NIPT'nin geleceği

Ajlan Tükün

NIPT'den beklentiler

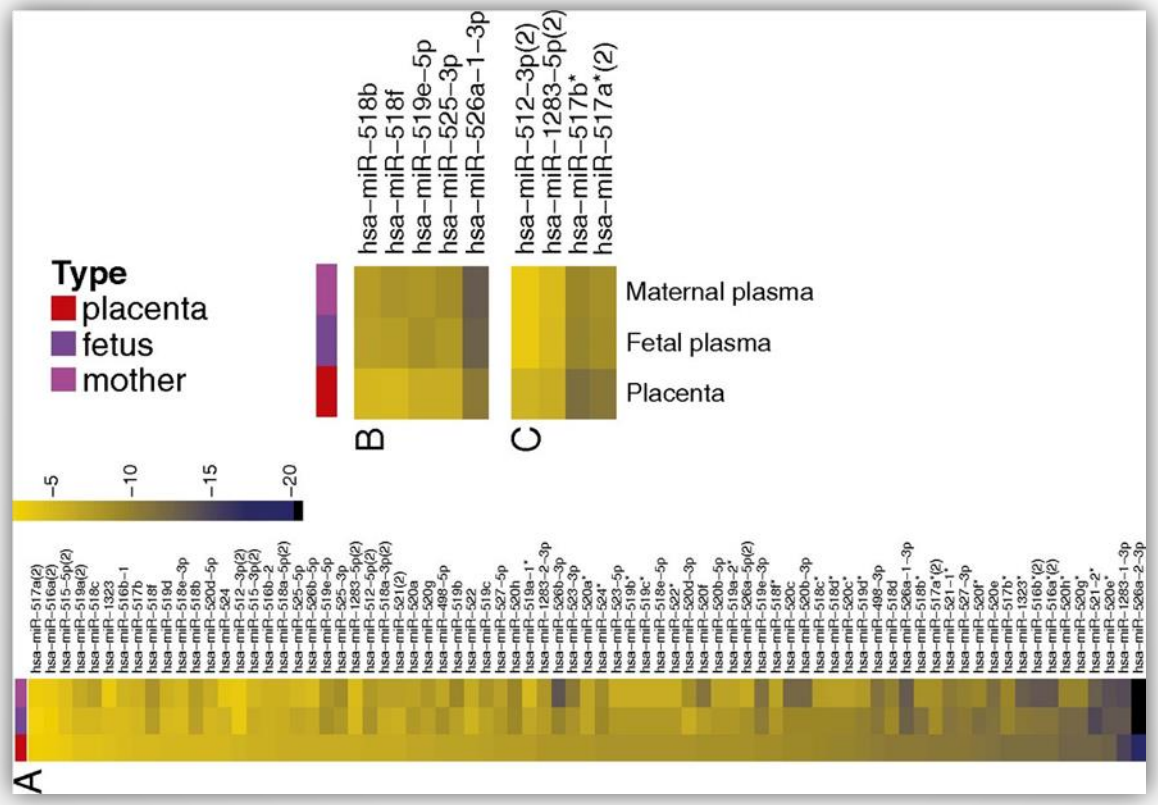
- Tarama testi tanımı ile gelişmeler
  - cFTS yerini alması
    - Ulaşılabilirlik
- Tanı testine evrilmek???
  - Diğer otozomal kromozomların anöploidisi
  - Mikrodelesyonlar
  - Tek gen hastalıkları

Teknolojide Gelişme

- MATERYAL
  - Total cfDNA
  - Fetal DNA'nın seçilmesi
  - Fetal DNA'nın işaretlenmesi
- İNCELEME YÖNTEMİ
  - Amplifikasyon +
    - DNA tabanlı
    - miRNA tabanlı
    - RNA tabanlı
    - DNA Metilasyonu tabanlı
  - Amplifikasyon -
- SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ
  - BİYOİNFORMATİK

