

Molekylär diagnostik av primära immundefekter med helgenomsekvensering

Text: Per Marits

Foto: Camilla Nordmark Niska

Människans arvs massa kartlades i sin helhet för drygt 15 år sedan. Idag finns över 100 000 personers arvs massa (genom) analyserad och en fullständig sekvensering av ett genom kan ta mindre än 24 timmar i anspråk. Det är alltså på tiden att denna teknik på allvar utnyttjas för diagnostik inom sjukvården.

Människan har drygt 20 000 gener, som kodar för de proteiner som är nödvändiga för att kroppen ska fungera. Tillsammans utgör de kodande delarna av genomet endast 1–2 % av arvs massan, det så kallade exomet. Resterande 98 % benämndes tidigare ”skräp-DNA” men innehåller bland annat reglerande regioner som styr när och var generna skall uttryckas (så att det protein genen kodar för produceras).

I samarbete med SciLife Lab och Centrum för medfödda metabola sjukdomar, CMMS utförs sedan 2014 klinisk helexom- och helgenomsekvensering. Vid exomsekvensering analyseras endast exonerna, medan vid helgenomsekvensering analyseras dessutom resterande 98 % av vår arvs massa. Vid avdelningen för klinisk immunologi i Huddinge fokuserar vi på immunbristsjukdomar och sedan starten har cirka 160 patienter sekvenserats. Patientens DNA-sekvens genomgår sedan en bioinformatisk bearbetning där sekvensvarianter, dvs positioner i DNA:t där patienten skiljer sig från ett referensgenom, identifieras. I den efterföljande bedömningen av resultatet begränsar vi oss till varianter i kända immunbristgener, i dagsläget

328 stycken. Detta gör analysarbetet mer hanterligt och vi undviker även oönskade och svårbedömda fynd i gener som inte är kopplade till patientens aktuella problem.

Sekvensvarianter i DNA är vanliga och bidrar till att göra oss unika som individer. Endast ett fåtal varianter kommer att vara sjukdomsorsakande och ibland endast i kombination med en annan variant i samma gen. Ofta hittar vi varianter i gener som om de är förändrade (muterade) kan orsaka immunbrist, men som är av oklar signifikans och inte är beskrivna tidigare. Vi försöker då utföra kompletterande analyser på cell- och proteinnivå för att bekräfta att den aktuella varianten påverkar genen eller det protein som genen kodar för. Exempelvis X-bunden svår kombinerad immunbrist som orsakas av mutationer i genen IL2RG, vilken kodar för ett protein som ingår i olika cytokinreceptorer. När en cytokin binder till receptorn som IL2RG kodar för aktiveras signalmolekylen STAT5. Denna aktivering kan detekteras med flödescytometri och avsaknad av aktivering efter cytokinstimulering av patientens vita blodkroppar bekräftar att en variant i genen IL2RG är sjukdomsframkallande.

Vi har hittills hittat en sannolik sjukdomsorsakande sekvensvariant hos cirka 30 % av de analyserade patienterna. Vid svår kombinerad immunbrist är resultatet bättre, där hittar



Per Marits, Klinisk Immunologi, KUS Huddinge, tilldelades PIOs forskningsstöd 2017 för sin forskning om den genetiska bakgrunden till primär immunbrist.

vi en genetisk orsak hos 80 %. Hos resterande patienter, där svaret blir ”negativt”, finns det givetvis ändå en orsak, men vi förstår den ännu inte. Den skyldiga sekvensvarianten kan ligga i en gen som ännu inte kopplats till immunbrist, eller kanske i icke-kodande regioner i DNA vars exakta funktion är okänd. Med mer kunskap och bättre funktionella analyser är det troligt att upplärningsfrekvensen kommer att stiga och att fler patienter därmed kan få en exakt molekylär diagnos. ■



Gilla oss på Facebook!

www.facebook.com/PIO.Riks/