

解析例5

UCSCゲノムブラウザを使用した
Uncertain significantと推定される例

Webinarの構成

- インTRODクシヨン
 - マイクロアレイ染色体検査 (CMA) 検査 超入門
 - BEDファイル形式データの取扱い
 - マイクロアレイ染色体検査の結果解釈の補助ソフトウェアツール (CAS) の使用方法
 - マイクロアレイ (CMA) 検査の結果解釈に必要なデータベースの使用法
- 実践編
 - 解析例 1 : CASを使用して疾患関連性を調べたLossの例
 - 解析例 2 : CASと各種データベースを使用して疾患関連性を調べたLossの例
 - 解析例 3 : CASと各種データベースを使用して疾患関連性を調べたGainの例
 - 解析例 4 : 疾患関連性領域近傍にあるBenignのLossの例
- Advanced編
 - データベース「UCSC」使用法
 - 解析例 5 : UCSCを用いて、Uncertain Significance と推定される例
 - インプリンティング疾患の解釈について

免責事項

- 実際の診断に際しては、個々の臨床所見と検査報告書並びにデータベース・ソフトウェアの検索結果を相互的に検討し判断を行ってください。
- 本セミナーで紹介するデータベース・ソフトウェアの使用法の正確性、妥当性について、演者、演者所属組織、本コンソーシアム関係者は一切の責任を負いません。
- 本セミナーで紹介する各例はあくまでもデータベースの使用例を提示するために疑似的に作成された例であり、実際の臨床情報並びに検査結果に基づいた例ではありません。
- 各データベース・ソフトウェアの使用について、そのデータの正確性、臨床的妥当性は保証されておらず、各データベース・ソフトウェアの作成者・管理者・研究班は提示される結果について一切の法的責任を負っていません。

解析例 #5

chr17:19388655-19547971 (ロス)

ゲイン/ロス領域表 Gain/Loss Intervals Table

染色体 Chr	最小始点-終点(bp) 最大始点-終点(bp) Min Start-Stop(bp) Max Start-Stop(bp)	最小サイズ(kb) 最大サイズ(kb) Min Size(kb) Max Size(kb)	最小サイトバンド 最大サイトバンド Min Cytoband Max Cytoband	ゲイン/ロス Gain/Loss
chr17	19388655-19547971 19361322-19572761	159,316 211,439	p11.2 p11.2	-1.000

解析フロー：下記サイトを使用して検索します。

1. DECIPHER
2. ClinGen Dosage Sensitivity
3. UCSC genome browser

解析例5



解析に有用なURL

DECIPHER

<https://www.deciphergenomics.org/>

ClinGen Dosage Sensitivity

<https://www.clinicalgenome.org/>

UCSC genome browser

<https://genome.ucsc.edu/>

DECIPHER CNV syndrome variantsの結果

Potocki-Lupski syndromeとSmith-Magenis Syndromeが Hitします。
今回の症例は、Lossのため、「Deletion」であるSmith-Magenis Syndrome
が候補になります。



Search results for "grch37:17:19388655-19547971" GRCh38 17:19485342-19644658 (100% match) [\(Refine Search\)](#)

Navigation tabs: Patient variants **178**, **CNV syndrome variants 2**, DDD research variants **1**, Genes **9**

Buttons: Results, Browser

Syndrome Variants: 1 to 2 of 2

Filter...

Syndrome	Location	Genotype	Variant Class	Size	Phenotype(s)
Potocki-Lupski syndrome (17p11.2 duplication syndrome)	17 ¹⁸⁸⁶⁹⁷⁵⁸ <u>20318836</u> GRCh38	Heterozygous	Duplication	3.45 Mb	Autism, Hyperactivity, Short attention span, Short stature
Smith-Magenis Syndrome	17 ¹⁸⁸⁶⁹⁷⁵⁸ <u>20318836</u> GRCh38	Heterozygous	Deletion	3.45 Mb	Brachydactyly syndrome, Hoarse voice, Hyperactivity, Intellectual disability, Muscular hypotonia, Self-mutilation, Short stature, Sleep disturbance, Stereotypic behavior



DECIPHER Genes の結果

ただし、該当する領域には、Smith-Magenis Syndromeの責任遺伝子である *RAI1* が含まれていません。

Patient variants 178 CNV syndrome variants 2 DDD research variants 1 Genes 9

Genes: 1 to 9 of 9 Show: All genes Filter...

Name / Description	Location	pLI	LOEUF	sHet	%HI	GenCC	OMIM / Morbid	G2P	ClinGen	Links
MTCO1P39 MT-CO1 pseudogene 39	17 19605454 19605933	-	-	-	-	-	-	-	-	View
MTND1P14 MT-ND1 pseudogene 14	17 19602259 19603208	-	-	-	-	-	-	-	-	View
MTND2P12 MT-ND2 pseudogene 12	17 19603797 19605048	-	-	-	-	-	-	-	-	View
NMTRQ-TTG12-1 nuclear-encoded mitochondrial tRNA-Gln (TTG) 12-1	17 19603274 19603345	-	-	-	-	-	-	-	-	View
RPL17P43 ribosomal protein L17 pseudogene 43	17 19496943 19497528	-	-	-	-	-	-	-	-	View
SLC47A1 solute carrier family 47 member 1	17 19495385 19579034	0.00	1.17	0.011	73.57	-	OMIM	-	-	View
SLC47A1P1 SLC47A1 pseudogene 1	17 19579943 19596058	-	-	-	-	-	-	-	-	View
SLC47A1P2 SLC47A1 pseudogene 2	17 19615789 19633825	-	-	-	-	-	-	-	-	View
SNORA59B small nucleolar RNA, H/ACA box 59B	17 19557211 19557911	-	-	-	-	-	-	-	-	View

15



ClinGen Dosage Sensitivityの結果

下記のように、9遺伝子、1領域が検出されます。

GRCh37 Search Results
Location: chr17:19388655-19547971

Genes: On Regions: On

9 Total Genes 1 Total Regions

Advanced Filters: None

Search in table

GRCh37 Enter cytoband or genomic coordinates Go

Click on below to view hidden columns

Showing 1 to 10 of 10 rows

Gene/Region	GRCh37	HI Score	TS Score	OMIM	Morbid	%HI	pLI	LOEUF	Report
17p11.2 recurrent (SMS/PLS) region (includes RAI1)	17 1810028-20218202	3 (Sufficient Evidence)	3 (Sufficient Evidence)			-	-	-	Complete
RPL17P43	17 18400217-18400877	-1 (Pseudogene)	-1 (Pseudogene)			-	-	-	Not Reviewable
TRW-CCA2-1	17 1841484-1841953	Not Yet Evaluated	Not Yet Evaluated			-	-	-	Reopened
SLC47A1	17 18437187-18432348	Not Yet Evaluated	Not Yet Evaluated	✓		73.5%	0	1.17	Awaiting Review
SNORA59B	17 18460873-18461024	Not Yet Evaluated	Not Yet Evaluated			-	-	-	Awaiting Review
SLC47A1P1	17 18483256-18489371	-1 (Pseudogene)	-1 (Pseudogene)			-	-	-	Not Reviewable
MTND1P14	17 18508972-18508818	-1 (Pseudogene)	-1 (Pseudogene)			-	-	-	Not Reviewable
NMTRQ-TTG12-1	17 18506587-18506658	Not Yet Evaluated	Not Yet Evaluated			-	-	-	Awaiting Review
MTND2P12	17 18507188-18508357	-1 (Pseudogene)	-1 (Pseudogene)			-	-	-	Not Reviewable

