

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. И. ПИРОГОВА»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России)
**ФАКУЛЬТЕТ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ**

«ОДОБРЕНО»

Председатель цикловой методической
комиссии факультета дополнительного
профессионального образования
д. м. н., профессор Харитонов Л. А.

«15» сентября 2023 г.

Протокол заседания цикловой методической
комиссии ФДПО от «15» сентября 2023 г. №10

«УТВЕРЖДАЮ»

Декан факультета дополнительного
профессионального образования
д. м. н., профессор Сергеенко Е. Ю.

«15» сентября 2023 г.

**ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ ПРОГРАММА
ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ
«Биоинформатика и геномика»**

Трудоемкость: 72 часа

Форма обучения: очная

Документ о квалификации: удостоверение о повышении квалификации

Москва, 2023

Дополнительная профессиональная программа повышения квалификации «Биоинформатика и геномика» обсуждена и одобрена на заседании Передовой инженерной школы ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Протокол заседания № _____ от _____ 2023 г.

Руководитель передовой инженерной школы
Прохорчук Е.Б. _____

Программа рекомендована к утверждению рецензентом:

к.б.н., старшим научным
сотрудником Института
биоорганической химии
им. академиков
М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН

Британовой О.В. _____

«___» _____ 2023 г.

Дополнительная профессиональная программа повышения квалификации «Биоинформатика и геномика» (далее - Программа) разработана рабочей группой сотрудников передовой инженерной школы ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, под руководством руководителя передовой инженерной школы Е.Б. Прохорчука.

Программа разработана в рамках программы развития Передовой инженерной школы по Соглашению о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации № 075-15-2022-1147 от 02.07.2022 г.

Состав рабочей группы:

№№	Фамилия, имя, отчество	Учёная степень, звание	Занимаемая должность	Место работы
1.	Прохорчук Е.Б.	д. б. н., профессор, член-корр. РАН	Руководитель передовой инженерной школы	ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России
2.	Рогаев Е.И.	д. б. н., профессор	Заведующий кафедрой генетики биологического факультета	МГУ имени М.В.Ломоносова
3.	Нефедова Л.Н.	д. б. н., доцент	Профессор кафедры генетики биологического факультета	МГУ имени М.В.Ломоносова
4.	Манахов А.Д.	к. б. н.	Ведущий научный сотрудник направления Генетика	АНО ВО «Университет «Сириус»

Глоссарий

ДПО - дополнительное профессиональное образование;

ФГОС - Федеральный государственный образовательный стандарт

ПС - профессиональный стандарт

ОТФ - обобщенная трудовая функция

ТФ - трудовая функция

ЕКС – Единый квалификационный справочник

ПК - профессиональная компетенция

ЛЗ - лекционные занятия

СЗ - семинарские занятия

ПЗ - практические занятия

СР - самостоятельная работа

ОСК – обучающий симуляционный курс

ДОТ - дистанционные образовательные технологии

ЭО - электронное обучение

ПА - промежуточная аттестация

ИА - итоговая аттестация

УП - учебный план

АС ДПО - автоматизированная система дополнительного профессионального образования

КОМПОНЕНТЫ ПРОГРАММЫ

1. Общая характеристика Программы

- 1.1. Нормативно-правовая основа разработки программы
- 1.2. Категории обучающихся
- 1.3. Цель реализации программы
- 1.4. Планируемые результаты обучения

2. Содержание Программы

- 2.1. Учебный план
- 2.2. Календарный учебный график
- 2.3. Рабочие программы модулей
- 2.4. Оценка качества освоения программы
 - 2.4.1. Формы промежуточной (при наличии) и итоговой аттестации
 - 2.4.2. Шкала и порядок оценки степени освоения обучающимися учебного материала Программы
- 2.5. Оценочные материалы

