

Somaatilised muutused kasvajakoe

Geneetikakeskus, molekulaardiagnostika, tel. 731 9489
www.kliinikum.ee/geneetikakeskus

Somaatiliste muutuste määramiseks kasvajakoe kasutatakse järgmise põlvkonna sekveneerimisel (*next generation sequencing*, NGS) põhinevat paneelanalüüsi, mis võimaldab analüüsida samaaegselt muutusi 523 geenis DNA tasemel ning 55 geenis RNA tasemel. Kasutatakse Illumina® TruSight™ Oncology 500 (TSOnco 500) geenipaneeli, millega on võimalik tuvastada väikseid ühenukleotiidivariante, insertioone, deletsioone, splaiss-saidi variante, geeni fusioone ning immunoteraapia jaoks spetsiifilisi geenilookuseid. Eelkõige on TSOnco 500 mõeldud soliidtuumorite diagnostikaks ning on disainitud ja optimeeritud eeskätt muutuste tuvastamiseks parafiinploki lõikudest (FFPE) eraldatud DNAST või RNAST. Esmaselt eraldatakse DNA ja RNA erinevatest FFPE lõikudest, kuid edasine töövoog toimub DNA ja RNA analüüsimisel üheaegselt. TSOnco 500 geenipaneel on hetkel kõige suurema geenide arvuga kommertsiaalselt pakutav paneel, millel olevad geenid võimaldavad määrata somaatilisi muutusi väga erinevates kudedes. Tootja infolehe andmetel on sobivateks kasvajateks kopsu-, kolorektaal-, rinna-, munasarja- mao-, põiekasvajad, samuti võiks seda kasutada melanoomi, sarkoomide ja ka müeloidsete kasvajate korral. NCCN juhendites toodud geenide nimekirjade järgi on ligikaudu 100% geenide katvus tagatud mitte-väikerakulise kopsuvähi, jämesoolevähi, pärasoolevähi, melanoomi, rinnavähi, neuroendokriinsete kasvajate, emaka- ja emakakaela kasvajate, maovähi ja pankrease adenokartsinoomi korral (Massard et al 2017). Uuritavate geenide nimekiri on toodud peatüki lõpus ning ka TÜK kliinilise geneetika keskuse kodulehel.

(https://www.kliinikum.ee/geneetikakeskus/pildid/saatelehed/Moldiag_saatelehed/ONCO_500_geenid.pdf)

Lisaks on võimalik antud paneeliga määrata ka mikrosatelliitide ebastabiilsust (MSI) ning kasvajakoe mutatsioonikoormust (TMB). Mikrosatelliitide ebastabiilsus uuritavas koes viitab MMR süsteemi geenidefektidele (DNA vigade paranduse geenid), mis on seotud pahaloomuliste kasvajate progressiooniga. Samuti on MSI farmakogeneetiliseks markeriks teatud immunoteraapiate korral (PMID:31151482). TMB-d hinnatakse kategooriates kõrge, keskmine, madal ja määramatu. TMB-kõrge on ≥ 20 mutatsiooni megabaasi (Mb) kohta (Mut/Mb), TMB-keskmine 6–19 Mut/Mb, TMB-madal ≤ 5 Mut/Mb. TMB-määramatu antakse vastuseks juhul, kui proovi kvaliteet ei ole piisavalt hea, et tulemust üheselt määrata.

Uuritav materjal, selle võtmine, saatmine ja säilitamine

Uuritavaks materjaliks sobib formaliinis fikseeritud parafiini sisestatud kasvajakude või metastaas. Soovituslik fikseerimise aeg on alla 24 h alates materjali võtmisest. Elektroonses tellimuses on vajalik märkida saatediagnoos, kasvajamaterjali päritolu, histoloogiline kirjeldus. Tuleb täita ka pabersaatekiri ning saata peale elektroonse tellimuse tegemist patoloogiateenistusse FFPE lõikude tegemiseks. FFPE saatmisel geneetiliseks uuringuks on vajalik, et patoloog hindaks kasvajarakkude sisaldust antud ploki.

Katsuti	3–5 steriilset 1,5 mL katsutit
Analüüsitav kogus	6 värskelt lõigatud 10 µm paksust koelõiku, 3 lõiku ühes 1,5 mL katsutis Kasvajakude peaks materjalilis olema $\geq 10\%$
Säilivus	Peale parafiinplokist lõikude tegemist 3–5 ööpäeva. Lõike hoida +4 °C. Laborisse võib saata toatemperatuuril.

