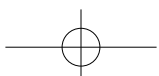


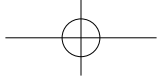
Technologies for Life
科技关爱生命

NanoWES 全外显子组检测

遗传病基因检测一线方案

www.berrygenomics.com

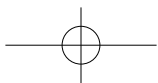


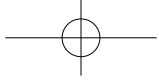


■ NanoWES——遗传病基因检测一线方案

基因检测技术的快速发展及对众多疾病遗传致病原因的揭示推动了医学实践从传统医学的“对症”向现代医学“对因”的革命性转变。因此，对遗传疾病患者进行精准诊断和治疗成为当前临床的重要任务和历史使命^[1]。

贝瑞基因 NanoWES 全外显子组检测基于二代高通量测序平台，参考 GRCh38/Hg38 版本参考基因组数据库，基于最新 CCDS 数据库蛋白编码区域设计的高保真双链 DNA 探针，具有“全面、精准、经济”三大优势，满足临床需求，可作为遗传病基因检测一线方案。





全面

探针覆盖约 25,000 个基因，包括外显子区、调节元件及内含子中明确致病区域以及线粒体基因组等；检测覆盖 SNP、Indel、CNV、非整倍体、LOH/UPD 等多种变异类型。



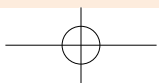
精准

采用 PCR-free 预文库构建技术，提高了覆盖度和均一性，降低了 PCR 产生的扩增偏好和碱基错配，检测灵敏度和特异性更高，检测结果更加精准。



经济

以远低于全基因组测序的成本，提供近乎于全基因组测序的临床检测效能，Trio 模式性价比更高。



NanoWES——更全面

覆盖范围更广

贝瑞基因 NanoWES 探针区段总长度约 **65Mb**，覆盖人类基因组约 **25,000 个** 基因。

高保真双链 DNA 探针源自：



参考基因组数据库采用
GRCh38/Hg38 版本

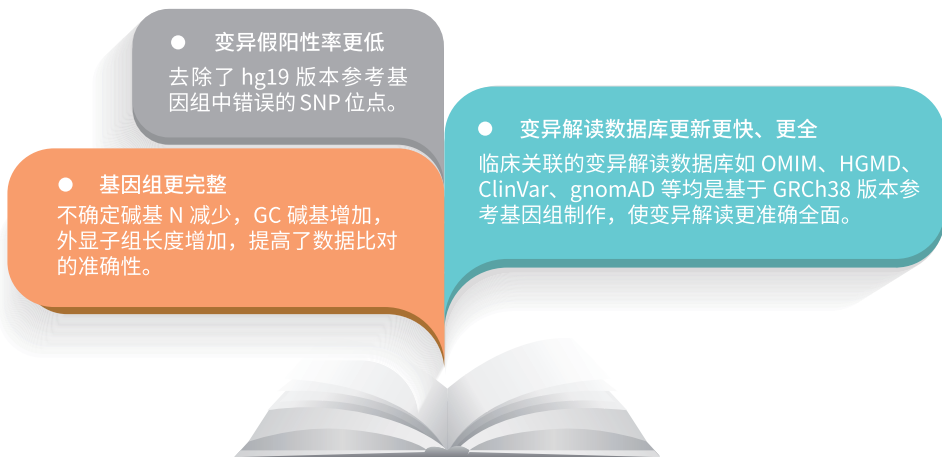


探针设计基于最新 CCDS
数据库蛋白编码区域

探针设计区域包括：

1. OMIM 具有明确分子机制的基因
2. ClinGen 专家组评定的基因
3. 调节元件明确致病区域
4. 内含子明确致病区域
5. 线粒体基因组全序列，共 16,569 bp
6. RefGene 中 RNA 区域

采用 GRCh38/hg38 版本参考基因组，检测结果更精准：



检测变异类型更全

- SNV/InDel：错义变异、无义变异、同义变异、移码变异、经典和非经典剪切变异、InDel 变异
- CNV：外显子水平的缺失重复、染色体微缺失和微重复
- 染色体数目异常：非整倍体、异倍体
- 嵌合体变异：覆盖非整倍体、CNV 和 SNV 的嵌合体
- UPD：单人 WES 模式可检出 LOH 变异，家系 WES 模式可对 UPD 进行变异来源区分，并能区分单亲异二体和单亲同二体
- 线粒体：实现线粒体位点的精准定量检测