microRNA Profil analizi

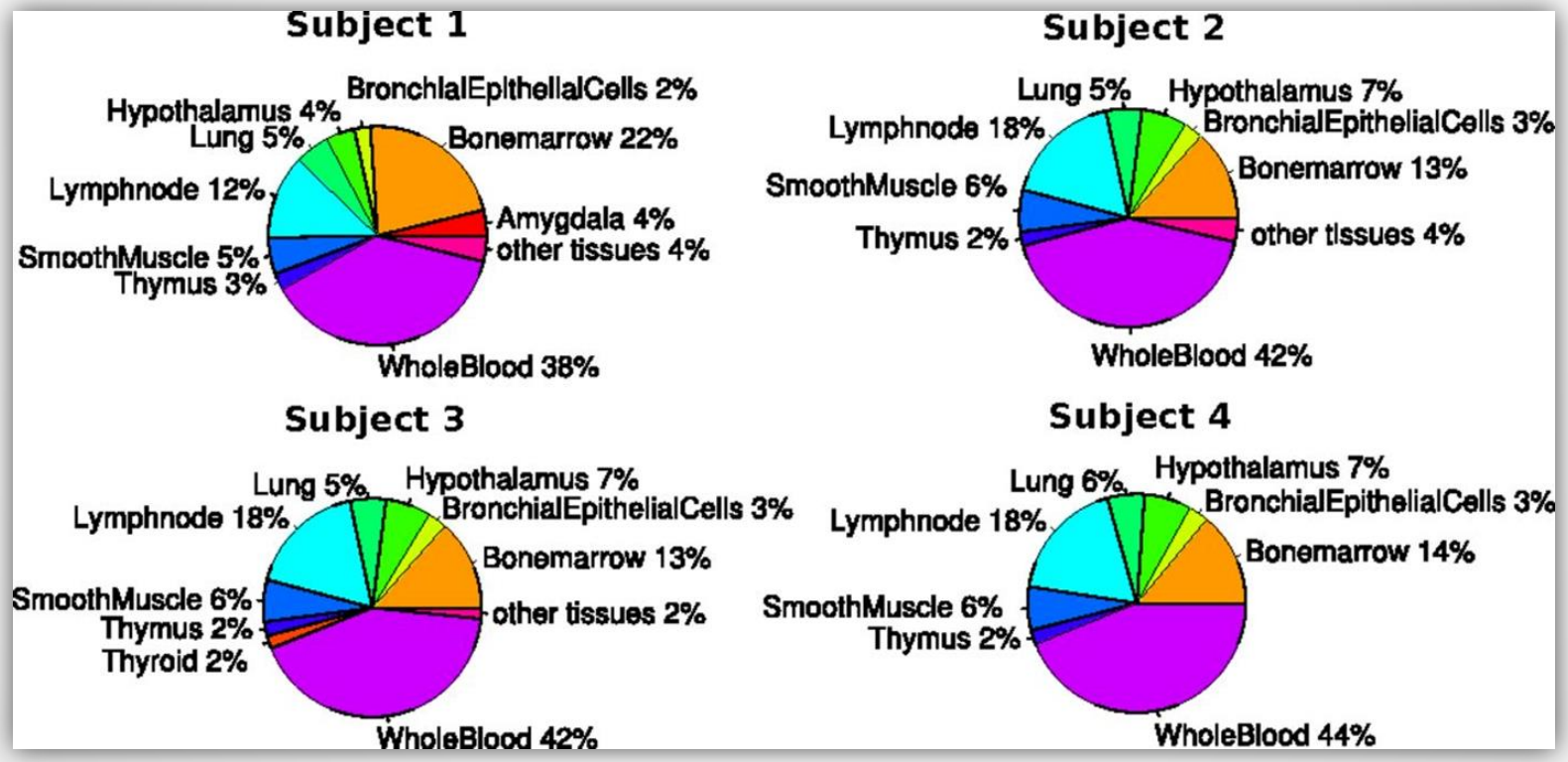
- MicroRNA Profiling



Williams ve ark, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 110 (2013) 4255–4260)

Genom boyu RNA Profil analizi

- MicroRNA Profiling



Koh ve ark, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 111 (2014) 7361–7366