解析例5



ClinGen Dosage Sensitivity Regionsの結果

遺伝子の情報をOffに、領域の表示をOnに設定します。

17p11.2 recurrent(SMS/PLS) region (includes RAI1) が検出されます。

GRCh37 Search Results
Location: chr17:19388655-19547971

Genes: Off Regions: On

9 Total Genes 1 Total Regions

クリックして、表示・非表示を切り替え

Showing 1 to 1 of 1 rows

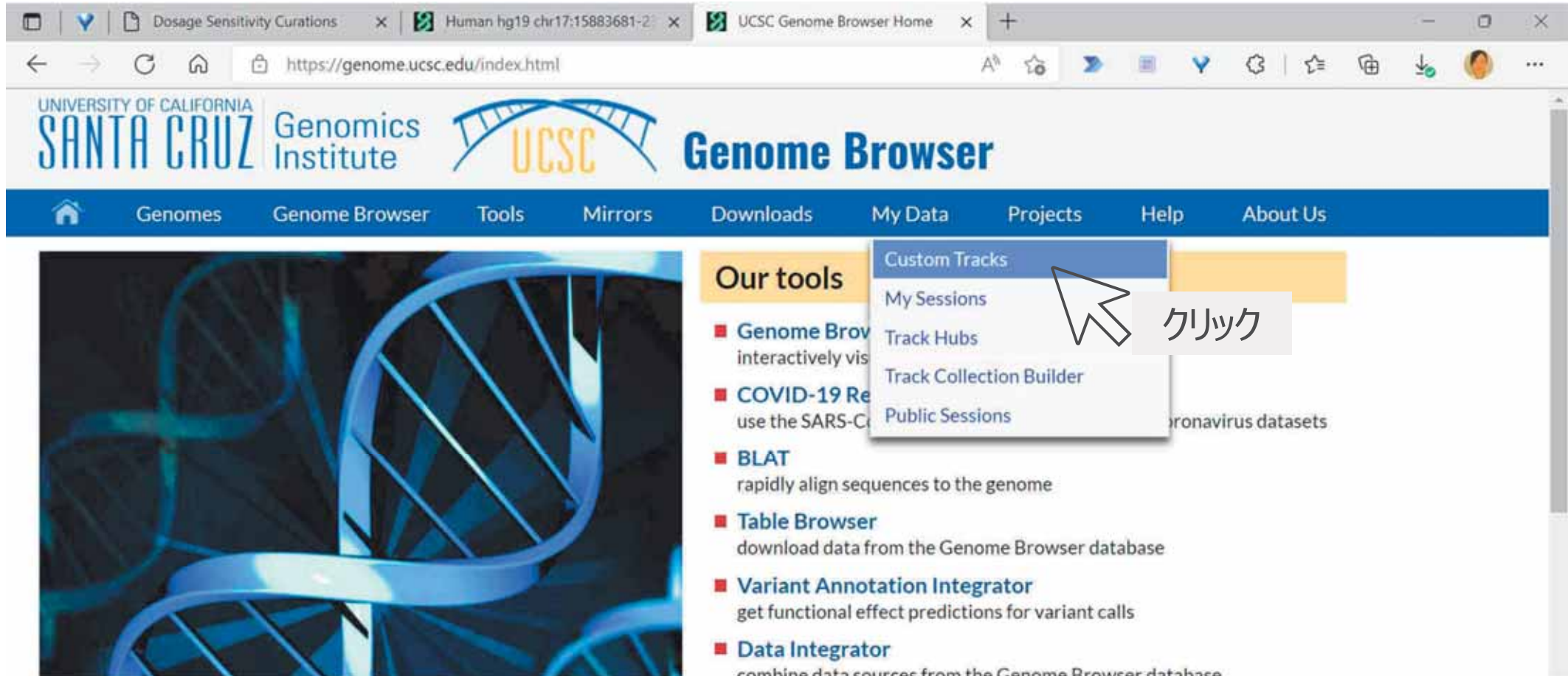
Gene/Region	GRCh37	HI Score	TS Score	OMIM	Morbid	%HI	pLI	LOEUF	Report
17p11.2 recurrent (SMS/PLS) region (includes RAI1)	17 16810028 20213202	3 (Sufficient Evidence)	3 (Sufficient Evidence)			-	-	-	Complete

解析例5



UCSC Genome Browser

検索領域をMyData → Custom Trackから入力します。



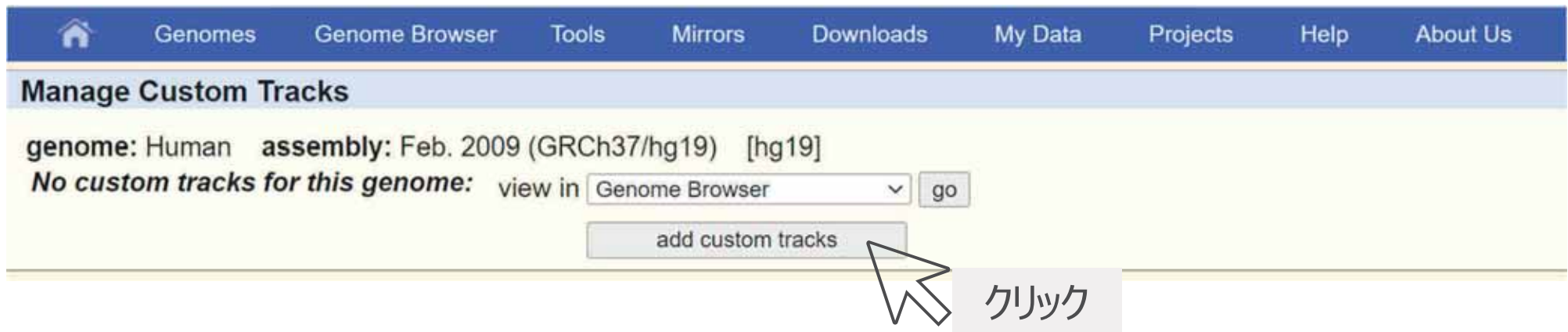
The screenshot shows the UCSC Genome Browser homepage. The navigation bar includes links for Genomes, Genome Browser, Tools, Mirrors, Downloads, My Data, Projects, Help, and About Us. The 'My Data' menu is open, showing options: Custom Tracks, My Sessions, Track Hubs, Track Collection Builder, and Public Sessions. A mouse cursor is pointing at 'Custom Tracks', with a grey box containing the Japanese text 'クリック' (click) next to it. Below the menu, there is a section titled 'Our tools' with a list of tools: Genome Browser (interactively view), COVID-19 RefSeq (use the SARS-CoV-2 genome and coronavirus datasets), BLAT (rapidly align sequences to the genome), Table Browser (download data from the Genome Browser database), Variant Annotation Integrator (get functional effect predictions for variant calls), and Data Integrator (combine data sources from the Genome Browser database).