检测疾病种类更多



NanoWES——更精准

痕量 DNA 检测——取样更便捷

NanoWES 实现了痕量 DNA 检测，攻克了样本起始量低、不新鲜干血片样本部分降解等难题。仅需 50ng 样本，NanoWES 即可实现平均测序深度 70X，覆盖度更高、数据更均一，满足外周血、干血片、口腔拭子等多种样本类型的检测，适合多种临床应用场景。

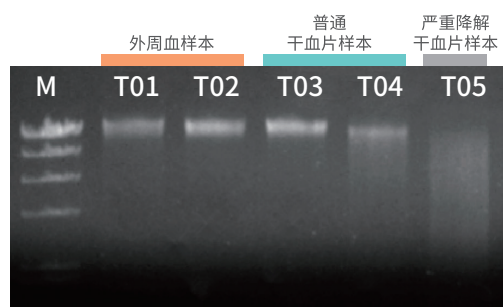


图 1 不同样本 DNA 胶图

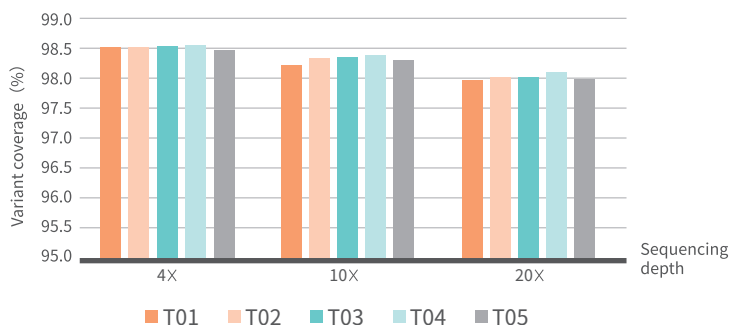


图 2 干血片 NanoWES 检测覆盖度、均一性表现卓越

PCR-free 预文库构建——结果更准确

PCR-free 预文库构建技术可最大化解决 PCR 反应中存在的四大问题，使基因组覆盖更加均一，检测结果更加准确。PCR-free 作为贝瑞基因专利建库技术（专利号：ZL 201280003515.6; ZL 201410311003.7; US 10227587 B2）已广泛应用于无创产前检测、CNV-seq 检测及全外显子组检测。