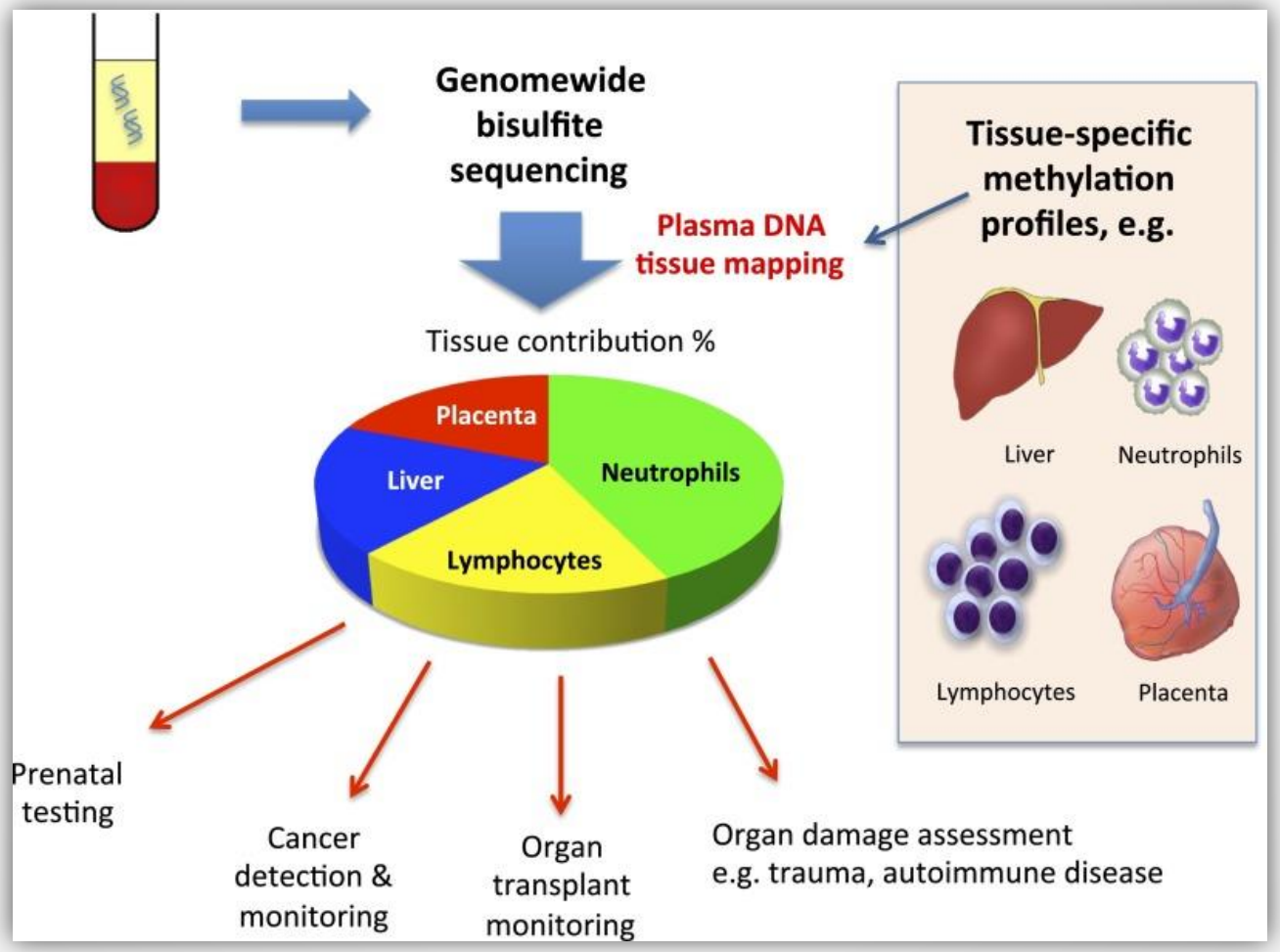
Genom boyu metilasyon dizilemesi

Teknolojik gelişmeler ile ulaşılacak yeni nesil NIPT'nin plazmadaki genetik değişikliklerin doku orijinini belirlemeye olanak sağlaması ideal beklentidir.

- **DNA Doku haritalaması**:
  - Bu hedefe yönelik olarak yeni geliştirilen teknoloji sonucunda dokuya özgü metilasyon profili kullanılıyor. Bu yöntemle, cfDNA'nın genom boyu bisülfit dizilemesi yapıldıktan sonra, dokuya özgü metilasyon bilgisini sağlayan 5800 DNA metilasyon belirteci ile cfDNA analizi sonunda elde edilen data üzerine uygulanan dekonvolusyon işlemi ile total DNA için doku kaynağı oranları hesaplanır.
  - Yapılan çalışmalar; gebelerde beyaz kan hücreleri, karaciğer ve plasentanın cfDNA'nın 3 major kaynağı olduğunu gösterdi.
  - Bu yöntem ile, eğer maternal kanser söz konusu ise bu kanser dokusundaki genomik artma/azalmalar serum cfDNA'nın kanserin köken aldığı dokuya özgü olan kısmında proporsiyonel değişikliklere yol açacak.
  - Sun ve ark. bu prensibi düzensiz NIPT sonucu veren bir gebe kadının bulgularına uyguladı. Plazma DNA doku haritalaması ile, B hücrelerinden köken alan DNA miktarının total cfDNA içinde çok artmış olduğunu ve düzensizliğin bu cfDNA fraksiyonunu yansıttığını gösterdi. Bu hasta folliküler lenfoma tanısı almıştı.

