



GIỚI THIỆU VỀ ĐỘT BIẾN GEN

PGS.TS.BS. Hoàng Anh Vũ
Trung tâm Y Sinh học Phân tử
Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh
hoanganhvu@ump.edu.vn

Tháng 9 năm 2023

MỤC TIÊU

1. Phân biệt được các kiểu đột biến gen gây bệnh và cách viết **danh pháp đột biến**
2. Nhận biết được những **điểm mạnh và điểm yếu** của chẩn đoán đột biến gen trong thực tế lâm sàng



NỘI DUNG TRÌNH BÀY



1. NHẮC LẠI CÁC KHÁI NIỆM VỀ GEN
2. CÁC KIỂU ĐỘT BIẾN GEN
3. CÁC KỸ THUẬT PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN
4. MỘT SỐ VÍ DỤ VỀ BỆNH LÝ CÓ ĐỘT BIẾN GEN
5. CÁC LƯU Ý KHI NÓI VỀ ĐỘT BIẾN GEN



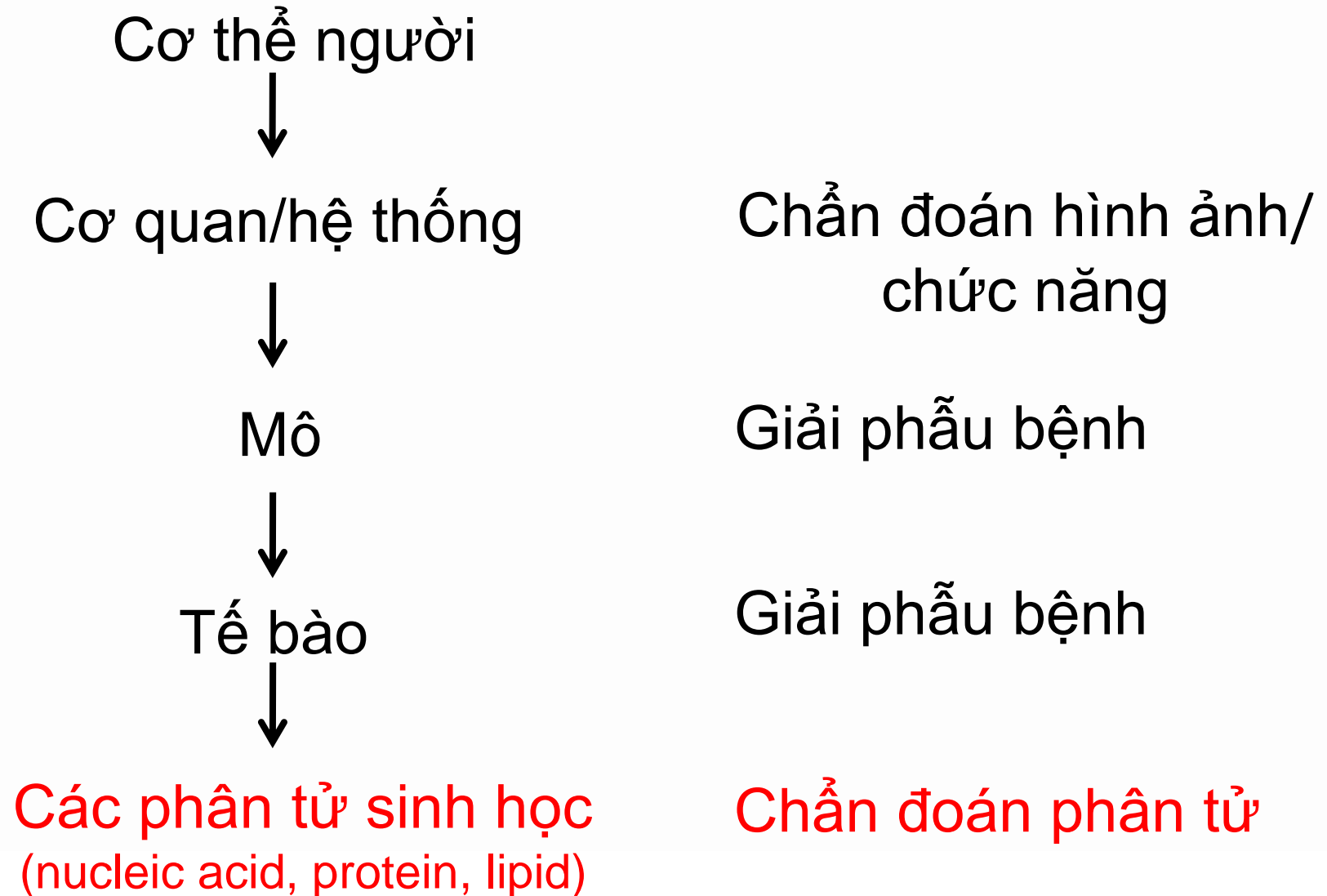
1. NHẮC LẠI CÁC KHÁI NIỆM VỀ GEN

2. CÁC KIỂU ĐỘT BIẾN GEN

3. CÁC KỸ THUẬT PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN

4. MỘT SỐ VÍ DỤ VỀ BỆNH LÝ CÓ ĐỘT BIẾN GEN

5. CÁC LƯU Ý KHI NÓI VỀ ĐỘT BIẾN GEN



CÁC KỸ THUẬT TƯƠNG ỨNG MỨC PHÂN TỬ

Nhiễm sắc thể

Nhiễm sắc thể đồ

FISH

Deoxyribonucleic acid (DNA)

Southern blot (DNA)

(+ Histone)

Northern blot (RNA)

PCR

Ribonucleic acid (RNA)

DNA sequencing

Protein

Hóa mô miễn dịch

Western blot

ELISA

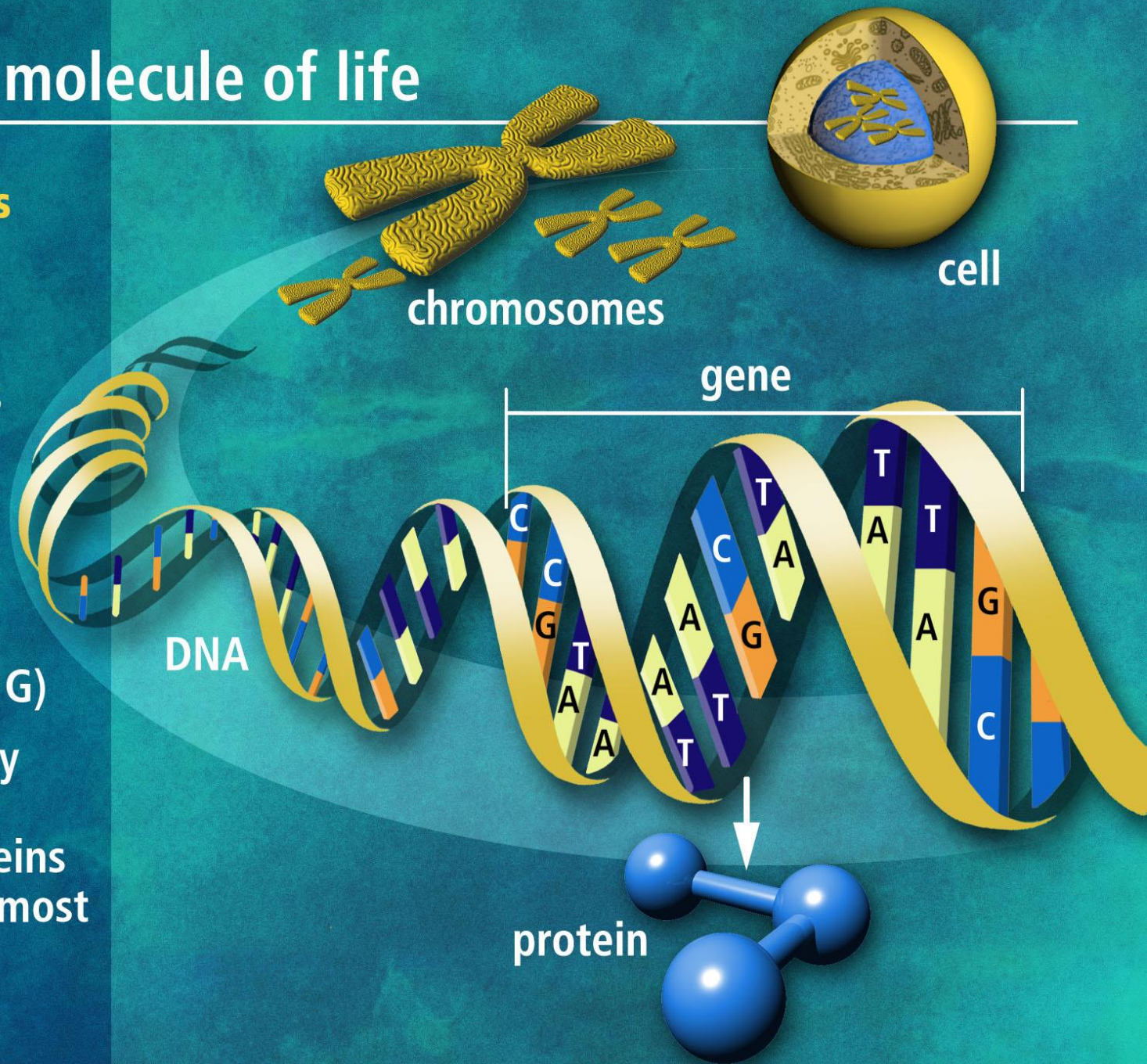
Flow cytometry

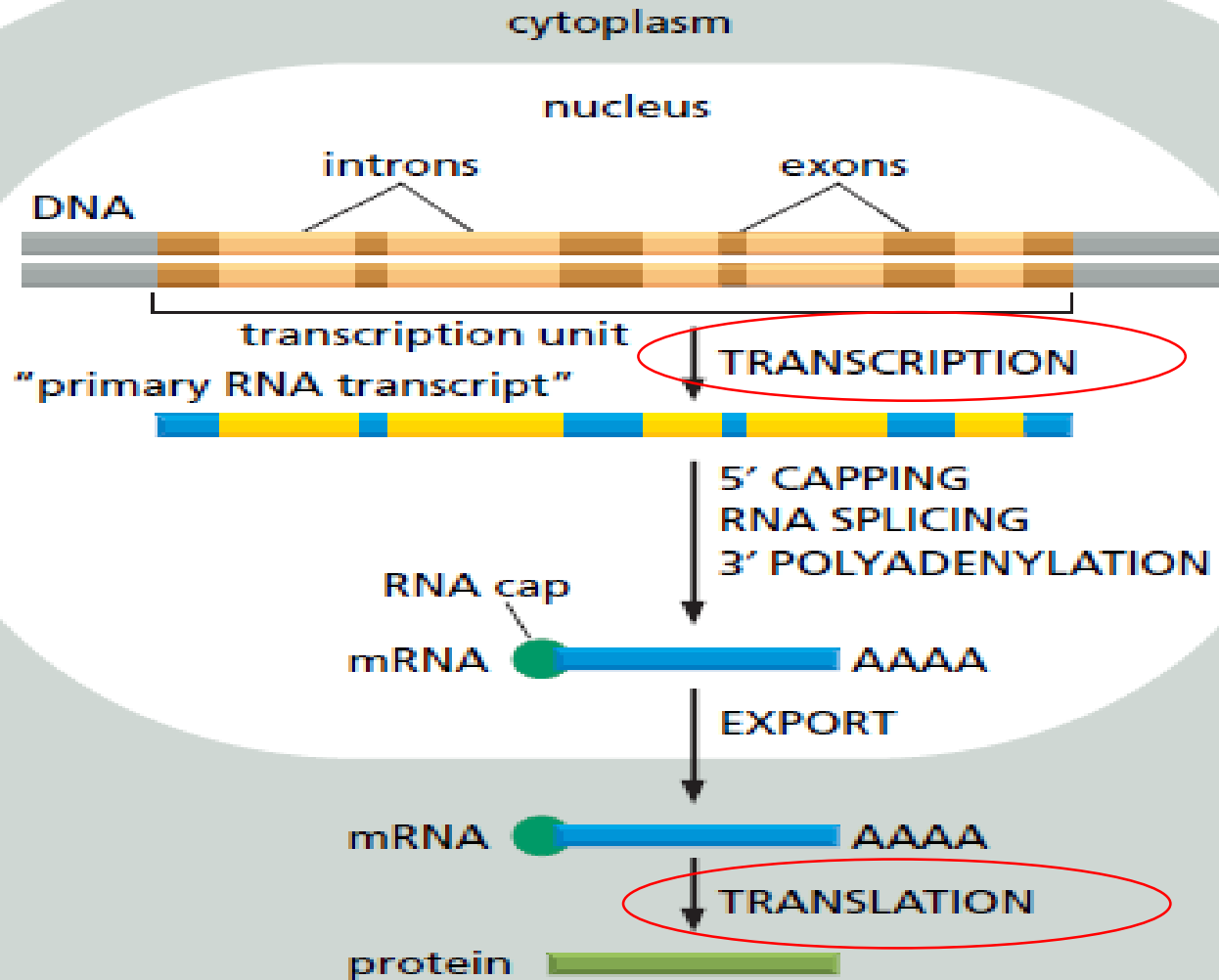
DNA the molecule of life

Trillions of cells

Each cell:

- 46 human chromosomes
- 2 meters of DNA
- 3 billion DNA subunits (the bases: A, T, C, G)
- Approximately 30,000 genes code for proteins that perform most life functions





KHÁI NIỆM VỀ GEN (1)

Gen là một phần của phân tử deoxyribonucleic acid (DNA), làm khuôn mẫu cho việc **phiên mã** để tạo thành phân tử ribonucleic acid (RNA) có chức năng quan trọng:

- Trình tự gen: 4 loại base là adenine (A), cytosine (C), guanine (G), thymine (T)
- RNA: Thymine được thay bởi uracil (U)
- Purine = A & G
- Pyrimidine = C, T & U





Gene

Gene



HBB



Search

Advanced

Full Report

Send to

HBB hemoglobin, beta [*Homo sapiens* (human)]

Gene ID: 3043, updated on 4-Oct-2015

Summary



Official Symbol	HBB provided by HGNC
Official Full Name	hemoglobin, beta provided by HGNC
Primary source	HGNC:HGNC:4827
See related	Ensembl:ENSG00000244734 ; HPRD:00786 ; MIM:141900 ; Vega:OTTHUMG00000066678
Gene type	protein coding
RefSeq status	REVIEWED
Organism	Homo sapiens
Lineage	Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo
Also known as	CD113t-C; beta-globin
Summary	The alpha (HBA) and beta (HBB) loci determine the structure of the 2 types of polypeptide chains in adult hemoglobin, Hb A. The normal adult hemoglobin tetramer consists of two alpha chains and two beta chains. Mutant beta globin causes sickle cell anemia. Absence of beta chain causes beta-zero-thalassemia. Reduced amounts of detectable beta globin causes beta-plus-thalassemia. The order of the genes in the beta-globin cluster is 5'-epsilon -- gamma-G -- gamma-A -- delta -- beta--3'. [provided by RefSeq, Jul 2008]

Genomic

NG_000007.3 RefSeqGene

Range	70545..72150
Download	GenBank , FASTA , Sequence Viewer (Graphics)

mRNA and Protein(s)

[NM_000518.4](#) → [NP_000509.1](#) hemoglobin subunit beta

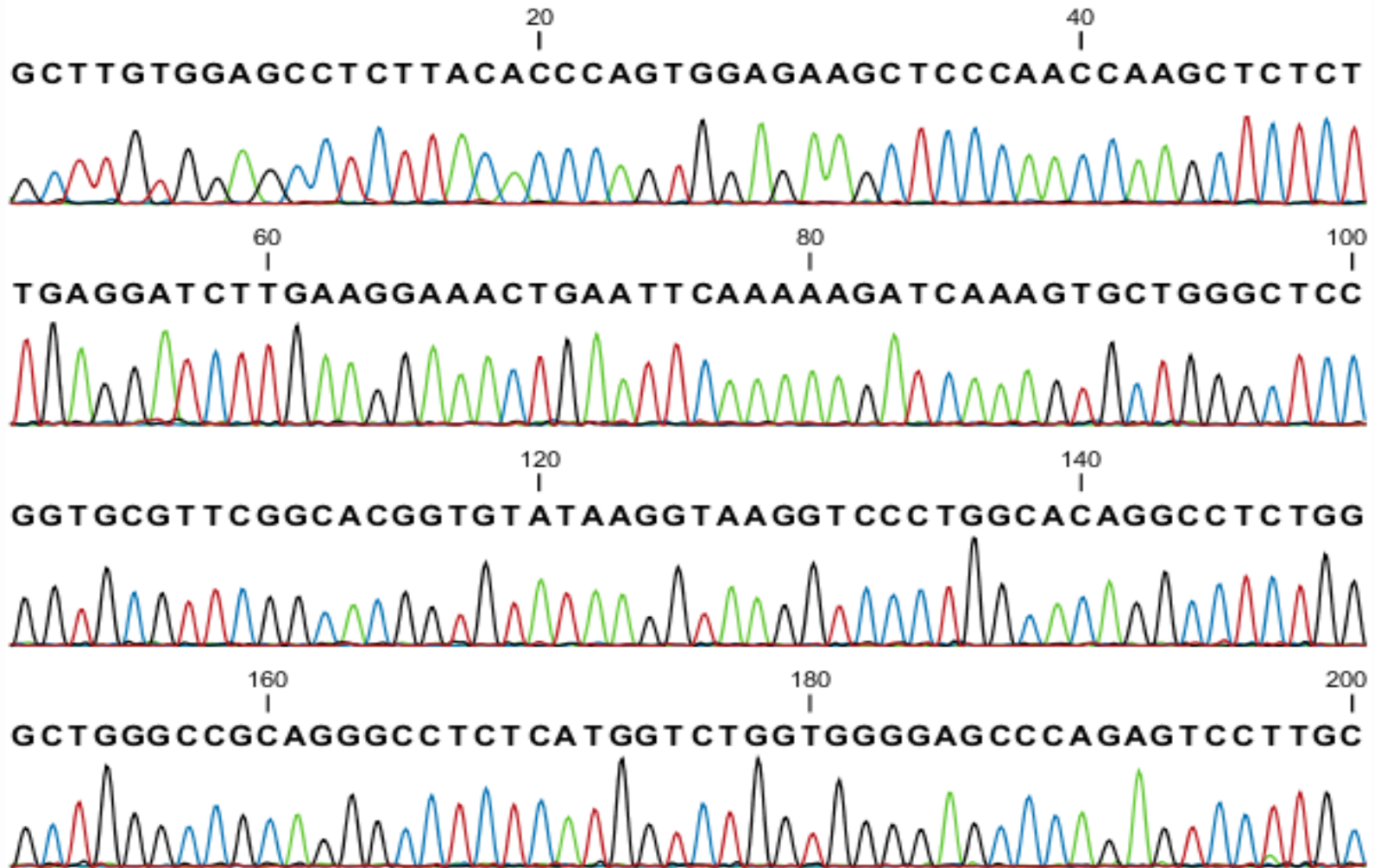
[See identical proteins and their annotated locations for NP_000509.1](#)

```

1 acatttgctt ctgacacaac tgtgttcact agcaacctca aacagacacc atgggtgcatc
61 tgactcctga ggagaagtct gccgttactg ccctgtgggg caaggtgaac gtggatgaag
121 ttgggtggtga ggccctgggc aggttggtat caaggttaca agacaggttt aaggagacca
181 atagaaactg ggcatgtgga gacagagaag actcttgggt ttctgatagg cactgactct
241 ctctgcctat tgggtctattt tcccaccctt aggctgctgg tgggtctacc ttggaccag
301 aggttctttg agtcctttgg ggatctgtcc actcctgatg ctgttatggg caaccctaag
361 gtgaaggctc atggcaagaa agtgctcggg gcctttagtg atggcctggc tcacctggac
421 aacctcaagg gcacctttgc cacactgagt gagctgcact gtgacaagct gcacgtggat
481 cctgagaact tcaggggtgag tctatgggac gcttgatggt ttctttccc ttcttttcta
541 tggttaagtt catgtcatag gaaggggata agtaacaggg tacagtttag aatgggaaac
601 agacgaatga ttgcatcagt gtggaagtct caggatcgtt ttagtttctt ttatttgctg
661 ttcataacaa ttgttttctt ttgtttaatt cttgctttct tttttttct tctccgcaat
721 ttttactatt atacttaatg ccttaacatt gtgtataaca aaaggaaata tctctgagat
781 acattaagta acttaaaaaa aaactttaca cagtctgcct agtacattac tatttggaat
841 atatgtgtgc ttatttgcat attcataatc tccctacttt attttcttt atttttaatt
901 gatacataat cattatacat atttatgggt taaagtgtaa tgttttaata tgtgtacaca
961 tattgaccaa atcagggtaa ttttgcattt gtaattttaa aaaatgctt cttcttttaa
1021 tatacttttt tgtttatctt atttctaata ctttccctaa tctctttctt tcagggcaat
1081 aatgatacaa tgtatcatgc ctctttgcac cattctaaag aataacagtg ataatttctg
1141 ggttaaggca atagcaatat ctctgcatat aatatattct gcatataaat tgtaactgat
1201 gtaagagggt tcatattgct aatagcagct acaatccagc taccattctg cttttatttt
1261 atggttggga taaggctgga ttattctgag tccaagctag gcccttttgc taatcatggt
1321 catactctt atcttctcc cacagctcct gggcaacgtg ctggctctgt tgctggcca
1381 tcactttggc aaagaattca ccccaccagt gcaggctgcc tatcagaaag tgggtggctgg

