‘Whole exome sequencing’ in de dagelijkse praktijk

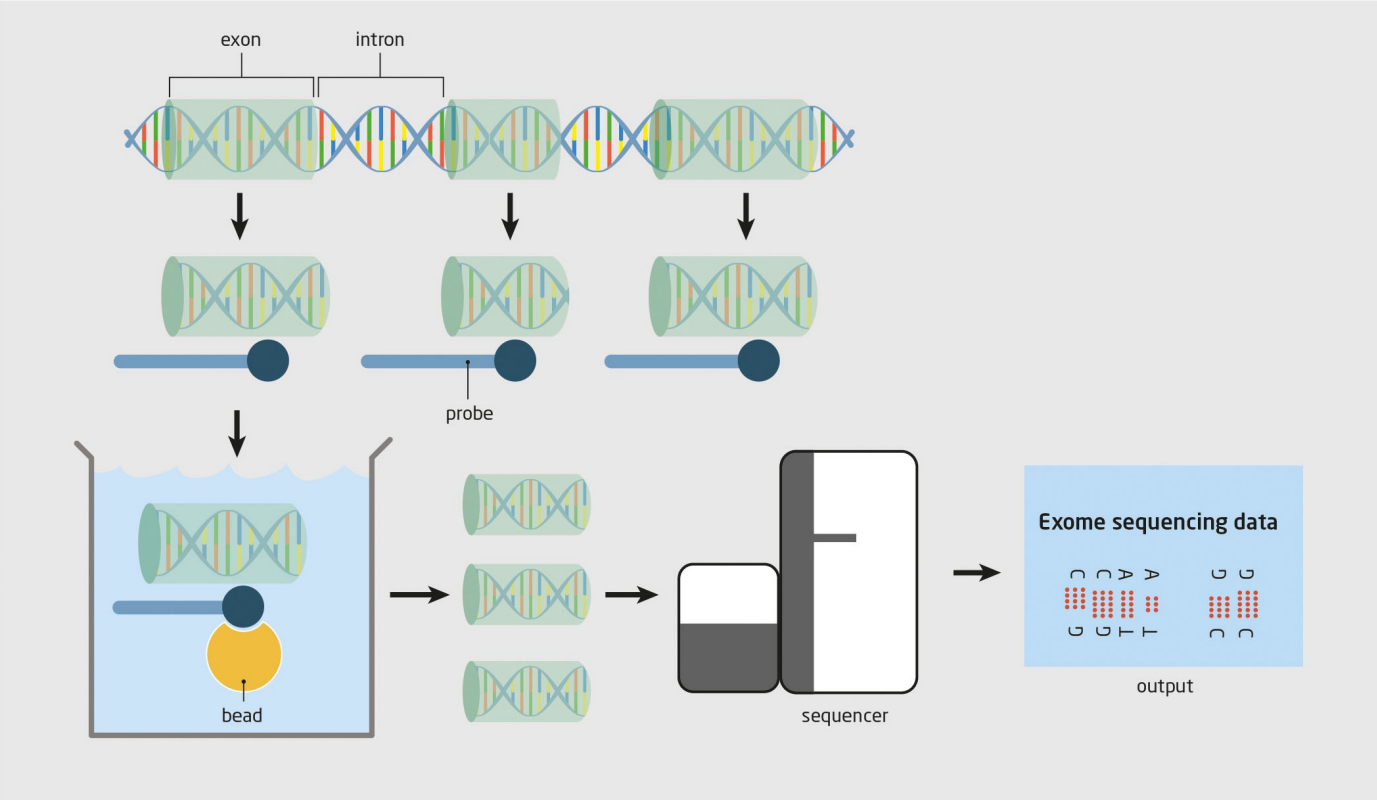
Mogelijkheden, grenzen en valkuilen van deze diagnostiek

Arjan Bouman, Alice S. Brooks en Marjon A. van Slegtenhorst

Samenvatting

‘Whole exome sequencing’ (WES) wordt steeds gangbaarder als standaarddiagnostiek bij patiënten bij wie een monogenetische afwijking vermoed wordt. Het gebruik van WES-genpanels bij specifieke medische indicaties is hiervan een goed voorbeeld. Hierbij wordt de analyse gericht op een subset van genen die verantwoordelijk kunnen zijn voor een bepaald klinisch beeld, zoals epilepsie, verstandelijke beperking of cardiomyopathie. Aan behandelaars die WES-diagnostiek aanvragen adviseren wij om zich op de hoogte te stellen van de mogelijkheden, grenzen en valkuilen van deze diagnostische test. In dit artikel geven wij kort uitleg over WES en het potentieel ervan in de hedendaagse geneeskunde. Ook staan wij stil bij de beperkingen van WES en lichten we het classificatiesysteem toe dat gebruikt wordt om het pathogene karakter van een gevonden genvariant aan te geven. De verwachting is dat WES op korte termijn voor artsen uit vele disciplines tot het diagnostische standaardarsenaal zal gaan behoren.