解析例5



UCSC genome browser

add custom tracksをクリックし、入力画面に遷移します。



Home Genomes Genome Browser Tools Mirrors Downloads My Data Projects Help About Us

Manage Custom Tracks

genome: Human assembly: Feb. 2009 (GRCh37/hg19) [hg19]

No custom tracks for this genome: view in

クリック

解析例5



UCSC genome browser の検出箇所への入力方法

Assembly が GRCh37/hg19 になっていることを確認してください。
必要な情報を入力します。色を設定することもできます。

clade genome assembly

Display your own data as custom annotation tracks in the browser. Data must be formatted in [bigBed](#), [bigBarChart](#), [bigChain](#), [bigGenePred](#), [bigInteract](#), [bigLolly](#), [bigMaf](#), [bigPsl](#), [bigWig](#), [BAM](#), [barChart](#), [VCF](#), [BED](#), [BED detail](#), [bedGraph](#), [broadPeak](#), [CRAM](#), [GFF](#), [GTF](#), [hic](#), [interact](#), [MAF](#), [narrowPeak](#), [Personal Genome SNP](#), [PSL](#), or [WIG](#) formats.

- You can paste just the URL to the file, without a "track" line, for bigBed, bigWig, bigGenePred, BAM and VCF.
- To configure the display, set [track](#) and [browser](#) line attributes as described in the [User's Guide](#).

Examples are [here](#). If you do not have a track, see [Track Hub Help documentation](#).

Please note a much more efficient way to add tracks is available [found in the menu under My Data](#).

track name=spacer description="(任意のサンプル名)" color=255,0,0
#chrom chromStart chromEnd
染色体番号 始点 終点

色の例
赤 : 255,0,0
青 : 0,0,255
黒 : 0,0,0

Paste URLs or data: Or upload: ファイルが選択されていません

```
track name=spacer description="sample4" color=255,0,0
#chrom chromStart chromEnd
17 19388655 19547971
```

クリック

UCSC genome browser

goをクリックすると、結果が表示されます。



Genomes Genome Browser Tools Mirrors Downloads My Data Project

Manage Custom Tracks

genome: Human assembly: Feb. 2009 (GRCh37/hg19) [hg19]

Replaced: spacer

Name	Description	Type	Doc	Items	Pos	delete
spacer	sample4	bed		1	chr17:	<input type="checkbox"/>