减少扩增偏好性

最大程度还原基因组原始序列信息，提高复杂区段变异检出率。

减少碱基错配率

避免转换、颠换、插入、缺失等类型的碱基序列复制错误的产生和累积，减少扩增引入的假阳性位点，增加检测的灵敏度。

减少建库数据重复

PCR-free 建库测序所产生数据的重复率，显著低于常规建库数据。

增加 InDel 检测敏感性

PCR-free 预文库构建对于 InDel 变异类型的检测敏感性更高。



覆盖度更高、数据更均一——更利于 CNV 检出

NanoWES 平均测序深度 70X 时，关键质控指标 20X 覆盖度即明显优于其他商业探针平均测序深度 100X 时的覆盖度。

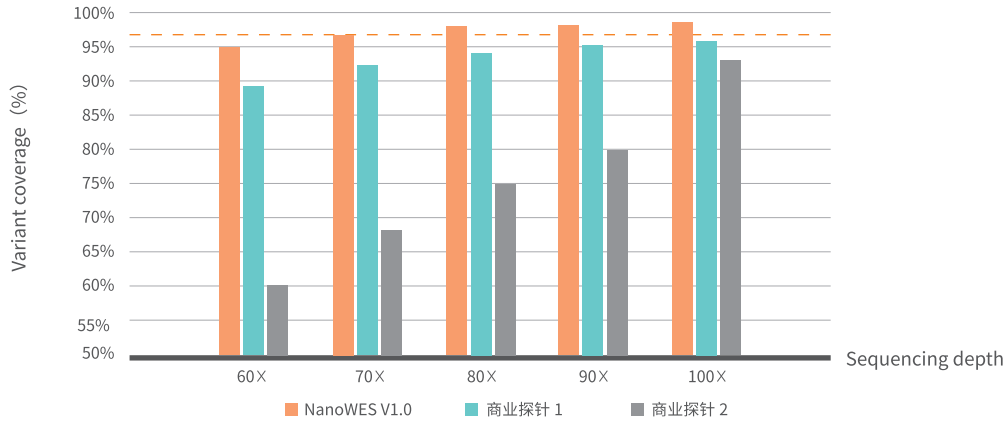


图 3 三种探针在不同平均测序深度下的 20X 覆盖度

NanoWES 采用 PCR-free 预文库构建技术，数据更均一。在相同测序深度下，与其他商业探针相比，NanoWES 的 reads 分布更接近正态分布曲线，数据均一性更好，更利于拷贝数变异的检出。

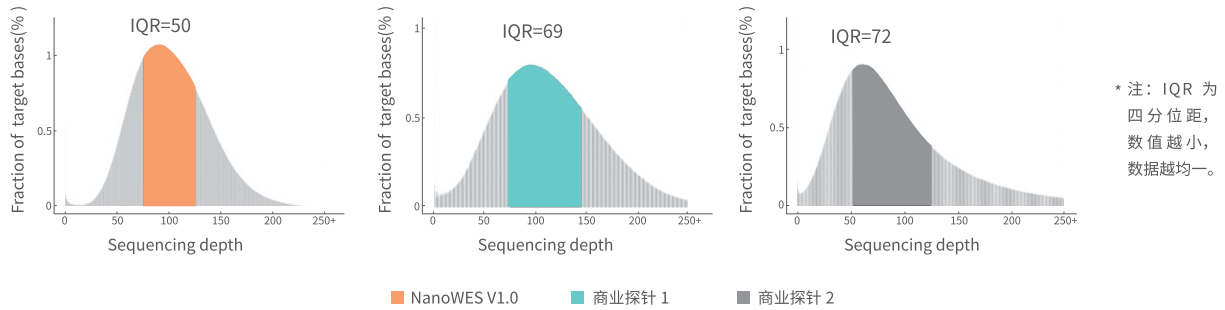


图 4 三种探针捕获测序深度分布 (相同测序深度下对比)

贝瑞基因对 1161 例同时进行 WES 和 CNV-seq 检测的样本进行回顾性分析，数据统计结果显示，对于 > 100kb 以上 pCNVs，NanoWES 和 CNV-seq 的检测一致性为 100%。NanoWES 还额外检出 5 例小于 100kb 的外显子级 pCNVs (表型驱动报告)，经 qPCR 验证证实结果准确。

表 4 临床数据统计

| CNV 致病性评级 | CNV-seq | WES | |
|-----------|---------|----------------------|---------------------------|
| | | WES 检出 > 100kb pCNVs | WES 检出 < 100kb 外显子级 pCNVs |
| P | 116 | 116 | 5 |
| LP | 29 | 29 | / |
| VUS/B/LB | 1016 | 1011 | / |
| 合计 | 1161 | 1156 | 5 |



NanoWES——更经济

提供近乎于全基因组测序的临床检测效能

NanoWES 以远低于全基因组测序的成本，提供近乎于全基因组测序的临床检测效能，性价比更高。

Trio-NanoWES 临床优选送检策略

单独先证者模式的诊断率仅为 **28%**，Trio-WES 模式诊断率达到 **40%**^[2]。采用 Trio-NanoWES 送检策略，可大幅提高诊断率。

