

УДК 616-006.66

## ВАЖНОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ ДАННЫХ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ РОССИЙСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ ПОИСКЕ ПРИЧИНЫ НАСЛЕДСТВЕННОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ В СЕМЬЕ НА ПРИМЕРЕ АДЕНОМАТОЗНОГО ПОЛИПОЗА

© 2021 г. А. С. Цуканов<sup>1</sup> \*, А. А. Барин<sup>1</sup>, В. П. Шубин<sup>1</sup>, А. Н. Логинова<sup>1</sup>, Т. А. Савельева<sup>1</sup>,  
Д. Ю. Пикунов<sup>1</sup>, А. М. Кузьминов<sup>1</sup>, В. Н. Кашников<sup>1</sup>, А. В. Поляков<sup>2</sup>, Ю. А. Шельгин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих, Москва, 123423 Россия

<sup>2</sup>Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, Москва, 115522 Россия

\*e-mail: Tsukanov81@rambler.ru

Поступила в редакцию 11.08.2020 г.

После доработки 14.09.2020 г.

Принята к публикации 01.10.2020 г.

Исследовали образцы ДНК шести членов одной семьи (три пациента с аденоматозным полипозом толстой кишки, двое здоровых и один человек с невыясненным статусом заболевания) методом полноэкзомного секвенирования. Предварительно у одной пациентки проводилась ДНК-диагностика генов *APC/MutYH* методом секвенирования по Сэнгеру, при которой герминальных мутаций найдено не было. В результате биоинформатического анализа данных у четырех кровных родственников (трое больных и один человек с неизвестным статусом болезни) была выявлена мутация в гене *NSUN7*, который ранее не описывался как ассоциированный с развитием аденоматозного полипоза толстой кишки. Однако в дальнейшем выяснилось, что популяционная частота этого варианта в данном гене именно в России существенно выше, чем встречаемость самого заболевания. При повторном биоинформатическом анализе только у трех больных выявлена ранее не описанная гетерозиготная делеция, включающая экзоны 2–16 гена *APC*, а также участки генов *SRP19* и *REEP5*, которая впоследствии подтверждена методом мультиплексной проба-зависимой лигазной реакции с последующей амплификацией (MLPA, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Проведенное молекулярно-генетическое исследование продемонстрировало необходимость создания и постоянного пополнения отечественной базы данных вариантами, найденными при высокопроизводительном секвенировании. Также установлена целесообразность выполнения поиска больших делеций в гене *APC* у российских пациентов с аденоматозным полипозом толстой кишки.

**Ключевые слова:** аденоматозный полипоз, полноэкзомное секвенирование, ген *NSUN7*, ген *APC*, большая делеция.

**DOI:** 10.31857/S0016675821060126

Аденоматозные полипозные синдромы представляют собой целую группу наследственных заболеваний, проявляющихся развитием десятков, сотен, а иногда и тысяч полипов в толстой кишке пациента, вероятность злокачественной трансформации которых может достигать 100% в случае несвоевременного выполнения хирургического вмешательства. Наиболее частой причиной семейного аденоматоза толстой кишки являются гетерозиготные герминальные мутации в гене *APC* [1, 2]. Данный ген локализуется в регионе 5q22.2 и включает 16 экзонов, 15 из которых кодируют белок. Основную роль продукт гена *APC* выполняет в сигнальном WNT-пути [3]. Мутации в гене *APC* выявляются примерно у 70–80% пациентов, у которых к возрасту 40–45 лет в толстой кишке

развивается более 100 аденоматозных полипов, что является классической формой семейного аденоматоза толстой кишки (**FAP**) [4, 5]. Как правило мутации у такого рода больных локализуются на участке 157–1595 кодонов (за исключением экзона 9) [6]. Если количество полипов у больного менее 100, то у пациента диагностируется ослабленная форма заболевания (**AFAP**), при которой мутации в гене *APC* целесообразно искать в области до 157-го кодона или после 1595-го кодона, а также в экзоне 9, однако вероятность их обнаружения составляет только 20% [7, 8].

