

Vyšetření onemocnění ze skupiny RASopathií

Diagnózy ze skupiny RASopathií jsou hereditární autozomálně dominantní onemocnění, které jsou způsobovány mutacemi v genech spojených s RAS/MAPK signalizační kaskádou. Prostřednictvím RAS/MAPK dráhy je ovlivňována proliferace buněk, jejich diferenciace, migrace, stárnutí i smrt. Mutace vedou k deregulaci signalizace a poruše transdukce signálu.

Vzhledem k fenotypovému překryvu jednotlivých diagnóz ze skupiny RASopathií je prováděno molekulárně-genetické vyšetření všech genů souvisejících s RASopathiemi (geny *A2ML1*, *BRAF*, *CBL*, *HRAS*, *KAT6B*, *KRAS*, *LZTR1*, *MAP2K1*, *MAP2K2*, *MAP3K8*, *MAP4K4*, *MAPK1*, *MRAS*, *NF1*, *NRAS*, *PPP1CB*, *PTPN11*, *RAF1*, *RALA*, *RASA1*, *RASA2*, *RIT1*, *RRAS*, *RRAS2*, *RREB1*, *SHOC2*, *SOS1*, *SOS2*, *SPRED1*, *SPRY1*, *SYNGAP1*, *YWHAZ*).

Jednolivé syndromy ze skupiny RASopathií:

- syndrom Noonanové (OMIM 163950)
- Costello syndrom (OMIM 218040)
- kardiofaciokutánní syndrom (CFC syndrom; OMIM 115150)
- syndrom Noonanové s mnohočetnými pihami (dříve syndrom LEOPARD; OMIM 151100)
- *CBL*-mutation associated syndrom

Vzhledem k nákladnosti vyšetření si vyhraujeme právo zhodnotit indikační kritéria pacienta k vyšetření.

Vyšetření NGS-WES indikuje pouze lékař odbornosti 208 lékařská genetika.

Indikační kritéria

- Prenatální vyšetření není prováděno rutinně, pouze po předchozí domluvě s provádějícím pracovníkem.
- K žádance o vyšetření žádáme o přiložení vyplněného klinického dotazníku (ke stažení na stránkách ÚBLG, sekce „Dokumenty ke stažení“).

Analytické metody

Metoda	Vyšetřované markery/oblasti:
Vyšetření zárodečných mutací vybraných hereditárních onemocnění masivně paralelním sekvenováním pomocí diagnostické soupravy – panel v rámci WES	Analyzována je skupina genů asociovaných s RASopathiemi: NM_144670.6 (<i>A2ML1</i>), NM_001354609.2 (<i>BRAF</i>), NM_005188.4 (<i>CBL</i>), NM_005343.4 (<i>HRAS</i>), NM_012330.4 (<i>KAT6B</i>), NM_033360.4 (<i>KRAS</i>), NM_006767.4 (<i>LZTR1</i>), NM_002755.3 (<i>MAP2K1</i>), NM_030662.3 (<i>MAP2K2</i>), NM_005204.4 (<i>MAP3K8</i>), NM_145686.3 (<i>MAP4K4</i>), NM_002745.4 (<i>MAPK1</i>), NM_001085049.3 (<i>MRAS</i>), NM_001042492.3 (<i>NF1</i>), NM_002524.5 (<i>NRAS</i>), NM_002709.3 (<i>PPP1CB</i>), NM_002834.4 (<i>PTPN11</i>), NM_002880.3 (<i>RAF1</i>), NM_005402.4 (<i>RALA</i>), NM_002890.3 (<i>RASA1</i>), NM_006506.5 (<i>RASA2</i>), NM_006912.6 (<i>RIT1</i>), NM_006270.5 (<i>RRAS</i>), NM_012250.6 (<i>RRAS2</i>), NM_001003699.4 (<i>RREB1</i>), NM_007373.3 (<i>SHOC2</i>), NM_005633.3 (<i>SOS1</i>), NM_006939.4 (<i>SOS2</i>), NM_152594.3 (<i>SPRED1</i>), NM_001258038.2 (<i>SPRY1</i>), NM_006772.3 (<i>SYNGAP1</i>), NM_145690.3 (<i>YWHAZ</i>) Analyzovány jsou všechny exony dle daného transkriptu s přesahem 5nt do intronů, včetně ověření delecí či duplikací jednoho nebo více exonů vyšetřovaných genů. Data z neindikovaných genů jsou před zobrazením výsledků jednotlivých pacientů k interpretaci zakryta a dále nejsou analyzována. Z důvodu fenotypového překryvu RASopathií s diagnózami neurofibromatóza typu 1 a Legiův syndrom jsou analyzované také geny zodpovědné za tyto syndromy (<i>NF1</i>, <i>SPRED1</i>). Nález patogenní varianty v těchto genech je reportován jako sekundární nález při vyšetření genů souvisejících s RASopathiemi.