view in: Genome Browser

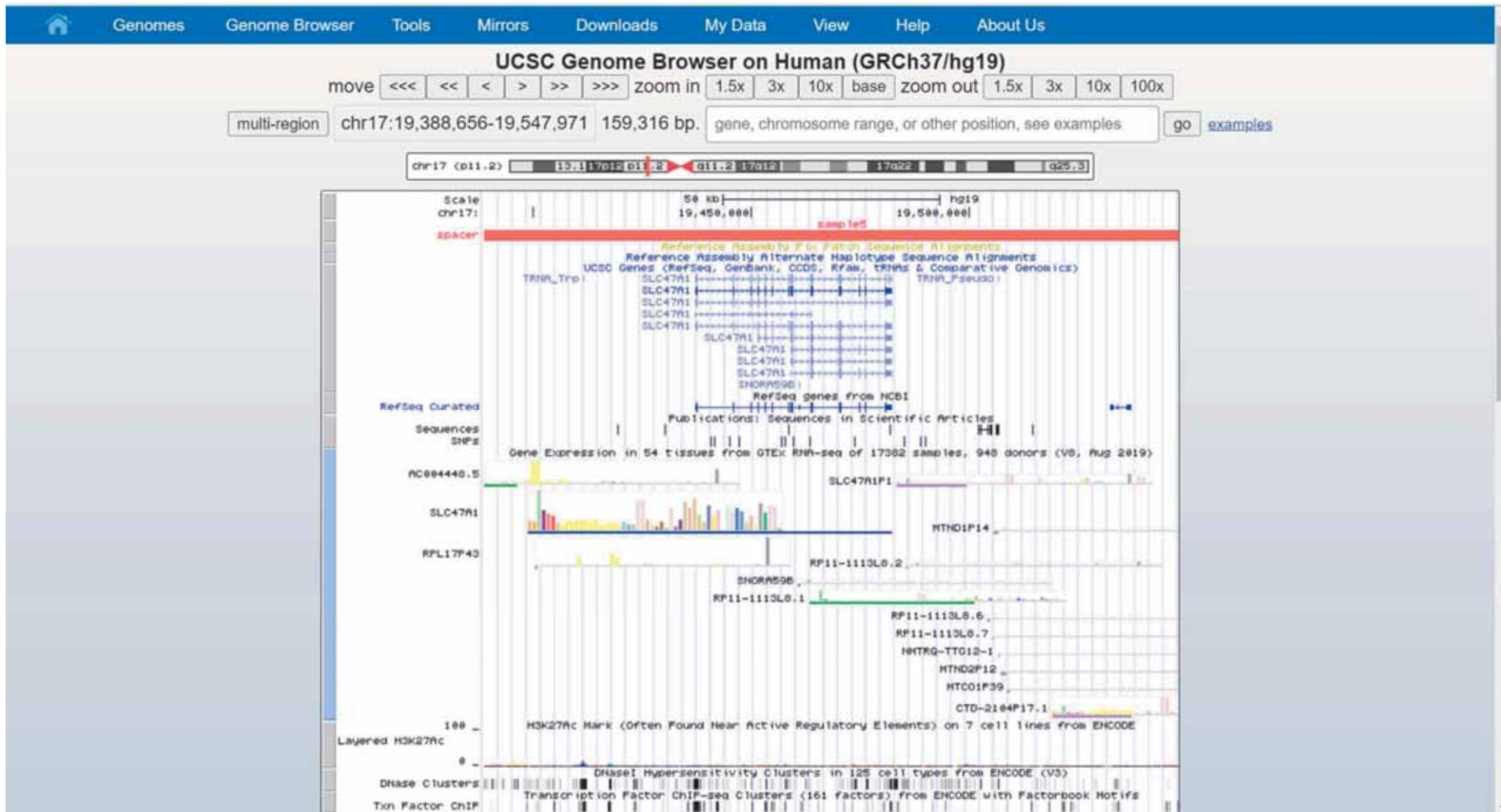
クリック

解析例5

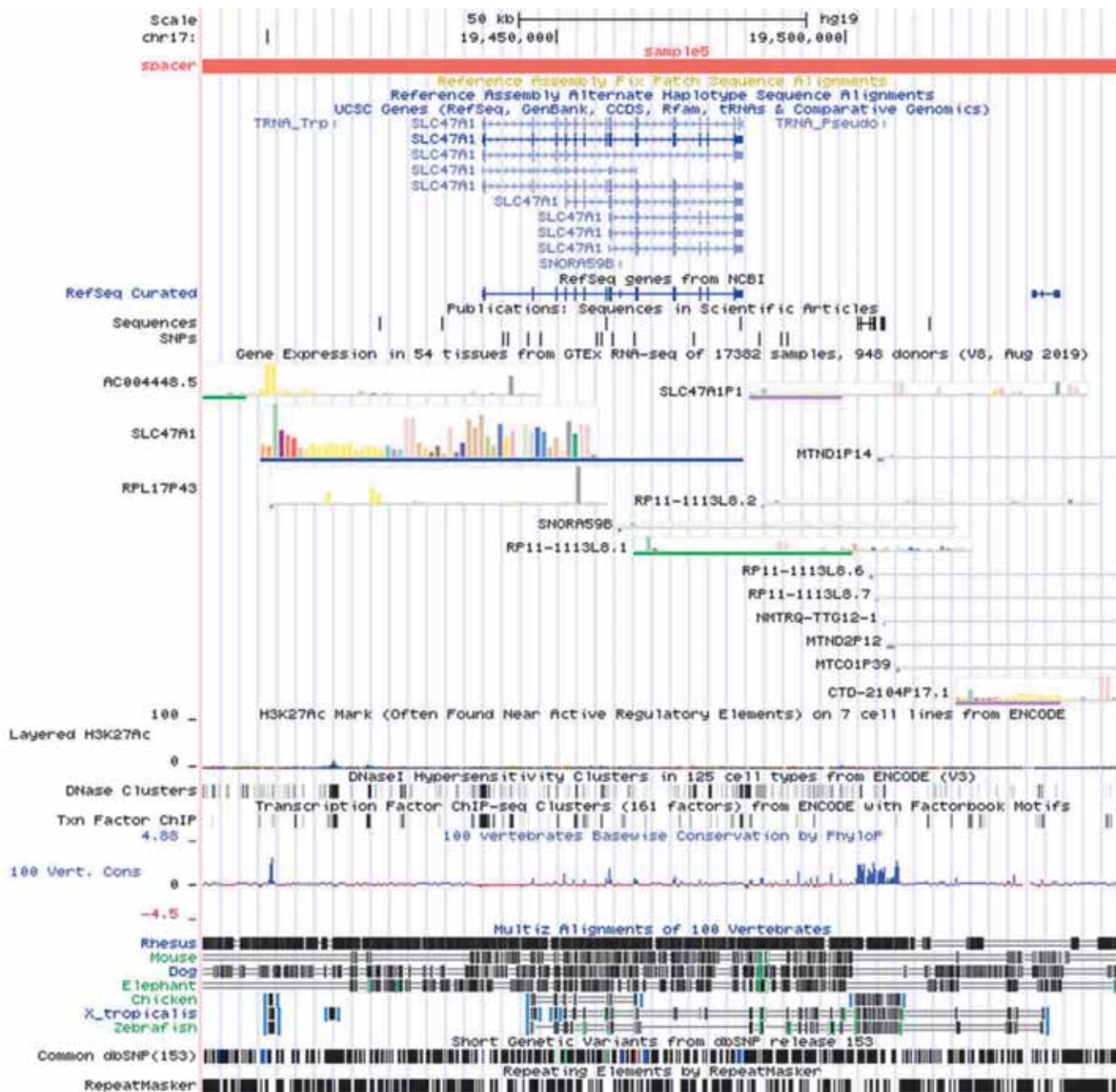


UCSC genome browser 検索結果①

対象箇所にある情報を視覚的に表示します。



UCSC genome browser 検索結果②



← 検索対象領域が帯状に表示されます。

各データベースの情報が表示されます。

解析例5



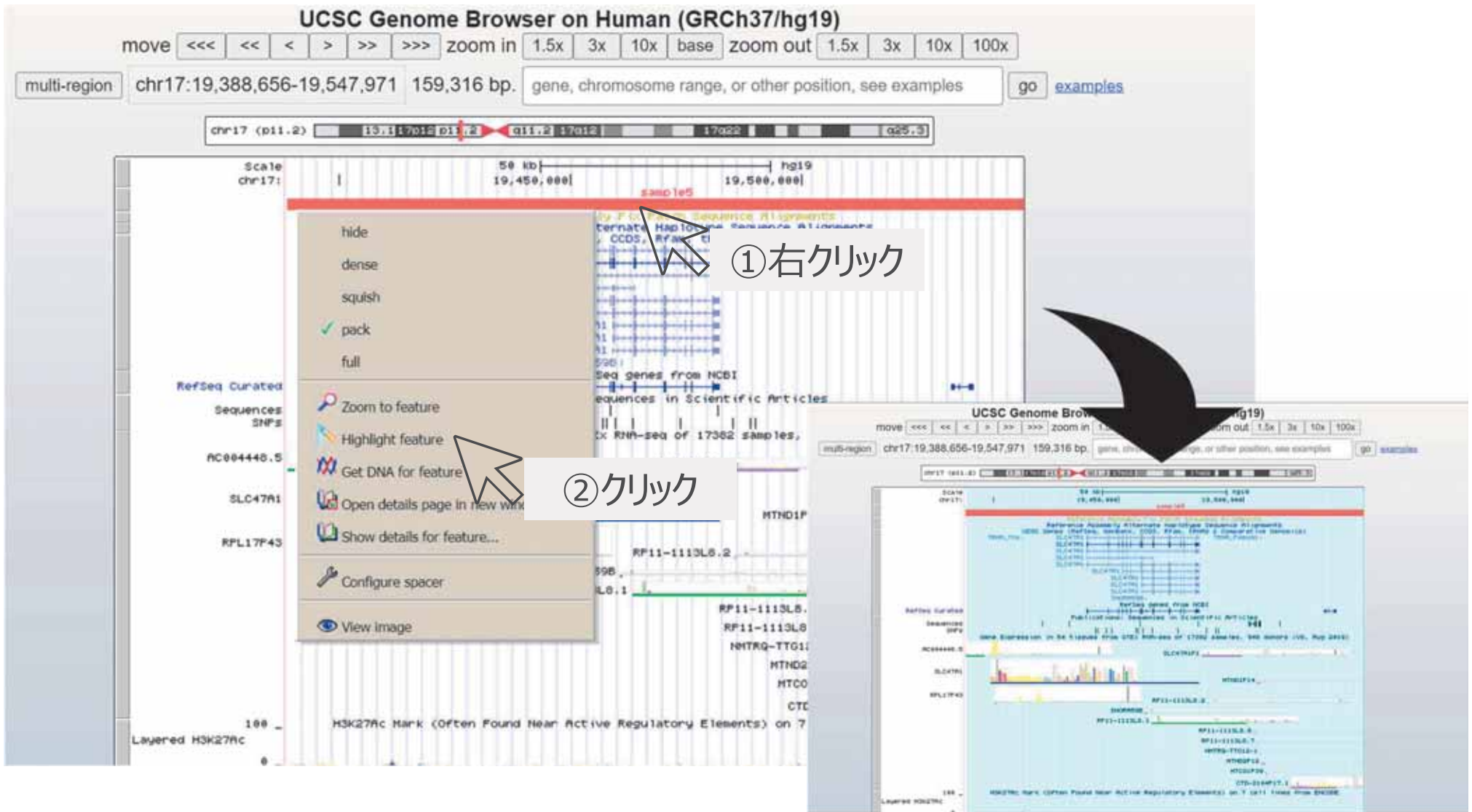
UCSC Genome Browser 検索

Sampleのバーを右クリックし、Highlight featureをクリックすると、対象領域をハイライトすることができます。

The screenshot displays the UCSC Genome Browser interface for Human (GRCh37/hg19). The main track shows a region on chromosome 17 (chr17) from 19,388,656 to 19,547,971 bp. A red bar labeled 'Sample' is highlighted. A context menu is open over this bar, listing various actions: hide, dense, squish, pack (checked), full, Zoom to feature, Highlight feature (selected), Get DNA for feature, Open details page in new window, Show details for feature..., Configure spacer, and View image. A mouse cursor is shown clicking on the 'Sample' bar, and another mouse cursor is shown clicking on the 'Highlight feature' menu item.

UCSC Genome Browser 検索

Sampleのバーを右クリックし、Highlight featureをクリックすると、対象領域をハイライトすることができます。



UCSC Genome Browser 検索

zoom outをすることで全体像を見ることができます。

The image displays two screenshots of the UCSC Genome Browser interface, illustrating the process of zooming out to view a larger genomic region.

Top Screenshot: Shows a zoomed-in view of a genomic region on chromosome 17 (GRCh37/hg19). The coordinates are chr17:19,388,656-19,547,971 (159,316 bp). The interface includes navigation controls (move, zoom in, zoom out) and a search bar. A mouse cursor is positioned over the 'zoom out' button. A callout box with the text "① クリック" (Click) and a large black arrow points to the 'zoom out' button.

