後に私の方式

1. 被験患者の選定: 発達障害±多発異常  
臨床所見の記載, 鑑別診断,  
遺伝学的解析 (G-banding)
2. 遺伝カウンセリング: 曖昧性, 診断率, 二次的所見
3. サンプル採取, 送致, 結果入手
4. 紙媒体の結果を原本保管, またPDFでカルテに保存
5. 自ら結果をDecipherとClinGenで解析. 解析結果報告書案を作成
6. PDFと患者情報, 報告書案を外部Dr.X, Dr.Yに送致. 解析とコメントを依頼
7. 主治医, 遺伝カウンセラー, Dr.X, Dr.Yとともにカンファレンス (月1回)
8. 患者説明と遺伝カウンセリング: 今後のゲノム検査の方針  
遺伝相談