De introductie van ‘whole exome sequencing’ (WES) als diagnostische test heeft een revolutionaire verschuiving binnen de klinisch-genetische zorg teweeggebracht. Voorheen was een zoektocht naar een onderliggende monogenetische oorzaak van een aandoening dikwijls kostbaar en tijdrovend. De conventionele strategie was vaak het ‘gen voor gen’ laten analyseren met de sequencing-methode van Sanger. WES maakt het mogelijk om in één keer het volledige eiwit-coderende gedeelte van het DNA (het exoom, zie de verklarende woordenlijst) te analyseren (figuur 1).



Figuur 1
Wat is ‘whole exome sequencing’?

Whole exome sequencing (WES) is een techniek om in één keer het volledige eiwit-coderende gedeelte van het DNA (het exoom, zie de verklarende woordenlijst) te analyseren. Het DNA wordt geïsoleerd uit perifere bloedcellen (lymfocyten). Van alle exonen worden kopieën gemaakt. Met behulp van zogenoemde ‘probes’ die aan specifieke stukjes van de DNA-kopieën binden en vervolgens aan gelbolletjes (‘beads’) blijven plakken, worden de kopieën uit de vloeistof gevist. De DNA-kopieën worden vervolgens losgemaakt van de probes en afgelezen in een sequencer. De sequencer analyseert de basenvolgorde van alle kopieën. Elke kopie is slechts een fragment van een exon, maar alle delen van het exoom wordt meerdere keren gekopieerd en de kopieën overlappen elkaar. Door alle overlappende gedeelten van de fragmenten onder elkaar te plaatsen wordt de basenvolgorde van het totale exoom vastgesteld (zie figuur 2).

In de afgelopen jaren zijn de WES-doorlooptijden korter geworden en de verwachting is dat deze trend zich voort zal zetten. Hierdoor wordt het voor veel meer patiënten mogelijk om binnen relatief korte tijd een moleculaire oorzaak van hun klinische beeld

vast te stellen. Het vinden van een onderliggende genetische oorzaak kan voor veel patiënten handvatten bieden voor gerichte therapie, surveillance, screening en informatieverstrekking over de aandoening, inclusief de erfelijkheid ervan. Vaak is vanaf dat moment ook familieonderzoek bij gezonde familieleden mogelijk (presymptomatisch onderzoek).

In Nederland neemt de beschikbaarheid van WES binnen de geneeskundige zorg toe. Hierdoor zal deze diagnostiek steeds vaker aangevraagd worden door een gevarieerde groep van medisch specialisten. Recentelijk werd bepleit dat behandelend artsen de genetische diagnostiek of een deel daarvan zelf routinematige kunnen aanvragen.[1,2] De aanvrager dient zich er dan wel bewust van te zijn dat een monogenetische afwijking niet altijd wordt gedetecteerd met WES (tabel 1). Het niet overzien van de valkuilen en de beperkingen van WES kan in potentie leiden tot het missen van een diagnose of het stellen van een onjuiste diagnose.[3]

genetische oorzaak	voorbeeld
genvariant buiten het exon gelegen (in een niet-coderende regio)	
– intron – promotorregio – enhancerregio	kan gelden voor alle monogenetische aandoeningen
chromosomale oorzaak	
– aneuploïdie	syndroom van Down Turner-syndroom
– microdeletie	22q11-deletiesyndroom spinale musculaire atrofie
– microduplicatie	Charcot-Marie-Tooth type 1A (PMP22-microduplicatie)
– inversie*	kan gelden voor alle genetische aandoeningen
– gebalanceerde translocatie*	kan gelden voor alle genetische aandoeningen
– uniparentale disomie	Temple-syndroom (uniparentale disomie 14)
genvariant buiten het kern-DNA	
– genvariant in mitochondrieel DNA‡	MELAS MIDD
andersoortige oorzaken	
– repeat-expansie	fragiele-X-syndroom ziekte van Huntington
– afwijkende DNA-methylering	Beckwith-Wiedemann-syndroom Prader-Willi-syndroom

MELAS = myopathie, encefalopathie, lactaatacidose en beroerteachtige episoden ('stroke-like episodes'); MIDD = 'maternally inherited diabetes and deafness'.