```

GIẢI TRÌNH TỰ DNA CỦA GEN



- **Exon**: Phần tương ứng của gen còn lưu lại trong RNA trưởng thành (có thể mã hóa hoặc không mã hóa amino acid)
- **Intron**: Phần DNA không mã hóa cho amino acid, nằm giữa các exon của một gen (IVS: intervening sequence). Intron **bắt đầu bằng GT** và **tận cùng bằng AG**
- Codon: Bộ ba nucleotide mã hóa cho 1 amino acid
- Start codon ở người là **ATG** (mã hóa methionine): **A** được đánh số +1
- Stop codon ở người là **TAG**, **TAA** hoặc **TGA**
- Chiều của gen 5' → 3'

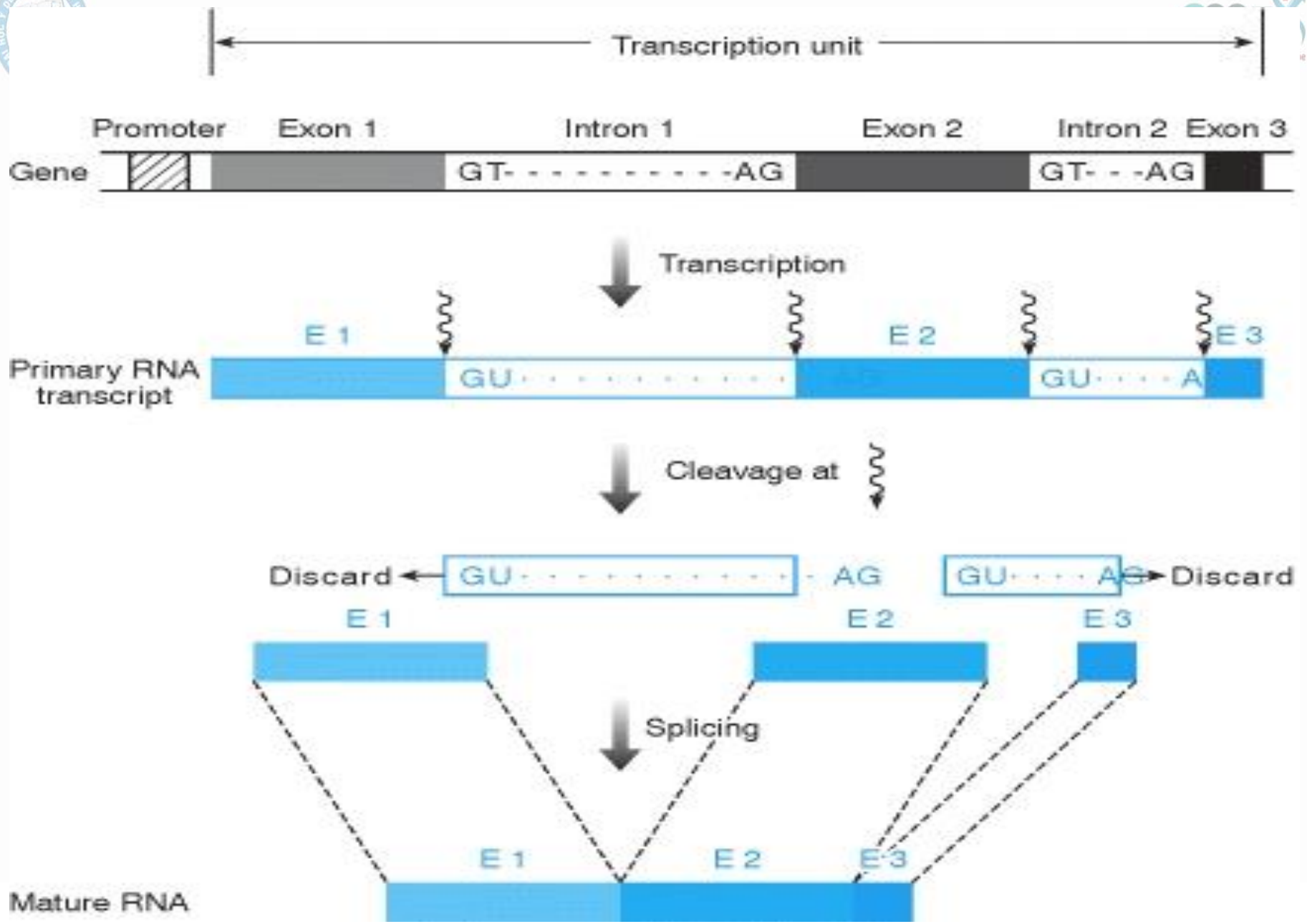
BỘ MÃ DI TRUYỀN (GENETIC CODE) CỦA GEN TRONG NHÂN

Codons Found in Messenger RNA

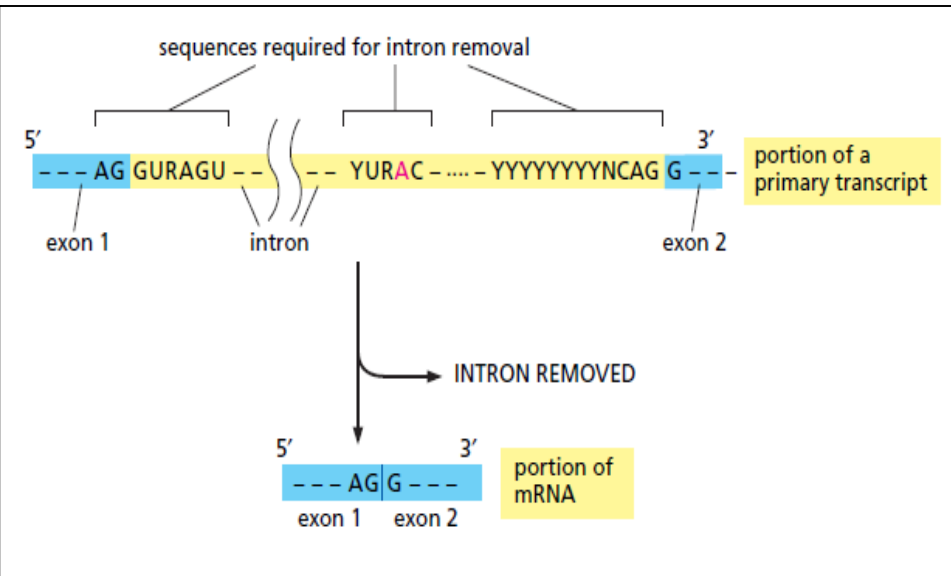
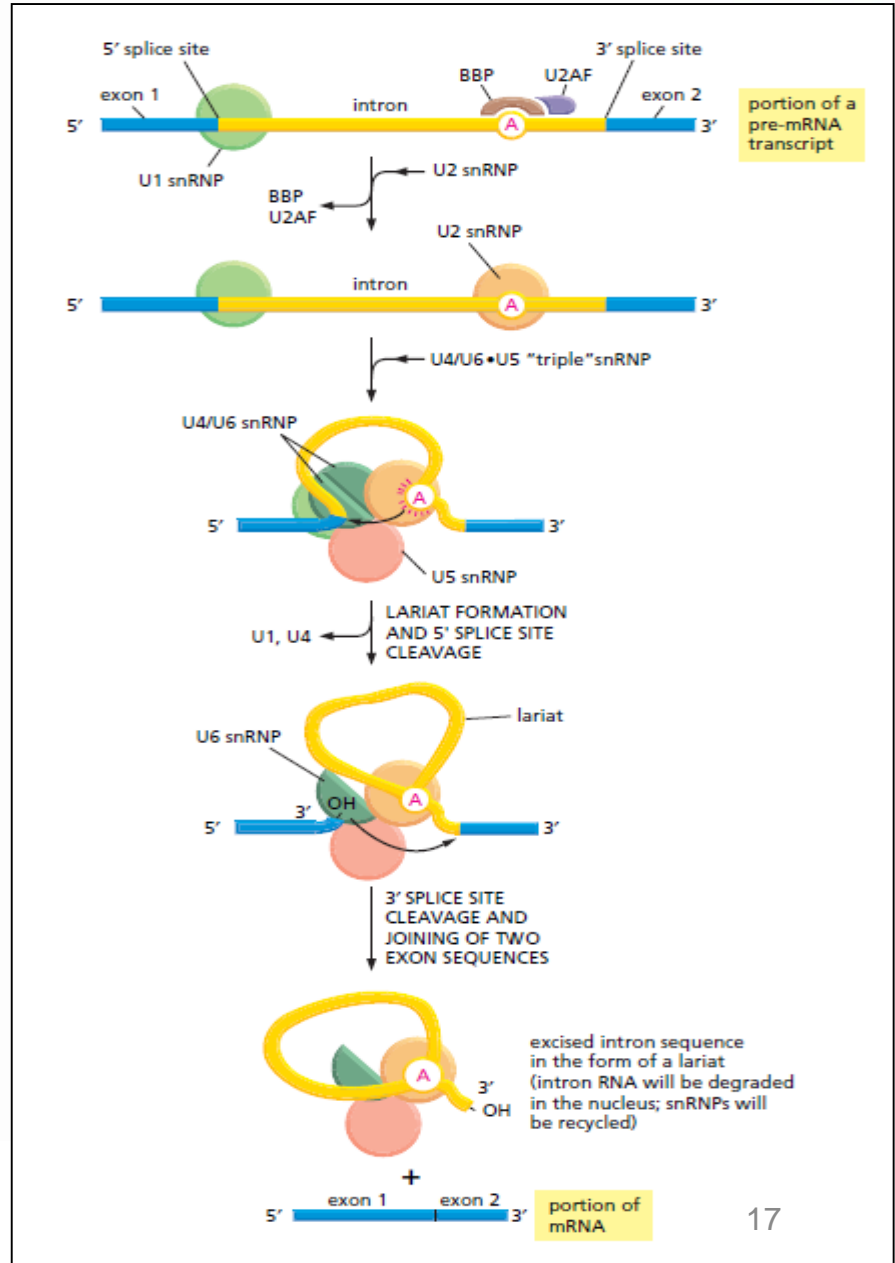
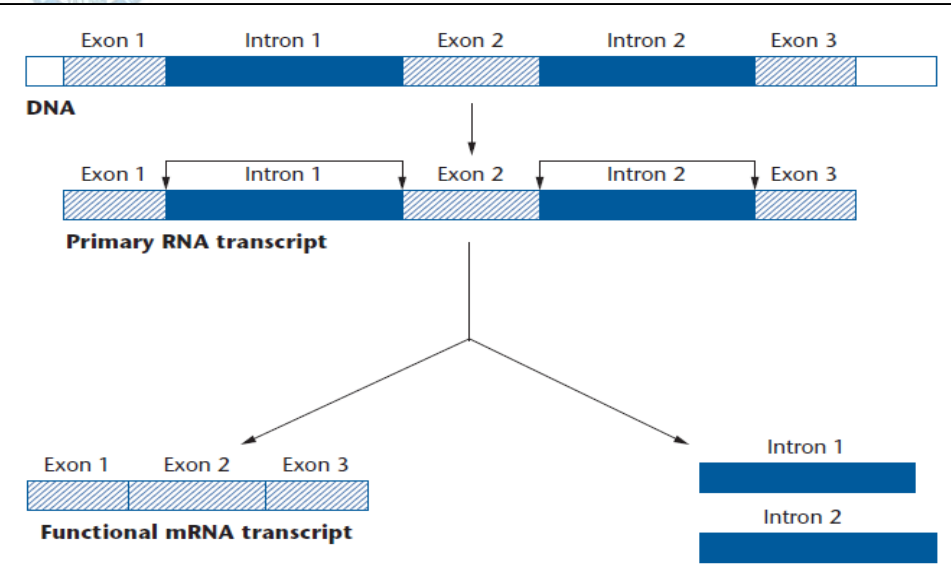
Second Base

		<i>Second Base</i>				
		U	C	A	G	
<i>First Base</i>	U	Phe	Ser	Tyr	Cys	<i>Third Base</i>
		Phe	Ser	Tyr	Cys	
		Leu	Ser	Stop	Stop	
		Leu	Ser	Stop	Trp	
	C	Leu	Pro	His	Arg	
		Leu	Pro	His	Arg	
		Leu	Pro	Gln	Arg	
		Leu	Pro	Gln	Arg	
	A	Ile	Thr	Asn	Ser	
		Ile	Thr	Asn	Ser	
		Ile	Thr	Lys	Arg	
		Met	Thr	Lys	Arg	
	G	Val	Ala	Asp	Gly	
		Val	Ala	Asp	Gly	
		Val	Ala	Glu	Gly	
		Val	Ala	Glu	Gly	

Amino Acid	Three-Letter Abbreviation	One-Letter Abbreviation
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Aspartate	Asp	D
Cysteine	Cys	C
Glutamate	Glu	E
Glutamine	Gln	Q
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V



INTRON CẦN CHO SỰ GHÉP NỐI EXON





1. CÁC KHÁI NIỆM VỀ GEN

2. CÁC KIỂU ĐỘT BIẾN GEN

3. CÁC KỸ THUẬT PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN

4. MỘT SỐ VÍ DỤ VỀ BỆNH LÝ CÓ ĐỘT BIẾN GEN

5. CÁC LƯU Ý KHI NÓI VỀ ĐỘT BIẾN GEN

Các kiểu **biến thể** (variant) của gen:

1. Biến thể lành tính (benign)
2. Biến thể có thể lành tính (likely benign)
3. Biến thể không rõ ý nghĩa
(VUS: variant of uncertain significance)
4. Biến thể có thể gây bệnh (likely pathogenic)
5. **Biến thể gây bệnh (pathogenic)**

Sinh học: Đột biến gen dùng để chỉ bất kỳ sự thay đổi trình tự, cấu trúc nucleotide nào của gen.

