

Bioingeniørutdanningen
Inndalsveien 28,
N-5020 Bergen

Prosjektplan

Navn: Aurora A. Løvaas, Tomas B. Hersdal, Victoria A. M. Markaskard
Intern veileder: Lise Bjørkhaug Gundersen
Ekstern veileder: Shanel Raghubeer og Tandi Matsha-Erasmus
Ekstern bi-veileder: Ingvild Aukrust (HUS)

Prosjektets tittel

Whole genome sequencing in individuals with suspected MODY from a population of mixed-ancestry from Cape Town, South Africa.

Helgenomsekvensering i individer med mistanke om MODY fra populasjon med blandede aner fra Cape Town, Sør-Afrika.

Bakgrunn, problemstilling

Bacheloroppgaven skulle ha blitt gjennomført ved laboratoriet til Prof. Tandi Matsha, ved «Department of Biomedical Sciences», Cape Peninsula University of Technology (CPUT) i Cape Town, Sør-Afrika. På grunn av Covid-19 pandemien ble oppgaven utført i Norge.

For å bli orientert om tema ble tidligere kunnskap fra fag som bioinformatikk, medisinsk laboratorieteknologi I, II og III, medisinsk biokjemi, farmakologi og endokrinologi og patologi, benyttet. I tillegg ble det lest relevante artikler om tema, blant annet doktorgraden «Role of rare *HNF1A* variant function in monogenic and type 2 diabetes» til Laeya A. Najmi (Najmi, 2018) og artikkelen «Common and rare forms of diabetes mellitus: towards a

continuum of diabetes subtypes» skrevet av Jason Flannick, Stefan Johansson og Pål R. Njølstad (Flannick, Johansson, & Njølstad, 2016).

Mange pasienter med diagnosen MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) blir feildiagnostisert med type 1- eller type 2 diabetes, på grunn av overlappende kliniske indikasjoner og manglende kunnskap rundt MODY. Gentesting for å bekrefte klinisk diagnose av MODY er nødvendig, men er ikke vanlig praksis i alle land, spesielt ikke i lavinntektsland. En riktig diagnose kan justere behandlingsprotokoller og pasientens livskvalitet.

Det overordnede formålet med dette prosjektet var, på bakgrunn av helgenomsekvensering (WGS), å undersøke tilstedeværelsen av MODY ved genene *HNFI1A* og *GCK* for sjeldne varianter hos pasienter med diabetes, pre-diabetes eller normotolerant (kontroller). Dette fra en befolkning med blandede aner fra Cape Town, Sør-Afrika.

Material og metode

På bakgrunn av DNA av 15 pasienter, så ble det utført helgenom Next Generation Sequencing (NGS) ved bruk av Ion Torrent Technology, Ion GeneStudio S5 system og Ion Chef™ system og rådata ble analysert ved bruk av Torrent Suite™ software og Ion Reporter™ software, der fokuset var på varianter i genene *HNFI1A* og *GCK*.

Det ble mottatt til sammen variantdata fra 15 pasienter fra Cape Peninsula University of Technology, hvor hvert medlem i bachelorgruppen vurderte 5 pasienter hver. Dataene ble sortert og kritisk vurdert. Dette innebar å vurdere «minor allele frequency (MAF)», som er frekvensen av det nest vanligste allelet som forekommer i en gitt populasjon. Sjeldne varianter, som har en MAF mindre enn 0,01%, har større sannsynlighet for å være patogene og som årsak til sjeldne sykdommer. De variantene som hadde en MAF < 0,01% ble videre undersøkt for forekomst i exondatabaser som GnomAD og klinisk variantdatabase som ClinVar. Deretter ble det søkt i litteratur (PubMed) etter rapporter på tilsvarende varianter, som støtte til teorien om at disse variantene var mistenksomme og hvorvidt de kan føre til MODY eller eventuelt annen diabetessykdom.

Etiske betraktninger

Genetisk screening i lavinntektsland, og alle land for øvrig, gjør det mulig å oppdage patogene varianter som årsak til diagnosen MODY og andre sykdommer. En slik bekreftende genetisk diagnose kan gi økt livskvalitet ved at pasientene får riktig behandling.