* De breukpunten van deze gebalanceerde chromosoomafwijking of inversie kunnen in specifieke genen liggen. Interruptie van deze genen kan resulteren in een verminderde transcriptie van het gen of een afwijkend genproduct.

‡ WES-analyse van het mitochondriële DNA is mogelijk, maar behoort niet tot de standaard WES-diagnostiek in de meeste klinisch-genetische laboratoria en dient afzonderlijk aangevraagd te worden.

Tabel 1
Beperkingen van 'whole genome sequencing' (WES)
Genetische oorzaken van klinische beelden die op dit moment niet met WES kunnen worden aangetoond

Whole exome sequencing

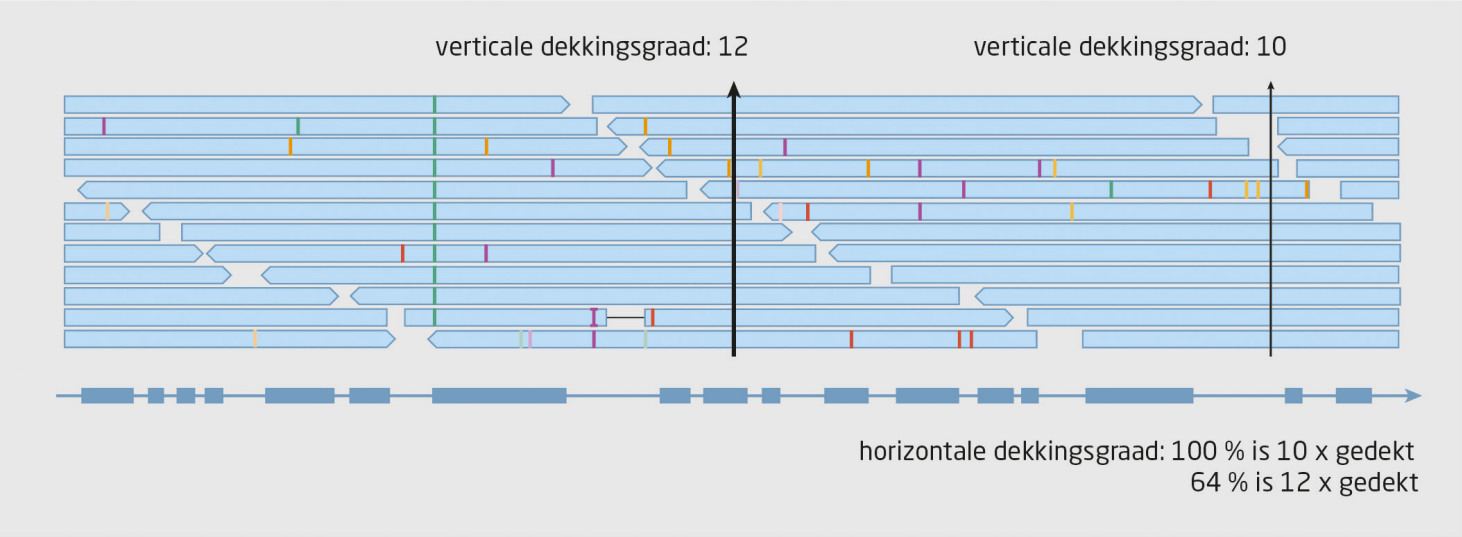
De huidige mogelijkheden

De meest aangevraagde WES-diagnostiek op dit moment betreft de WES-genpanelanalyse. Deze test geeft de mogelijkheid om gericht de belangrijkste genen die bij een bepaald klinisch beeld beschreven zijn, met één diagnostische test te analyseren.