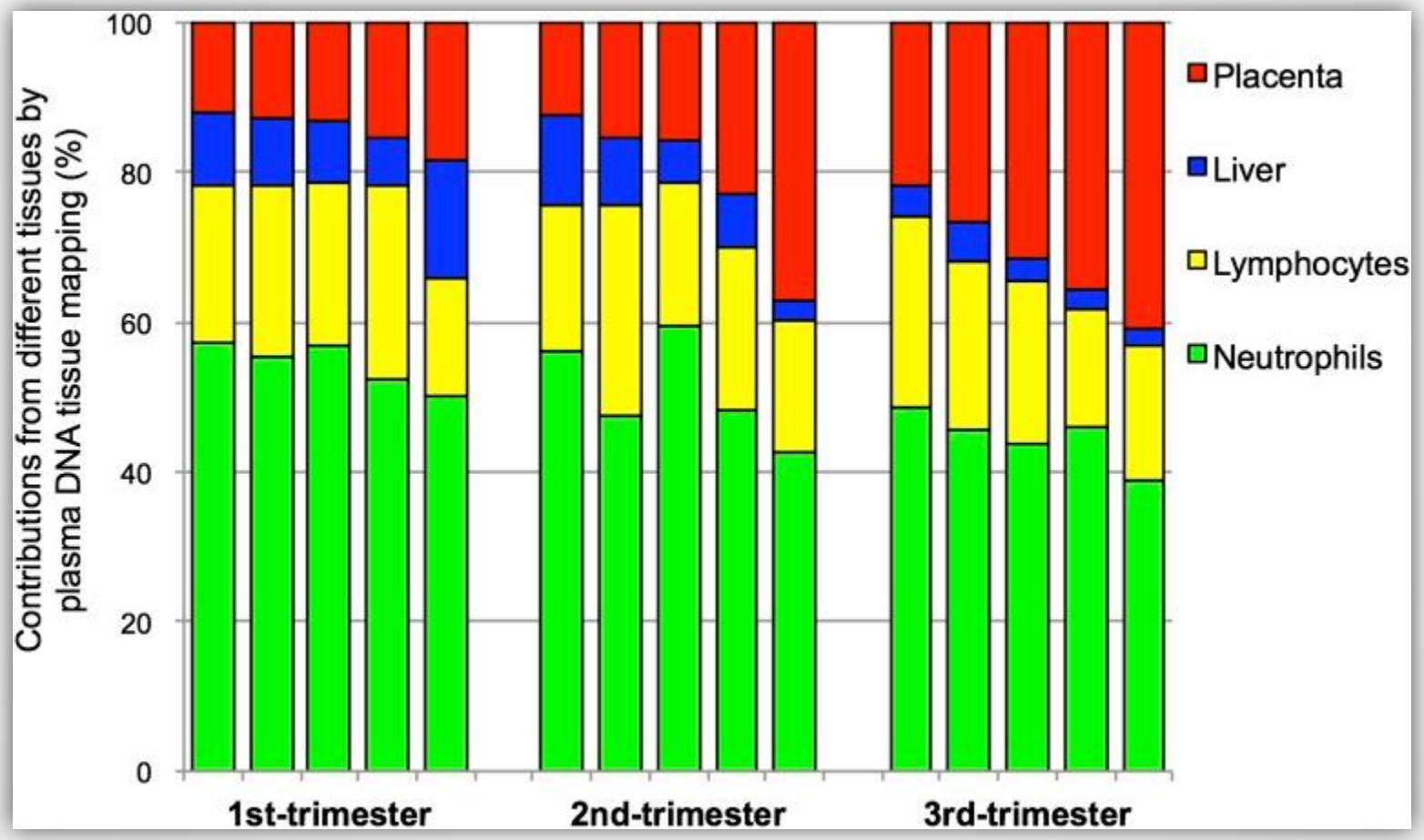
Sun ve ark, Proc. Natl Acad. Sci. USA 112, E5503–E5512 (2015)