Bottom Screenshot: Shows the same genomic region zoomed out to a larger scale. The coordinates are chr17:19,229,340-19,707,287 (477,948 bp). The interface displays more genomic features, including gene models (e.g., SLC47R1, SLC47R2, SLC47R3, SLC47R4, SLC47R5, SLC47R6, SLC47R7, SLC47R8, SLC47R9, SLC47R10, SLC47R11, SLC47R12, SLC47R13, SLC47R14, SLC47R15, SLC47R16, SLC47R17, SLC47R18, SLC47R19, SLC47R20, SLC47R21, SLC47R22, SLC47R23, SLC47R24, SLC47R25, SLC47R26, SLC47R27, SLC47R28, SLC47R29, SLC47R30, SLC47R31, SLC47R32, SLC47R33, SLC47R34, SLC47R35, SLC47R36, SLC47R37, SLC47R38, SLC47R39, SLC47R40, SLC47R41, SLC47R42, SLC47R43, SLC47R44, SLC47R45, SLC47R46, SLC47R47, SLC47R48, SLC47R49, SLC47R50, SLC47R51, SLC47R52, SLC47R53, SLC47R54, SLC47R55, SLC47R56, SLC47R57, SLC47R58, SLC47R59, SLC47R60, SLC47R61, SLC47R62, SLC47R63, SLC47R64, SLC47R65, SLC47R66, SLC47R67, SLC47R68, SLC47R69, SLC47R70, SLC47R71, SLC47R72, SLC47R73, SLC47R74, SLC47R75, SLC47R76, SLC47R77, SLC47R78, SLC47R79, SLC47R80, SLC47R81, SLC47R82, SLC47R83, SLC47R84, SLC47R85, SLC47R86, SLC47R87, SLC47R88, SLC47R89, SLC47R90, SLC47R91, SLC47R92, SLC47R93, SLC47R94, SLC47R95, SLC47R96, SLC47R97, SLC47R98, SLC47R99, SLC47R100), gene expression data (Gene Expression in 54 tissues from GTEx RNA-seq), and other genomic tracks (e.g., RefSeq Curated Sequences, SNPs, RFLP, RFLP43, SHORR590, RPI1, RPI1-1113L0.1, H3K27ac). The interface also includes navigation controls and a search bar.