Dergelijke panels kunnen enkele tot soms wel honderden genen bevatten. Nadat de WES-gegevens van alle coderende genen gegenereerd zijn, wordt er een 'filter-stap' toegepast. Dit betekent dat de genvarianten van slechts een beperkte set van genen worden uitgelezen, namelijk die varianten die relevant zijn voor de klinische vraagstelling. De rest van het exoom zal niet worden geanalyseerd. Een voordeel van deze strategie is dat de kans op toevalsbevindingen relatief klein is. Voorbeelden van WES-genpanels zijn de panels voor epilepsie, verstandelijke beperking, cardiomyopathie en metabole aandoeningen.
Tot dusver zijn de opbrengstpercentages ('diagnostic yield') van WES vrij hoog. In studies bij personen met een verstandelijke beperking of ontwikkelingsstoornis worden percentages tot wel 43% beschreven.[4-8] Dergelijke opbrengstpercentages kunnen verschillen per orgaansysteem en dus ook per genpanel. Hoge percentages zijn eveneens beschreven bij genpanels die gericht zijn op cardiomyopathie, metabole aandoeningen, retina-aandoeningen en slechthorendheid.[9,10]
Voor de indicaties 'verstandelijke beperking' en 'multipele congenitale afwijkingen' wordt momenteel het DNA van de ouders meegenomen in het kader van een 'WES-trio-analyse'. Het exoom van de ouders wordt dan als referentie gebruikt bij de analyse. Deze 'trio-benadering' zorgt voor een betere interpretatie van de genvarianten die de novo zijn ontstaan bij de patiënt en ook voor genvarianten die passen bij autosomaal recessieve en X-gebonden aandoeningen. Vooralsnog wordt bij kleinere genpanels alleen de proband geanalyseerd, mede gezien het kostenaspect.
Wanneer een genpanelanalyse negatief is maar de verdenking op een erfelijke onderliggende oorzaak toch blijft bestaan, kan men besluiten om een WES 'open analyse' aan te vragen. Met WES 'open analyse' wordt het gehele coderende gedeelte van het genoom geanalyseerd. Dit maakt ook de kans op toevalsbevindingen groter dan bij een genpanelanalyse.

WES toont niet alle genetische afwijkingen aan

In de afgelopen jaren is de technologie achter WES sterk verbeterd. Wanneer WES-analyse echter geen verklarende moleculaire diagnose oplevert, kan er nog steeds sprake zijn van een erfelijke oorzaak. Er zijn meerdere redenen waarom een onderliggende genetische oorzaak niet met WES kan worden aangetoond. Voorbeelden hiervan staan in tabel 1, zoals genvarianten die zijn gelegen in een intron, microdeleties of microduplicaties, repeat-expansies, structurele chromosomale variaties, genvarianten in het mitochondriële DNA en DNA-methyleringsafwijkingen.
Daarnaast is het belangrijk om te beseffen dat een genvariant die in een exon gelegen is, toch met WES gemist kan worden. Dat heeft te maken met de WES-dekkingsgraad (zie Uitleg en figuur 2). De WES-dekkingsgraad van de meeste bekende ziekteveroorzakende genen is voldoende om genvarianten die in een exon gelegen zijn te detecteren. Deze dekkingsgraad kan verschillen per gen uit het geselecteerde panel en is meestal in te zien op de website van het DNA-laboratorium dat het betreffende WES-genpanel aanbiedt. Bij WES-genpanelanalyses wordt gestreefd naar een zo hoog mogelijke dekkingsgraad om de diagnostische opbrengst te optimaliseren. Wanneer de dekkingsgraad suboptimaal is voor het exon waarin de oorzakelijke genvariant gelegen is, kan deze dus gemist worden. Dit wordt meestal veroorzaakt door lastig te sequencen gebieden in het DNA.



Figuur 2
Wat houdt dekkingsgraad in?

Deze figuur laat kopieën van het exon (fragmenten) zien die hier in de juiste volgorde onder elkaar zijn gezet. Over de gehele lengte van het exon zijn de basen minstens 10 keer afgelezen, maar er zijn ook plaatsen waar de specifieke base 12 keer is afgelezen. Dit wordt de 'verticale dekking' genoemd, in de figuur aangegeven met verticale pijlen. De verdikkingen in de horizontale pijl geven aan waar de basen 12 keer zijn afgelezen. Hoe hoger de verticale dekkingsgraad op een bepaalde base-positie, hoe hoger de kwaliteit van de aflezing op deze positie. Voor een gemiddelde WES is deze verticale dekking rond de 80 aflezingen voor een specifieke base-positie (locus).Met horizontale dekking wordt bedoeld welk percentage van het gen (in deze figuur: het exon) voldoet aan de gestelde eisen voor de verticale dekking. In dit voorbeeld is 64% van het exon 12 keer afgelezen (12 'reads per locus'). Als we als eis stellen dat er minstens 10 reads per locus moeten zijn, is de horizontale dekkingsgraad in dit voorbeeld 100%.Basen die afwijken van de gebruikelijke volgorde zijn met een kleur aangegeven. Op één plaats (locus) in dit exon bevatten alle fragmenten een afwijkende base (aangegeven met groen). Op deze plek wordt dus een andere base gevonden dan er zou moeten zijn. Met andere woorden: op deze plaats is een homozygote genvariant geïdentificeerd (heterozygote varianten zijn aanwezig in 50% van de fragmenten).