Analüüsi tegemise aeg: tööpäeviti, analüüsi valmimisaeg on kuni 6 nädalat

Analüüsimeetodid: järgmise põlvkonna sekveneerimine (*next generation sequencing*, NGS), TruSight™ Oncology 500 Illumina®

Vastuse vorm

Genotüüp ja interpretatsioon ning TMB ja MSI hinnang.

Näidustus

Soliidtuumorid erinevates paikmetes.

Uuritavad muutused

ABL1+	CD79A	ERCC3	GLI1	INHBA	MST1R	PIK3R2	SDHB	TRAF2
ABL2	CD79B	ERCC4	GNA11	INPP4A	MTOR	PIK3R3	SDHC	TRAF7
ACVR1	CDC73	ERCC5	GNA13	INPP4B	MUTYH	PIM1	SDHD	TSC1
ACVR1B	CDH1	ERG+	GNAQ	INSR	MYB	PLCG2	SETBP1	TSC2
AKT1	CDK12	ERRFI1	GNAS	IRF2	MYC*+	PLK2	SETD2	TSHR
AKT2*	CDK4*+	ESR1*+	GPR124	IRF4	MYCL1*	PMAIP1	SF3B1	U2AF1
AKT3+	CDK6*	ETS1+	GPS2	IRS1	MYCN*	PMS1	SH2B3	VEGFA
ALK*+	CDK8	ETV1+	GREM1	IRS2	MYD88	PMS2	SH2D1A	VHL
ALOX12B	CDKN1A	ETV4+	GRIN2A	JAK1	MYOD1	PNRC1	SHQ1	VTCN1
ANKRD11	CDKN1B	ETV5+	GRM3	JAK2*+	NAB2	POLD1	SLIT2	WISP3
ANKRD26	CDKN2A	ETV6	GSK3B	JAK3	NBN	POLE	SLX4	WT1
APC	CDKN2B	EWSR1+	H3F3A	JUN	NCOA3	PPARG+	SMAD2	XIAP
AR*+	CDKN2C	EZH2	H3F3B	KAT6A	NCOR1	PPM1D	SMAD3	XPO1
ARAF	CEBPA	FAM123B	H3F3C	KDM5A	NEGR1	PPP2R1A	SMAD4	XRCC2
ARFRP1	CENPA	FAM175A	HGF	KDM5C	NF1	PPP2R2A	SMARCA4	YAP1
ARID1A	CHD2	FAM46C	HIST1H1	KDM6A	NF2	PPP6C	SMARCB1	YES1
ARID1B	CHD4	FANCA	C	KDR+	NFE2L2	PRDM1	SMARCD1	ZBTB2
ARID2	CHEK1*	FANCC	HIST1H2	KEAP1	NFKBIA	PREX2	SMC1A	ZBTB7A
ARID5B	CHEK2*	FANCD2	BD	KEL	NKX21	PRKAR1A	SMC3	ZFHX3
ASXL1	CIC	FANCE	HIST1H3	KIF5B+	NKX31	PRKCI	SMO	ZNF217
ASXL2	CREBBP	FANCF	A	KIT*+	NOTCH1+	PRKDC	SNCAIP	ZNF703
ATM*	CRKL	FANCG	HIST1H3	KLF4	NOTCH2+	PRSS8	SOCS1	ZRSR2
ATR	CRLF2	FANCI	B	KLHL6	NOTCH3+	PTCH1	SOX10	
ATRX	CSF1R+	FANCL	HIST1H3	KMT2B	NOTCH4	PTEN*	SOX17	
AURKA	CSF3R	FAS	C	KMT2C	NPM1	PTPN11	SOX2	
AURKB	CSNK1A1	FAT1	HIST1H3	KMT2D	NRAS*	PTPRD	SOX9	
AXIN1	CTCF	FBXW7	D	KRAS*	NRG1*+	PTPRS	SPEN	
AXIN2	CTLA4	FGF1*	HIST1H3E	LAMP1*	NSD1	PTPRT	SPOP	
AXL+	CTNNA1	FGF10*	HIST1H3F	LATS1	NTRK1+	QKI	SPTA1	