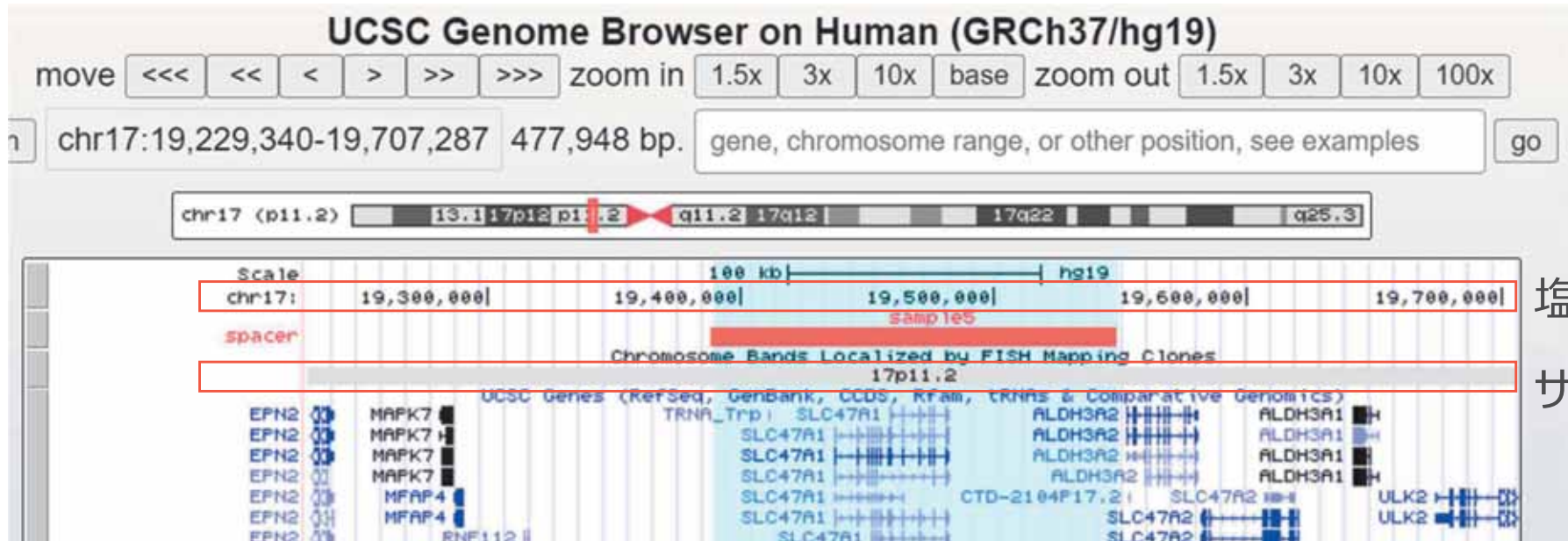
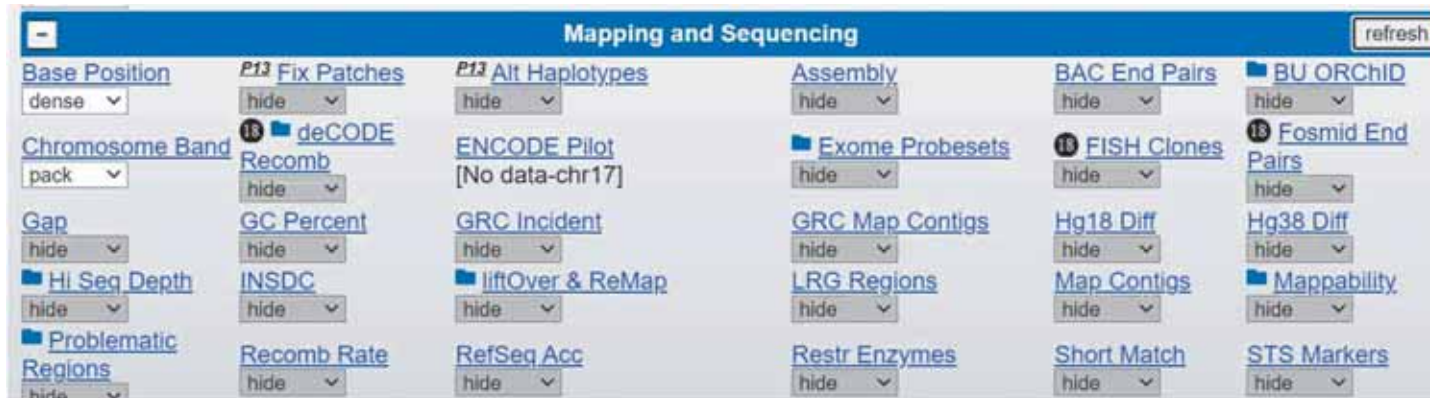
UCSC genome browser 設定画面①



- 検索結果の画面下部にて、各種データベース等の表示・非表示を設定することができます。
- 今回は、対象領域のPathogenicityを調べるために、下記のデータベースを表示させました。
 - Mapping and Sequencing
 - Base Position
 - Chromosome Band
 - Phenotype and Literature
 - ClinGen CNVs
 - Omim Cyto Loci
 - Variation
 - DGV struct Var

UCSC genome browser 設定画面②

Mapping and Sequencingのうち、Base PositionとChromosome Bandを表示すると、塩基番号およびサイトバンドが表示されます。
(それ以外は、hideに設定すると見やすいです)



塩基番号
サイトバンド

UCSC genome browser 設定画面③

続いて、先ほどのページと同様に、下記のデータベースの表示をOnにします。

Fullでは、情報量が多いことがあるので、ここではpackで表示をします。

- Phenotype and Literature
 - **ClinGen CNVs**
 - ClinGenに登録されているCNVが表示されます。
 - Lossは赤で、Gainは青で表示されます。
 - **Omim Cyto Loci**
 - Omimに登録されている疾患と関係のある領域が表示されます。
- Variation
 - **DGV struct Var**
 - 健常人でみられたCNVが表示されます。
 - Lossは赤で、Gainは青で、LossとGainの両方の報告がある場合は茶色で表示されます。

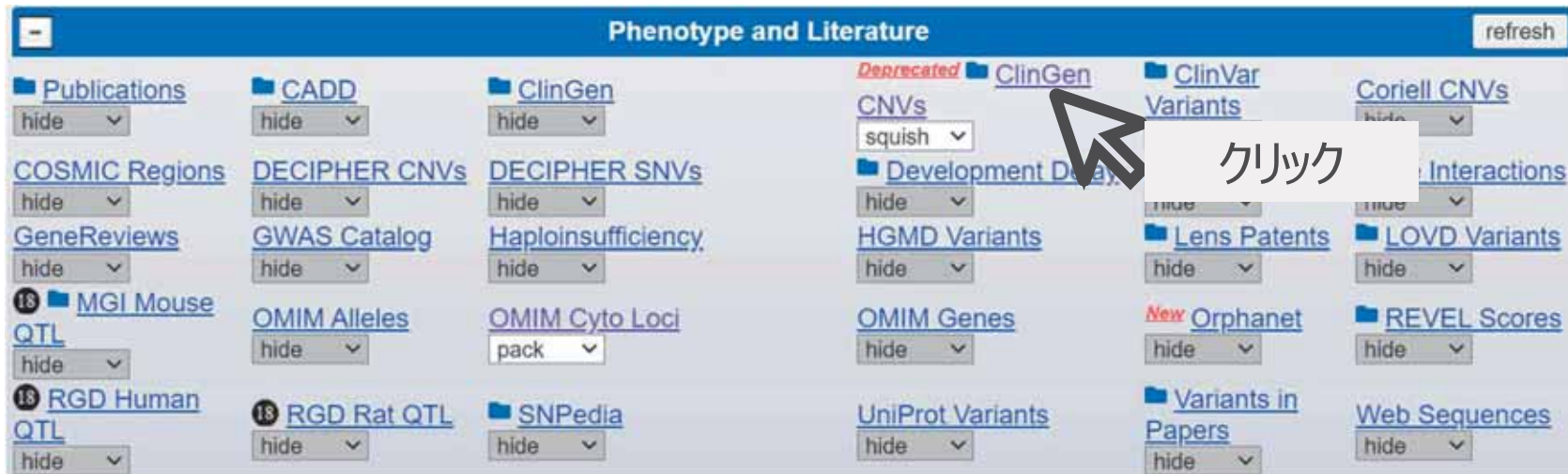
解析例5



UCSC genome browser 設定画面④

設定画面のデータベース名をクリックすることで、より詳細な表示設定をすることができます。

今回は、ClinGen CNVsとDGV Struct Varの設定を変更します。



ClinGen CNVs設定画面

ClinGen CNVs Track Settings

Clinical Genome Resource (ClinGen) CNVs (All Phenotype and Literature tracks)