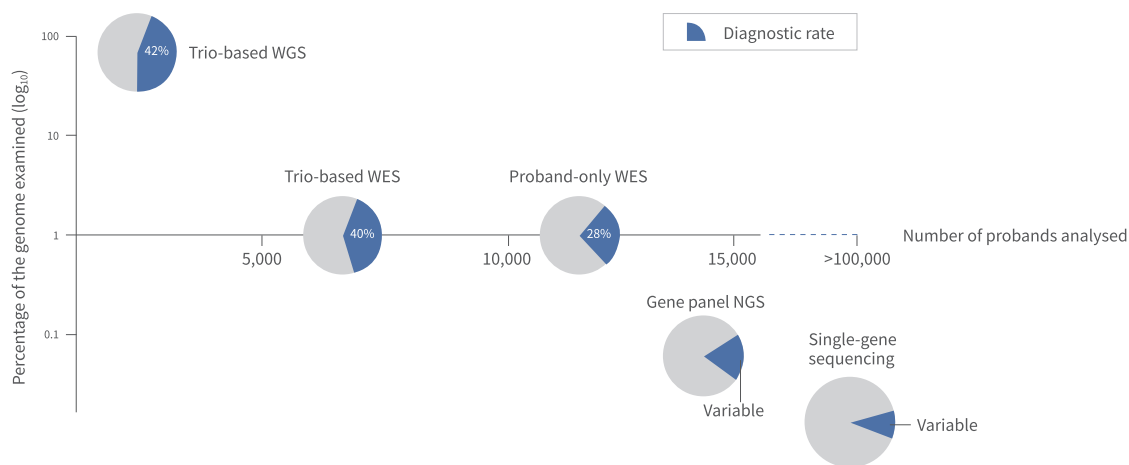


图 5 不同检测方案的诊断率对比

Trio-NanoWES 送检优势



阳性率更高

提高变异位点证据级别，
CNV 分析更精准，UPD 精准分型



报告周期更短

明确是否家系共分离，
可实现 2 周快速报告周期



性价比更高

数据更全面，Trio-WES 模式
诊断率大幅度提高



适用人群

- 具有明确的遗传家族史的患者
- 具有非典型性疾病特征的患者
- 涉及某一或多个脏器异常，临床表现提示涉及多种不同基因的患者
- 具有不明原因的发育迟缓、多种神经发育异常、严重精神状态的患者
- 希望排查反复性流产或死胎发生原因的夫妇
- 其他各类已经过多种医学检测未查明分子致病原因的患者
- 期望避免由序贯式遗传检测承担过高医疗费用的患者
- 新生儿筛查阳性需要确认的患儿
- 静脉采血困难或希望通过微量采血检测的疑似遗传病患者
- 已经夭折的疑似遗传病患者，需要查明原因指导生育的家庭

样本采集要求

| 样本类型 | 采样要求 | 备注 |
|-----------|---|--------------------------|
| 外周血 | 2-4mL | EDTA 抗凝管，可冷冻 |
| 口腔拭子 | 4 支采样拭子 | 2-8°C低温 |
| 流产组织 / 死胎 | 胚芽、绒毛、心脏组织 - 黄豆粒大小，无菌 PBS 缓冲液或生理盐水冲洗 2 次，直接嵌入装有生理盐水的 EP 管 | 生理盐水浸泡（2-8°C或冷冻） |
| | 脐带（靠近胎儿）1-2cm | 生理盐水浸泡（2-8°C或冷冻） |
| | 脐血（靠近胎儿）1-2mL | EDTA 抗凝管，可冷冻 |
| DNA | 3 μ g | 浓度 20ng/ μ L，基因组相对完整 |
| 干血片 | 至少 3 个干血片，血斑直径大于 8mm；最好是 1 年以内的干血片 | 干血片请勿堆叠，常温运输 |

