

La secuenciación completa de exoma y el análisis selectivo de los genes candidatos asociados al fenotipo del paciente permite identificar las mutaciones causantes en un alto porcentaje de casos (25-60%). Esta tecnología de última generación constituye un panel único y homogéneo para el estudio de cualquier enfermedad rara con base genética.

qGenomics evalúa cada caso clínico y comprueba que los genes candidatos asociados conocidos se encuentran bien representados en datos de exomas previos antes de iniciar cualquier estudio.

Servicio básico (qGenEx® Basic)

Incluye:

1. Control de la calidad ADN. Medida de la concentración y calidad con equipo Nanodrop y determinación de la integridad del ADN mediante electroforesis en gel de agarosa.
2. Preparación de las librerías + Captura exoma. Kit de captura SureSelect Human All Exon V5, 51 Mb (Agilent). Otras opciones disponibles (kits SeqCap NimbleGen-Roche). Control de calidad de las librerías con equipos Bioanalyzer y Nanodrop.
3. Secuenciación. En equipos HiSeq2000/2500 (Illumina). Profundidad de cobertura promedio a medida (30,50,100x)
4. Análisis Bioinformático, incluyendo:
 - a) Eliminación de los adaptadores e índices (barcodes) añadidos en la preparación de las librerías que identifican las muestras.
 - b) Análisis básico, que incluye los datos crudos de secuencia en formato fastq, total de secuencias producidas, número de exones capturados, porcentaje de secuencias alineadas con el genoma, porcentaje de exones representados con profundidad de cobertura 4X, 10X, y 20X

Servicio investigación (qGenEx® Research)

Incluye:

1. Control de la calidad ADN.
2. Preparación de las librerías + Captura exoma.
3. Secuenciación.
4. Análisis Bioinformático, incluyendo:
 - a) Eliminación de los adaptadores e índices (barcodes) añadidos en la preparación de las librerías que identifican las muestras.
 - b) Análisis básico, que incluye los datos crudos de secuencia en formato fastq, total de secuencias producidas, número de exones capturados, porcentaje de secuencias alineadas con el genoma, porcentaje de exones representados con profundidad de cobertura 4X, 10X, y 20X
 - c) Alineamiento de las secuencias con el genoma de referencia (NCBI37, hg19).
 - d) Detección y anotación de variantes. Se añade la información relevante a cada variante detectada (ya sean cambios de nucleótido único o pequeñas inserciones o deleciones) mediante un completo análisis bioinformático de los datos del exoma, incluyendo:

Gen afectado (nombre completo del gen y resumen RefSeq),
Tipo de mutación (missense, nonsense, frameshift, splicing...),
Cambio en mRNA y en la proteína,
Frecuencia en población control en bases de datos públicas (dbSNP, 1000Genomes, Exome Variant Server) y privadas (qGenomics, exomas de población española),
Predicción de patogenicidad de mutaciones missense con varios algoritmos,
Información OMIM.

e) Priorización de las variantes patogénicas. Selección de variantes candidatas patogénicas prioritarias en los genes seleccionados según el fenotipo. Si existe un modelo de herencia conocido para la enfermedad se analizarán las variantes de acuerdo con el modelo sugerido. En un modelo dominante se estudian las mutaciones heterocigotas y en un modelo recesivo se estudian las variantes homocigotas y las heterocigotas compuestas. Si se proporciona una lista de genes candidatos o existen genes conocidos para el diagnóstico clínico indicado se analizan dichos genes.

f) Disponible también la detección de cambios de número de copia (CNVs) para identificar grandes deleciones y duplicaciones.

Generación de archivos VCF (Variant Call Format) o bien compatibles con programas de hojas de datos.

5. Disponibilidad de otro tipo de datos. Los ficheros generados durante el análisis están disponibles si se solicitan:
 - a) Ficheros de secuencia cruda (fastq),
 - b) Ficheros alineamiento (.bam),
 - c) Ficheros VCF de todas las variantes detectadas.
6. Re-análisis de datos de acuerdo con nuevos conocimientos.

A diferencia de los paneles, dónde un nuevo gen candidato obliga a realizar un nuevo experimento si no se han detectado previamente cambios patogénicos, la secuenciación completa del exoma permite analizar los genes asociados al fenotipo que se van identificando. Este re-análisis no implica un coste adicional.

Servicio Completo (qGenEx® Complete)

Incluye:

1. Control de la calidad ADN.
2. Preparación de las librerías + Captura exoma.
3. Secuenciación.
4. Análisis Bioinformático qGenEx® Research.
5. Disponibilidad de otro tipo de datos.
6. Re-análisis datos de acuerdo con nuevos conocimientos.
7. Validación de variantes en caso índice y muestras parentales/familiares.

Incluye el estudio mediante secuenciación Sanger, u otro método molecular independiente al exoma, de las variantes candidatas patogénicas seleccionadas del exoma. qGenomics realiza el diseño, la optimización y la ejecución del ensayo para validar las mutaciones en el caso índice y en los progenitores para comprobar el tipo de herencia de las variantes seleccionadas.