В 2002 г. поиск других генов привел к открытию гена *MutYH*, который располагается в участке 1p34.1 и включает 16 кодирующих экзонов. Продукт этого гена принимает участие в эксцизион-

ной репарации. К развитию полипоза приводят биаллельные мутации этого гена [9]. При этом клиническая картина *MutYH*-ассоциированного полипоза, как правило, сходна с ослабленной формой аденоматозного полипоза [10, 11]. Наиболее часто мутации у больных аденоматозным полипозом выявляются в генах *APC* и *MutYH*, однако описаны случаи обнаружения наследственных мутаций и в других генах.

В 2015 г. у семи родственников, пораженных аденоматозным полипозом, из трех различных семей были также выявлены биаллельные мутации в гене *NTHL1*, участвующем в эксцизионной репарации ДНК [12]. Данный ген локализован в регионе 16p13.3 и включает шесть кодирующих экзонов. В настоящий момент в мире описано около 20 семей с *NTHL1*-ассоциированным полипозом. Как правило, у пациентов с биаллельными мутациями в гене *NTHL1* в толстой кишке выявляется до 100 аденоматозных полипов [13].

В 2013 г. С. Palles с соавт. описали наследственные гетерозиготные мутации в генах *POLE* и *POLD1* у пациентов с полипами и случаями колоректального рака [14]. Гены *POLE* и *POLD1* располагаются в участках 12q24.33 и 19q13.33 и включают 49 и 27 экзонов соответственно. Их продукты являются участниками системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch repair, MMR). Однако в настоящее время накоплено недостаточно данных для того, чтобы можно было определенно говорить о преимущественном количестве полипов при РР-ассоциированном полипозе (Polymerase proofreading-associated polyposis) [15].

Необходимо отметить, что мутации в указанных генах не объясняют всех случаев аденоматозного полипоза у пациентов, поэтому нет сомнений, что с развитием и внедрением в клиническую практику технологии полноэкзомного (полногеномного) секвенирования в ближайшее время будут открыты и другие гены. В настоящей статье описывается поиск герминальных мутаций в экзонных областях генома человека.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### *Члены семьи О.*

В марте 2019 г. были собраны образцы крови 6 членов семьи О., в которой имелось большое количество родственников, пораженных семейным аденоматозом толстой кишки и колоректальным раком (рис. 1). У трех родственников диагностировано заболевание, у одного из которых нами ранее была проведена ДНК-диагностика генов *APC* и *MutYH* методом секвенирования по Сэнгеру (мутаций не выявлено) [5]; два члена семьи были здоровы; у одного родственника статус заболевания известен не был, поскольку он еще не вы-

полнил эндоскопического обследования толстой кишки. От всех членов семьи, вовлеченных в данную работу, было получено информированное согласие.

### *Выделение ДНК*

ДНК из лейкоцитов венозной крови выделяли с помощью набора QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Германия) из 200 мкл цельной крови согласно протоколу производителя, оценку количества ДНК проводили с помощью прибора DeNovix QFX (Denovix, США) и наборов для измерения ДНК Qubit dsDNA BR Assay Kit (ThermoFisher, США).

### *Массовое параллельное секвенирование*

Для приготовления парно-концевых библиотек использовали 100 нг тотальной геномной ДНК. Проведены этапы пробоподготовки с первоначальной фрагментацией на приборе Covaris ME220 (Covaris, США) для получения целевого фрагмента 150 нкд с последующим обогащением экзомных регионов по комбинированному протоколу Illumina Truseq Exome совместно с зондами IDT xGen Exome v1 и секвенированием на платформе NextSeq550 с длиной прочтения 2\*75 нкд (Illumina, США). Всего получено прочтений, прошедших фильтр (PF), в среднем  $81556239 \pm 5780081$ , среднее покрытие составило  $97.4 \pm 6.5$ , 50-кратное покрытие достигалось для  $89.6\% \pm 3.7$  нкд панели для исследуемых образцов.