临床流程





临床病例

案例一：NanoWES 检出外显子水平 CNV

患者信息

女孩，5岁，生长发育迟缓，智力障碍，步态不稳，持物手抖，共济失调，光感性皮肤。

检测项目

Trio-NanoWES

检测结果解析

基因检测显示 *ERCC8* 基因存在点突变 c.394_398del 和 4 号外显子杂合缺失。*ERCC8* 基因与常染色体隐性遗传疾病 Cockayne syndrome, type A (Cockayne 综合征 A 型) (OMIM:216400)、UV-sensitive syndrome 2 (紫外线敏感综合征 2 型) (OMIM:614621) 相关。

SNV 及 InDel 检测结果

| 基因 | 突变位置 | 外显子 | HGVS | 突变类型 | 杂合性 | 突变评级 | 疾病及遗传方式 |
|--------------|------------------------|-------|--|-------------------------|-----------------------------|------------|--|
| <i>ERCC8</i> | chr5:60918266-60918270 | exon4 | NM_000082.3: c.394_398del: p.Leu123Asnfs* 6 | frame shift deletion | 受检者：半合子 父亲：野生型 母亲：杂合子 | Pathogenic | Cockayne syndrome, type A (Cockayne 综合征 A 型), AR; UV-sensitive syndrome 2 (紫外线敏感综合征 2 型), AR |

* 表示数据库无收录。参考数据库版本为：Human Genome 38 (hg38/GRCh38)。

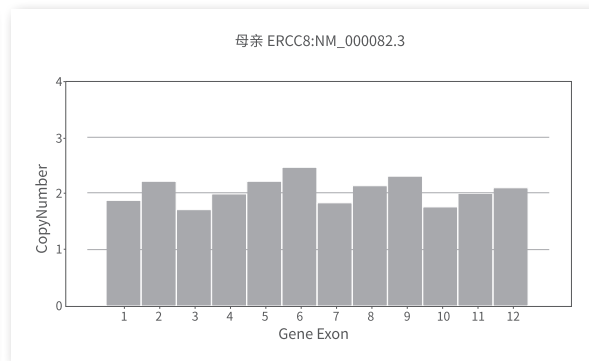
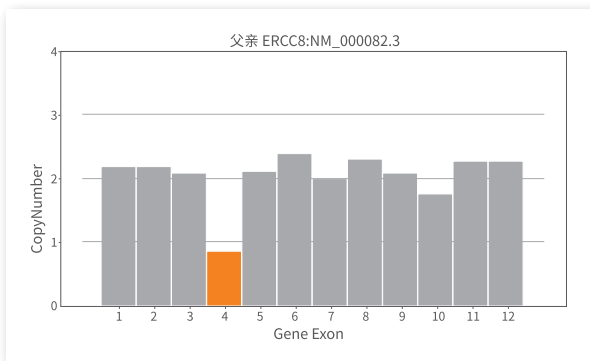
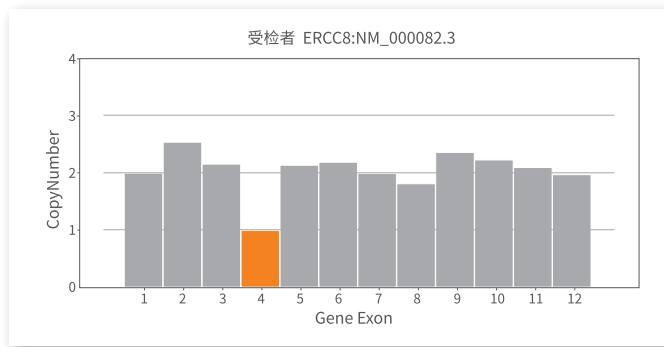
注：该核心报告内容是根据美国医学遗传学与基因组学学会 (ACMG) 指南 (Richards et al, 2015), 经遗传模式、发病年龄、人群频率、危害预测过滤等，选择与表型相关且致病可能性较高的位点报出，结果仅供临床参考。