Y học: Đột biến gen gây bệnh (disease-causing mutation) để chỉ sự thay đổi trình tự, cấu trúc nucleotide của gen để gây ra bệnh

Phân loại theo cấu trúc

1. Mất nucleotide (**d**ele~~ti~~on): frameshift hay in-frame?
2. Thêm nucleotide (**i**nse~~rt~~ion)
3. Thay thế nucleotide:
 - + Đồng nghĩa/ im lặng (synonymous/ silent): Không thay đổi amino acid
 - + Sai nghĩa (missense): Thay đổi amino acid
 - + Vô nghĩa (nonsense): Tạo stop codon
4. Biến thể phức tạp

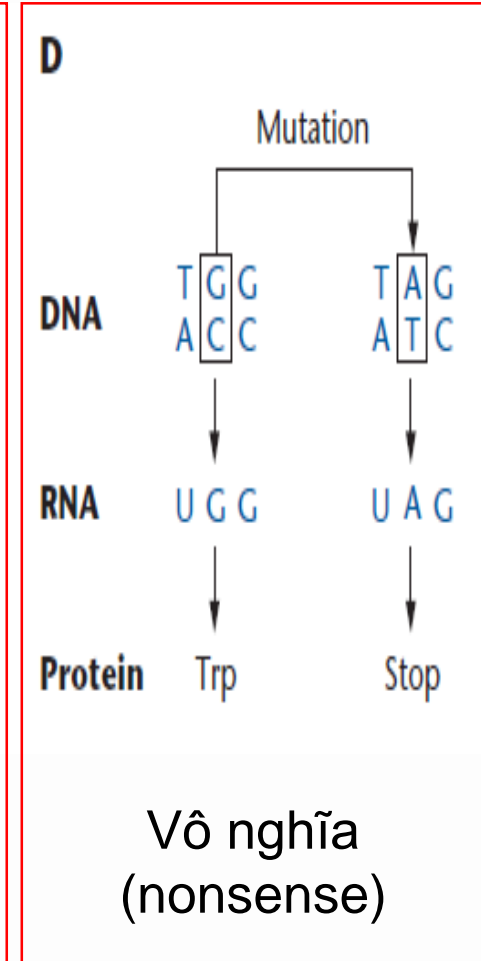
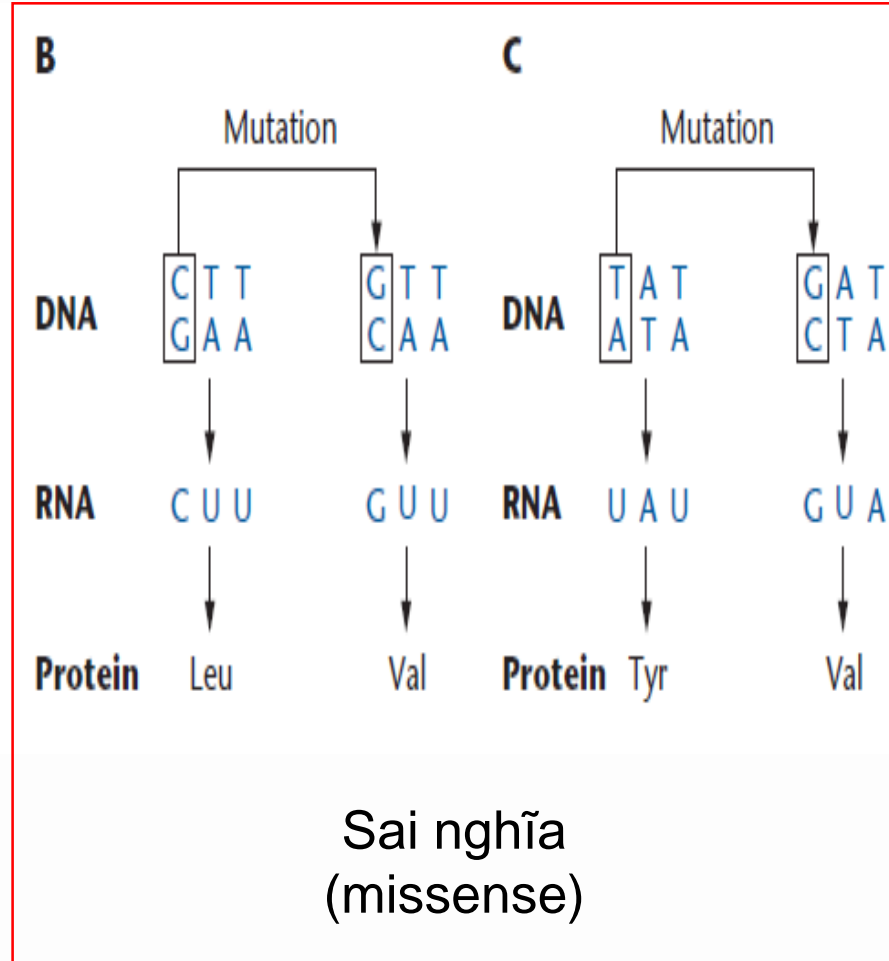
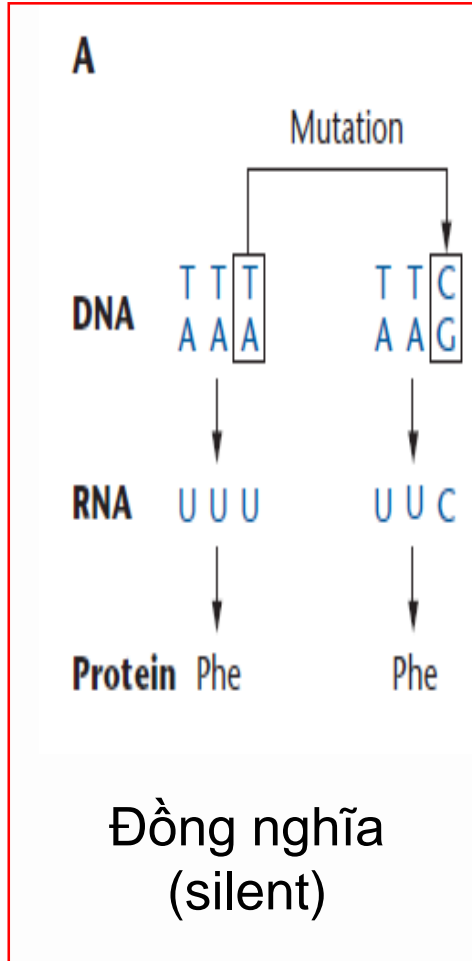
Phân loại theo chức năng

1. Đột biến mất chức năng (loss-of-function)
2. Đột biến thêm chức năng (gain-of-function)

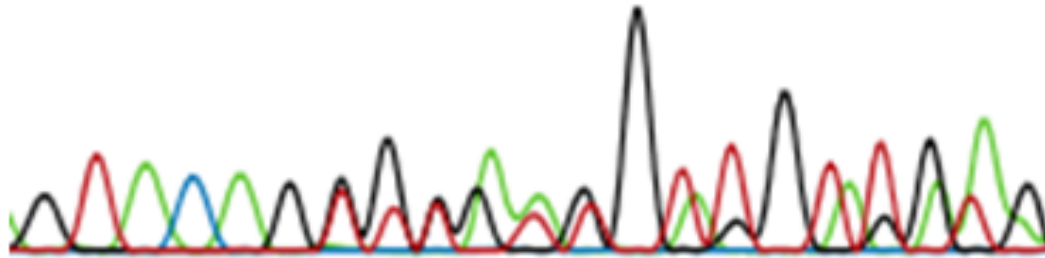
(den Dunnen JT, Human Mutation 2000;15:7-12)

- Adenine đầu tiên của mã khởi đầu ATG mang số +1,
 - “c.” để chỉ cDNA (complementary DNA)
 - “g.” để chỉ genomic DNA
 - “IVS” chỉ intron: **G của GT đầu tiên** trong intron mang số +1, **G của AG cuối cùng** trong intron mang số -1
 - “p.” để chỉ protein
 - “del” = deletion
 - “ins” = insertion
1. p.E746_A750del: Đột biến mất 5 amino acid (từ glutamate 746 đến alanine 750)
 2. c.218T>C: Thay T bằng C tại vị trí 218 của cDNA
 3. IVS2+1G>T: Thay G bằng T tại vị trí đầu tiên của intron 2

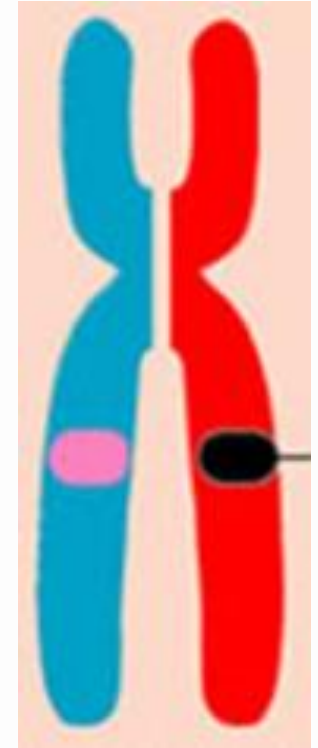
ĐỘT BIẾN ĐIỂM CỦA EXON



Bảo tồn khung đọc (in-frame mutation)

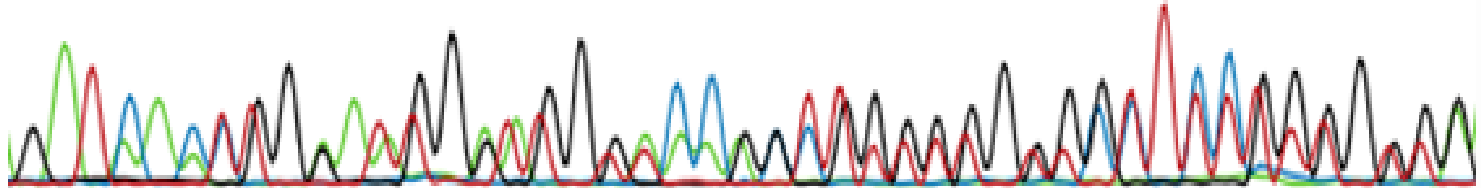


Bình thường	<u>GTA</u>	<u>CAG</u>	<u>TGG</u>	<u>AAG</u>	<u>GTT</u>	<u>GTT</u>	<u>GAG</u>
	555	556	557	558	559	560	561
	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Val	Glu
Đột biến	<u>GTA</u>	<u>CAG</u>	<u>GTT</u>	<u>GTT</u>	<u>GAG</u>	<u>GAG</u>	<u>ATA</u>
	555	556	559	560	561	562	563
	Val	Gln	Val	Val	Glu	Glu	Ile



Đột biến gen *KIT* trong u mô đệm đường tiêu hóa (c.1669_1674del hoặc p.W557_K558del)

Lệch khung đọc (frameshift mutation)



Bình thường

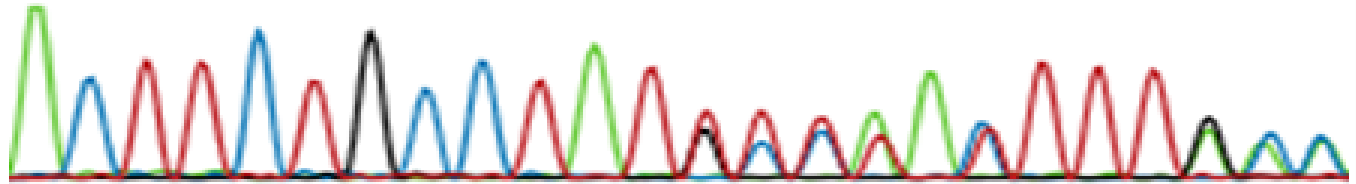
<u>GAT</u>	<u>CAA</u>	<u>CTG</u>	<u>GAA</u>	<u>TGG</u>	<u>ATG</u>	<u>GTA</u>	<u>CAG</u>	<u>CTG</u>	<u>TGT</u>	<u>GGT</u>	<u>GCT</u>	<u>TCT</u>	<u>GTG</u>	<u>GTG</u>
1778	1779	1780	1781	1782	1783	1784	1785	1786	1787	1788	1789	1790	1791	1792
Asp	Gln	Leu	Glu	Trp	Met	Val	Gln	Leu	Cys	Gly	Ala	Ser	Val	Val

Đột biến

<u>GAT</u>	<u>AAC</u>	<u>TGG</u>	<u>AAT</u>	<u>GGA</u>	<u>TGG</u>	<u>TAC</u>	<u>AGC</u>	<u>TGT</u>	<u>GTG</u>	<u>GTG</u>	<u>CTT</u>	<u>CTG</u>	<u>TGG</u>	<u>TGA</u>
1778	1779	1780	1781	1782	1783	1784	1785	1786	1787	1788	1789	1790	1791	1792
Asp	Asn	Trp	Asn	Gly	Trp	Tyr	Ser	Cys	Val	Val	Leu	Leu	Trp	STOP

Gen *BRCA1* trong ung thư vú: c.5335delC
(p.Gln1779Asnfs, p.Q1779Nfs*14, p.Q1779NfsX14)

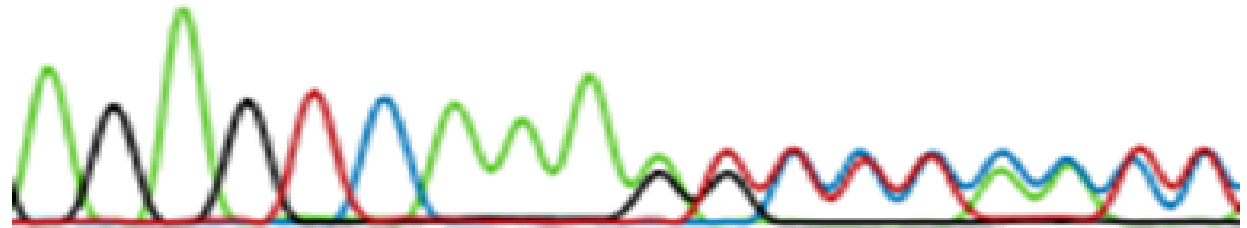
Bảo tồn khung đọc
 Nhân đoạn nội tại (internal tandem duplication)



Bình thường	<u>ACT</u>	<u>TCT</u>	<u>GCC</u>	<u>TAT</u>	<u>TTT</u>	<u>AAC</u>	<u>TTT</u>	<u>GCA</u>
	500	501	502	503	504	505	506	507
	Thr	Ser	Ala	Tyr	Phe	Asn	Phe	Ala
Đột biến	<u>ACT</u>	<u>TCT</u>	<u>GCC</u>	<u>TAT</u>	<u>GCC</u>	<u>TAT</u>	<u>TTT</u>	<u>AAC</u>
	500	501	502	503	502	503	504	505
	Thr	Ser	Ala	Tyr	Ala	Tyr	Phe	Asn

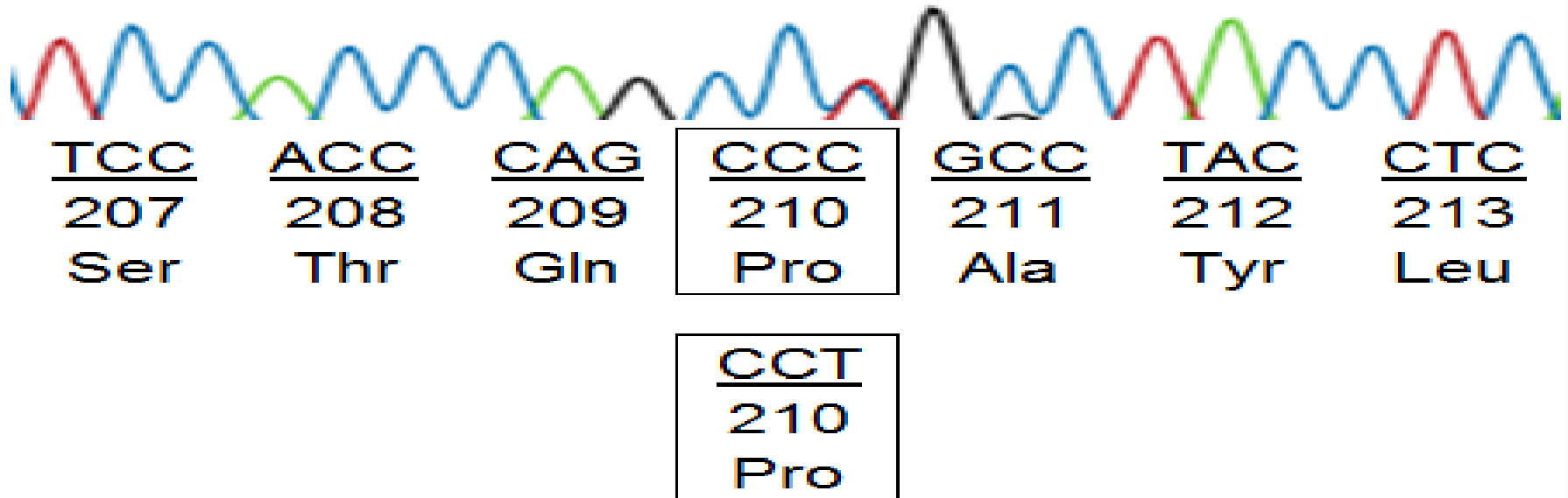
Gen *KIT* trong bệnh u mô đệm đường tiêu hóa:
 c.1509_1510insGCCTAT(p.Y503_F504insAY)

Lệch khung đọc



Bình thường	<u>AGA</u>	<u>GTC</u>	<u>AAA</u>	<u>GTC</u>	<u>TCA</u>	<u>CTC</u>
	173	174	175	176	177	178
	Arg	Val	Lys	Val	Ser	Leu
Đột biến	<u>AGA</u>	<u>GTC</u>	<u>AAA</u>	<u>AGT</u>	<u>CTC</u>	<u>ACT</u>
	173	174	175	176	177	178
	Arg	Val	Lys	Ser	Leu	Thr

Gen *ATP7B* trong bệnh Wilson: c.525_526insA



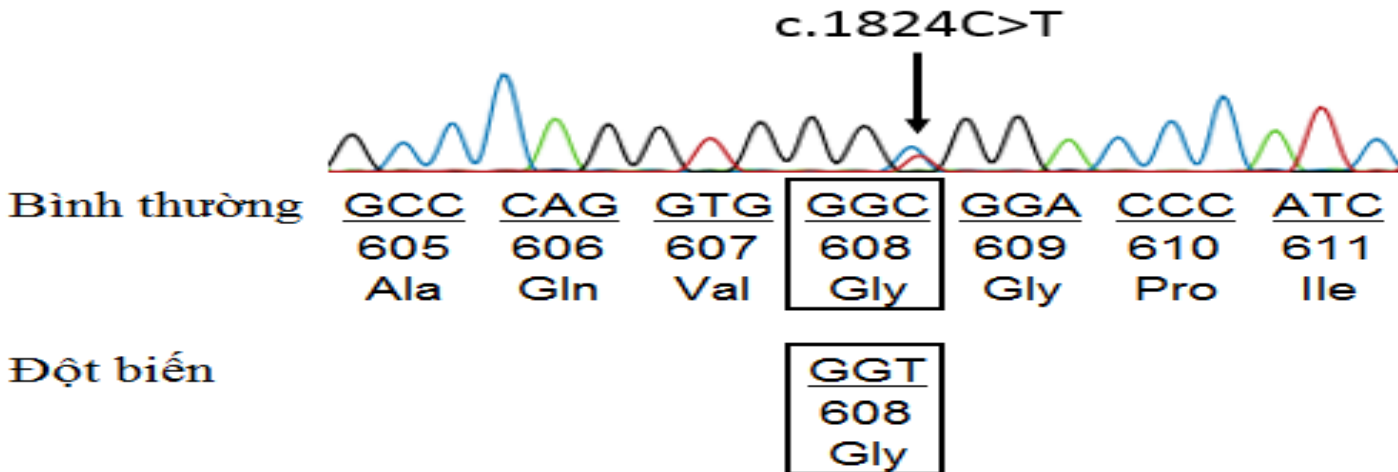
(Gen *perforin* trong hội chứng thực bào máu: c.630C>T)