Полученные прочтения были картированы на референсный геном GRCh37(hg19) с использованием BWA (v0.7.7) [16], SAMtools (v0.1.19) [17], варианты получены с помощью пакета программ GATK (v1.6) [18], аннотирование по базам данных (dpSNP v151, GnomAD v2.1, ExAC v0.3.1, 1000 Genomes Phase3 v5a, HGMD v2020.2), фильтрация и сегрегационный анализ проводили в облачном программном обеспечении BaseSpace Variant Interpreter (annotation engine v3.6.2.0). Анализ CNV-событий выполняли с помощью пакета CODEX [19] и визуализацией в IGV [20]. Полученные варианты оценивались по их встречаемости в популяции, влиянию на аминокислотную последовательность, нахождению в функциональном домене, оценке данных программ предсказателей патогенности (Sift, PolyPhen, DANN, MutationTaster, FAHMM-MKL) и других критериев согласно руководству по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования [21]. Оценку патогенности CNV проводили согласно опубликованным критериям "Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical

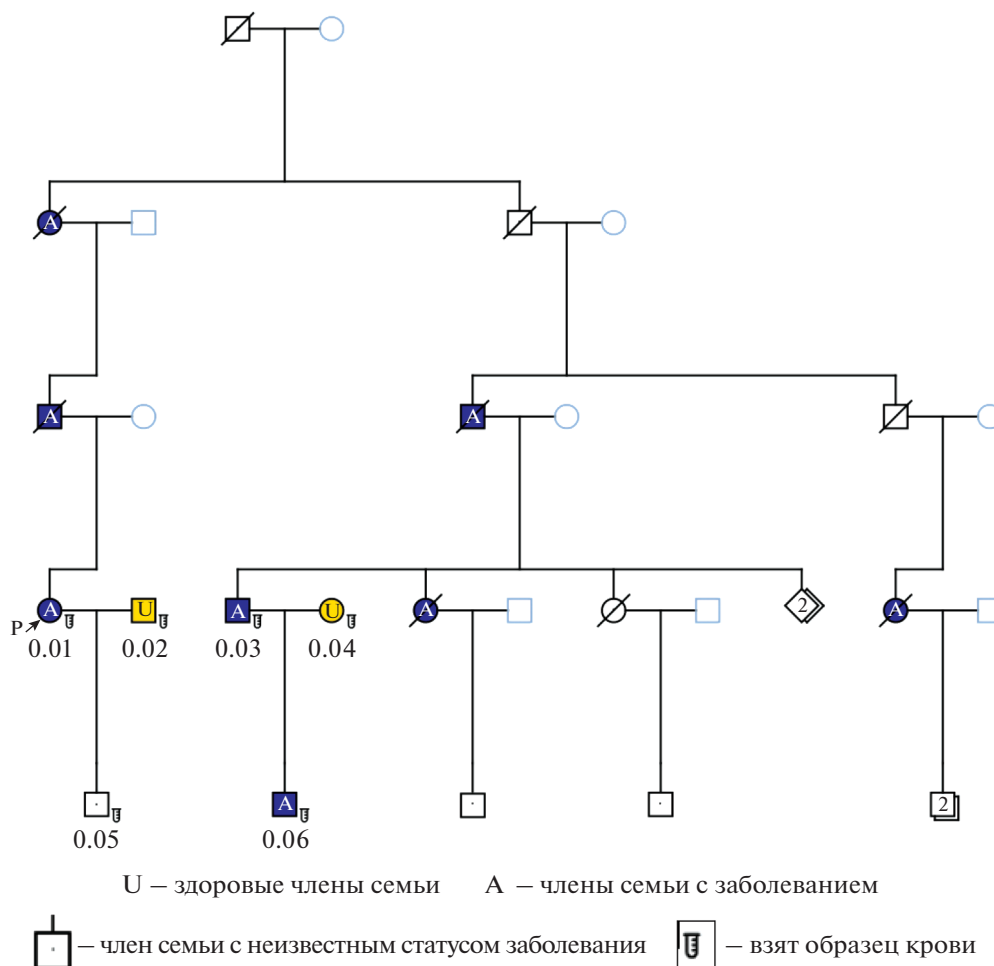


Рис. 1. Родословная семьи О.

Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)” [22].