De genetisch oorzaak kan ook gemist worden doordat het gen niet is opgenomen in het geselecteerde WES-genpanel, omdat nog niet is gerapporteerd dat het gen gerelateerd is aan het betreffende klinische beeld.
Tot slot is het mogelijk dat er sprake is van een somatisch mozaïek. Hierbij is de genvariant aanwezig in ander weefsel dan lymfocyten. Het herhalen van de WES-analyse in het aangedane weefsel kan dan een diagnostische vervolgstap zijn. Als met WES geen oorzaak wordt gevonden maar de klinische verdenking op een erfelijke oorzaak blijft bestaan, adviseren wij om te overleggen met een klinisch geneticus, bijvoorbeeld in een multidisciplinair overleg.

Interpretatie van uitslagen

Classificatie van genvarianten

De interpretatie van de resultaten van WES-diagnostiek is niet altijd eenvoudig. Klinisch-genetische laboratoria gebruiken wereldwijd een uniform classificatiesysteem om het ziekteveroorzakende karakter (de pathogeniteit) van een genvariant aan te geven. De classificatie van een genvariant varieert van klasse 1 (niet pathogeen) tot klasse 5 (zeker pathogeen) (tabel 2).[11] Deze classificatie is onder andere afhankelijk van (a) de soort genvariant (missense, nonsense, frameshift, splice-site); (b) hoe sterk de veranderde base evolutionair geconserveerd is; (c) hoe vaak de genvariant voorkomt in controle-databases; en (d) eerdere rapportage van de genvariant bij patiënten met een overeenkomstig klinisch beeld.

klasse	beschrijving	uitleg
1	niet pathogeen	de genvariant is goedaardig en geeft geen verklaring voor het klinisch beeld
2	onwaarschijnlijk pathogeen	het is onwaarschijnlijk dat de genvariant ziekte veroorzaakt en een verklaring geeft voor het klinisch beeld
3	pathogeniteit is onduidelijk	de betekenis van de genvariant is onduidelijk: de variant kan een verklaring geven voor het klinisch beeld, maar houdt mogelijk geen verband met het klinisch beeld
4	waarschijnlijk pathogeen	de genvariant veroorzaakt waarschijnlijk ziekte en kan daarom een verklaring geven voor het klinisch beeld
5	zeker pathogeen	de genvariant veroorzaakt ziekte en kan daarom een verklaring geven voor het klinisch beeld

Tabel 2
Classificatie van genvarianten
Indeling voor genvarianten die zijn gevonden met 'whole exome sequencing'

Foutieve interpretatie

Een foutieve interpretatie van het ziekteveroorzakende karakter van een genvariant kan soms leiden tot een verkeerde diagnose en tot schade bij een patiënt of zijn familieleden. Dit kan als een valkuil gezien worden bij de interpretatie van uitslagen van DNA-diagnostiek in het algemeen, niet alleen van WES-uitslagen. Een voorbeeld hiervan is wanneer een genvariant van klasse 3 (pathogeniteit is onduidelijk) wordt geïnterpreteerd als pathogeen (klasse 5) en deze interpretatie ook als zodanig wordt besproken met de patiënt en diens familie. Wij adviseren daarom bij twijfel over het ziekteveroorzakende karakter van een genvariant te overleggen in een multidisciplinair team.
Verder is het mogelijk dat de duiding van een genvariant na verloop van tijd wordt aangepast en dat er een herclassificatie plaatsvindt wanneer meer informatie over de specifieke genvariant in de literatuur verschijnt. Ook komt het voor dat met WES in meerdere relevante genen genvarianten worden gevonden waarvan het ziekteveroorzakende karakter niet altijd duidelijk is. Alle genvarianten dienen afzonderlijk beoordeeld te worden in samenhang met het klinische beeld van de patiënt.
Ten slotte kunnen er ook meerdere pathogene genvarianten in afzonderlijke genen aanwezig zijn. Dit kan leiden tot een hybride en vaak uniek klinisch beeld. Volgens een recente publicatie komt een tweevoudige genetische diagnose voor bij 5% van de patiënten bij wie een WES-analyse werd verricht.[12]