SNP (Single Nucleotide Polymorphism: Đa hình nucleotide đơn):

> 1% dân số

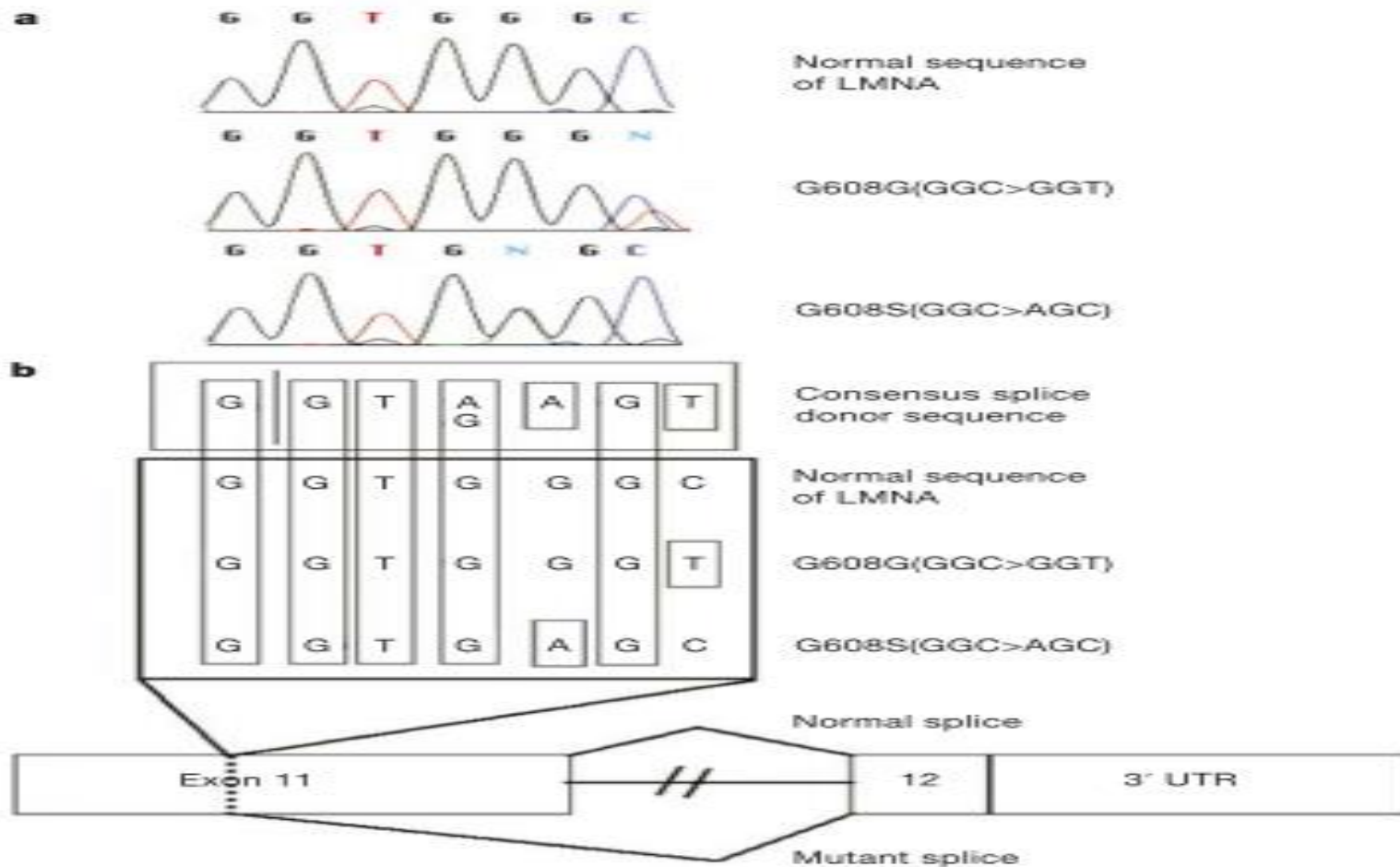
- Hầu hết không gây bệnh
- Có thể tạo vị trí giống intron mới, gây nối ghép RNA bất thường

Đột biến c.1824C>T trên exon 11
của gen *LMNA*

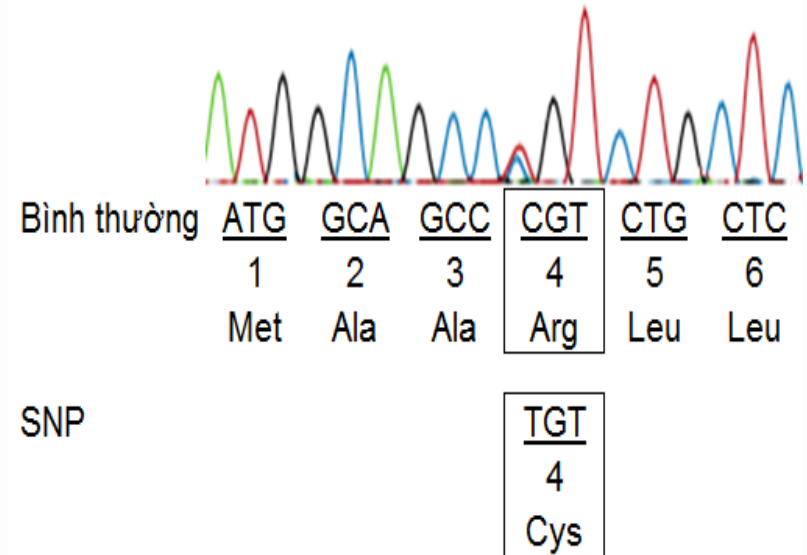
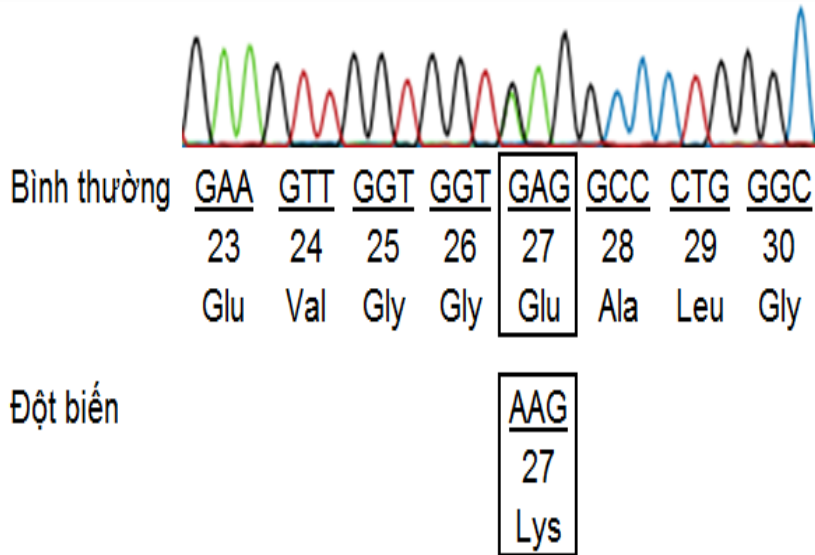


Recurrent *de novo* point mutations in lamin A cause Hutchinson–Gilford progeria syndrome

NATURE | VOL 423 | 15 MAY 2003 |



BIẾN THỂ SAI NGHĨA

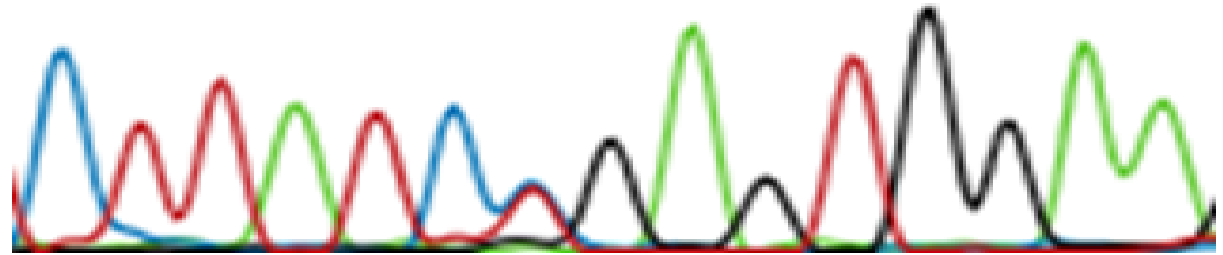


Gen *HBB* trong bệnh hemoglobin (*HbE*)
c.79G>A , p.E27K

Gen *PFR1* / hội chứng thực bào máu:
c.10C>T, p.R4C

- Các biến thể làm thay đổi các amino acid quan trọng có thể gây bệnh
- Nhiều trường hợp là SNP

ĐỘT BIẾN VÔ NGHĨA

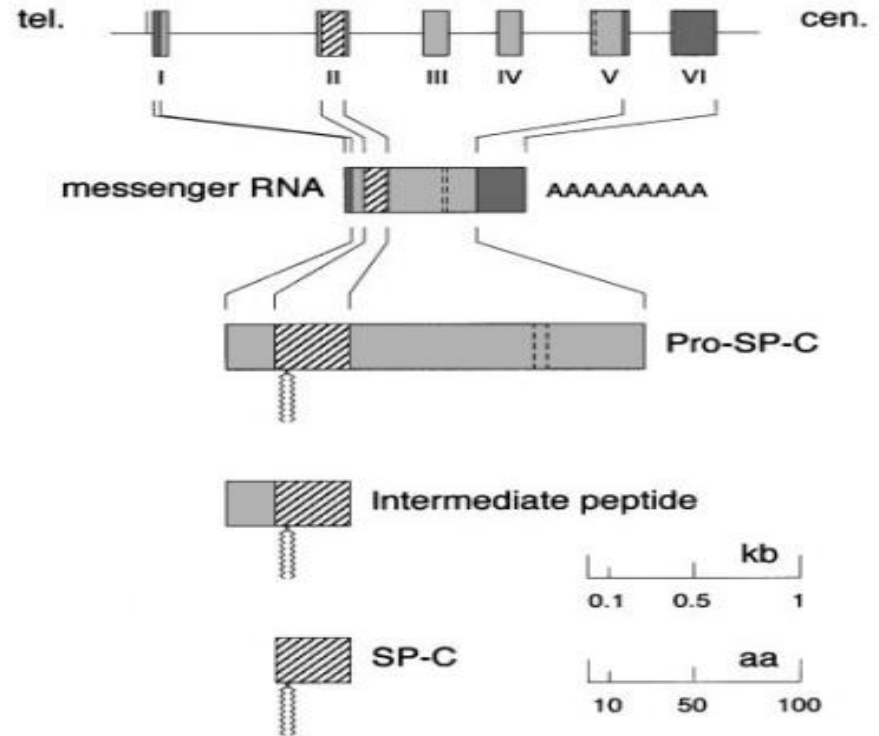
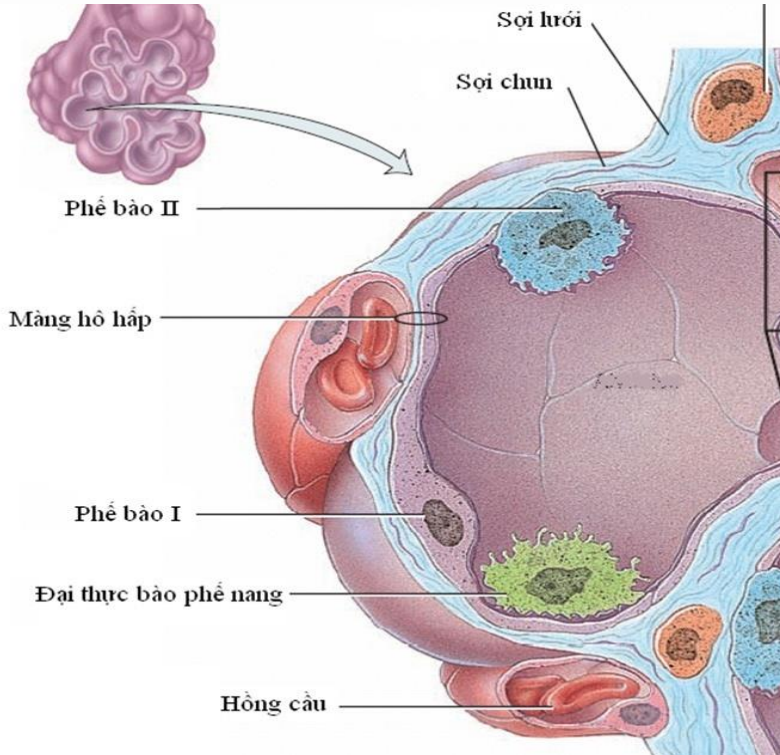


Bình thường	<u>CTT</u>	<u>ATC</u>	<u>CGA</u>	<u>GTG</u>	<u>GAA</u>
	194	195	196	197	198
	Leu	Ile	Arg	Val	Glu
Đột biến	<u>CTT</u>	<u>ATC</u>	<u>TGA</u>	<u>GTG</u>	<u>GAA</u>
	194	195	196		
	Leu	Ile	Stop		

Gen *P53* trong ung thư khoang miệng: c.586C>T
(p.R196X)

Thường làm mất chức năng protein và **gây bệnh**

ĐỘT BIẾN MẮT CHỨC NĂNG



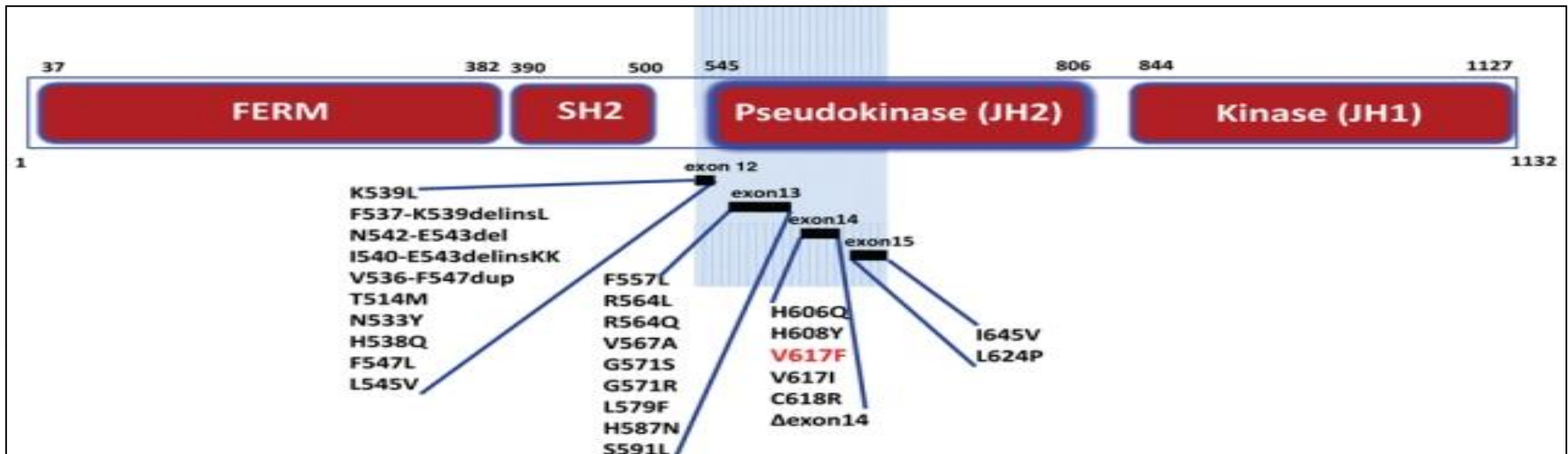
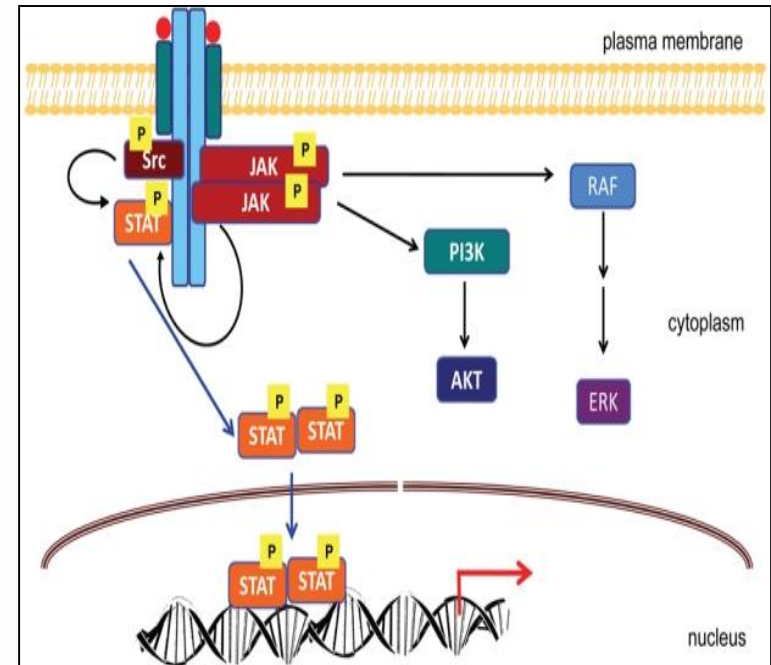
Đột biến surfactant protein C (SP-C) trong bệnh phổi mô kẽ ở trẻ em: c.218T>C (p.Ile73Thr)



Bình thường	<u>GAG</u>	<u>ATG</u>	<u>AGC</u>	<u>ATT</u>	<u>GGG</u>	<u>GCG</u>	<u>CCG</u>	<u>GAA</u>
	70	71	72	73	74	75	76	77
	Glu	Met	Ser	Ile	Gly	Ala	Pro	Glu
Đột biến				<u>ACT</u>				
				73				
				Thr				

ĐỘT BIẾN THÊM CHỨC NĂNG

- Đột biến *JAK2* trong rối loạn tăng sinh tủy (đa hồng cầu, tăng tiểu cầu nguyên phát, xơ tủy)
- Các đột biến tiền gen sinh ung (proto-oncogene) trong ung thư
- “hotspot”: Vùng thường tập trung đột biến của gen





