

Libyan International Medical University Journal



Letter to the Editor

Importance of whole exome sequencing in diagnosis of diseases (the Libyan experience).

Kara M.

Paediatric Neurologist at Tripoli Children Hospital. Professor of Pediatrics, Faculty of Medicine, University of Tripoli, Tripoli, Libya

Corresponding author Email: majdikara@yahoo.com, Phone: +2180925001507

Dear Editor

The exome is the part of the genome formed by exons (Figure 1); the sequences which when transcribed remain within the mature RNA after introns are removed by RNA splicing. The exon covers between 1 and 2% of the genome, depending on species [1].

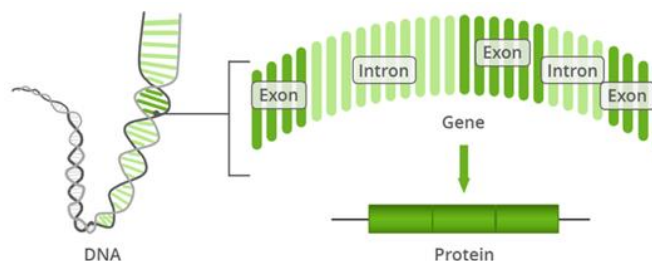


Figure 1: the exons are 1-2% of the genome that encode the proteins [2].

Whole-exome sequencing (WES) is a revolutionary technique, which targets the protein-coding regions of the genome and has proven success in identifying new causal mutations and major congenital anomalies for diseases of previously unknown aetiology. With a successful

Majdi Kara. Importance of whole exome sequencing in diagnosis of diseases (the Libyan experience).

Citation DOI: [10.21502/limuj.005.02.2017](https://doi.org/10.21502/limuj.005.02.2017)

LIMUJ, Volume 2, PP 35-39, 2017



LIMUJ is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

diagnostic rate approaching 25% for rare disease, its clinical utility is becoming increasingly popular [3].

WES consists in the capture, sequencing and analysis of all exons of all protein-coding genes in the human genome. Instead of analysing the whole genome, composed of roughly three billion base-pairs, WES focuses only on approximately 30 million base-pairs which are translated into functional proteins. It is believed that the mutations of genes responsible for the formation of the functional proteins are the most likely to have a severe direct phenotypic consequence [4]. Therefore, WES was suggested to be much less costly and more efficient method of identifying all possible mutations in genes, compared to other methods such as genome-wide association studies or whole-genome sequencing (WGS) [4].

Before the discovery of WES, many patients with genetic diseases were not given a specific diagnosis. The lack of a diagnosis can have considerable adverse effects for patients and their families, including failure to identify potential treatments, failure to recognize the risk of recurrence in subsequent pregnancies, and failure to provide anticipatory guidance and prognosis [5]. Therefore, WES is extensively used nowadays to diagnose novel diseases and find novel causative mutations for known disease phenotypes.

We in our paediatric neurology unit in Tripoli Children Hospital, serving the west and south area of the country with a population of 1.5 million children below 15 years of age, are faced almost on a daily basis with patients of developmental delay difficult to diagnose in spite of doing the basic neuro-metabolic screen and imaging.

Since 2010, our unite is cooperating with the research center of Dr. Joseph Gleeson laboratory for paediatric brain diseases, Howard Hughes Medical Institute, University of California San Diego USA. We were able to send blood from 100 families whom they have at least two affected children without a clear diagnosis, and we were able to find out the causative gene in about 60% and we discovered about 10 novel genes, four of them have been published in highly ranked international journals [6,7,8].

When a researcher is faced with a novel gene variant, he/she needs to prove that this gene mutation is pathological. This prove requires a lengthy testing procedures by doing functional testing on knocked-down mouse or zebra fish for the specific mutant gene.



Unfortunately, this kind of research is lacking in Libya and we should put all needed efforts to establish these techniques in our research laboratories.