Toevalsbevindingen

Alvorens WES wordt aangevraagd, is het advies om met de patiënt te bespreken dat er bij toeval afwijkingen gevonden kunnen worden en hem of haar het informed-consent-document hiervoor te laten ondertekenen, als onderdeel van voorafgaande counseling. Bij informed consent voor WES heeft de patiënt verschillende keuzemogelijkheden ten aanzien van de terugrapportage van toevalsbevindingen. In dit tijdschrift werd hier recentelijk uitgebreid bij stilgestaan.[13]
Toevalsbevindingen zijn pathogene genvarianten die niet direct in verband gebracht kunnen worden met de primaire vraagstelling, maar die mogelijk wel klinisch relevant kunnen zijn voor de patiënt en zijn of haar familie. Hoe meer genen de WES-analyse omvat, des te groter de kans op toevalsbevindingen. De kans op toevalsbevindingen is dan ook groter bij WES 'open analyse' dan bij gebruik van WES-genpanels. Bij WES 'open analyse' ontbreekt hierover vooralsnog uitgebreide literatuur.
De aanvrager van WES dient aan elke toevalsbevinding aandacht te schenken. Een voorbeeld van een relevante toevalsbevinding is het vinden van een pathogene genvariant in een gen dat niet te koppelen is aan het klinische beeld van de patiënt, maar wél

consequenties kan hebben voor de gezondheid van de patiënt of diens familie. Dit is bijvoorbeeld het geval wanneer als toevalsbevinding een pathogene genvariant in het *BRCA1*-gen wordt gevonden.
Een tweede voorbeeld van een potentieel belangrijke toevalsbevinding is het aantonen van dragerschap van een autosomaal recessieve aandoening. Als de ziekteverwekkende genvariant op het tweede allel ontbreekt, betreft het 'slechts' dragerschap voor deze aandoening; dit kan het klinische beeld van de patiënt vooralsnog niet verklaren. Voor de patiënt zelf heeft dragerschap daarom ook geen klinische consequenties. Dragerschap kan wel gevolgen hebben wanneer de patiënt of zijn of haar familieleden een kinderwens hebben. Een voorbeeld hiervan is dragerschap van cystische fibrose, waarbij de kans op dragerschap bij een willekeurige partner in Nederland 1:30 is.

Sleutelrol voor het multidisciplinaire overleg

De verwachting is dat WES binnen afzienbare tijd zijn intrede zal doen in de routinematige patiëntenzorg voor vele specialismen. In Engeland is al ervaring opgedaan met het gangbaar maken ('mainstreaming') van oncogenetische zorg.[14-16] De Vereniging Klinische Genetica Nederland (VKGN) betoogt dat multidisciplinaire teams meerwaarde hebben.[2] In 2015 beschreef de Gezondheidsraad dat het interpreteren van WES-gegevens van een individuele patiënt zich heeft ontwikkeld tot een multidisciplinaire taak waarbij een multidisciplinair overleg meerwaarde heeft.[17] In zo'n overleg komen behandelaars, klinisch genetici en laboratoriumspecialisten samen om de gevonden genvarianten zo goed mogelijk in de context van het klinische beeld te plaatsen.
Wanneer een centrum geen multidisciplinair overleg kent, is laagdrempelig overleg met een klinisch geneticus of laboratoriumspecialist altijd mogelijk. Dit kan meerwaarde hebben wanneer uitslagen van WES-diagnostiek niet direct duidelijk zijn of wanneer geen oorzaak werd gevonden terwijl er wel een sterke verdenking op een erfelijke onderliggende oorzaak blijft bestaan.