1. CÁC KHÁI NIỆM VỀ GEN

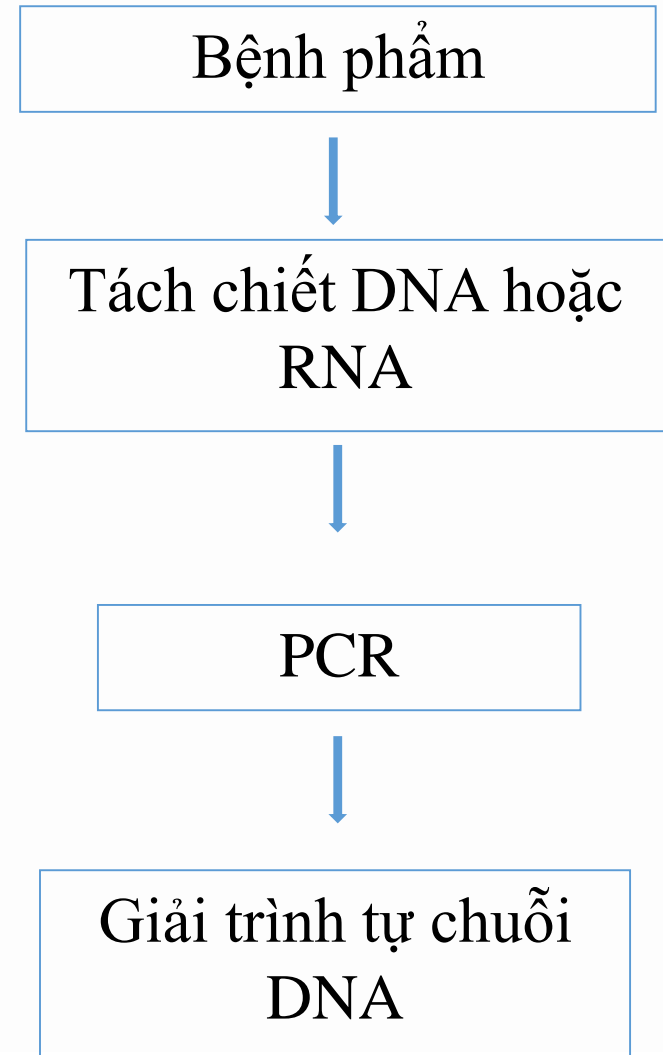
2. CÁC KIỂU ĐỘT BIẾN GEN

3. CÁC KỸ THUẬT PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN

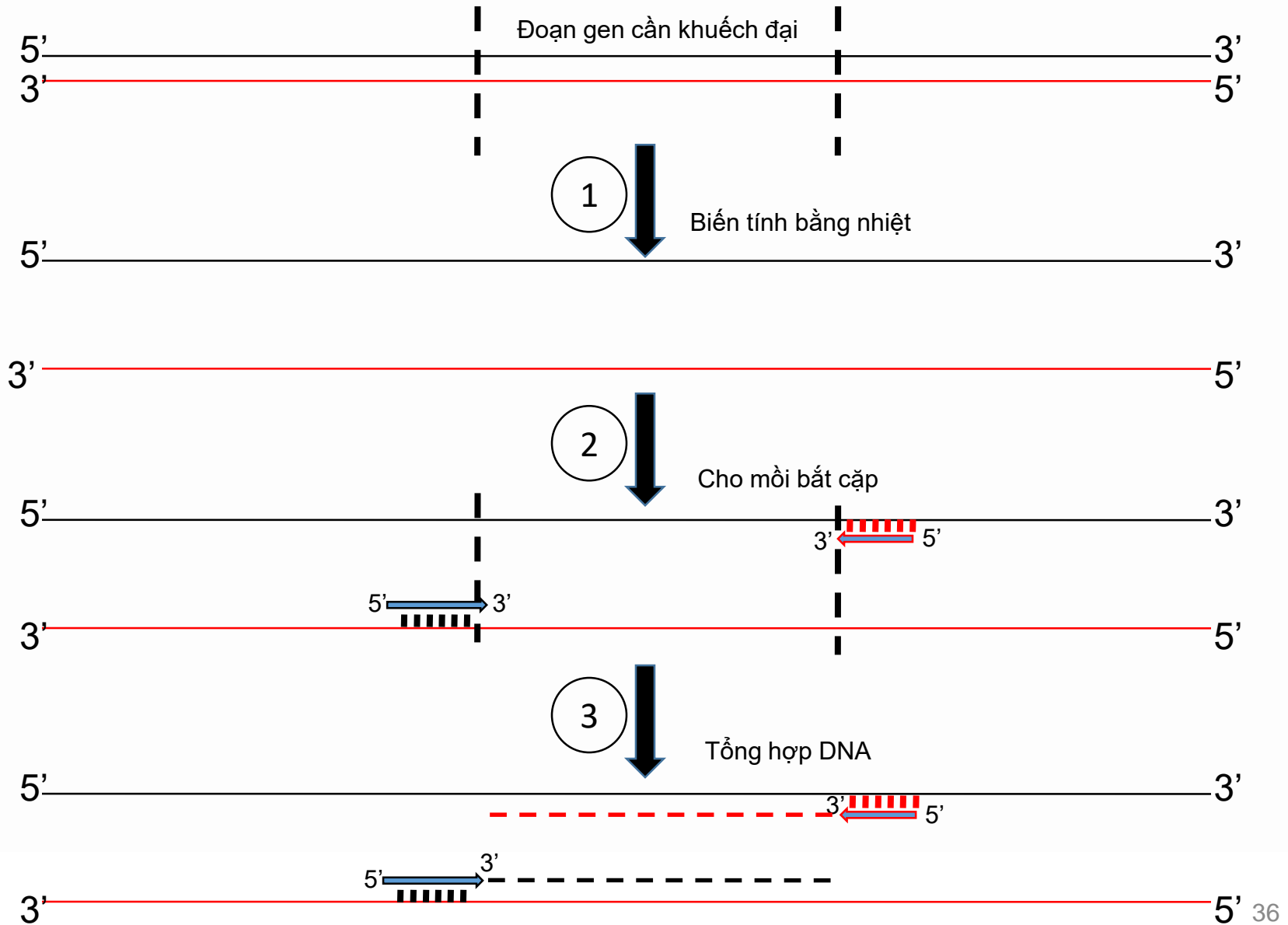
4. MỘT SỐ VÍ DỤ VỀ BỆNH LÝ CÓ ĐỘT BIẾN GEN

5. CÁC LƯU Ý KHI NÓI VỀ ĐỘT BIẾN GEN

- Đột biến gen đã biết trước: Các kỹ thuật dựa trên PCR đơn thuần (Polymerase Chain Reaction)
- Đột biến gen mới và cũ: PCR kèm giải trình tự chuỗi DNA (**Sanger DNA sequencing**), giải trình tự thế hệ mới (**NGS: next-generation sequencing**)

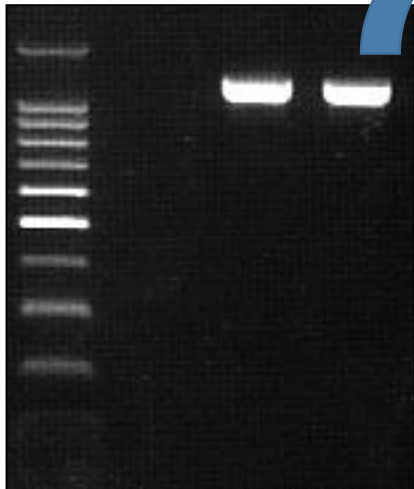


NGUYÊN TẮC PCR



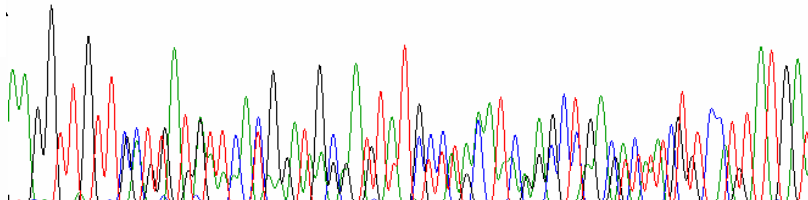
PHÂN TÍCH SẢN PHẨM PCR

Điện di



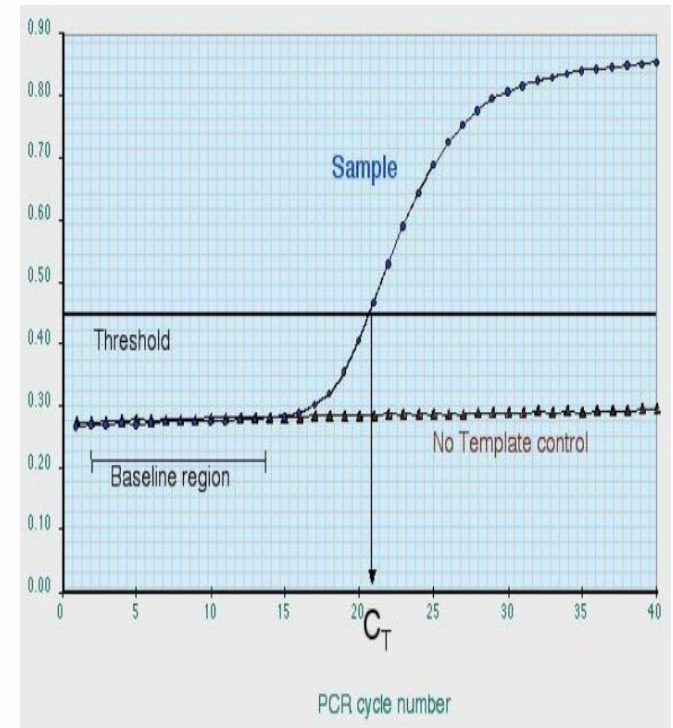
Tinh sạch sản phẩm

DNA sequencing



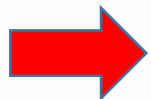
Wild-type sequence	AAG GTT GTT	GAG GAG ATA AAT GGA AAC AAT TAT GTT TAC ATA GAC CCA ACA CAA CTT	CCT TAT GAT
558 559 560	Lys Val Val	Glu Glu Ile Asn Gly Asn Asn Tyr Val Tyr Ile Asp Pro Thr Gln Leu	
561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576			
Mutated sequence	AAG GTT GTT	CCT TAT GAT CAC AAA TGG GAG TTT CCC AGA AAC AGG CTG AGT TTT G	
Lys Val Val	Pro Tyr Asp His Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asn Arg Leu Ser Phe		

Real-time PCR
(Quantitative PCR, Q-PCR)

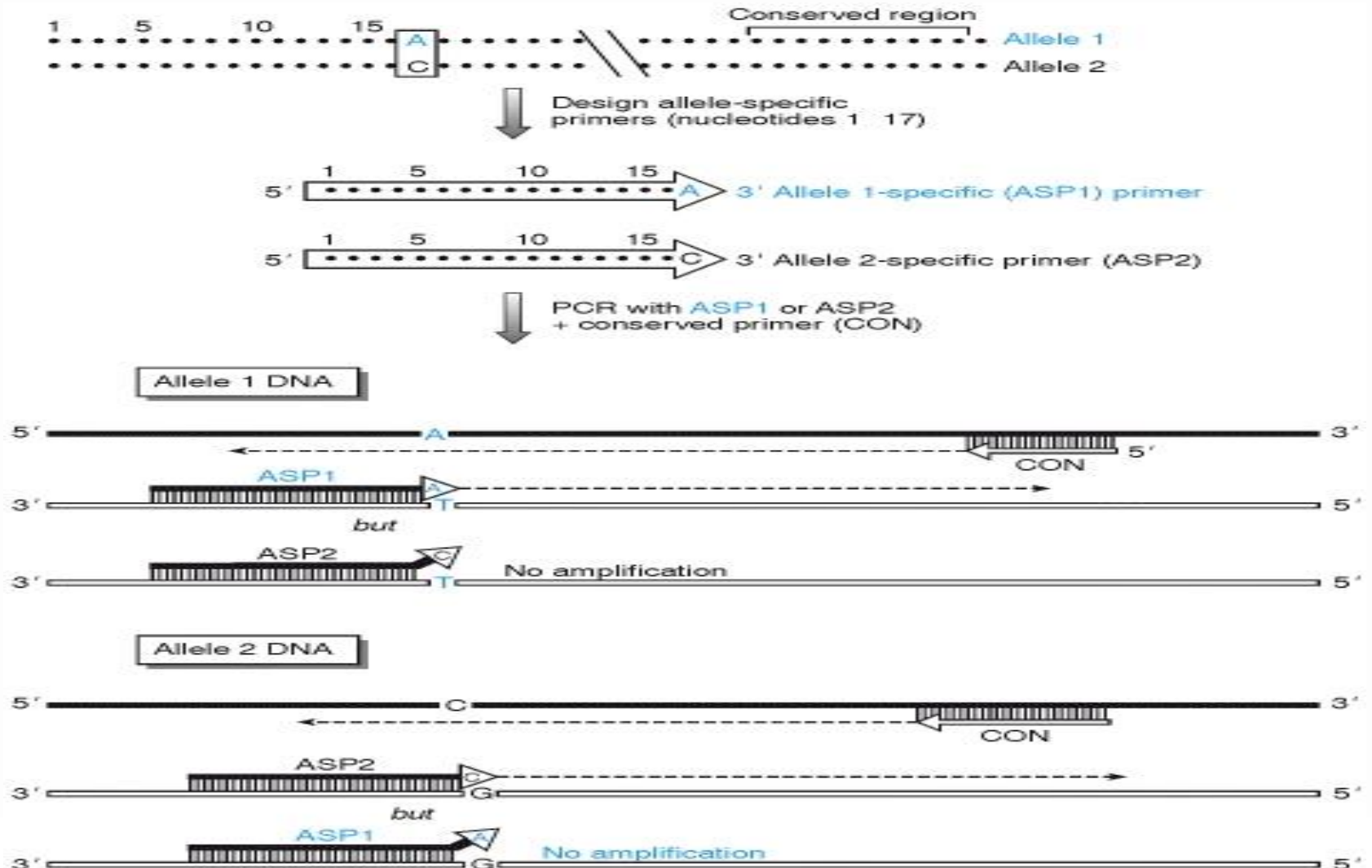


NHƯỢC ĐIỂM CỦA PCR

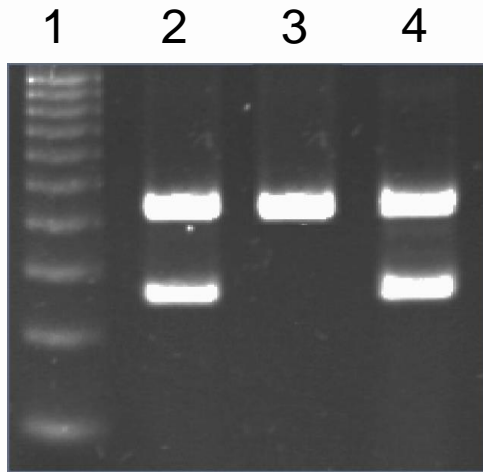
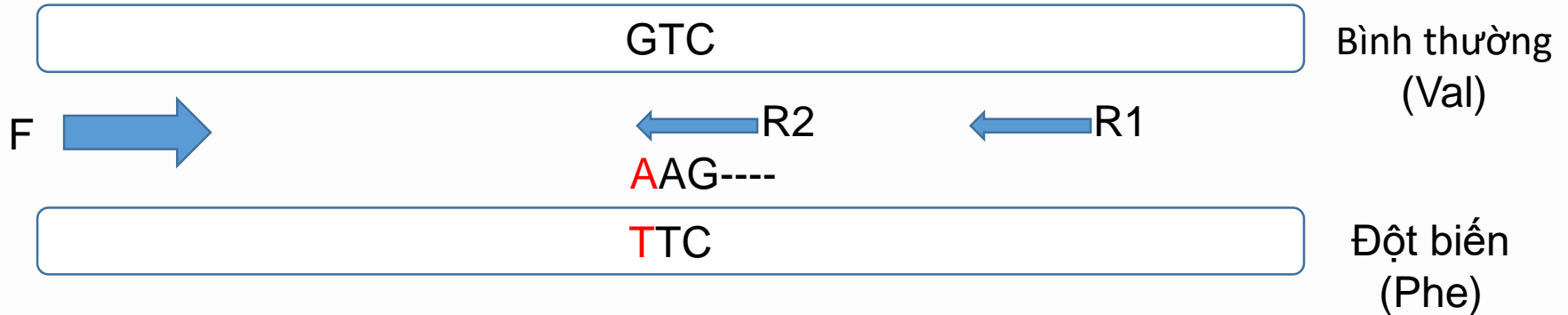
1. Tạo sản phẩm ngắn
2. Thiếu “trung thực” (infidelity): Taq DNA polymerase không có hoạt tính proofreading