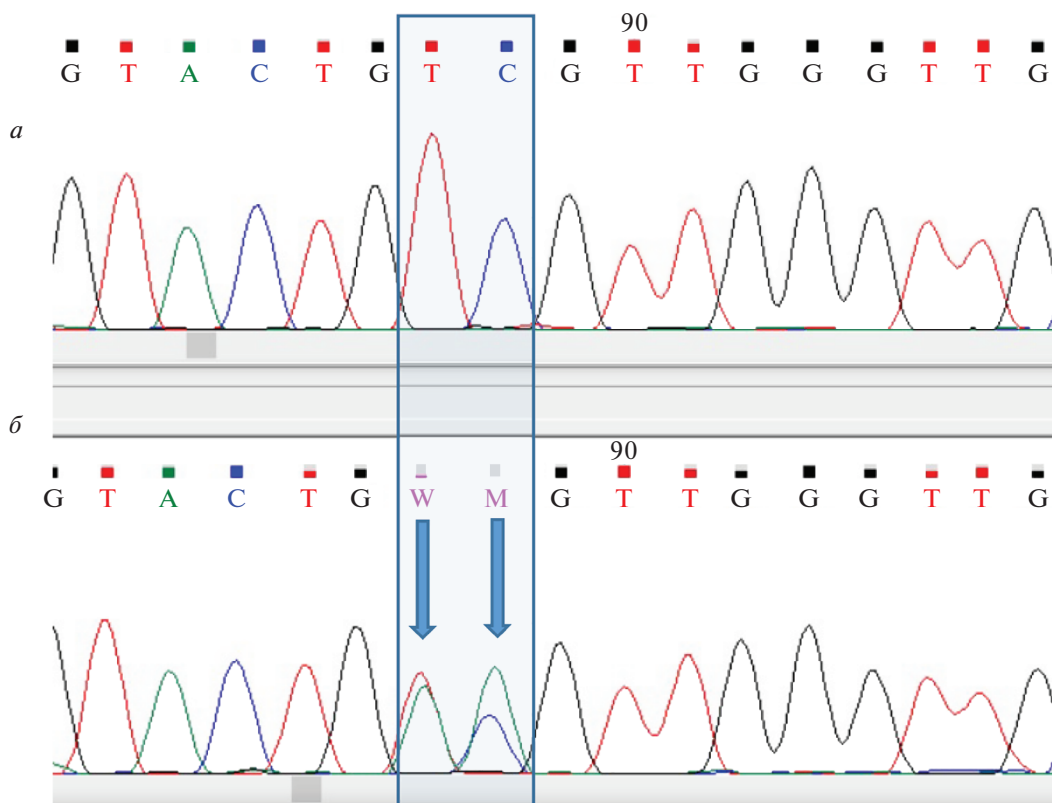
*Секвенирование по Сэнгеру*

Найденную мутацию в гене *NSUN7* подтвердили методом секвенирования по Сэнгеру. Подбор праймеров осуществляли с помощью программы PRIMER3. ПЦР проводили при следующих условиях: 95°C – 5 мин; 35 циклов (95°C – 10 с, 60°C – 10 с, 72°C – 10 с). Буфер для ПЦР: 2.5 мМ MgCl<sub>2</sub> (ThermoFisher, США), 0.25 мМ dNTP (ThermoFisher, США) (0.4 пМ F-праймер: TCAAGATTGTTCTGCCTCCA, 0.4 пМ R-праймер: AGGGAGGAAGGTGTGTCATCT). Секвенирование выполняли с применением набора терминаторов BigDye 3.1 на генетическом анализаторе 3500 ABI PRISM (Applied Biosystems, США) согласно протоколу производителя. Полученные данные анализировали в программном обеспечении UGENE [23].

*Метод мультиплексной проба-зависимой лигазной реакции с последующей амплификацией*

Детекцию больших делеций в гене *APC* проводили методом мультиплексной проба-зависимой лигазной реакции с последующей амплификацией (MLPA) с использованием набора реактивов SALSA MLPA P043-APC, версия D1 (MRC-Holland, Нидерланды) по протоколу производителя. Фрагментный анализ осуществляли на генетическом анализаторе 3500 ABI PRISM (Applied Biosystems, США). При автоматической программной интерпретации результатов с помощью программы Coffalyser.Net (MRC-Holland, Нидерланды), данные картируются на референсный геном: hg18/mapview build 36.

Для преобразования координат генома и файлов аннотаций генома между сборками использовали ресурс открытого доступа: <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgLiftOver>.