Genom boyu metilasyon dizilemesi ile plazma DNA doku haritalaması
(Şematik gösterim)



Sun ve ark, Proc. Natl Acad. Sci. USA 112, E5503–E5512 (2015)

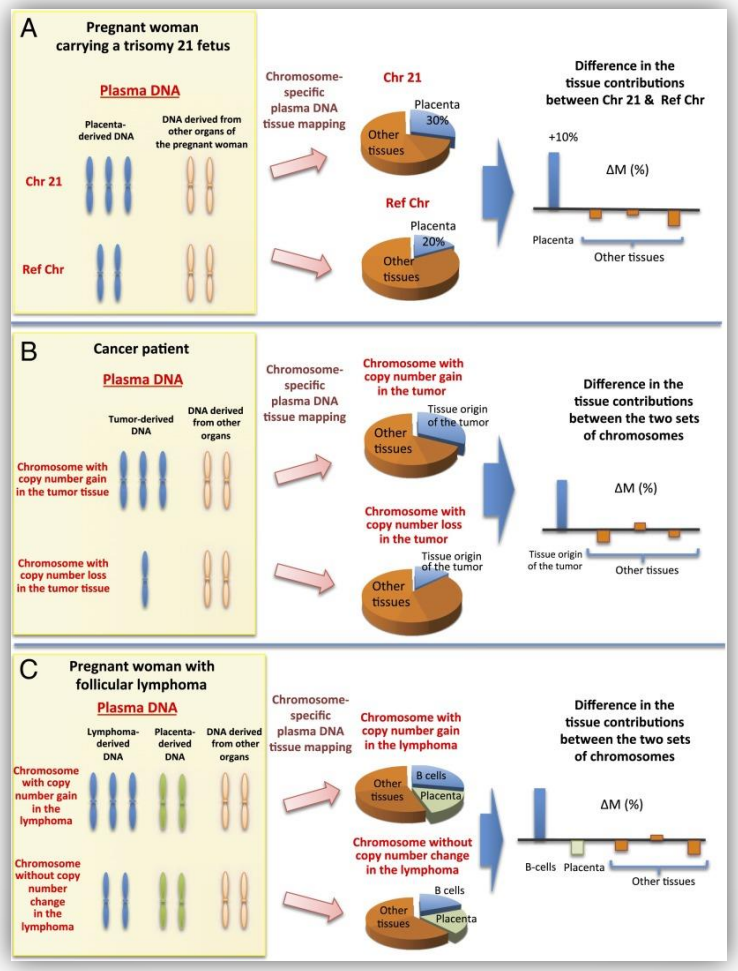
Gebelikte dokuların plazma DNA'sına katkılarındaki değişim
(15 gebe)



Sun ve ark, Proc. Natl Acad. Sci. USA 112, E5503–E5512 (2015)