 Phải sử dụng polymerase có hoạt tính sửa sai khi cần giải trình tự chuỗi DNA

ASO-PCR (Allele Specific Oligonucleotide): CHẨN ĐOÁN ĐỘT BIẾN ĐIỂM

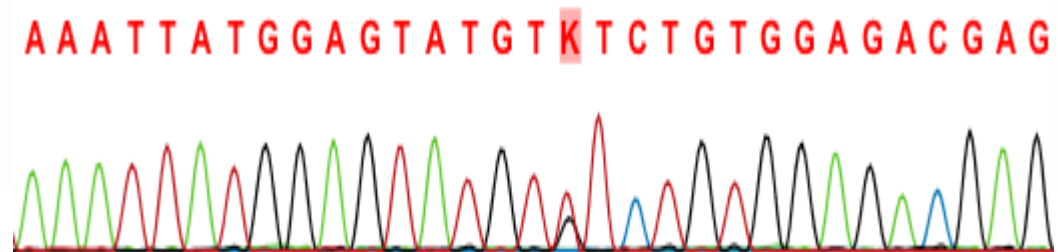


ĐỘT BIẾN ĐIỂM *JAK2* V617F TRONG RỐI LOẠN TĂNG SINH TỬY

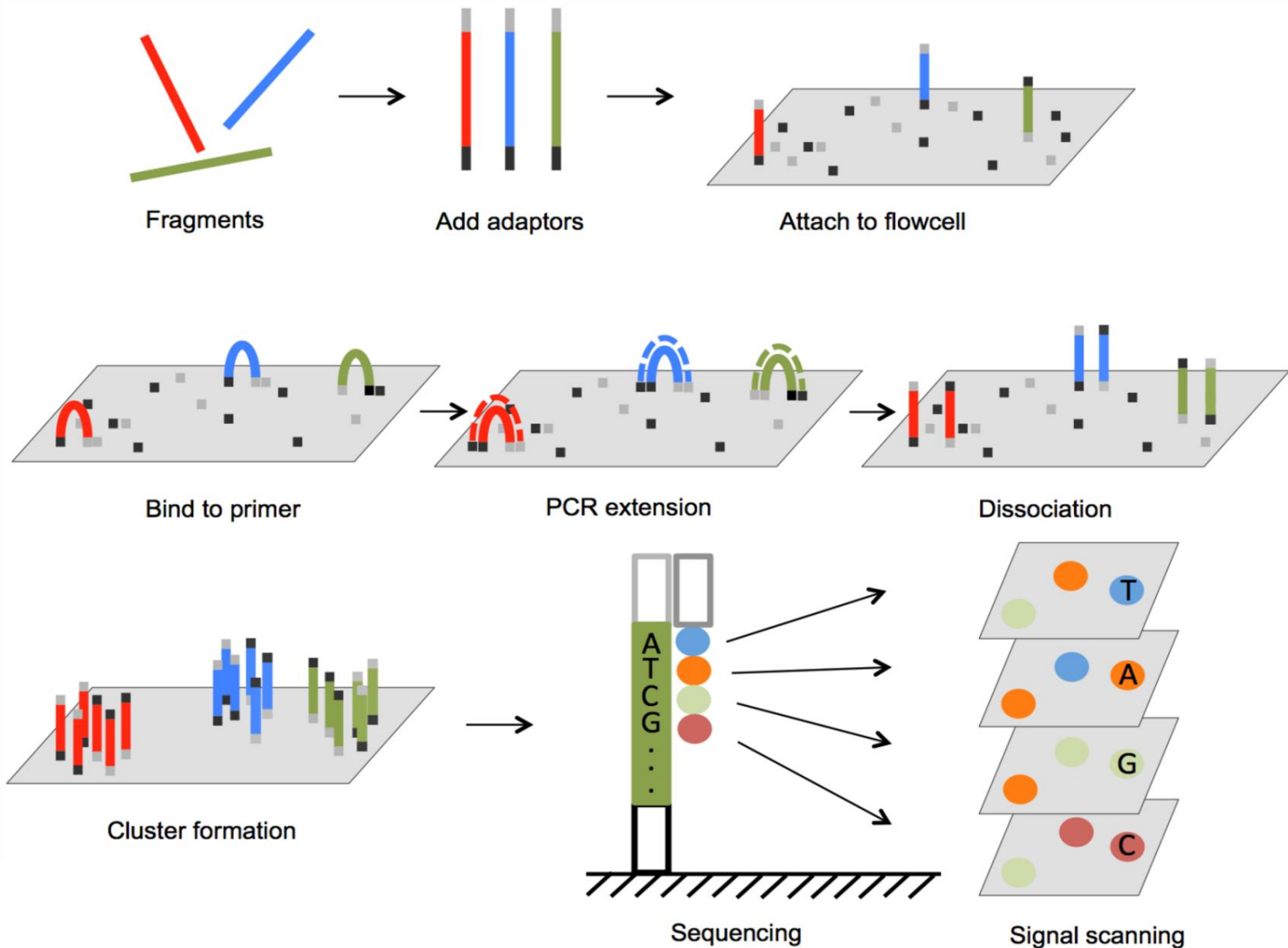


← Băng chứng nội (F-R1)
 ← Băng đột biến (F-R2)

1. 100-bp ladder
2. Mẫu bệnh nhân
3. Chứng âm
4. Chứng dương



GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI

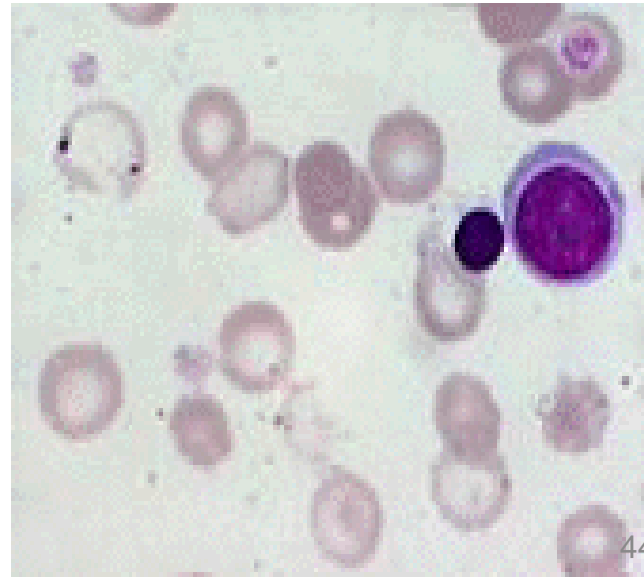
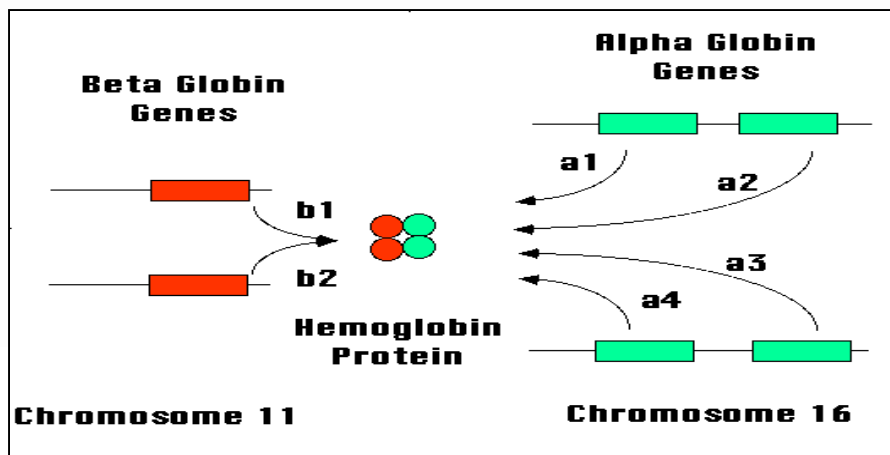
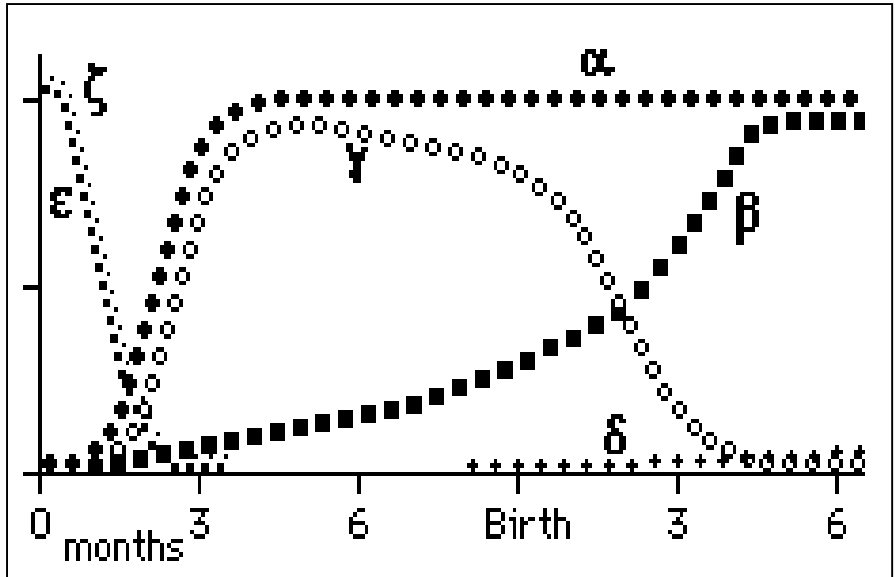
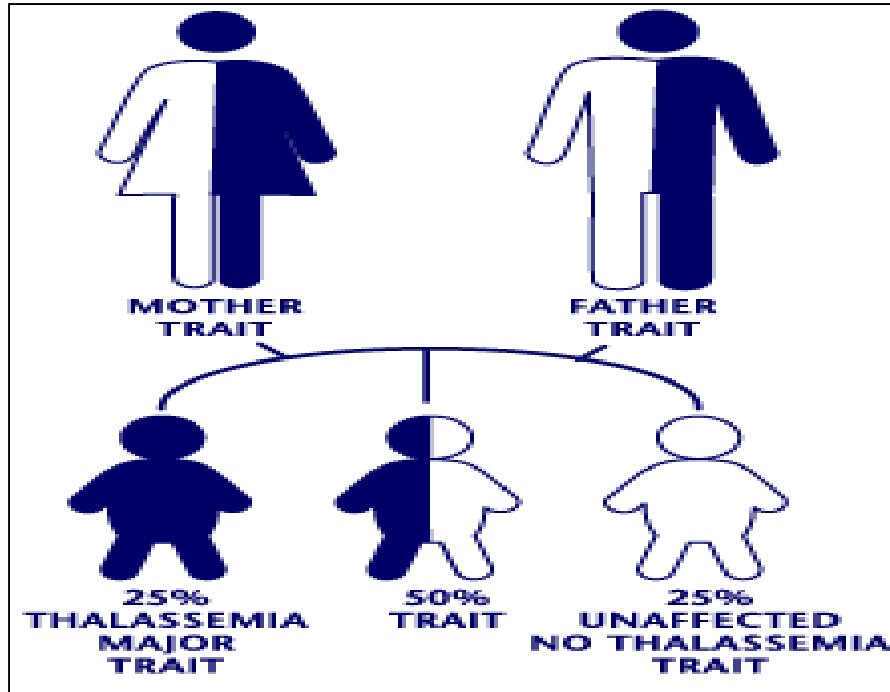




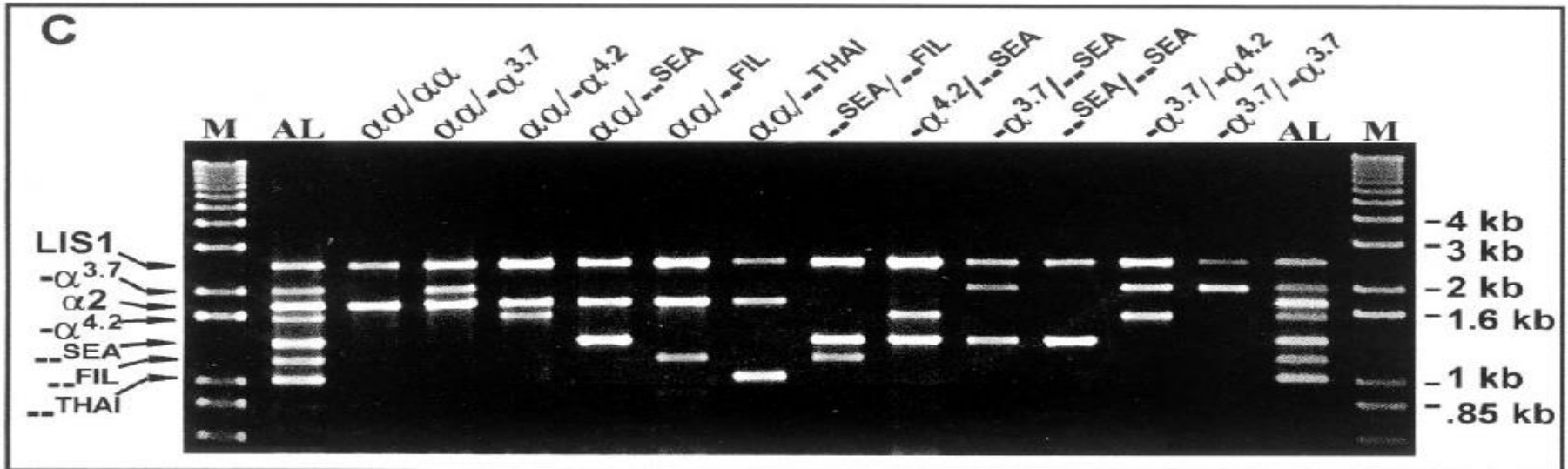
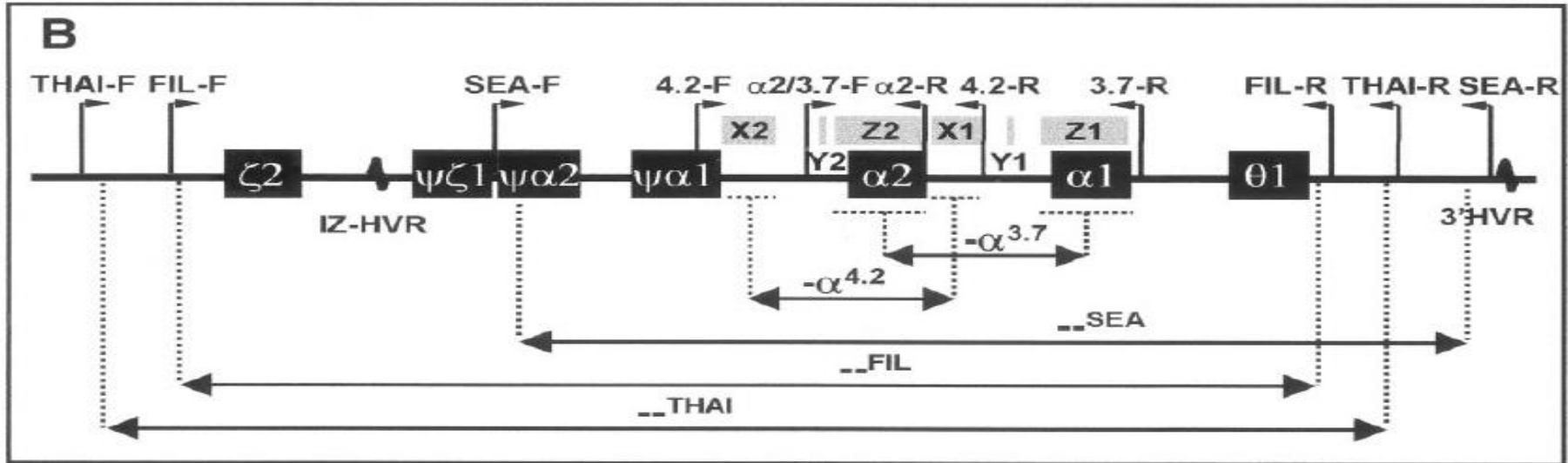
1. CÁC KHÁI NIỆM VỀ GEN
2. CÁC KIỂU ĐỘT BIẾN GEN
3. CÁC KỸ THUẬT PHÁT HIỆN ĐỘT BIẾN GEN
- 4. MỘT SỐ VÍ DỤ VỀ BỆNH LÝ CÓ ĐỘT BIẾN GEN**
5. CÁC LƯU Ý KHI NÓI VỀ ĐỘT BIẾN GEN

- **Nguy cơ bệnh:** *BRCA1/2* (ung thư vú), *APC* (đa polyp tuyến gia đình), *VHL* (ung thư thận), đột biến vùng precore của HBV (ung thư gan), *LDLR* (tăng cholesterol gia đình), yếu tố V Leiden (huyết khối tĩnh mạch sâu)...
- **Chẩn đoán bệnh:** *JAK2* (tăng sinh tủy), *globine* (thalassemia), *BTK* (X-linked agammaglobulinemia), *ATP7B* (bệnh Wilson),... Có khoảng 10.000 bệnh đơn gen ở người.
- **Tiên lượng bệnh:** *P53* (các loại ung thư); *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA* (bạch cầu cấp), *IDH1* và *IDH2* (glioma)...
- **Điều trị nhắm trúng đích phân tử:** *EGFR* (ung thư phổi), *KRAS* và *NRAS* (ung thư đại trực tràng), *KIT* và *PDGFRA* (GIST), *BRAF* (melanoma), *BRCA1/2* (ung thư buồng trứng), *PIK3CA* (ung thư vú)...
- **Pharmacogenetics**

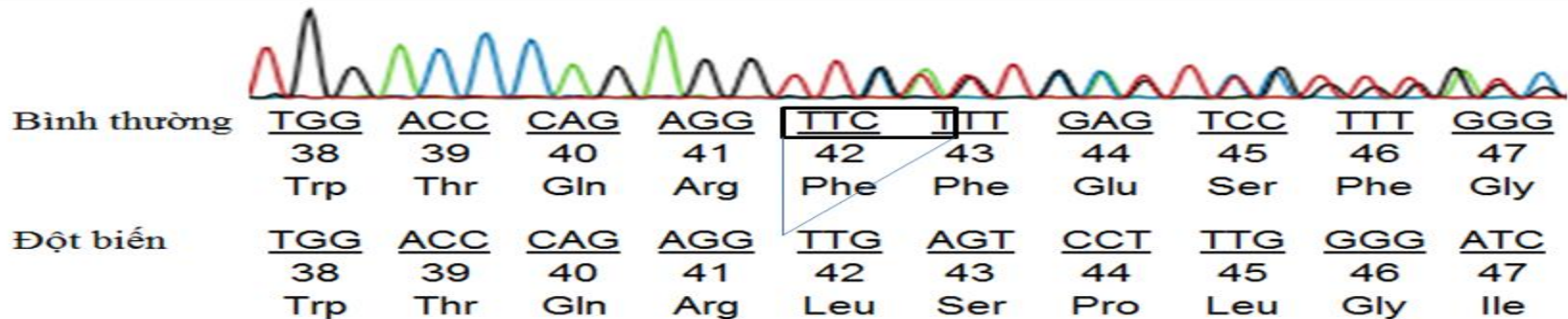
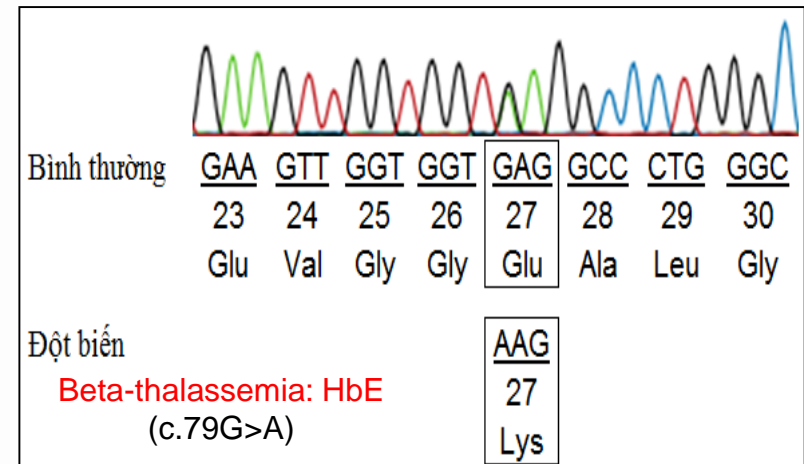
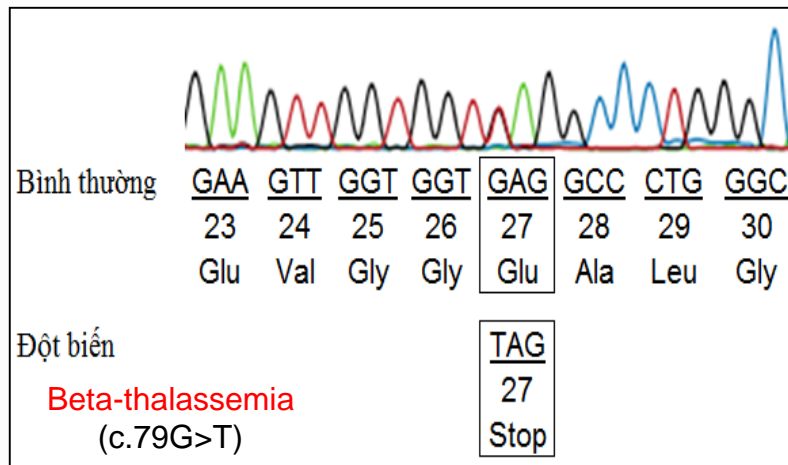
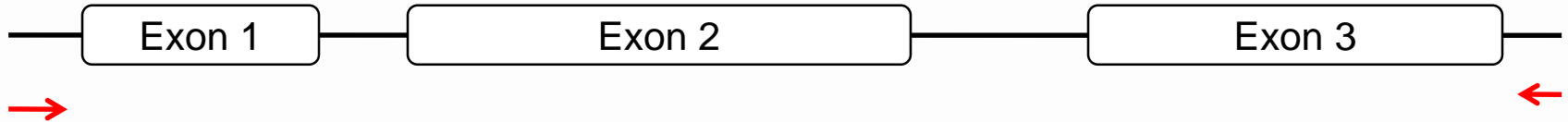
BỆNH THALASSEMIA