3. Организационно-педагогические условия Программы

- 3.1. Материально-технические условия
 - 3.2. Учебно-методическое и информационное обеспечение
 - 3.3. Кадровые условия
 - 3.4. Организация образовательного процесса.
- Приложение №1. Фонд оценочных средств.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОГРАММЫ

1.1 Нормативно-правовая основа разработки Программы

- Федеральный закон от 29 декабря 2012 г. № 273-ФЗ «Об образовании в Российской Федерации», статья 76;
- Приказ Минобрнауки России от 1 июля 2013 г. № 499 «Об утверждении Порядка организации и осуществления образовательной деятельности по дополнительным профессиональным программам»;
- Приказ министерства образования и науки Российской Федерации от 12.09.2013г №1061 «Об утверждении перечней специальностей и направлений подготовки высшего образования» (в ред. Приказов Минобрнауки РФ от 29.01.2014 N 63, от 20.08.2014 N 1033, от 13.10.2014 N 1313, от 25.03.2015 N 270, от 01.10.2015 N 1080, от 01.12.2016 N 1508, от 10.04.2017 N 320, от 11.04.2017 N 328, от 23.03.2018 N 210, от 30.08.2019 N 664, от 15.04.2021 N 296, от 13.12.2021 N 1229);
- Профессиональный стандарт 26.014 «Специалист в области разработки, сопровождения и интеграции технологических процессов и производств в области биотехнических систем и технологий» (Утвержден приказом Министерства труда и социальной защиты РФ от 28 декабря 2015 г. № 1157н)
- Профессиональный стандарт 40.011 «Специалист по научно-исследовательским и опытно-конструкторским разработкам» (Утвержден приказом Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 04.03.2014 № 121н);
- Лицензия Федеральной службы по надзору в сфере образования и науки на осуществление образовательной деятельности ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России от 11 декабря 2019 г. № ЛО35-00115-77/00096954.

1.2 Категории обучающихся

К освоению ДПП ПК допускаются лица, имеющие (получающие) высшее профессиональное образование следующих укрупненных групп направлений подготовки: математика и механика; химия; биологические науки; информатика и вычислительная техника; нанотехнологии и наноматериалы; здравоохранение и медицинские науки и осуществляющие или планирующие осуществлять свою профессиональную деятельность в сфере технологий секвенирования ДНК и обработки данных секвенирования.

1.3 Цель реализации программы

Цель реализации программы: совершенствование имеющихся и приобретение новых профессиональных знаний и умений в сфере проведения секвенирования генома и обработки геномных данных.

Связь Программы с Профессиональными стандартами

Профессиональный стандарт 1: Профессиональный стандарт 26.014 «Специалист в области разработки, сопровождения и интеграции технологических процессов и производств в области биотехнических систем и технологий»		
ОТФ (наименование)	Трудовые функции	
	Код ТФ	Наименование ТФ
А: Разработка и интеграция биотехнических систем и технологий, в том числе медицинского, экологического и биометрического назначения	А/01.6	Научные исследования в области создания биотехнических систем и технологий
	А/04.6	Организация процессов создания и интеграции биотехнических систем и технологий
Профессиональный стандарт 2: Профессиональный стандарт 40.011 «Специалист по научно-исследовательским и опытно-конструкторским разработкам»		
А: Проведение научно-исследовательских и опытно-конструкторских разработок по отдельным разделам темы	А/02.5	Осуществление выполнения экспериментов и оформления результатов исследований и разработок

1.4. Планируемые результаты обучения

В результате освоения программы обучающийся получает/совершенствует следующие ПК:

ПК	Описание компетенции	Код ТФ профстандарта/
ПК-1	Готовность к сбору и анализу медико-биологической и научно-технической информации в сфере биотехнических систем и технологий.	ПС 1: А/01.6
	Должен знать: – методы проведения экспериментальных исследований и обработки данных эксперимента по секвенированию генома; – особенности представления результатов научных исследований.	