Maximum display mode: full [Reset to defaults](#)

Select views [\(Help\)](#):
 Coverage CNVs

Coverage Configuration

Type of graph: [Graph configuration help](#)

Track height: pixels (range: 16 to 128)

Data view scaling: Always include zero:

Vertical viewing range: min: max: (range: 0 to 100)

Transform function: Transform data points by:

Windowing function: Smoothing window: pixels

Negate values:

Draw y indicator lines: at y = 0.0: at y =

Select subtracks by evidence and class:

	All	Evidence	Curated	Submitted
Class	<input type="button" value="+-"/>	<input type="button" value="+-"/>	<input type="button" value="+-"/>	<input type="button" value="+-"/>
Pathogenic	<input type="button" value="+-"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Likely Pathogenic	<input type="button" value="+-"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Uncertain	<input type="button" value="+-"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Likely Benign	<input type="button" value="+-"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Benign	<input type="button" value="+-"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

List subtracks: only selected/visible all (2 of 11 selected)

	Class: ¹	Evidence: ²	views: ³	Track Name: ⁴	
<input checked="" type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/>	Benign	Curated	CNVs	ClinGen CNVs: Curated Benign	Schema
<input type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/>	Benign	Submitted	CNVs	ClinGen CNVs: Benign	Schema
<input type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/> Configure	Benign	Submitted	Coverage	ClinGen CNVs: Benign Gain Coverage	Schema
<input type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/> Configure	Benign	Submitted	Coverage	ClinGen CNVs: Benign Loss Coverage	Schema
<input type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/>	Likely Benign	Submitted	CNVs	ClinGen CNVs: Uncertain: Likely Benign	Schema
<input type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/>	Likely Pathogenic	Submitted	CNVs	ClinGen CNVs: Uncertain: Likely Pathogenic	Schema
<input checked="" type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/>	Pathogenic	Curated	CNVs	ClinGen CNVs: Curated Pathogenic	Schema
<input type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/>	Pathogenic	Submitted	CNVs	ClinGen CNVs: Pathogenic	Schema
<input type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/> Configure	Pathogenic	Submitted	Coverage	ClinGen CNVs: Pathogenic Gain Coverage	Schema
<input type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/> Configure	Pathogenic	Submitted	Coverage	ClinGen CNVs: Pathogenic Loss Coverage	Schema
<input type="checkbox"/> <input type="button" value="squish"/>	Uncertain	Submitted	CNVs	ClinGen CNVs: Uncertain	Schema

2 of 11 selected

List subtracksのうち、EvidenceがCuratedのものだけをチェックするとエビデンスがある領域のみが表示されます。



クリック

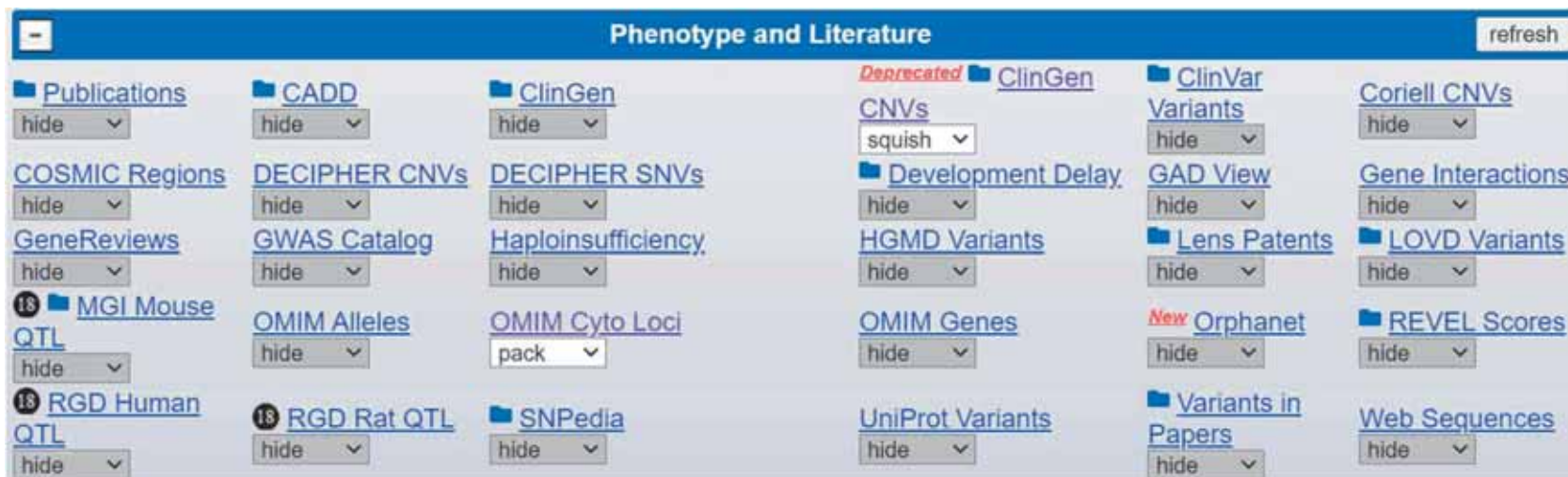
解析例5



UCSC genome browser 設定画面⑤

設定画面のデータベース名をクリックすることで、より詳細な表示設定をすることができます。

今回は、ClinGen CNVsとDGV Struct Varの設定を変更します。



DGV Struct Var設定画面

Gold Standardのみ選択すると、キュレーションされたデータのみが表示されます。

DGV Struct Var Track Settings

Database of Genomic Variants: Structural Variation (CNV, Inversion, In/del) ([▲All Variation tracks](#))

Display mode: [Reset to defaults](#)

Display data as a density graph. **クリック**

List subtracks: only selected/visible all

<input type="checkbox"/>	<input type="text" value="pack"/>	Configure	DGV Struct Var	Database of Genomic Variants: Structural Var Regions (CNV, Inversion, In/del)	Schema
<input type="checkbox"/>	<input type="text" value="pack"/>	Configure	DGV Supp Var	Database of Genomic Variants: Supporting Structural Var (CNV, Inversion, In/del)	Schema
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="text" value="pack"/>		DGV Gold Standard	Database of Genomic Variants: Gold Standard Variants	Schema