ĐỘT BIẾN MẤT ĐOẠN GEN GLOBIN GÂY α -THALASSEMIA: GAP-PCR



ĐỘT BIẾN GEN BETA-GLOBIN (*HBB*) TRONG β -THALASSEMIA



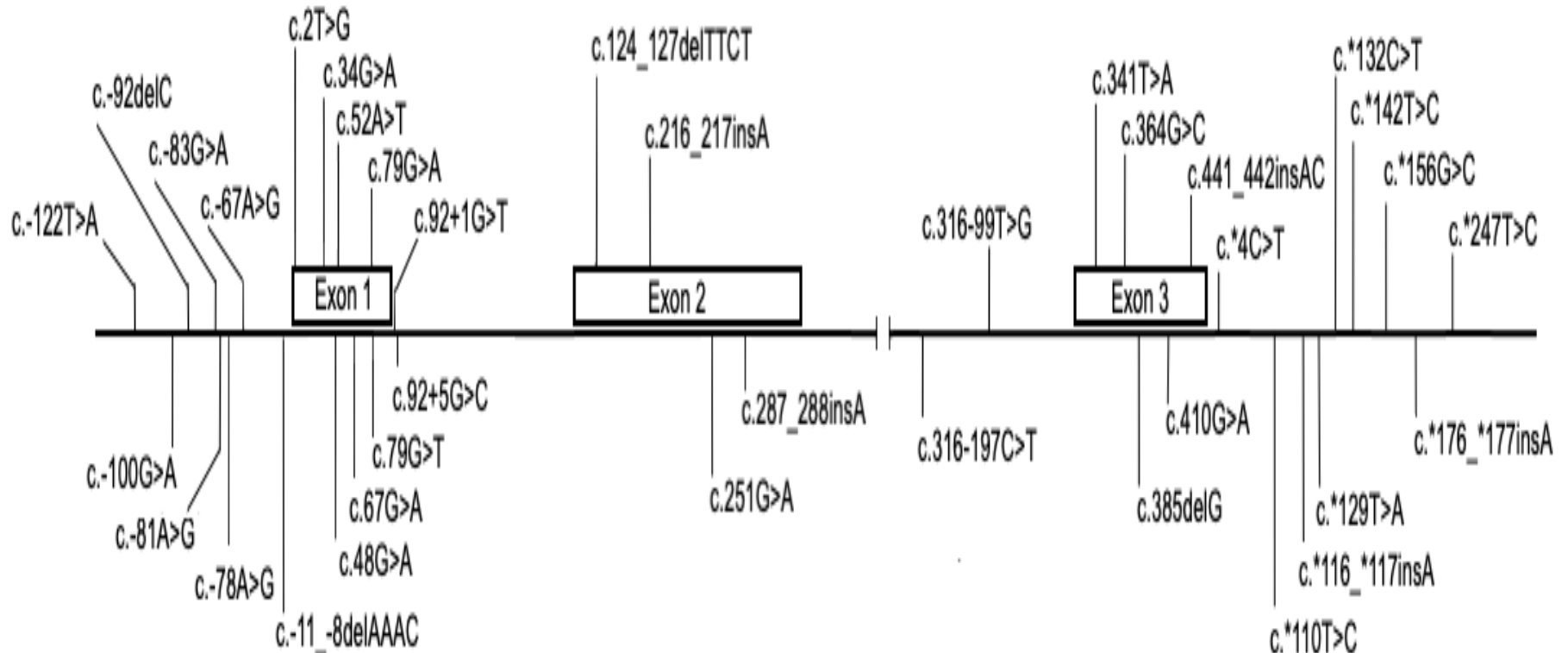
Beta-thalassemia (c.124_127delTTCT)

Spectrum of *HBB* gene mutations among 696 β -thalassemia patients and carriers in Southern Vietnam

Phan Thị Xinh^{1,2} · Ho Quốc Chương³ · Nguyễn Thị Thanh Hà⁴ · Huỳnh Dương Bích Trâm⁵ · Cao Văn Đông² · Lê Vũ Hà Thanh² · Nguyễn Thị Hồng Hoa² · Huỳnh Nghĩa^{1,2} · Nguyễn Tân Bình^{2,6} · Phú Chi Dung² · Hoàng Anh Vũ³

Received: 4 October 2021 / Accepted: 8 December 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2021

Molecular Biology Reports
<https://doi.org/10.1007/s11033-021-07062-w>



Diagnosis of Wilson disease

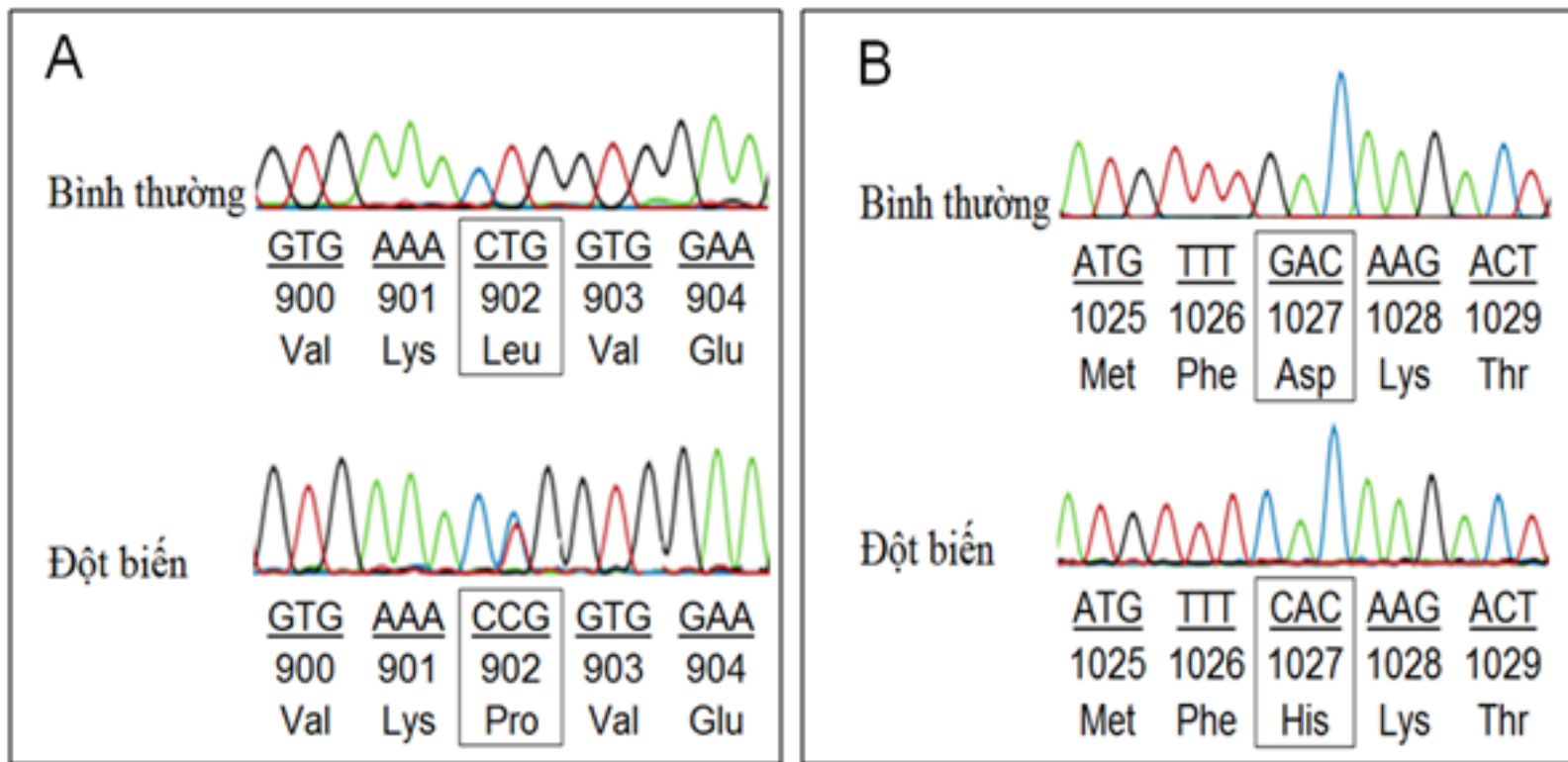
PETER FERENCI

Handbook of Clinical Neurology, Vol. 142 (3rd series)

Scoring system developed at the 8th International Meeting on Wilson's disease, Leipzig 2001

Typical clinical symptoms and signs		Other tests	
Kayser–Fleischer rings		Liver copper (in the absence of cholestasis)	
Present	2	>250 µg (>4 µmol)/g dry weight	2
Absent	0	50–249 (0.8–4 µmol)/g	1
Neurologic symptoms*		Normal: <50 µg (<0.8 µmol)/g	
Severe	2	Rhodanine-positive granules [†]	1
Mild	1	Urinary copper (in the absence of acute hepatitis)	
Absent	0	Normal	0
Serum ceruloplasmin		1–2 × ULN	1
Normal(>0.2 g/L)	0	>2 × ULN	2
0.1–0.2 g/L	1	Normal, but >5 × ULN after D-penicillamine	
<0.1 g/L	2	Mutation analysis	
Coombs-negative hemolytic anemia		On both chromosomes detected	4
Present	1	On one chromosome detected	1
Absent	0	No mutations detected	0
Total score		Evaluation	
4 or more		Diagnosis established	
3		Diagnosis possible, more tests needed	
2 or less		Diagnosis very unlikely	

- Rối loạn di truyền lặn/ NST thường.
- Lắng đọng đồng trong các mô.
- Triệu chứng tâm thần, thần kinh và bệnh gan.
- Đột biến trên 21 exon của gen *ATP7B*.



ĐỘT BIẾN GEN *PERFORIN (PRF1)* TRONG HEMOPHAGOCYtic LYMPHOHISTIOCYTOSIS (HLH: HỘI CHỨNG THỰC BÀO MÁU)

Table 1. Genetic defects leading to HLH*

Disease	Gene	Defect
FHLH1	Unknown	
FHLH2	<i>PRF1</i>	Vesicle content
FHLH3	<i>Munc13.4</i>	Vesicle priming
FHLH4	<i>STX11</i>	Vesicle docking and fusion
FHLH5	<i>STXBP2</i>	Vesicle docking and fusion

(Weitzman S, Blood 2011)

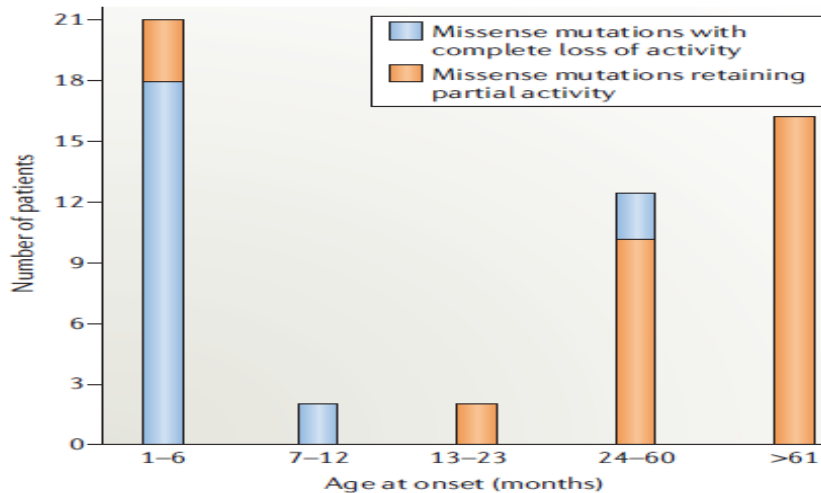
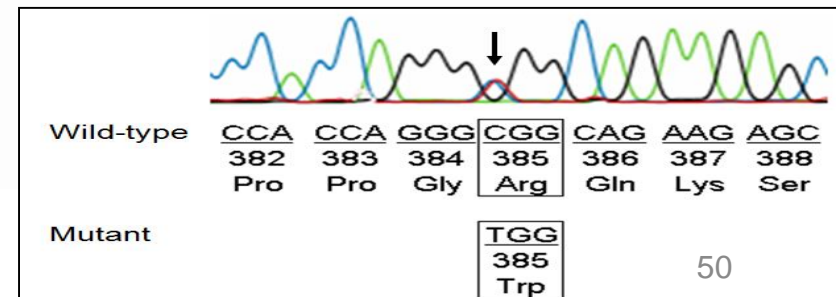
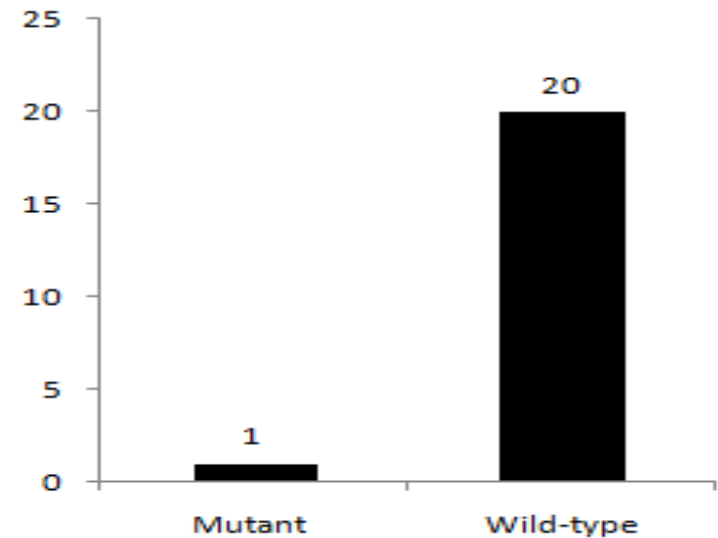
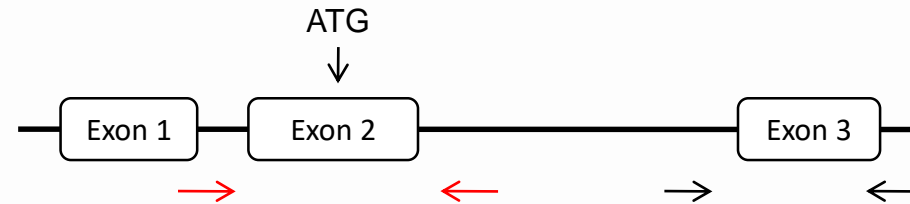
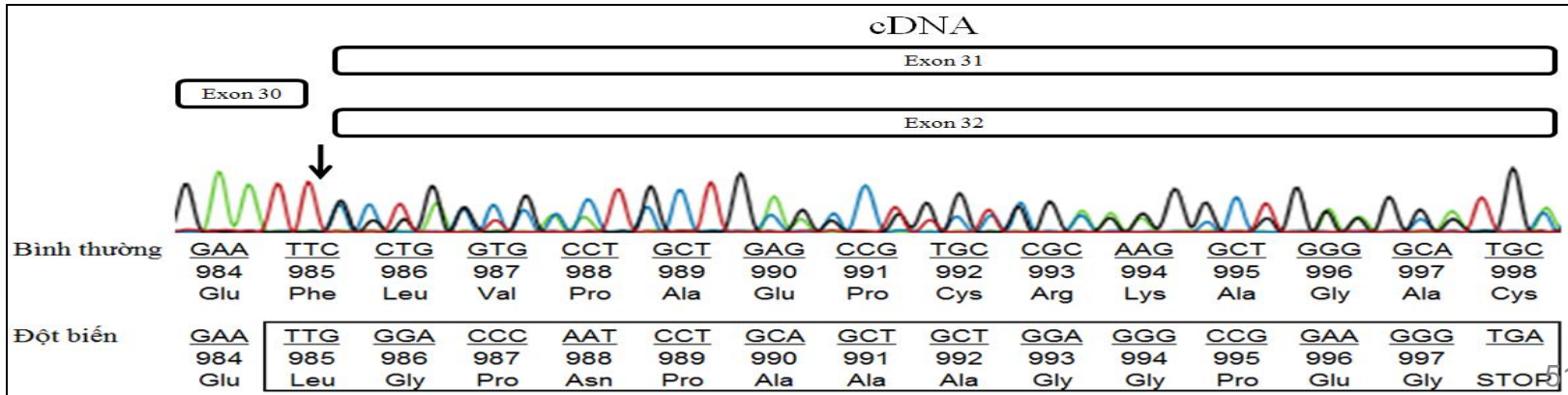
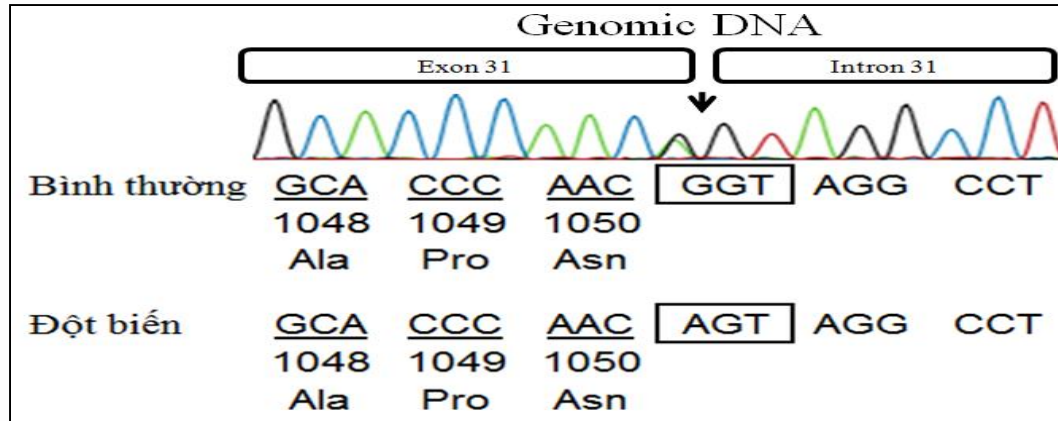


Figure 3 | Degree of perforin function correlates with onset of familial haemophagocytic lymphohistiocytosis.