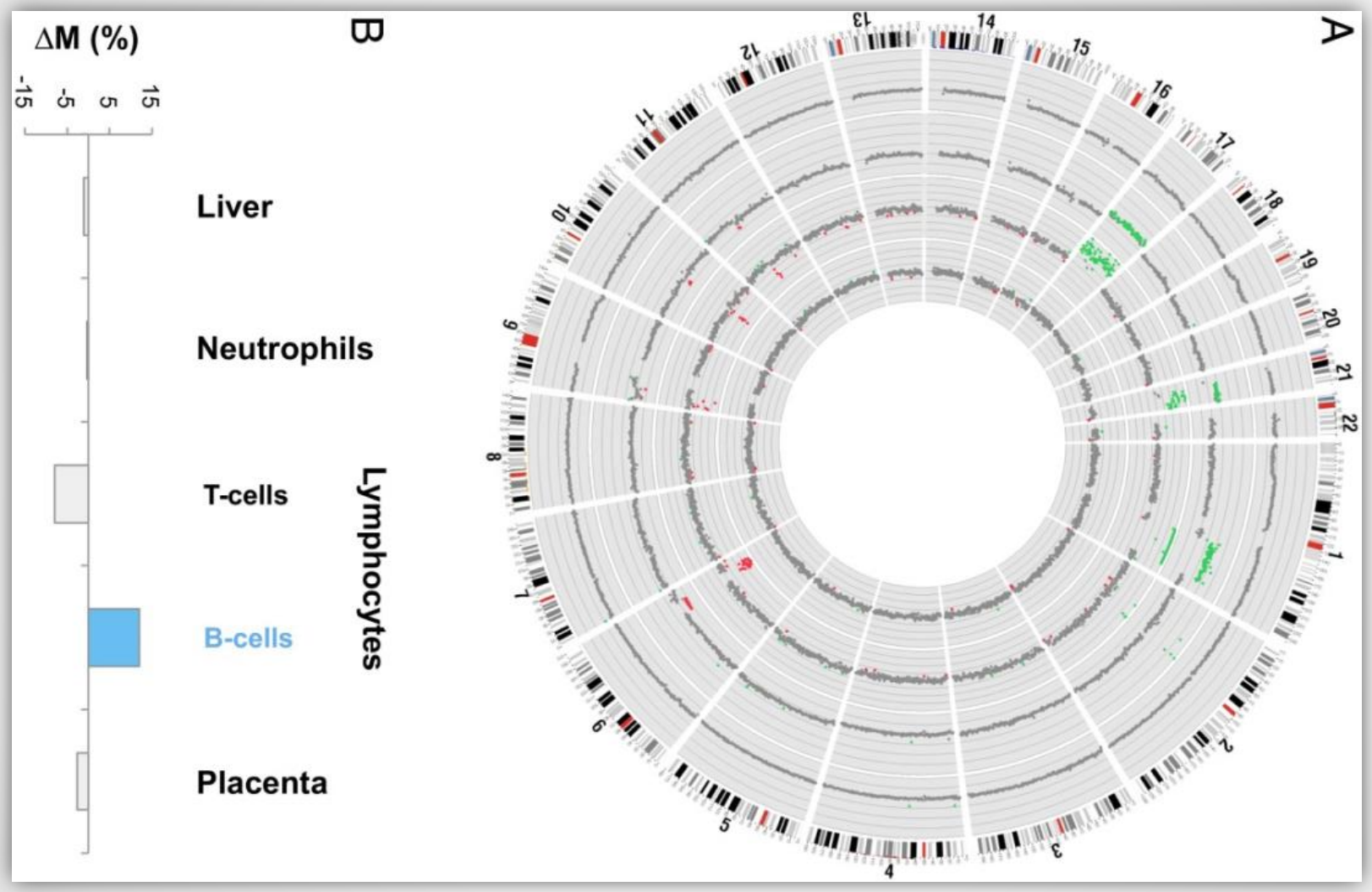
Plazma DNA doku haritalaması ile cfDNA analizi

(Şematik)



Sun ve ark, Proc. Natl Acad. Sci. USA 112, E5503–E5512 (2015)

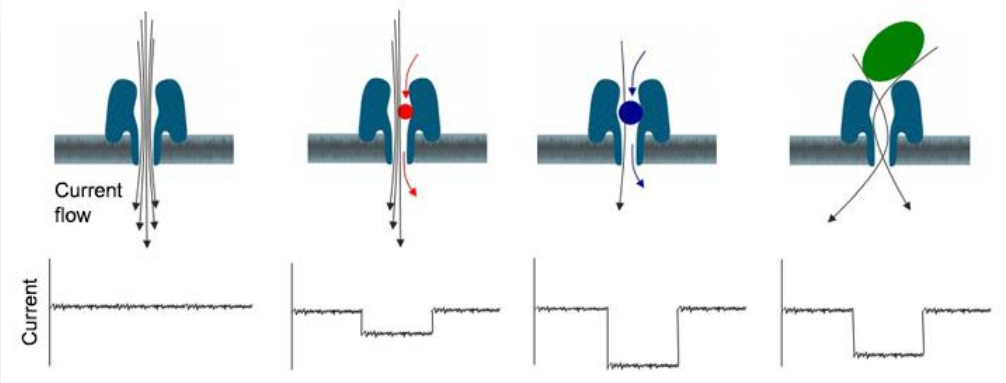
Düzensiz NIPT sonucu veren olguda uygulama