	<p>Должен уметь:</p> <ul style="list-style-type: none"> - планировать порядок проведения экспериментальных исследований; - Выполнять первичную обработку и анализ экспериментальных данных секвенирования с оценкой уровня случайных и систематических погрешностей. 	
ПК-2	<p>Готовность к составлению для работников инструкций по эксплуатации оборудования и программного обеспечения биомедицинских геномных лабораторий.</p>	ПС 1: А/04.6
	<p>Должен знать:</p> <ul style="list-style-type: none"> - особенности организации, организационные формы научно-исследовательских, проектно-конструкторских и технологических работ и обслуживания геномной лаборатории; - системы и методы организации обеспечения и контроля качества биотехнических систем медицинского, экологического и биометрического назначения. <p>Должен уметь:</p> <ul style="list-style-type: none"> - разрабатывать для работников инструкции по эксплуатации технического оборудования и программного обеспечения биомедицинских, биометрических и экологических лабораторий; - Решать производственные задачи, требующие углубленных профессиональных знаний; проявлять инициативу, в том числе в ситуациях риска. 	
ПК-3	<p>Готовность к проведению наблюдений и измерений, составление их описаний и формулировка выводов</p>	ПС 2: А/02.5
	<p>Должен знать:</p> <ul style="list-style-type: none"> - методы проведения экспериментов по секвенированию геномов, обобщения и обработки информации, полученной в ходе секвенирования генома. <p>Должен уметь:</p> <ul style="list-style-type: none"> - использовать программно-аппаратные средства управления секвенатором ДНК, проводить обработку и анализ полученных данных; - прогнозировать сферы применения результатов научно-исследовательских работ в области секвенирования ДНК. 	

2. СОДЕРЖАНИЕ ПРОГРАММЫ

2.1 Учебный план

дополнительной профессиональной программы повышения квалификации
«Биоинформатика и геномика», 72 ак. часов, форма обучения очная

№ №	Наименование моду- лей I.	Всего часов	Часы без ДОТ и ЭО	В том числе				Ста- жи- ровк а	Часы с ДОТ и ЭО	В том числе				ПК	Форма кон- троля
				ЛЗ*	СЗ*	ПЗ*	СО*			ЛЗ	СЗ	ПЗ	СО		
1.	Геномика	22	22	4	-	18	-	-	-	-	-	-	-	ПК-1 ПК-2 ПК-3	-
2.	Биоинфоматика	48	48	16	-	32	-	-	-	-	-	-	-	ПК-3	-
III.	Итоговая аттеста- ция	2	2			2									ИА/зачет
IV.	Всего по программе	72	72	20		52									2

*ЛЗ - лекционные занятия

*СЗ - семинарские занятия

*ПЗ - практические занятия

*СО - симуляционное обучение

2.2 Календарный учебный график

Учебные занятия проводятся в течение 1 месяца/4 недели: 18 академических часов в неделю.

2.3 Рабочие программы учебных модулей

МОДУЛЬ 1

Геномика

Код	Наименование тем (<i>подтем, элементов, подэлементов</i>)
1.1.	<i>Введение в генетические технологии и технологии расшифровки последовательности ДНК (4 ч)</i>
1.1.1.	Основные этапы молекулярно-генетических исследований (1 ч лекция)
1.1.2.	ПЦР и другие варианты амплификации нуклеиновых кислот (1 ч лекция)
1.1.3.	Классическое секвенирование ДНК (1 ч лекция)
1.1.4.	Технологии массового параллельного секвенирования ДНК (1 ч лекция)
1.2.	<i>Принципы получения библиотек для секвенирования (10 ч)</i>
1.2.1	Основные принципы приготовления геномных библиотек (2 ч практикум)
1.2.2.	Практикум «Приготовление геномных библиотек с использованием набора реагентов NEBNext Ultra II FS DNA Library Prep Kit for Illumina» (4 час практикум)
1.2.3.	Практикум «Качественная и количественная оценка полученных геномных библиотек» (4 час практикум)
1.3.	<i>Секвенирование на платформе Illumina MiSeq (4 ч)</i>
1.3.1.	Принципы подготовки запуска и секвенирования на платформе Illumina MiSeq (2 час практикум)
1.3.2.	Демонстрационный запуск секвенирования на платформе Illumina MiSeq (1 час практикум)
1.3.3.	Обзор результатов демонстрационный запуск секвенирования на платформе Illumina MiSeq (1 час практикум)
1.4.	<i>Секвенирование на платформе Illumina NovaSeq (4 ч)</i>
1.4.1.	Принципы подготовки запуска и секвенирования на платформе Illumina NovaSeq (2 час практикум)
1.4.2.	Обзор результатов запуска секвенирования на платформе Illumina NovaSeq (2 час практикум)