Conclusie en toekomst

De verwachting is dat WES in de nabije toekomst gangbaarder zal worden als diagnostische standaardtest voor diverse patiëntencategorieën. Het potentieel van WES is groot en zal waarschijnlijk toenemen doordat de technische specificaties van WES alsmaar verbeteren. Toch kunnen met WES zeker niet alle erfelijke oorzaken van een monogenetische aandoening worden opgepikt. Het is belangrijk om op de hoogte te zijn van de mogelijkheden maar ook van de beperkingen van WES wanneer men deze diagnostiek aanvraagt.
Daarnaast willen wij de meerwaarde benadrukken van multidisciplinair overleg waarbij in teamverband het klinische beeld van de patiënt en de uitkomsten van WES met elkaar worden geïntegreerd.
Tot slot wijzen wij erop dat de wetenschappelijke vereniging VKGN zich tot doel heeft gesteld e-learningmodules te ontwerpen waarmee medisch specialisten zich kunnen bekwamen in het aanvragen van genoombrede diagnostiek.

- Online artikel en reageren op ntvg.nl/D3151
- Erasmus MC, afd. Klinische Genetica, Rotterdam: drs. A. Bouman en dr. A.S. Brooks, klinisch genetici; dr. M.A. van Slegtenhorst, laboratoriumspecialist.
- Contactpersoon: A. Bouman (a.bouman@erasmusmc.nl)

- Belangenconflict en financiële ondersteuning: geen gemeld.
- Aanvaard op 23 oktober 2018
- Citeer als: Ned Tijdschr Geneeskd. 2018;162:D3151

Literatuur

1. Aalfs CM, Westermann AM, van El CG. Expertise van klinisch geneticus beter benutten. Ned Tijdschr Geneeskd. 2017;161:D1525 Medline.
2. Hes F, van Nesselrooij B, Verheij J, Kievit A. Meer mogelijk door gerichte genoomdiagnostiek. Med Contact (Bussum). 2017;45:30-3.
3. Vissers LELM, van Nimwegen KJM, Schieving JH, et al. A clinical utility study of exome sequencing versus conventional genetic testing in pediatric neurology. Genet Med. 2017;19:1055-63. doi:10.1038/gim.2017.1. Medline
4. Baldridge D, Heeley J, Vineyard M, et al. The Exome Clinic and the role of medical genetics expertise in the interpretation of exome sequencing results. Genet Med. 2017;19:1040-8. doi:10.1038/gim.2016.224. Medline
5. Retterer K, Juusola J, Cho MT, et al. Clinical application of whole-exome sequencing across clinical indications. Genet Med. 2016;18:696-704. doi:10.1038/gim.2015.148. Medline
6. Sawyer SL, Hartley T, Dyment DA, et al; FORGE Canada Consortium; Care4Rare Canada Consortium. Utility of whole-exome sequencing for those near the end of the diagnostic odyssey: time to address gaps in care. Clin Genet. 2016;89:275-84. doi:10.1111/cge.12654. Medline

7. Willemsen MH, Kleefstra T. Genetische diagnostiek bij verstandelijke beperkingen: wat levert het op? Ned Tijdschr Geneeskd. 2014;158:A8098 Medline.
8. Wright CF, Fitzgerald TW, Jones WD, et al; DDD study. Genetic diagnosis of developmental disorders in the DDD study: a scalable analysis of genome-wide research data. Lancet. 2015;385:1305-14. doi:10.1016/S0140-6736(14)61705-0. Medline
9. Trujillano D, Bertoli-Avella AM, Kumar Kandaswamy K, et al. Clinical exome sequencing: results from 2819 samples reflecting 1000 families. Eur J Hum Genet. 2017;25:176-82. doi:10.1038/ejhg.2016.146. Medline
10. Wright CF, FitzPatrick DR, Firth HV. Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children. Nat Rev Genet. 2018;19:253-68. Medline
11. Wallis Y, Payne S, McAnulty C, et al. Practice guidelines for the evaluation of pathogenicity and the reporting of sequence variants in clinical molecular genetics. Association for Clinical Genetic Science and Vereniging Klinisch Genetische Laboratoriumdiagnostiek; 2013.
12. Posey JE, Harel T, Liu P, et al. Resolution of disease phenotypes resulting from multilocus genomic variation. N Engl J Med. 2017;376:21-31. doi:10.1056/NEJMoa1516767. Medline
13. Wouters RHP, Bijlsma RM, Voest EE, Bredenoord AL. Genoombreed onderzoek in de spreekkamer. Ned Tijdschr Geneeskd. 2018;162:D2087 Medline.
14. Kentwell M, Dow E, Antill Y, et al. Mainstreaming cancer genetics: A model integrating germline BRCA testing into routine ovarian cancer clinics. Gynecol Oncol. 2017;145:130-6. doi:10.1016/j.ygyno.2017.01.030. Medline
15. Percival N, George A, Gyertson J, et al. The integration of BRCA testing into oncology clinics. Br J Nurs. 2016;25:690-4. doi:10.12968/bjon.2016.25.12.690. Medline
16. Slade I, Riddell D, Turnbull C, Hanson H, Rahman N; MCG programme. Development of cancer genetic services in the UK: A national consultation. Genome Med. 2015;7:18. doi:10.1186/s13073-015-0128-4. Medline
17. Gezondheidsraad. Next generation sequencing in diagnostiek. Publicatienr. 2015/01. Den Haag: Gezondheidsraad; 2015.