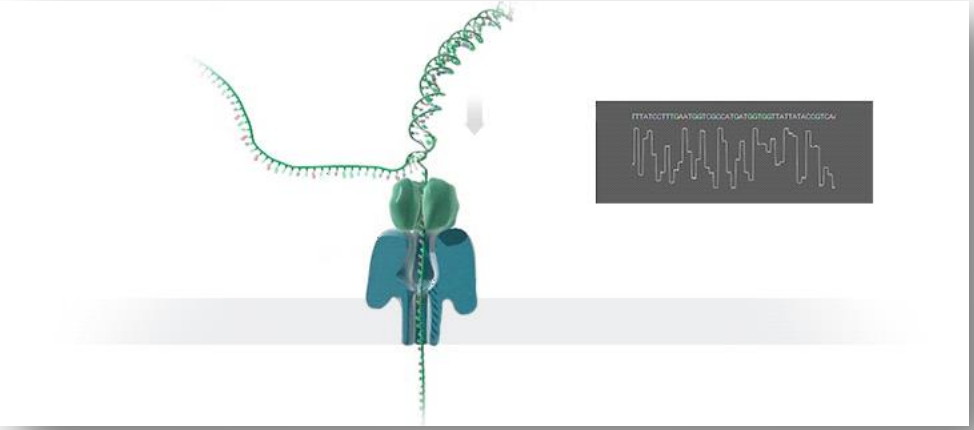
Geliştirilen Teknoloji

Nanopore DNA Dizileme

Modifiye/işaretlenmiş bazlara ihtiyaç duymuyor.



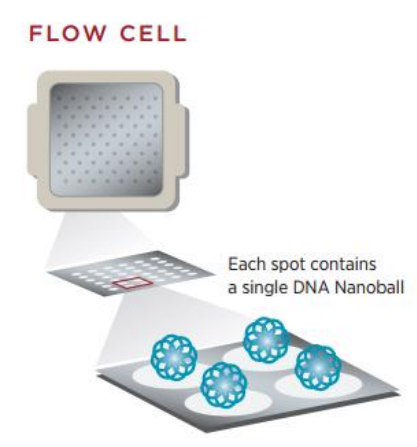
DNA porun içerisinden geçerken iyon akımında değişikliğe neden oluyor.



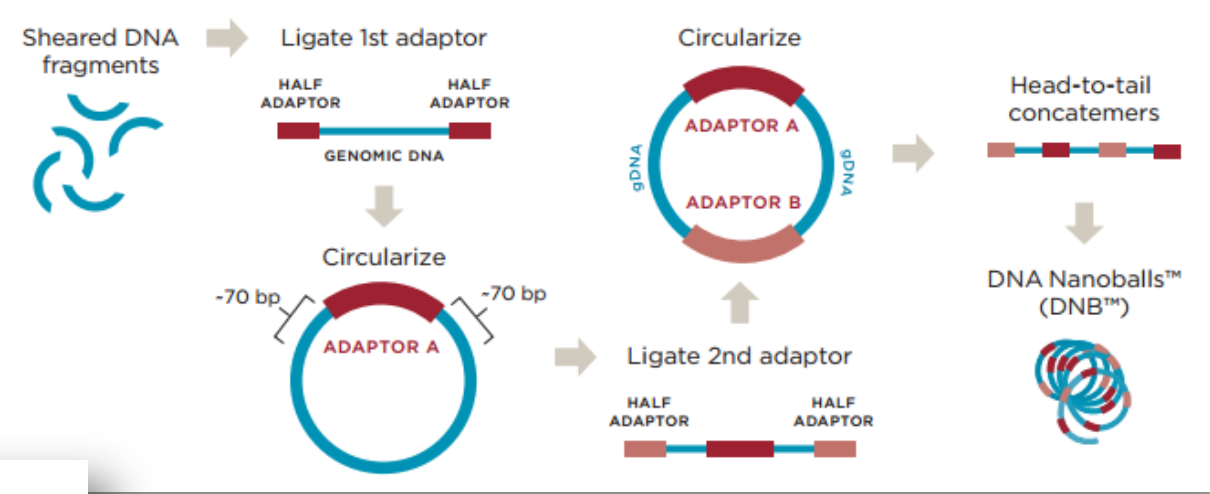
https://nanoporetech.com/science-technology/how-it-works