Moreover, the researchers in Dr Gleeson Laboratory now started to study WES negative patients by doing WGS, which mean to study the rest of 99% of the genome that don't code for protein and performing sequencing of RNA from cell line skin fibroblast from these families. By comparing the sequencing and levels of RNA from patient's cells we can solve more cases of patients with genetic defects.

Key-Words: Whole-exome sequencing, Genetic diagnosis, Genomic sequencing.

References

- [1] Warr A, Robert C, Hume D, Archibald A, Deeb N, Watson M. Exome sequencing: current and future perspectives. *G3: Genes | Genomes | Genetics*. 2015;5(8):1543-50.
- [2] Whole-Exome Sequencing. Overview – Introduction to exome sequencing. GATC biotech website accessed on 2/3/2017 <https://www.gatc-biotech.com/en/expertise/targeted-sequencing/exome-enrichment.html>.
- [3] Seaby EG, Pengelly RJ, Ennis S. Exome sequencing explained: a practical guide to its clinical application. *Briefings in functional genomics*. 2016 Sep 1;15(5):374-84.
- [4] Bertier G, Héту M, Joly Y. Unsolved challenges of clinical whole-exome sequencing: a systematic literature review of end-users' views. *BMC Medical Genomics*. 2016 Aug 11;9(1):52.
- [5] Yang Y, Muzny DM, Reid JG, Bainbridge MN, Willis A, Ward PA, Braxton A, Beuten J, Xia F, Niu Z, Hardison M. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders. *New England Journal of Medicine*. 2013 Oct 17;369(16):1502-11.
- [6] Novarino G, Fenstermaker AG, Zaki MS, Hofree M, Silhavy JL, Heiberg AD, et. al. Exome sequencing links corticospinal motor neuron disease to common neurodegenerative disorders. *Science*. 2014 Jan 31;343(6170):506-11.
- [7] Kohli MA, Cukier HN, Hamilton-Nelson KL, Rolati S, Kunkle BW, Whitehead PL, Züchner SL, Farrer LA, Martin ER, Beecham GW, Haines JL. Segregation of a rare TTC3 variant in an extended family with late-onset Alzheimer disease. *Neurology Genetics*. 2016 Feb 1;2(1):e41.
- [8] Akizu N, Silhavy JL, Rosti RO, Scott E, Fenstermaker AG, Schroth J, Zaki MS, Sanchez H, Gupta N, Kabra M, Kara M. Mutations in CSPP1 lead to classical Joubert syndrome. *The American Journal of Human Genetics*. 2014 Jan 2;94(1):80-6.



ملخص باللغة العربية

العنوان: أهمية التسلسل الكامل للأكسوم في تشخيص الأمراض (التجربة الليبية).

الأستاذ الدكتور مجدي كاره مستشار طب الأعصاب في الأطفال، مستشفى طرابلس للأطفال، و أستاذ طب الأطفال، كلية الطب، جامعة طرابلس، طرابلس، ليبيا. البريد الإلكتروني majdikara@yahoo.com ، هاتف: +218925001507

يعتبر التسلسل الكامل للأكسوم (WES) تقنية ثورية تستهدف مناطق تشفير البروتين من الجينوم، وأثبتت نجاحا في تحديد الطفرات المسببة لتشوهات خلقية رئيسية لأمراض المسببات المرضية لها لم تكن معروفة سابقاً. مع معدل التشخيص الناجح الذي يقترب من 25٪ للمرض النادر، فإن الفائدة السريرية للـ WES تزداد شعبية [3].