B2M	CTNNB1	FGF14*	HIST1H3	LATS2	NTRK2+	RAB35	SRC	
BAP1	CUL3	FGF19*	G	LMO1	NTRK3+	RAC1	SRSF2	
BARD1	CUX1	FGF2*	HIST1H3	LRP1B	NUP93	RAD21	STAG1	
BB3	CXCR4	FGF23*	H	LYN	NUTM1	RAD50	STAG2	
BCL10	CYLD	FGF3*	HIST1H3I	LZTR1	PAK1	RAD51	STAT3	
BCL2+	DAXX	FGF4*	HIST1H3J	MAGI2	PAK3	RAD51B	STAT4	
BCL2L1	DCUN1D1	FGF5*	HIST2H3	MALT1	PAK7	RAD51C	STAT5A	
BCL2L11	DDR2	FGF6*	A	MAP2K1	PALB2	RAD51D	STAT5B	
BCL2L2	DDX41	FGF7*	HIST2H3	MAP2K2	PARK2	RAD52	STK11	
BCL6	DHX15	FGF8*	C	MAP2K4	PARP1	RAD54L	STK40	
BCOR	DICER1	FGF9*	HIST2H3	MAP3K1	PAX3+	RAF1*+	SUFU	
BCORL1	DIS3	FGFR1*+	D	MAP3K13	PAX5	RANBP2	SUZ12	
BCR	DNAJB1	FGFR2*+	HIST3H3	MAP3K14	PAX7+	RARA	SYK	
BIRC3	DNMT1	FGFR3*+	H3A	MAP3K4	PAX8	RASA1	TAF1	
BLM	DNMT3A	FGFR4*+	HLAB	MAPK1	PBRM1	RB1	TBX3	
BMPR1A	DNMT3B	FH	HLAC	MAPK3	PDCD1	RBM10	TCEB1	
BRAF*+	DOT1L	FLCN	HNF1A	MAX	PDCD1LG	RECQL4	TCF3	
BRCA1*+	E2F3	FLI1+	HNRNPK	MCL1	2	REL	TCF7L2	
BRCA2*+	EED	FLT1+	HOXB13	MDC1	PDGFRA*	RET*+	TERC	
BRD4	EGFL7	FLT3+	HRAS	MDM2*	+	RFWD2	TERT	
BRIP1	EGFR*+	FLT4	HSD3B1	MDM4*	PDGFRB*	RHEB	TET1	
BTG1	EIF1AX	FOXA1	HSP90AA	MED12	+	RHOA	TET2	
BTK	EIF4A2	FOXL2	1	MEF2B	PDK1	RICTOR*	TFE3	
C11orf30	EIF4E	FOXO1	ICOSLG	MEN1	PDPK1	RIT1	TFRC*	
CALR	EML4+	FOXP1	ID3	MET*+	PGR	RNF43	TGFBFR1	
CARD11	EP300	FRS2	IDH1	MGA	PHF6	ROS1+	TGFBFR2	
CASP8	EPCAM	FUBP1	IDH2	MITF	PHOX2B	RPS6KA4	TMEM127	
CBFB	EPHA3	FYN	IFNGR1	MLH1	PIK3C2B	RPS6KB1	TMPSR2	
CBL	EPHA5	GABRA6	IGF1	MLL+	PIK3C2G	*+	+	
CCND1*	EPHA7	GATA1	IGF1R	MLLT3+	PIK3C3	RPS6KB2	TNFAIP3	
CCND2	EPHB1	GATA2	IGF2	MPL	PIK3CA*	RPTOR	TNFRSF1	
CCND3*	ERBB2*+	GATA3	IKBKE	MRE11A	+	RUNX1	4	
CCNE1*	ERBB3*	GATA4	IKZF1	MSH2+	PIK3CB*	RUNX1T1	TOP1	
CD274	ERBB4	GATA6	IL10	MSH3	PIK3CD	RYBP	TOP2A	
CD276	ERCC1*	GEN1	IL7R	MSH6	PIK3CG	SDHA	TP53	
CD74	ERCC2*	GID4	INHA	MST1	PIK3R1	SDHAF2	TP63	

* fokaalamplifikatsioon

+ fusioonid (NB! Kaetud vaid juhul, kui on teostatud lisaks DNA analüüsile ka RNA analüüs).