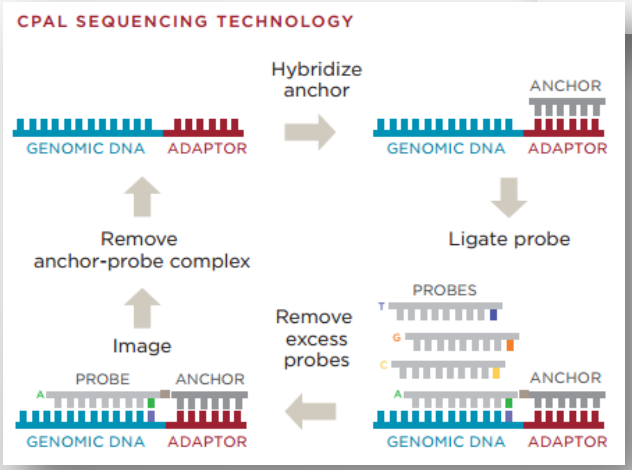
Geliştirilen Teknoloji

DNA nanoball sequencing



rolling circle replication to amplify small fragments of genomic DNA





combinatorial Probe-Anchor Ligation™ (cPAL™) chemistry

Microarray tabanlı NIPT

DOI: 10.1002/pd.4686 PRENATAL **DIAGNOSIS**

ORIGINAL ARTICLE

Clinical performance of non-invasive prenatal testing (NIPT) using targeted cell-free DNA analysis in maternal plasma with microarrays or next generation sequencing (NGS) is consistent across multiple controlled clinical studies

Renee Stokowski[1], Eric Wang[1], Karen White[1], Annette Batey[1], Bo Jacobsson[2], Herb Brar[3], Madhumitha Balanarasimha[1], Desiree Hollemon[1], Andrew Sparks[1], Kypros Nicolaides[4] and Thomas J. Musci[1]*

[1]Ariosa Diagnostics, Inc., San Jose, CA, USA
[2]Department of Obstetrics and Gynecology, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden
[3]Prenatal Diagnostic and Perinatal Center, Riverside, CA, USA
[4]Harris Birthright Research Centre for Fetal Medicine, King's College Hospital, London, UK
*Correspondence to: Thomas Musci. E-mail: tmusci@ariosadx.com

ABSTRACT

Objective To evaluate the clinical performance of non-invasive prenatal testing for trisomy 21, 18, and 13 using targeted cell-free DNA (cfDNA) analysis.

Methods Targeted cfDNA analysis using DANSR™ and FORTE™ with microarray quantitation was used to evaluate the risk of trisomy 21, 18, and 13 in blinded samples from 799 singleton, twin, natural, and IVF pregnancies. Subjects either had fetal chromosome evaluation by karyotype, FISH, QF-PCR, or karyotype for newborns with suspected aneuploidy at birth. The results of targeted cfDNA analysis were compared to clinical genetic testing outcomes to assess clinical performance.

Microarray tabanlı NIPT

genomeweb

Business & Policy | Technology | Research | Clinical | Disease Areas

Home » Tools & Technology » Microarrays & Multiplexing » Affymetrix Signs Deal with Ariosa to Supp

Affymetrix Signs Deal with Ariosa to Supply Array-based NIPT

Oct 16, 2014 | a GenomeWeb staff reporter

NEW YORK (GenomeWeb) — Affymetrix and Ariosa Diagnostics today announced that they have signed a multi-year agreement under which Affymetrix will supply arrays and instruments for use in Ariosa's Harmony non-invasive prenatal test.

The deal "opens up the possibility to further broaden access to the Harmony test via a kit decentralization strategy," Ariosa CEO Ken Song said in a statement. Under such a strategy other laboratories would be able to run the array-based test in house.

The announcement follows the publication of an Ariosa study in *Fetal Diagnosis and Therapy* earlier this year, which demonstrated that array-based testing of cell-free DNA in maternal blood generated more consistent data in a shorter period of time and at a lower cost than the company's existing sequencing-based assay.

Ariosa has said it believes the lower cost of array-based NIPT will allow it to fulfill its goal of providing broader access to testing. In a release, the companies said the

BİYOİNFORMATİK

- Biyoinformatik değerlendirmede
  - WISECONDOR algoritması
  - Bayindir algoritması
  - .....

Sistermans et al, JAMA. 2015;314(20):2192

Tüm bunlar gerçekleştiğinde!

- CPM ?
- İkizler ?

- Tanı testine evrilmesi????

teşekkürler