WES 检测范围内 CNV 结果

| 样本 | 染色体位置 | 染色体区段 | CNV 类型 (缺失/重复) | 大小 | 评级 | 区段对应疾病 | 临床相关基因 |
|-----|------------------------|--------|----------------|--------|------------|--|--------|
| 受检者 | chr5:60918199-60918580 | 5q12.1 | Deletion | 0.38Kb | Pathogenic | Cockayne syndrome, type A (Cockayne 综合征 A 型), AR; UV-sensitive syndrome 2 (紫外线敏感综合征 2 型), AR | ERCC8 |

*注：该 CNV 来自 WES 数据检测结果，参考 ACMG 关于 CNV 解读指南 (keamey et al, 2011) 提示为致病或疑似致病 CNV 报出，未经其他平台验证，结果仅供临床参考。临床相关基因指的是区段内有 OMIM 疾病描述的基因，参考数据库版本为：Human Genome 38 (hg38/GRCh38)。

WES-CNV 结果展示



小结： 总体而言，拷贝数变异约占阳性案例的 10%，拷贝数变异检测是临床的核心需求。2019 年，ACMG 共识指出利用 WES 数据可以进行 CNV 分析^[3]。测序数据的均一性直接影响 WES-CNV 的检测效能。PCR-free 预文库构建技术使测序数据更均一，是 WES-CNV 的关键。NanoWES 采用 PCR-free 预文库构建技术，使 WES-CNV 检测更精准。在临床应用，NanoWES 具有显著优势，更好的服务临床诊断。



案例二：NanoWES 检出低比例嵌合体

患者信息

女，8岁，口唇和颊黏膜有黑色素斑点，伴便血、便秘，行结肠镜提示大肠多发息肉。

检测项目

NanoWES

检测结果解析

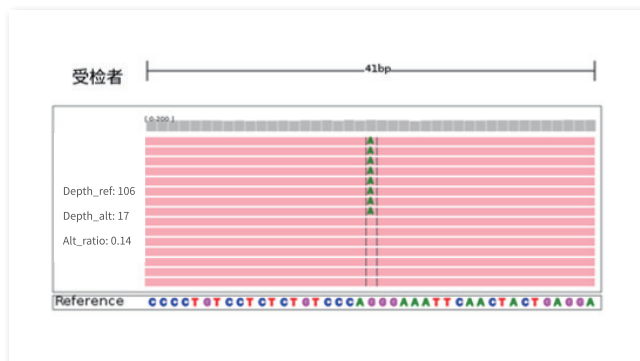
检测到 *STK11* 基因的 1 个嵌合变异，嵌合比例为 14%，判读为致病，并经 Sanger 进行验证。该变异与常染色体显性遗传疾病 Peutz-Jeghers syndrome (Peutz-Jeghers 综合征) 相关。该疾病临床主要表现为：肠道出血、嘴唇黑斑、色素沉着斑、肠套叠、缺铁性贫血、直肠脱垂、胆道异常、鼻息肉、错构瘤性息肉、膀胱息肉、杵状指、口腔黑斑、杵状指等。Sanger 验证显示变异位置出现了套峰。结合患者临床指征，医生对患者进行了临床诊断，并制定了治疗方案。