**Рис. 2.** Сиквенс участка гена *NSUN7*: *a* – участок гена *NSUN7* у здорового члена семьи О. (мутации нет), *б* – участок гена *NSUN7* у больного члена семьи О. (мутация с.2031\_2032delinsAA указана стрелками).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

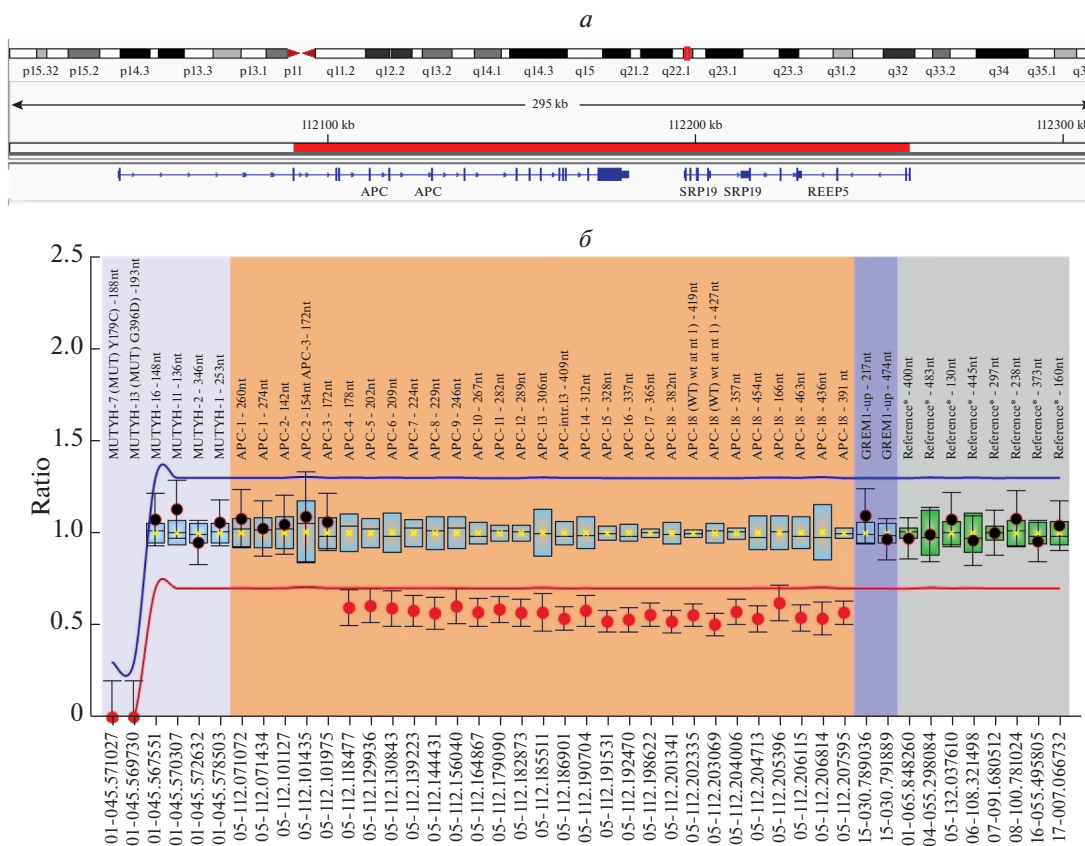
Так как ранее у одной пациентки (О.01) с помощью секвенирования по методу Сэнгера в генах *APC* и *MutYH* наследственных мутаций выявлено не было, у нее и всех членов ее семьи провели полноэкзонное секвенирование.

В результате у всех трех больных (О.01, О.03, О.06), страдающих полипозом, а также у сына пациентки (О.04), чей статус заболевания не был известен, была найдена наследственная мутация с.2031\_2032delinsAA (p.Cys677Ter) в гене *NSUN7*, которая была подтверждена с помощью секвенирования по методу Сэнгера (рис. 2). Ген *NSUN7* (NOP2/Sun RNA methyltransferase family member 7; OMIM 617185) находится на хромосоме 4 и включает 12 экзонов, 11 из которых кодируют белок. В базе данных HGMD имеется описание только одной патогенной мутации в гене *NSUN7*. Мутация p.Thr141LeufsX17 (с.421delA) была обнаружена в 2015 г. иранскими исследователями N. Khosronezhad и соавт. среди пациентов с астеноспермией [24]. Однако исследование данного гена, проведенное H. Ren и соавт. на большей выборке китайских пациентов, не выявило его связи с астеноспермией [25]. Стоит отметить, что астеноспермия является довольно частым заболеванием у мужчин, однако за последующие годы ни в одном

исследовании у такого рода больных из других стран мутаций в гене *NSUN7* найдено не было.