МОДУЛЬ 2
Биоинформатика

Код	Наименование тем (<i>подтем, элементов, подэлементов</i>)
2.1	<i>Использование командной строки и работа на вычислительном кластере (ВК) (6 час)</i>
2.1.1	Основы работы в командной строке Linux: базовые команды и написание скриптов. Интерактивная командная строка (2 ч лекция, 1 ч практикум)
2.1.2	Работа на удалённом вычислительном кластере: подключение, обмен файлами, использование менеджера задач. Основные команды для манипулирования файлами (1 ч практикум)
2.1.3	Устройство ВК, подключение, взаимодействие и обмен файлами с ВК (1 ч практикум)
2.1.4	Взаимодействие с менеджером задач на ВК (1 ч практикум)
2.2	<i>Выравнивание последовательностей и картирование прочтений на референсный геном (12 час)</i>
2.2.1	Основы выравнивания последовательностей (1 ч лекция, 2 ч практикум)
2.2.2	Работа с основными генетическими базами данных. Форматы файлов в биоинформатике: FASTA/Q, SAM/BAM, VCF (1 ч лекция, 2 ч практикум)
2.2.3	gmapAD. Оценка качества исходных данных NGS и качества картирования (1 ч лекция, 2 ч практикум)
2.2.4	Геномные браузеры (1 ч лекция, 2 ч практикум)
2.3	<i>Краткое введение в R или Python (12 час)</i>
2.3.1	Основы работы с языком R или Python, организация работы (2 ч лекция, 4 ч практикум)
2.3.2	Библиотеки для построения графиков и визуализации результатов (2 ч лекция, 4 ч практикум)
2.4	<i>Генотипирование с помощью NGS и интерпретация генетических вариантов (12 час)</i>
2.4.1	Определение генотипа конкретного полиморфизма (1 ч лекция, 2 ч практикум)
2.4.2	Предсказание цвета волос и глаз (1 ч практикум)

2.4.3	Митохондриальный геном и определение его гаплогруппы (1 ч лекция, 1 ч практикум)
2.4.4	Определение генетических вариантов и генотипов по всему геному (1 ч практикум)
2.4.5	Базы данных генетических вариантов (1 ч лекция, 1 ч практикум)
2.4.6	Оценка влияния генетических вариантов на гены и белки (1 ч лекция, 1 ч практикум)
2.4.7	Структурные варианты (1 ч практикум)
2.5	<i>Биоинформатический анализ данных секвенирования транскриптомов (2 ч лекция, 4 часа практикум).</i>

2.4. Оценка качества освоения программы

2.4.1 Форма итоговой аттестации.

2.4.1.1 Контроль результатов обучения проводится в виде итоговой аттестации (ИА). Обучающийся допускается к ИА после освоения рабочей программы учебного модуля в объёме, предусмотренном учебным планом (УП). Форма итоговой аттестации – зачет. Зачет проводится в виде тестирования (письменно) по темам учебного модуля.

2.4.1.2 Лицам, успешно освоившим Программу и прошедшим ИА, выдаётся удостоверение о повышении квалификации установленного образца.