SNV 及 InDel 检测结果

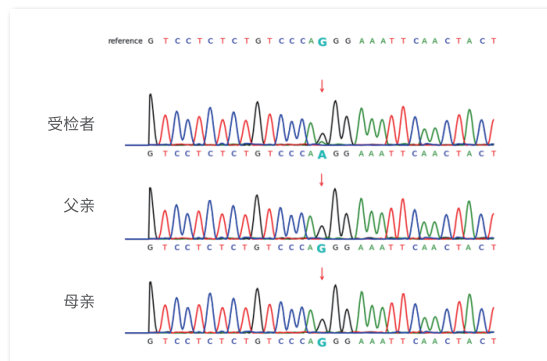
| 基因 | 突变位置 | 外显子 | HGVS | 突变类型 | 杂合性 | 突变评级 | 疾病及遗传方式 |
|--------------|-----------------------|----------|---------------------------|----------|---------------------------------|------------|--|
| <i>STK11</i> | chr19:1218416-1218416 | intron 1 | NM_000455.5 : c.291-1G>A: | splicing | 受检者：低比例嵌合可能 父亲：野生型 母亲：野生型 | Pathogenic | Peutz-Jeghers syndrome (Peutz-Jeghers 综合征), AD |

* 表示数据库无收录。参考数据库版本为 :Human Genome 38 (hg38/GRCh38)

NM_000455.5: c.291-1G>A 的 IGV 图：



NM_000455.5: c.291-1G>A 的一代验证图：



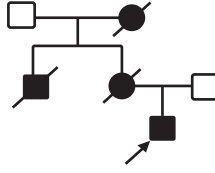
小结： NanoWES 采用 PCR-free 预文库构建和 1 杂 1 捕获体系，大幅减少低比例嵌合变异检测的背景干扰，使低比例嵌合变异的检测更精准。



案例三：NanoWES 检出线粒体基因组变异

患者信息

男，18岁，临床表现为肌无力，食欲不振，运动不耐受，糖尿病，口干多饮1年，加重伴右侧肢体不自主运动；
家族史：
外祖母、母亲、舅舅均有糖尿病病史，死亡年龄<40岁。



检测结果解析

患者在核基因上未检测到与表型相关的致病性 SNV、InDel 变异，但在线粒体环基因上检测到 1 个致病性变异位点，并通过 Sanger 测序验证。

检测项目

NanoWES

SNV 及 InDel 检测结果

| 样本 | 核苷酸改变 | 变异比例 | 基因 | 变异评级 | 疾病 |
|-----|-----------|------|------------------|------------|-----------|
| 受检者 | m.3243A>G | 51% | <i>tRNA-Leu1</i> | Pathogenic | MELAS 综合征 |

MELAS 综合征即线粒体脑肌病，超过半数的 MELAS 患者有不同程度的听力下降和母系遗传的线粒体糖尿病和 / 或耳聋 (MIDD)^[4]。临床表现可类似于 1 型糖尿病、2 型糖尿病或妊娠糖尿病，最常与 2 型糖尿病混淆。线粒体糖尿病的发病年龄通常较早低于 40 岁。60% 以上的患者伴有神经性耳聋。通过基因检测从基因层面明确了家族多人患病的原因。

小结： 贝瑞基因 NanoWES 平台在探针设计时新增线粒体基因组探针，同时参考 Mitomap 数据库、ClinVar 数据库对线粒体基因组进行数据分析，一次性完成核基因和线粒体基因组的检测，助力临床医生精准诊断及精准治疗。



案例四：NanoWES 检出深度内含子变异

患者信息

男，5个月，新生儿筛查发现其血苯丙氨酸 Phe 值及 Phe/Tyr 比值持续增高，通过尿蝶呤分析，新蝶呤正常，生物蝶呤降低，临床诊断为 BH4 生物蝶呤缺乏症。

检测项目

Trio-NanoWES

检测结果解析

遗传自父亲的 c.84-291A>G 突变，位于深度内含子区，不在传统全外显子组检测范围内。高密度 NanoWES 覆盖了内含子区中明确致病位点，可以报出该突变。根据检测结果，患儿的疾病得到确诊，医生为患儿提供了针对性的治疗。