Source data version: 2016-05-15

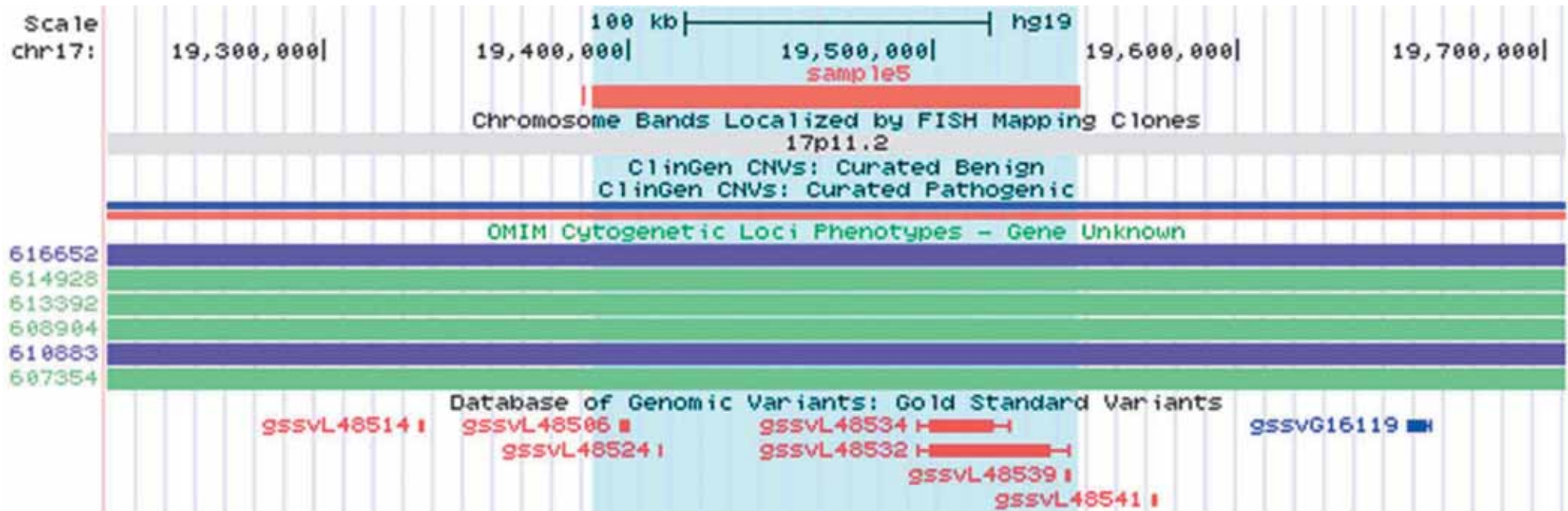
解析例5



UCSC Genome Browser 検索結果

下記のような結果が表示されます。

各バーをクリックすると、より詳細な情報を確認することができます。



- ClinGen CNVやOMIM Cytogenetic Lociの結果から、疾患と関連のある遺伝子の領域であることも分かります。
- DGV (Database of Genomic Variants) の情報から、健常人でもLossが見られる領域を一部含んでいます。

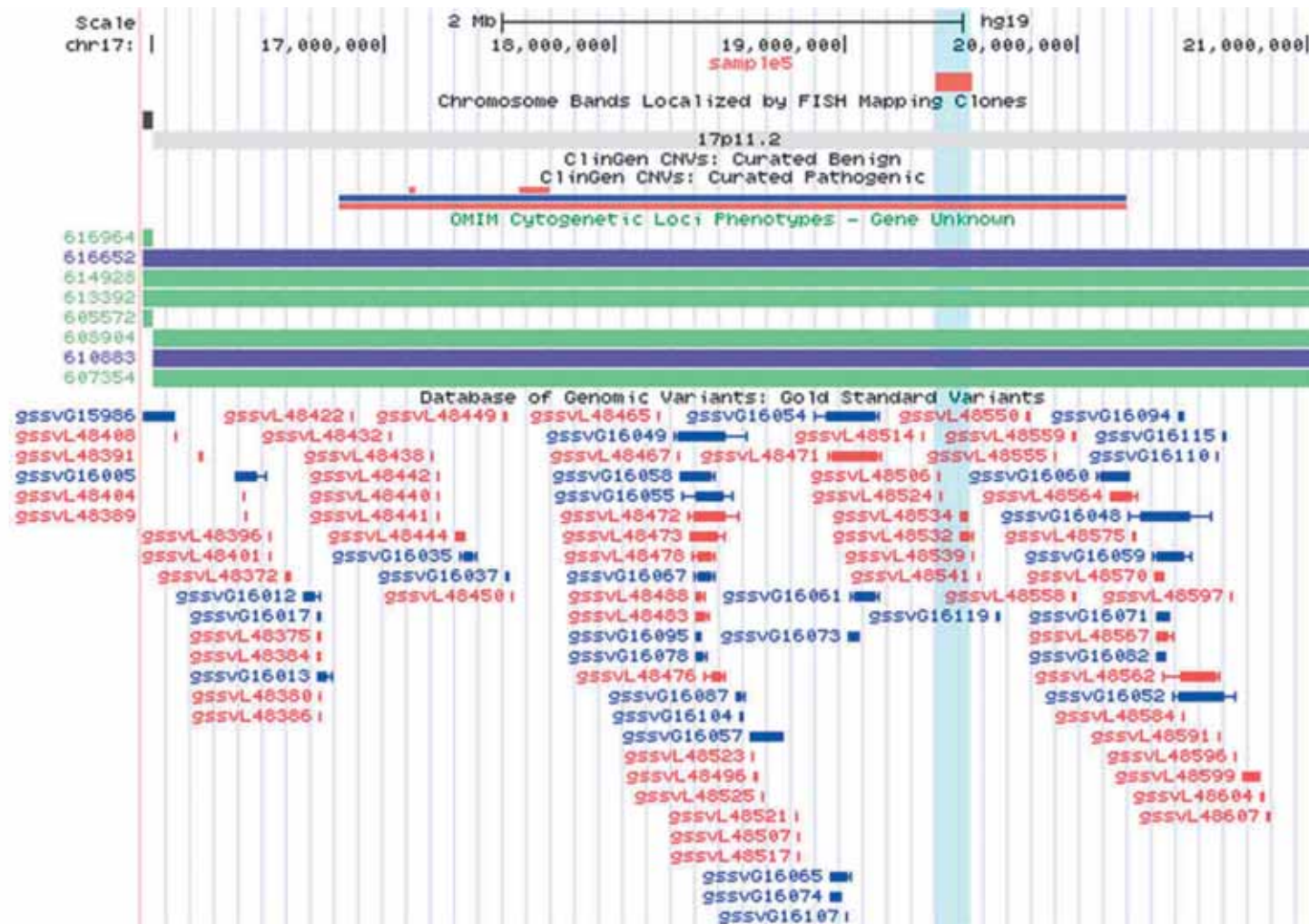
解析例5

➡ zoom outをして、全体像を確認します。



疾患と関連する領域と検索対象領域の比較

zoom outをすることで、ClinGen CNVsやOMIM Cytogenetic Lociの領域と比較して、かなり小さい領域がLossしていることが分かります。



解析例5

UCSC Genome Browse (<https://genome.ucsc.edu/>) ウェブサイト画面より



疾患と関連性を裏付ける根拠に乏しく、Uncertain significant の可能性が示唆されます。