Uitleg

Dekkingsgraad ('coverage')

Sequencen is het uitlezen van de basenvolgorde van een stukje DNA, bijvoorbeeld een exon. Bij whole exome sequencing worden stukken van een exon meerdere keren gekopieerd (figuur 1). De kopieën beslaan meestal niet de hele lengte van het exon, maar een deel daarvan. Die delen (fragmenten) overlappen elkaar wel (figuur 2). Zodoende is elke base gelegen in het exon meerdere keren terug te vinden in de fragmenten. Door overlappende fragmenten in de juiste volgorde onder elkaar te leggen kan de basenvolgorde ('sequence') van het gehele exon worden bepaald.

De dekkingsgraad van de sequencing geeft aan hoe goed het exon gesequencet is. Die dekkingsgraad wordt aangeduid met 'verticale dekking' en 'horizontale dekking'.

Verticale dekking beschrijft hoe vaak een base op een specifieke plaats ('locus') in het gen gesequencet is (het aantal 'reads' per locus), oftewel hoeveel kopieën met een base op dit locus zijn gemaakt (zie figuur 2). Voor een goede verticale dekking moeten er 20-30 reads per locus zijn.

Met horizontale dekking wordt bedoeld welk percentage van het betreffende gen voldoet aan de gestelde eisen voor de verticale dekking. Als bijvoorbeeld van 90% van het gen 20 reads per locus beschikbaar zijn, zegt men dat '90% van het gen 20 keer gedekt is'. Voor optimale diagnostiek wordt gestreefd naar een zo hoog mogelijke dekkingsgraad.

Verklarende woordenlijst

DNA-methylering

DNA-methylering is het proces waarbij een methylgroep op het DNA-molecuul wordt geplaatst. Hiermee kan een gen als het ware 'aan' of 'uit' gezet worden. Het betrokken stukje DNA zelf blijft onveranderd. Een afwijking in het proces van DNA-methylering kan een onderliggende oorzaak zijn voor een erfelijke aandoening.

Exon

Een stuk coderend DNA dat is gelegen in een gen. Een gen bestaat meestal uit meerdere exonen. Tussen de exonen zijn de intronen gelegen.

Exoom

Het exoom beslaat alle exonen van alle genen samengenomen. Dit beschrijft het volledige eiwitcoderende gedeelte van het genoom en omvat 1-2% van het totale DNA van de mens.

Intron

Een stuk niet-coderend DNA dat is gelegen in een gen. Dit gedeelte van het DNA wordt 'weggeknipt' wanneer het uiteindelijke mRNA-product wordt gevormd.

Microdeletie

Het ontbreken van een klein stukje chromosomaal materiaal.

Microduplicatie

De verdubbeling van een klein stukje chromosomaal materiaal.

Mitochondrieel DNA (mtDNA)

Dit is DNA dat zich niet in de celkern bevindt, maar in de mitochondriën. Het betreft slechts een klein gedeelte van het totale genomische DNA en wordt niet geanalyseerd bij standaard whole-exome-sequencing.

Mozaïek

De aanwezigheid van twee of meer genetisch verschillende cellijnen binnen één individu. Deze cellijnen komen voort uit een en dezelfde bevruchte eicel.

Repeat-expansie

Een type mutatie waarbij dezelfde drie nucleotiden – meestal gaat het om een aantal van drie – in het genoom zich repetitief na elkaar opvolgen. Bij opeenvolgende generaties kan het aantal repeats van deze drie nucleotiden toenemen, waardoor de erfelijke aandoening bij de kinderen op jongere leeftijd of in sterkere mate tot uiting komt dan bij de ouder.