يتكون WES من تسلسل وتحليل لجميع الإكسونات لكل الجينات المكونة للجينوم البشري والتي تقوم بتوجيه الجسم ناحية إنتاج البروتينات الوظيفية. وبدلاً من تحليل الجينوم بأكمله، والذي يتألف من نحو 3 مليارات قاعدة أزواج، فإن WES يركز فقط على ما يقرب من 30 مليون قاعدة أزواج والتي يتم ترجمتها إلى بروتينات وظيفية، حيث أن الطفرات في هذه الإكسونات هي الأكثر احتمالاً أن تكون سبب الاختلال الجيني [4]. لذا فيمكن اعتبار WES طريقة أقل تكلفة وأكثر كفاءة بكثير من تحديد جميع الطفرات المحتملة في الجينات، مقارنة مع الطرق الأخرى مثل دراسات الروابط على نطاق الجينوم أو تسلسل الكامل للجينوم (WGS).

كان من الصعب قبل اكتشاف WES تحديد تشخيص معين للمرضى الذين يعانون من بعض الأمراض الوراثية على الرغم من إجراء كل التحاليل الطبية المعروفة. عدم وجود التشخيص يمكن أن يكون له آثار سلبية كبيرة للمرضى وأسرهم، بما في ذلك الفشل في تحديد العلاجات المحتملة، وعدم التعرف على خطر تكرار الخلل في حالات الحمل اللاحقة، وعدم توفير التوجيه الاستباقي والتشخيصي [5]. لذلك، يستخدم WES على نطاق واسع في الوقت الحاضر لتشخيص أمراض جديدة وكذلك التعرف على الطفرات المسببة لبعض الأمراض المعروفة والمجهولة السبب.

لدينا في وحدة الأمراض العصبية للأطفال في مستشفى طرابلس للأطفال، والتي تخدم الغرب والمنطقة الجنوبية من البلاد اللتان يبلغ عدد سكانهما نحو 1.5 مليون طفل تقل أعمارهم عن 15 سنة، نواجه تقريبا بشكل يومي لمرضى من تأخر في النمو يصعب تشخيص مرضهم على الرغم القيام بكل التحاليل الأساسية العصبية والأبضية والتصويرية.

منذ عام 2010م، ونحن نتعاون مع مركز أبحاث الدكتور جوزيف جليسون بمختبر أمراض الدماغ لدى الأطفال، معهد هوارد هيرز الطبي بجامعة كاليفورنيا في سان دييغو بالولايات المتحدة الأمريكية. كنا قادرين على إرسال الدم من 100 عائلة لديهم



اثنين على الأقل من الأطفال المتضررين بدون تشخيص واضح، وتمكنا من معرفة الجين المسبب للمرض في حوالي 60%. واكتشفنا حوالي 10 جينات جديدة، أربعة منهم تم نشرها في مجلات دولية ذات تصنيف عالٍ {7،8،6}.

عندما يواجه الباحث تحور في جين معين لمرض معين، فإنه يحتاج الى اثبات ان هذا التحور الجيني هو المسبب للمرض. هذا الإثبات يتطلب إجراء اختبارات طويلة عن طريق القيام بالتجارب الفنية على فئران التجارب والأسماك التي تم إزالة هذا الجين من تركيبها الجينية لمعرفة تأثيرها على الوظائف العامة للجسم. للأسف، هذا النوع من البحوث غير موجودة في ليبيا، ونحن يجب أن نبذل جهود كافية لإنشاء هذه التقنيات في مختبرات الأبحاث لدينا.

وعلاوة على ذلك، فإن الباحثين في مختبر الدكتور جليسون بدأوا الآن في دراسة المرضى ذوي WES السلبي عن طريق قيام الفريق المعني بتحليل التسلسل الكامل للجينوم WGS لذي هؤلاء المرضى، والذي يعني دراسة ما تبقى من 99% من الجينوم التي لا تدخل في صناعة البروتين الوظيفي، كما أنهم عاملين على تحليل أداء التسلسل الحمض النووي الريبوزي. بمقارنة تسلسل ومستويات الحمض النووي الريبوزي من خلايا المريض سوف تتمكن من حل المزيد من حالات المرضى الذين يعانون من عيوب وراثية والمجهولة السبب سابقاً.

الكلمات المفتاحية: التسلسل الكامل للأكسوم ، التشخيص الوراثي، التسلسل الجينومي.