2.4.2 Шкала и порядок оценки степени освоения обучающимися учебного материала Программы определяется Положением об организации итоговой аттестации обучающихся на факультете дополнительного профессионального образования в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

2.5 Оценочные материалы

Оценочные материалы представлены в виде тестовых вопросов по темам модулей в приложении к программе.

3. ОРГАНИЗАЦИОННО-ПЕДАГОГИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ

3.1 Материально-технические условия

3.1.1 Перечень помещений Университета, предоставленных структурному подразделению для образовательной деятельности:

№ №	Наименование ВУЗА, адрес	Вид занятий	Этаж, кабинет
1	ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, г. Москва, ул. Большая Пироговская д. 9а	ЛЗ, ПЗ	4-й этаж, каб. 41, 41а

3.1.2 Перечень используемого для реализации Программы медицинского оборудования и техники:

№№ п/п	Наименование медицинского оборудования, техники, аппаратуры, технических средств обучения и т.д.
1.	Наборы автоматических дозаторов переменного объема (1-10, 10-100, 20-200, 100-1000 мкл) — 1 шт. / обучающийся
2.	Магнитный штатив для пробирок 0.2 или 0.5 мл — 1 шт. / обучающийся
3.	Центрифуга вортекс с насадками для пробирок 0.2, 0.5 и 1.5 мл — 1 шт. / обучающийся
4.	Амплификатор с нагревающейся крышкой для пробирок 0,2 мл — 2 шт.
5.	Амплификатор Real Time, с детекцией каналов SYBR и ROX 1 шт.
6.	Флуориметр Qubit — 1 шт.
7.	Персональные компьютеры

3.2 Учебно-методическое и информационное обеспечение

3.2.1 Литература

№№	Основная литература
1.	Ребриков Д. В., Коростин Д. О., Шубина Е. С., Ильинский В. В. NGS: Высокопроизводительное секвенирование, М.: Лаборатория знаний, 2020 г., 235 с.
	Дополнительная литература
2.	MiSeq. System Guide, Illumina 2019
3.	MiSeq. Знакомство с прибором и его возможностями, 2014

3.2.2 Информационно-коммуникационные ресурсы

№№	Наименование ресурса	Электронный адрес
1.	Официальный сайт Минздрава России	http:// www.rosminzdrav.ru
2.	Российская государственная	www.rsl.ru

	библиотека (РГБ)	
3.	Издательство РАМН (книги по всем отраслям медицины):	www.iramn.ru
7.	Центральная научная медицинская библиотека	http://www.scsml.rssi.ru

3.3 Кадровые условия

Реализация Программы обеспечивается научно-педагогическими работниками Передовой инженерной школы ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Доля научно-педагогических работников, имеющих образование, соответствующее профилю преподаваемой дисциплины, модуля, в общем числе научно-педагогических работников, реализующих Программу, составляет не менее 70%.

Доля научно-педагогических работников, имеющих ученую степень и/или ученое звание, в общем числе научно-педагогических работников, реализующих Программу, составляет не менее 65%.

3.4. Организация образовательного процесса

В программе используются следующие виды учебных занятий: лекция, практическое занятие.

Лекции проводятся без ДОТ полностью с использованием мультимедийных устройств и/или специально оборудованных компьютерных классов.

Практические занятия проводятся без ДОТ полностью в виде мастер-классов и работы с использованием специального оборудования, для отработки умений и навыков составляющих профессию слушателей.