SNV 及 InDel 检测结果

| 基因 | 突变位置 | 基因亚区 | HGVS | 突变类型 | 杂合性 | 变异评级 | 疾病及遗传方式 |
|------------|-----------------------------------|----------|---|-------------------|---------------------------|----------------------|--|
| <i>PTS</i> | chr11:112 228665-11 2228665 | exon2 | NM_000317.3 : c.155A>G: p.Asn52Ser | missense | 受检者：杂合 父亲：野生型 母亲：杂合 | Pathogenic | Hyperphenylalaninemia, BH4-deficient,A(BH4 缺乏性高苯丙氨酸血症 A 型)，AR |
| <i>PTS</i> | chr11:112 228303- 112228303 | intron 1 | NM_000317.3 : c.84-291A>G: | intron variant | 受检者：杂合 父亲：杂合 母亲：野生型 | Likely pathogenic | Hyperphenylalaninemia, BH4-deficient,A(BH4 缺乏性高苯丙氨酸血症 A 型)，AR |

小结： 贝瑞 NanoWES 探针在设计时已经包含了数据库中报道的明确致病内含子区域，涉及到 360 多个与疾病相关基因，近 600 余种疾病。因此对于深度内含子区域的变异的检测，贝瑞 NanoWES 更具优势。



案例五：NanoWES 检出母源 UPD

患者信息

男，出生 15 天，胎儿期胎动少，吮吮困难，肌张力差，隐睾，下鄂短小，眼距窄。

检测项目

Trio-NanoWES

检测结果解析

受检者检测到 15 号染色体母源单亲同二体，与 Prader-Willi 综合征相关。

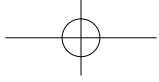
患儿仅出生 15 天，临床表型复杂。通过贝瑞基因自主研发的 NanoWES 检测结果，结合患者临床指征，医生对患者进行了临床诊断。患者为母源 UPD 导致的 Prader-Willi 综合征。根据临床诊断，医生为患儿提供了针对性的干预措施，并对同胞的再发风险进行了相应的遗传咨询。

SNV 及 InDel 检测结果

| 样本 | 染色体位置 | 变异类型 | 大小 | 评级 | 区段对应疾病 |
|-----|-----------------------------|--------|---------|------------|-----------------------|
| 受检者 | chr15: 24562671 - 101975054 | isoUPD | 77.41Mb | Pathogenic | Prader-Willi syndrome |

小结： 常规 CMA 可以检出整条染色体的单亲同二体，但是在没有父母样本的情况下无法确定亲本来源。ACMG 指南指出 UPD 类型中单亲同二体占比很小，整条染色体的单亲异二体更加常见。常规 CMA 无法检测单亲异二体，如果一家三口同时送检 CMA，与 Trio-NanoWES 相比性价比不高。另外，仍有三分之一经过分子生物学验证的 UPD，CMA 平台无法检出。Trio-NanoWES 运用 SNP 的分子分型原理实现了 UPD 的检出，并能对 UPD 的类型进行区分，可以准确报出单亲同二体和单亲异二体，实现了对特殊致病机制相关遗传病的额外检测，能够更好地服务临床诊断。

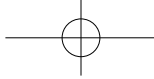




参考文献：

- 【1】 张强, 何丽, 沈亦平. 临床全基因组时代元年[J]. 中华儿科杂志, 2019, 057(006):401-404.
- 【2】 Wright, Caroline F, FitzPatrick, et al. Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children[J]. Nature reviews. Genetics, 2018.
- 【3】 Riggs E R, Andersen E F, Cherry A M, et al. Correction: Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)[J]. Genetics in Medicine.
- 【4】 Montagna P, Gallassi R, Medori R, et al. MELAS syndrome: characteristic migrainous and epileptic features and maternal transmission[J]. Neurology, 1988, 38(5):751-754.





北京贝瑞和康生物技术有限公司
Berry Genomics Co., Ltd.

地址: 北京市昌平区科技园区生命园路4号院5号楼

400-610-8005

www.berrygenomics.com



官方网站



官方微信

北京 | 上海 | 成都 | 杭州 | 青岛 | 福州 | 重庆 | 香港

*WES014 V1.0