(Voskoboinik I, Nat Rev Immunol 2006)



ĐỘT BIẾN GEN *UNC13D* (*MUNC13-4*) TRONG HLH Ở BỆNH NHÂN VIỆT NAM



Spectrum mutations of *PRF1*, *UNC13D*, *STX11*, and *STXBP2* genes in Vietnamese patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis

Phan Thi Xinh^{1,2} | Ho Quoc Chuong^{3,4} | Truong Pham Hong Diem⁵ | Tuan Minh Nguyen⁶ | Nguyen Dinh Van⁷ | Nguyen Hoang Mai Anh⁸ | Huynh Nghia^{1,2} | Hoang Anh Vu³

Int J Lab Hematol. 2021;00:1–7.

Results: Pathogenic variants were observed in 36 (38.29%) patients, including 27 in *UNC13D*, 5 in *STXBP2*, 3 in *PRF1*, and 2 in *STX11* (one patient with digenic variants in both *UNC13D* and *STX11*). Monoallelic variants accounted for 77.8% of all cases with mutation. A total of 23 different types of pathogenic variants were documented in the 4 genes tested, including 15 in *UNC13D*, 3 in *PRF1*, 3 in *STXBP2*, and 2 in *STX11*. Interestingly, the novel splicing variant c.3151G>A in *UNC13D* was recurrently identified in 8 unrelated patients.

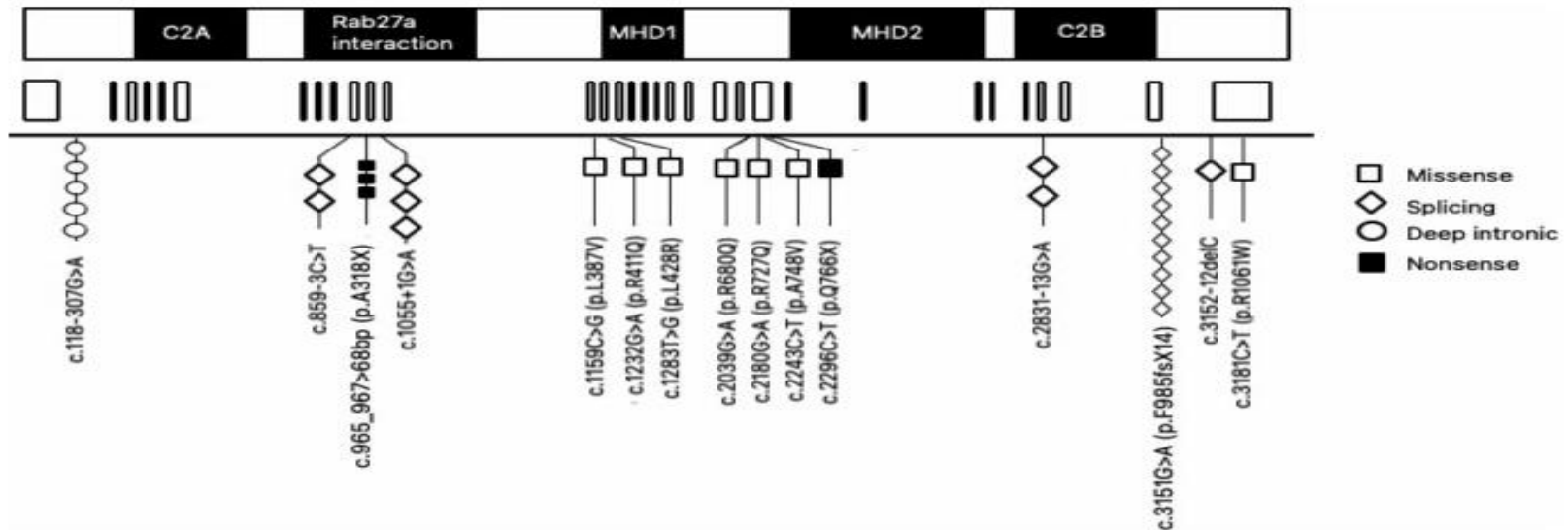
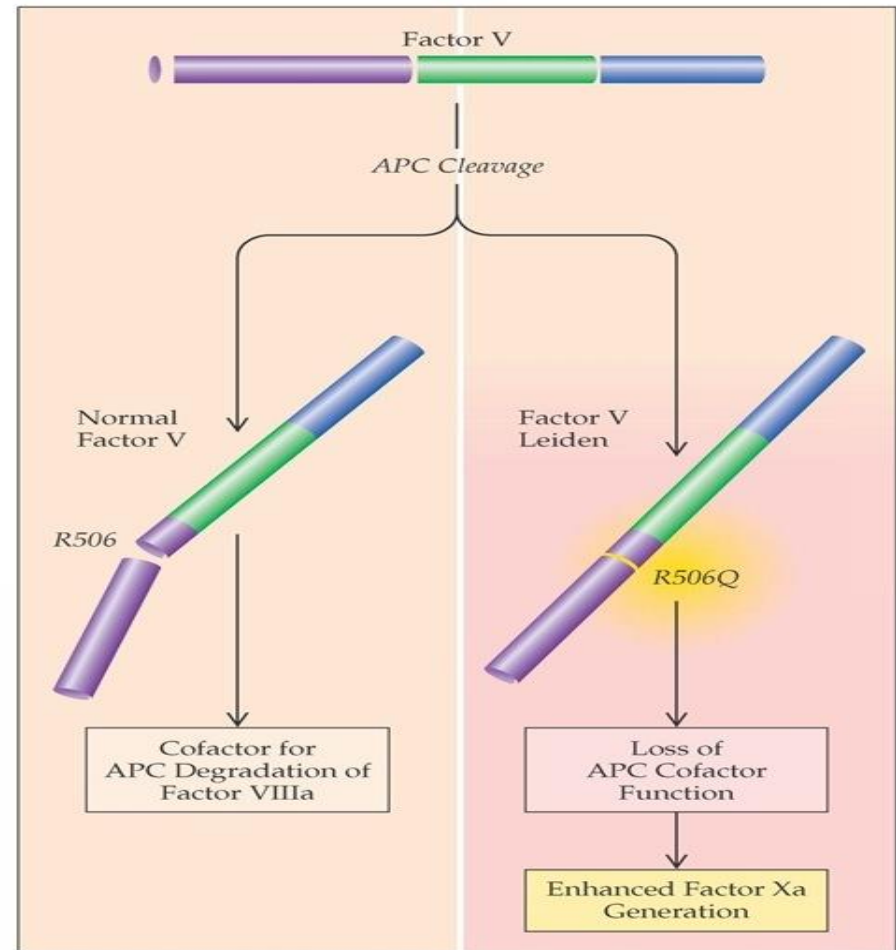
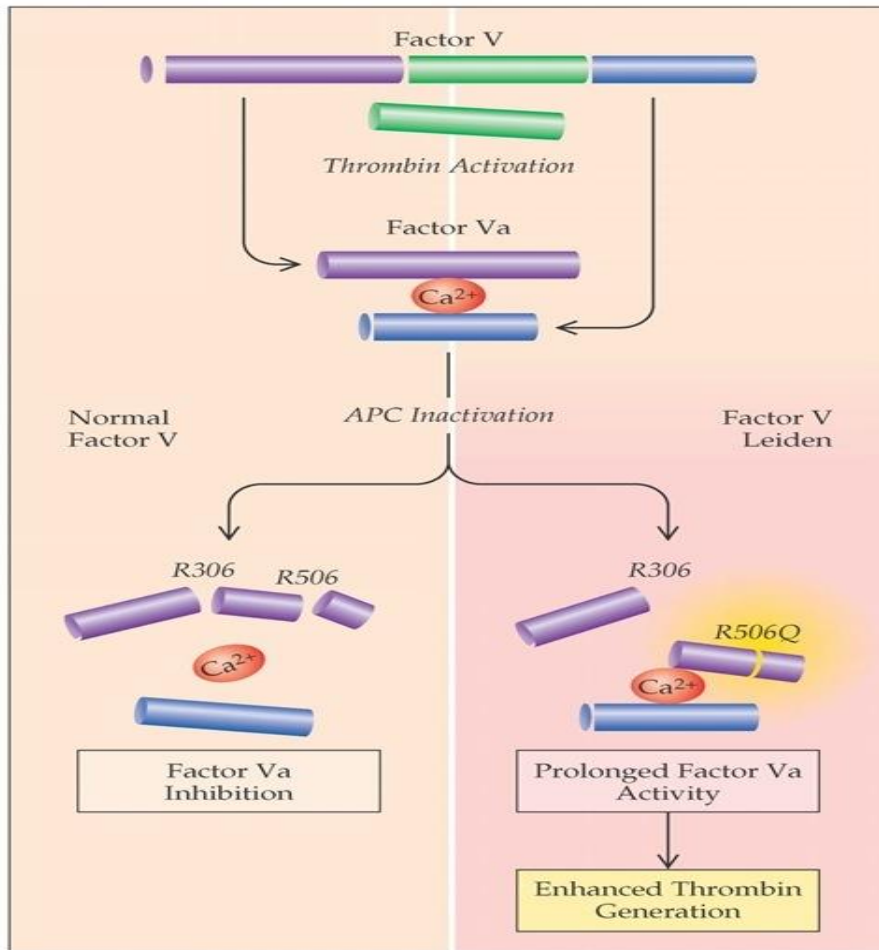


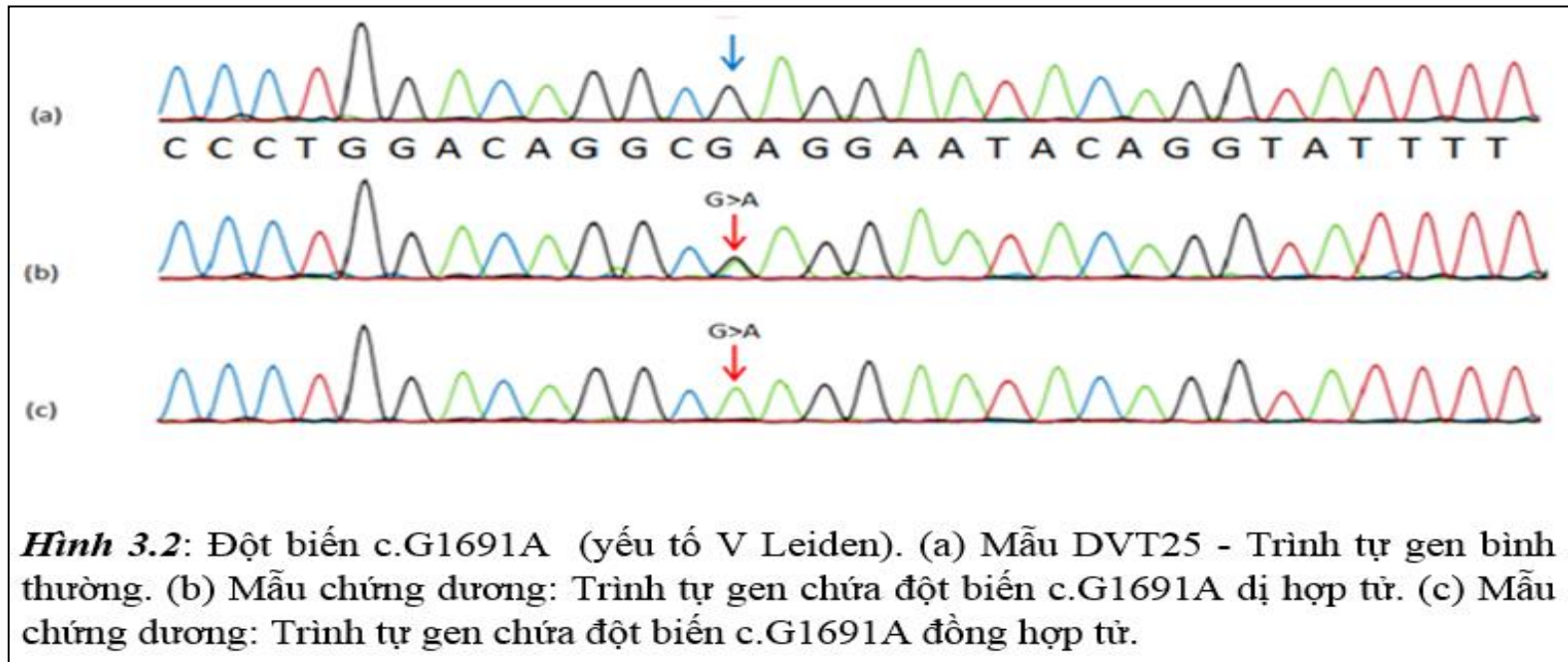
FIGURE 1 Mutation spectrum of *UNC13D* gene in this study

ĐỘT BIẾN YẾU TỐ V LEIDEN

- Đột biến codon 506: Arginine (R) > Glutamine (Q)
- Được tìm thấy trên 16 – 27% bệnh nhân da trắng bị huyết khối tĩnh mạch
- Xác định bằng nhiều kỹ thuật (PCR, giải trình tự chuỗi DNA)



YẾU TỐ V LEIDEN (c.1691G>A) TRONG HUYẾT KHỐI TĨNH MẠCH Ở BỆNH NHÂN VIỆT NAM



- 80 bệnh nhân bị huyết khối tĩnh mạch sâu: 25 nam và 55 nữ (53 ± 18 tuổi)
- 180 người không bị huyết khối tĩnh mạch
- Tần suất alen c.1691A ở người Việt Nam là 0/520



Recurrent *PROC* and novel *PROS1* mutations in Vietnamese patients diagnosed with idiopathic deep venous thrombosis

Minh Duc Do¹ | Dung Van Pham² | Long Phi Le³ | Linh Hoang Gia Le¹ |
Luan Bao Minh Tran^{3,4} | Minh Duc Dang Huynh⁵ | Quang Minh Do² | Hoang Anh Vu¹
Nam Hoai Nguyen⁴ | Thao Phuong Mai⁵

Int. J. Lab. Hematol. 2020;00:1–7.

Materials and methods: A total of 50 Vietnamese patients diagnosed with idiopathic DVT were recruited in this study. The entire coding regions of the protein C and protein S genes were amplified and directly sequenced to determine genetic alterations.

Results: Four and six genetic mutations were detected in protein C and protein S genes, respectively, in 24 Vietnamese DVT patients. *PROC* c.565C > T (p.R189W) was the most common mutation found in 13 out of 50 patients, while the mutations of *PROS1* comprised three missense and three nonsense variants which diffuse along the gene.

Conclusions: This study shows that mutations of protein C and protein S genes are prevalent in Vietnamese patients diagnosed with idiopathic DVT, and *PROC* c.565C > T (p.R189W) was the most common genetic alteration.

CÁC LƯU Ý VỀ ĐỘT BIẾN GEN

- 1. Phổ đột biến gen giữa các chủng tộc thường khác nhau**
 - Cần nghiên cứu trên người Việt Nam
 - Kỹ thuật giải trình tự chuỗi DNA nên được sử dụng
 - Phát triển các bộ kit chẩn đoán phù hợp
- 2. Biến thể gen gây bệnh hay vô hại?**
 - Dựa vào các nghiên cứu đã công bố (đột biến hay SNP)
 - Các biến thể mới: dựa trên các phần mềm dự đoán và nghiên cứu chức năng.
 - Cơ sở dữ liệu ban đầu của người Việt: **“A Vietnamese human genetic variation database”**
<https://doi.org/10.1002/humu.23835>
- 3. Chi phí cao: Vai trò quan trọng của bác sĩ lâm sàng trong chỉ định và tư vấn trước/sau xét nghiệm**



Genetic Misdiagnoses and the Potential for Health Disparities



N Engl J Med 2016;375:655-65.

RESULTS

Multiple patients, all of whom were of African or unspecified ancestry, received positive reports, with variants misclassified as pathogenic on the basis of the understanding at the time of testing. Subsequently, all reported variants were re-categorized as benign. The mutations that were most common in the general population were significantly more common among black Americans than among white Americans ($P < 0.001$). Simulations showed that the inclusion of even small numbers of black Americans in control cohorts probably would have prevented these misclassifications. We identified methodologic shortcomings that contributed to these errors in the medical literature.

CONCLUSIONS

The misclassification of benign variants as pathogenic that we found in our study shows the need for sequencing the genomes of diverse populations, both in asymptomatic controls and the tested patient population. These results expand on current guidelines, which recommend the use of ancestry-matched controls to interpret variants. As additional populations of different ancestry backgrounds are sequenced, we expect variant reclassifications to increase, particularly for ancestry groups that have historically been less well studied. (Funded by the National Institutes of Health.)

1. Đột biến gen gặp trong các bệnh di truyền và bệnh mắc phải.
2. Xác định đột biến gen có thể giúp cho chẩn đoán, tiên lượng, điều trị và đánh giá nguy cơ bệnh tật.
3. Đột biến gen có thể xảy ra ở exon và intron, cần đọc đúng tên các đột biến.
4. Không phải biến thể nào của gen cũng gây bệnh.
5. Phổ đột biến mất chức năng thường phân tán, đột biến thêm chức năng nằm trong vùng “hotspot” của gen.
6. Đột biến gen thường khác nhau giữa các chủng tộc.
7. Giải trình tự DNA là phương pháp thích hợp cho việc phát hiện đột biến trên dân số nghiên cứu mới.
8. Các kỹ thuật dựa trên PCR đơn thuần không định danh được các đột biến mới.