ФОНД ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

к дополнительной профессиональной программе повышения квалификации
«Биоинформатика и геномика»
трудоемкостью 72 академических часа

1		
2	Передовая инженерная школа	
3	Адрес (база)	ул. Большая Пироговская д. 9а
4	Руководитель	Прохорчук Е.Б.
5	Ответственный составитель	Нефедова Л.Н.
6	E-mail	jalex@syntol.ru
7	Моб. телефон	8 916 628-00-31
8	Кабинет №	41, 41а
9	Учебная дисциплина	-
10	Учебный предмет	-
11	Учебный год составления	2023
12	Специальность	-
13	Форма обучения	Очная
14	Модуль	
15	Тема	-
16	Подтема	-
17	Количество вопросов	10
18	Тип вопроса	-
19	Источник	-

ОБРАЗЦЫ ТЕСТОВЫХ ЗАДАНИЙ

1. Однонуклеотидный полиморфизм rs12328675 гена *SOBLL1* был статистически значимо ассоциирован с повышенным уровнем общего холестерина в крови. Это означает, что

А. Данный полиморфизм должен обнаруживаться у пациентов, страдающих атеросклерозом

Б. Данный полиморфизм должен обнаруживаться у всех людей, имеющих повышенный уровень общего холестерина в крови

В. Данный полиморфизм может быть обнаружен у людей, не имеющих повышенный уровень общего холестерина в крови

Г. Данный полиморфизм должен обнаруживаться у людей, имеющих повышенный уровень общего холестерина в крови и страдающих атеросклерозом

Д. В группе людей, имеющих повышенный уровень общего холестерина в крови, доля носителей данного полиморфизма статистически значимо выше, чем в контрольной группе

2. Для эукариотического гена характерно

А. Обязательное наличие экзонов и хотя бы одного интрона

Б. Обязательное наличие экзонов и двух или более интронов

В. Полное созревание мРНК включает модификацию обоих ее концов

Г. В регуляции транскрипции гена могут принимать участие энхансеры и сайленсеры

Д. Полное созревание мРНК включает модификацию только 3'-конца

3. Выберите верное утверждение, характеризующее метилирование ДНК у млекопитающих:

А. В геноме человека более половины генов содержат в 5'-регуляторных районах нуклеотиды С и G, сгруппированные в CpG-островки

Б. Метилирование CpG-островков характерно для всех белок-кодирующих генов

В. Метилирование CpG-островка в 5'-регуляторном районе гена, как правило, не приводит к подавлению экспрессии соответствующего гена

Г. Метилирование CpG-динуклеотидов происходит по позиции С3 цитозинового кольца

Д. Аномальное гипо- и гиперметилирование CpG-островков генов может быть причиной онкологических заболеваний

4. Эксперимент по секвенированию показал, что, с учетом нормализации на глубину секвенирования и длину генов, экспрессия гена А в образце 1 по сравнению с образцом 2 увеличилась в 100 раз, в то время как экспрессия генов В, С, D, E, F и G уменьшилась на 10% в образце 1 по сравнению с образцом 2. Что может произойти после применения дополнительной нормализации по алгоритму DeSeq2 (median of ratios)?

- а) результаты не изменятся
- б) различия в экспрессии для гена А уменьшатся, а для генов В, С, D, E, F и G - увеличатся
- в) различия в экспрессии для гена А увеличатся, а для генов В, С, D, E, F и G – уменьшатся
- г) все найденные различия в экспрессии увеличатся

5. В чем основное преимущество (основные преимущества) методов на основе секвенирования по сравнению с гибридизационными ДНК-микрочипами при анализе полногеномного профиля связывания факторов транскрипции?

- а) более высокая разрешающая способность (точность определения положения сайтов связывания)
- б) возможность полногеномного исследования
- в) возможность проводить опыт в полевых условиях
- г) стоимость (финансовая рациональность полногеномного исследования)
- д) простота протокола

6. Сопоставьте программу и то, что она делает:

1. bwa
2. fastqc
3. freebayes

- а) Анализ качества коротких прочтений
- б) Выравнивание коротких прочтений на референсный геном
- в) Поиск вариантов в выровненных прочтениях

7. Расставьте варианты в порядке увеличения патогенности:

1. missense variant, приводящий к замене аспарагиновой кислоты на глутаминовую кислоту
2. missense variant, приводящий к замене фенилаланина на серин
3. stop gain в середине кодирующей последовательности
4. synonymous variant