В найденном нами регионе гена *NSUN7* ранее была выявлена мутация p.Cys677Ter (rs1338709562), которая в базе данных GnomAD описана с частотой 2 на 156850 человек, при этом данных по ее клинической значимости не имеется. Также была обнаружена миссенс-мутация p.Arg678Ser (rs778600079) с частотами 3/21796 и 6/125568 человек в базах ExAC и TOPMED соответственно. Однако о ее клинической значимости также нет данных. Еще одной базой, в которой было решено проверить встречаемость данного наследственного варианта, прежде чем делать выводы об открытии нового гена, обуславливающего развитие полипоза, была база данных “NGS-DATA” ФГБНУ “МГНЦ”. Согласно данным этого ресурса частота встречаемости варианта с.2031\_2032delinsAA в гене *NSUN7* в российской популяции составила 2/1223 человек, что существенно выше, чем частота самого заболевания (1/10000 человек). Таким образом, стало очевидно, что мутация в гене *NSUN7* не может являться причиной развития аденоматозного полипоза в данной семье.

В связи с этим поиск наследственной причины заболевания в данной семье продолжился, поскольку у нас имелись все генетические данные по каж-



**Рис. 3.** Определение большой делеции в гене APC: *а* – схема делеции (указана красным цветом) участка 5 хромосомы, *б* – обнаружение делеции в гене APC методом MLPA.

дому родственнику, был проведен повторный анализ результатов с помощью программы CODEX, позволяющей обнаруживать наличие больших вставок или делеций при проведении полноэкзомного секвенирования. В результате повторного биоинформатического анализа CNV у трех пораженных родственников была выявлена гетерозиготная делеция сегмента хромосомы 5 с захватом интервала 112090569–112258195 пн, включающего экзоны 2–16 гена APC, а также участки генов SRP19 и REEP5 (рис. 3,а). Из трех данных генов с развитием семейного аденоматоза толстой кишки ассоциирован только ген APC [1]. Наличие большой делеции в гене APC было подтверждено также с помощью метода MLPA (рис. 3,б).

У сына пациентки, чей статус заболевания не был известен, мутации нет. Найденная у больных мутация ранее описана не была. Таким образом, в настоящей работе выявили, что частота герминальных мутаций в гене APC у российских больных аденоматозным полипозом выше, чем определенная нами ранее [5]. Это обусловлено тем, что на момент получения предыдущих результатов поиск больших делеций у пациентов не проводился. Необходимо уточнить, что встречаемость больших делеций в гене APC у пациентов из

разных популяций варьирует от 0 в Словакии и Греции до 14% в Бельгии и Китае [26–29].

В заключение стоит отметить, что проведенный нами поиск молекулярно-генетической причины развития полипоза в обследованной семье, хотя и не позволил открыть новый ген, тем не менее привел к нескольким очень важным выводам. Прежде всего показана крайне высокая необходимость разработки и постоянного пополнения базы данных результатов высокопроизводительного секвенирования российских пациентов. Во-вторых, продемонстрирована возможность применения программ поиска больших вставок/делеций при анализе результатов полноэкзомного секвенирования. В-третьих, проведенное исследование позволило установить причину развития заболевания в конкретной семье и указало на более высокую частоту герминальных мутаций в гене APC у российских больных аденоматозным полипозом, чем предполагалось ранее. Наконец необходимо отметить, что в данной работе использование полноэкзомного секвенирования привело к обнаружению патогенной мутации в анализируемой семье; однако в тех случаях, когда наследственную причину с его помощью установить не удастся, целе-