Metoda	Vyšetřované markery/oblasti:
Cílené molekulárně genetické vyšetření variant metodou sekvenování dle Sangera	Cílená sekvenace variant v genech: NM_144670.6 (A2ML1), NM_001354609.2(BRAF), NM_005188.4(CBL), NM_005343.4(HRAS), NM_012330.4(KAT6B), NM_033360.4(KRAS), NM_006767.4(LZTR1), NM_002755.3(MAP2K1), NM_030662.3(MAP2K2), NM_005204.4(MAP3K8), NM_145686.3(MAP4K4), NM_002745.4(MAPK1), NM_001085049.3(MRAS), NM_001042492.3(NF1), NM_002524.5(NRAS), NM_002709.3(PPP1CB), NM_002834.4(PTPN11), NM_002880.3(RAF1), NM_005402.4(RALA), NM_002890.3(RASA1), NM_006506.5(RASA2), NM_006912.6(RIT1), NM_006270.5(RRAS), NM_012250.6(RRAS2), NM_001003699.4(RREB1), NM_007373.3(SHOC2), NM_005633.3(SOS1), NM_006939.4(SOS2), NM_152594.3(SPRED1), NM_001258038.2(SPRY1), NM_006772.3(SYNGAP1), NM_145690.3(YWHAZ)

Doby odezvy vzorků (*STATIM pouze po domluvě s laboratorí v odůvodněných případech)

Metoda	Doba odezvy: (pracovní dny)	
	Běžně	Statim
Vyšetření zárodečných mutací vybraných hereditárních onemocnění masivně paralelním sekvenováním pomocí diagnostické soupravy – panel v rámci WES	120	40*
Cílené molekulárně genetické vyšetření variant metodou sekvenování dle Sangera	60	10

Kontaktní informace Oddělení lékařské molekulární genetiky 4. patro, G ÚBLG 2. LF UK a FN Motol V úvalu 84/1, Praha 5, 150 06 Centrální příjem vzorků: Po–Pá 7:30 až 14:30 h	Požadavky na vzorek Krev: 2 nezávislé odběry, každý min. 4 ml do K₃EDTA Druhý vzorek slouží k ověření zachycené patogenní varianty u diagnostického testu, resp. k ověření každého výsledku prediktivního testu. Tímto postupem je minimalizována možnost chyby způsobené záměnou při manipulaci se vzorky. Izolovaná DNA: koncentrace 50–300 ng/μl a více v množství 100 μl a více DNA z plodové vody: pouze cílené vyšetření Vzorek označit minimálně jménem, příjmením a rodným číslem pacienta a datem odběru vzorku.	Odkazy Tartaglia et al, Nature Genet 2001, 29:465; Tartaglia et al, Am J Hum Genet 2002, 70:1555; Roberts et al, Nat Genet 2007, 39:70; Tartaglia et al, Nat Genet 2007, 39:75; Pandit et al, Nat Genet 2007, 39:1007; Razzaque et al, Nat Genet 2007, 39:1013; Aoki et al, Am J Hum Genet 2013, 93:173; Yamamoto et al, J Med Genet 2015, 52:413; Niihori et al, Nat Genet 2006, 38:294; Rodriguez-Viciano et al, Science 2006, 311:1287; Schubert et al, Nat Genet 2006, 38:331; Nava et al, J Med Genet 2007, 44:763; Cirstea et al, Nat Genet 2010; 42(1):27; Cordeddu et al, Nat Genet 2009; 41:1022; Aoki et al, Nature Genet 2005, 37:1038-1040; Martinelli et al., Am J Hum Genet 2010, 87:250
---	---	---

Transport vzorku musí respektovat maximální dobu stability vzorku - viz Laboratorní příručka ÚBLG. Transport vzorku poštou musí vyhovět požadavkům České pošty.