Fremdriftsplan

Uke	Plan
13	Lage mal og felles dokument for bacheloroppgaven i Word. Begynne å skrive teori (introduksjon).
14	Fortsette å skrive teori. Bearbeide og sortere rådata.
15	Fortsette å skrive teori. Begynne på metodekapittelet. Sortere rådata, finne bakgrunns litteratur i forhold til interessante mutasjoner.
16	Gjøre ferdig teorikapittelet. Fortsette på metodekapittelet. Opprette PowerPoint til undervisningspresentasjon.
17	Bli ferdig med sortering, vurdering og undersøkelse av tilsendt data. Lage en oversiktlig felles tabell over funn fra databaser, samt litteratursøk. Denne tabellen skal kunne brukes i resultatkapittelet. Begynne på diskusjonskapittelet. Ferdigstille PowerPoint for undervisningspresentasjon mot slutten av uken.
18	Gjøre eventuelle siste forberedelsene av presentasjon før undervisningspresentasjon tirsdag kl. 13. Skrive resultatkapittelet. Føre inn felles tabell fra ExCeL med tabelltekst. Fortsette på diskusjonskapittelet.
19	Skrive diskusjon (konklusjon).
20	Supplere med teori til introduksjonen, da vi forhåpentligvis har en dypere forståelse av emnet. Ferdigstille resultat og diskusjon. Prosessveiledning med Turid onsdag kl. 11-12.
21	Skrive sammendrag på både norsk og engelsk. Sende endelig utkast til Lise Bjørkhaug Gundersen (intern veileder). Redigere oppgaven etter tilbakemelding fra veileder.
22	Siste finpuss på oppgaven før levering i Wiseflow. Levere oppgave og poster i en flow, samt prosjektplan, 3 x statusrapport og 3 x læringsutbytte i den andre flowen.
24	Fremføring av bachelor tirsdag 9. juni.

Ressurser

Databaser:

ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>)

Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>)

GnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org/>)

Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Bibliografi

Flannick, J., Johansson, S., & Njølstad, P. R. (2016, April 15). Common and rare forms of diabetes mellitus: towards a continuum of diabetes subtypes. *Nature Reviews*.

Najmi, L. A. (2018). Role of rare HNF1A variants function in monogenic and type 2 diabetes.

Vedlegg

Vedlegg 1: Project for Norwegian undergraduate students

Lise Bjørkhaug Gundersen

Aurora A. Løvaas

Tomas B. Hersdal

Victoria A. M. Markaskard

Vedlegg 1

Project for Norwegian undergraduate students

Supervisor: Dr Shanel Raghubeer

Title: Datamining NGS results regarding whole genome sequencing of *HNFI1A* and *GCK* in a population of 100 mixed-ancestry individuals from Cape Town, South Africa.

Background: A cross-sectional study conducted by Professor Matsha's research unit at the Cape Peninsula University of Technology forms part of the Vascular and Metabolic Health study, which yielded novel results about a mixed-ancestry population living in Bellville South, Cape Town, South Africa. This study was the first of its kind in Africa, and thus, is the first to report on maturity onset diabetes of the young (MODY) gene variants in Africa in a mixed-ancestry population. Participants were recruited for the study (1643 in total, 407 males, 1236 females) and underwent anthropometric tests. Blood was collected, and real-time PCR was used to screen for polymorphisms in *HNFI1A* (rs1169288, rs115080759, rs140491072, rs137853245, and rs142318174) and *GCK* (rs4607517) genes. Of these 1643 samples, 100 randomly selected samples underwent Next Generation Sequencing (NGS) to sequence *HNFI1A* and *GCK* genes in entirety (whole genome sequencing).

Project: The data obtained from NGS identified several hundred polymorphisms (genetic variations) in the specific genes (*HNFI1A* and *GCK*), which contribute to MODY diagnosis. The current project involves mining this data to determine which polymorphisms contribute to MODY diagnosis and whether these variations contribute to any other diseases (cancer, inflammatory disorders), as well as identifying whether any polymorphisms have been reported in other populations. The required outputs for this project include: A comprehensive literature review on MODY, including polymorphisms identified in literature, the incidence of these variations, the populations affected, severity of the disease, comparison to type 1 and type 2 diabetes, diagnostic methodology, and treatment protocols. Thereafter, the NGS data will be critically interrogated and statistical analyses will be performed on the incidence of each polymorphism in the study population. Lastly, these results will be translated into a manuscript and an oral presentation reporting on the findings.