сообразно применять метод полногеномного секвенирования.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национально-го комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Groden J., Thliveris A., Samowitz W. et al. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene // *Cell*. 1991. V. 66. № 3. P. 589–600. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(81\)90021-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(81)90021-0)
- Цуканов А.С., Шельгин Ю.А., Фролов С.А., Кузьминов А.М. Семейный аденоматоз толстой кишки // *Хирург*. 2017. № 3. С. 14–24.
- Näthke I.S. The adenomatous polyposis coli protein: The Achilles heel of the gut epithelium // *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 2004. V. 20. № 1. P. 337–366. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.20.012103.094541>
- Rivera B., González S., Sánchez-Tomé E. et al. Clinical and genetic characterization of classical forms of familial adenomatous polyposis: A Spanish population study // *Ann. Oncol.* 2011. V. 22. № 4. P. 903–909. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdq465>
- Цуканов А.С., Поспехова Н.И., Шубин В.П. и др. Мутации в гене *APC* у российских пациентов с классической формой семейного аденоматоза толстой кишки // *Генетика*. 2017. Т. 53 № 3. С. 356–363.
- Nieuwenhuis M.H., Vasen H.F.A. Correlations between mutation site in *APC* and phenotype of familial adenomatous polyposis (FAP): A review of the literature // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2007. V. 61. № 2. P. 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2006.07.004>
- Knudsen A.L., Bisgaard M.L., Bulow S. Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP): A review of the literature // *Fam. Cancer* 2003. № 2(1). P. 43–55. <https://doi.org/10.1023/a:1023286520725>
- Kastrinos F., Syngal S. Inherited colorectal cancer syndromes // *Cancer J.* 2011. V. 17. № 6. P. 405–415. <https://doi.org/10.1097/ppo.0b013e318237e408>
- Al-Tassan N., Chmiel N.H., Maynarde J. et al. Inherited variants of *MUTYH* associated with somatic G:C→T:A mutations in colorectal tumors // *Nat. Genet.* 2002. V. 30. № 2. P. 227–232. <https://doi.org/10.1038/ng828>
- Цуканов А.С., Пикунов Д.Ю., Тобоева М.Х. и др. Трудности диагностики *MUTYH*-ассоциированного полипоза толстой кишки // *Колопроктология*. 2020. Т. 19. № 1 (71). С. 107–116. <https://doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-1-107-116>
- Lubbe S.J., Di Bernardo M.C., Chandler I.P., Houlston R.S. Clinical implications of the colorectal cancer risk associated with *MUTYH* mutation // *J. Clin. Oncol.* 2009. V. 27. № 24. P. 3975–3980. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.21.6853>
- Weren R.D.A., Ligtenberg M.J.L., Kets C.M. et al. A germline homozygous mutation in the base-excision repair gene *NTHL1* causes adenomatous polyposis and colorectal cancer // *Nat. Genet.* 2015. V. 47. № 6. P. 668–671. <https://doi.org/10.1038/ng.3287>
- Altaraihi M., Gerdes A.-M., Wadt K. A new family with a homozygous nonsense variant in *NTHL1* further delineated the clinical phenotype of *NTHL1*-associated polyposis // *Hum. Genome Var.* 2019. V. 6:46 (open access). <https://doi.org/10.1038/s41439-019-0077-3>
- Palles C., Cazier J.-B., Howarth K.M. et al. Germline mutations affecting the proofreading domains of *POLE* and *POLD1* predispose to colorectal adenomas and carcinomas // *Nat. Genet.* 2012. V. 45. № 2. P. 136–144. <https://doi.org/10.1038/ng.2503>
- Talseth-Palmer B.A. The genetic basis of colonic adenomatous polyposis syndromes // *Hered. Cancer Clin. Pract.* 2017. V. 15. № 1. P. 5–12. <https://doi.org/10.1186/s13053-017-0065-x>
- Li H., Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler Transform // *Bioinformatics*. 2009. V. 25. P. 1754–1760. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324>
- Li H., Handsaker B., Wysoker A. et al. The sequence alignment/map format and SAMtools // *Bioinformatics*. 2009. V. 25. № 16. P. 2078–2079. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352>
- Van der Auwera G.A., Carneiro M.O., Hartl C. et al. From fastQ data to high-confidence variant calls: The genome analysis toolkit best practices pipeline // *Curr. Protoc. Bioinformatics*. 2013. V. 43. P. 1–33. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1110s43>
- Jiang Y., Oldridge D.A., Diskin S.J., Zhang N.R. CODEX: A normalization and copy number variation detection method for whole exome sequencing // *Nucleic Ac. Res.* 2015. V. 43. № 6. P. e39. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1363>
- Robinson J.T., Thorvaldsdóttir H., Winckler W. et al. Integrative Genome Viewer // *Nat. Biotechnol.* 2011. V. 29. № 1. P. 24–6. <https://doi.org/10.1038/nbt.1754>
- Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б. и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (Mps) (Редакция 2018, Версия 2) // *Мед. генетика*. 2019. Т. 18. № 2. С. 3–23. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.02.3-23>
- Brandt T., Sack L., Arjona D. et al. Adapting ACMG/AMP sequence variant classification guidelines for single-gene copy number variants // *Genet. Med.* 2020. V. 22. P. 336–344. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0655-2>

23. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., Unipro U. GENE: A unified bioinformatics toolkit // *Bioinformatics*. 2012. V. 28. № 8. P. 1166–1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
24. Khosronezhad N., Colagar A.H., Mortazavi S.M. The *Nsun7* (A11337)-deletion mutation causes reduction of its protein rate and associated with sperm motility defect in infertile men // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015. V. 32. № 5. P. 807–815. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0443-0>
25. Ren H.Y., Zhong R., Ding X.P. et al. Investigation of polymorphisms in exon7 of the *NSUN7* gene among Chinese Han men with asthenospermia // *Genet. Mol. Res.* 2015. V. 14. № 3. P. 9261–9268. <https://doi.org/10.4238/2015.august.10.6>
26. Sheng J.-Q., Wei-Jia Cui, Lei Fu et al. *APC* gene mutations in Chinese familial adenomatous polyposis patients // *World J. Gastroenterol.* 2010. V. 16. № 12. P. 1522–1526. <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i12.1522>
27. Stekrova J., Sulova M., Kebrdlova V. et al. Novel *APC* mutations in Czech and Slovak FAP families: Clinical and genetic aspects // *BMC Med. Genet.* 2007. V. 8. P. 16. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-8-16>
28. Fostira F., Thodi G., Sandaltzopoulos R. et al. Mutational spectrum of *APC* and genotype-phenotype correlations in Greek FAP patients // *BMC Cancer.* 2010. V. 10. P. 389–398. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-389>
29. Michils G., Tejpar S., Thoelen R. et al. Large deletions of the *APC* gene in 15% of mutation-negative patients with classical polyposis (FAP): A Belgian study // *Hum. Mutat.* 2005. V. 25. P. 125–134. <https://doi.org/10.1002/humu.20122>

## Finding the Cause of Hereditary Disease in a Family with Adenomatous Polyposis: Why It Is Important to Accumulate Whole Exome Sequencing Data in Russian Population

A. S. Tsukanov<sup>a,\*</sup>, A. A. Barinov<sup>a</sup>, V. P. Shubin<sup>a</sup>, A. N. Loginova<sup>a</sup>, T. A. Savelieva<sup>a</sup>, D. Yu. Pikunov<sup>a</sup>, A. M. Kuzminov<sup>a</sup>, V. N. Kashnikov<sup>a</sup>, A. V. Polyakov<sup>b</sup>, and Yu. A. Shelygin<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Ryzhikh National Medical Research Center of Coloproctology, Moscow, 123423 Russia*

<sup>b</sup>*Research Center for Medical Genetics, Moscow, 115522 Russia*

\*e-mail: Tsukanov81@rambler.ru

With the aim to find the genetic reason of adenomatous polyposis DNA samples from 6 members of the same family (3 affected and 2 healthy individuals, and 1 person with unknown disease status) were examined by whole-exome sequencing and segregation analysis. Previously, no *APC/MutYH* mutations have been found in one patient by Sanger sequencing despite all the symptoms of adenomatous polyposis syndrome. Among the studied by whole-exome sequencing cases, 4 blood relatives (3 affected patients and 1 person with unknown disease status) were found to have a mutation in the *NSUN7* gene, which was not previously described as associated with the development of adenomatous polyposis. However, later it turned out that the population frequency of this gene's variant in Russia had been significantly higher than the incidence of adenomatous polyposis. Additional bioinformatic analysis of copy number variation (CNV) revealed a previously undescribed large heterozygous mutation in 3 patients, including exons 2–16 of the *APC* gene, as well as exons of the *SRP19* and *REEP5* genes, and that was subsequently confirmed by Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA). The conducted molecular genetic investigation demonstrated the need to create and constantly update the national database of high-throughput sequencing. The necessity of searching for large deletions in the *APC* gene in Russian patients with adenomatous polyposis has also been established.

**Keywords:** adenomatous polyposis, whole exome sequencing, *NSUN7* gene, *APC* gene, large deletion.