

Somaatilised muutused kasvajakoe

Geneetika ja personaalmeditsiini kliinik, laboratoorse geneetika osakond, molekulaardiagnostika labor, tel. 731 9487
www.kliinikum.ee/geneetika

Somaatilisi muutusi tuumorikoest määratakse kasvaja täpsema diagnostika, haiguse prognoosi või sihtmärkravi leidmise eesmärgil. Somaatiliste muutuste määramiseks kasvajakoe kasutatakse järgmise põlvkonna sekveneerimisel (*next generation sequencing* - NGS) põhinevat paneelanalüüsi, mis võimaldab samaaegselt analüüsida muutusi 523 geenis DNA tasemel ning 55 geenis RNA tasemel. Kasutatakse Illumina TruSight™ Oncology 500 geenipaneeli. Eelkõige on meetodika mõeldud muutuste määramiseks soliidtuumoritest ning analüüs on disainitud ja optimeeritud formaliinis fikseeritud parafiini sisestatud lõikudest (FFPE) DNA või RNA analüüsimiseks.

TruSight™ Oncology 500 on hetkel kõige suurema geenide arvuga kommertsiaalselt geenipaneel, mis võimaldab testida somaatilisi muutusi väga erinevates kudedes. Sobivateks kasvajateks on kopsu-, kolorektaal-, rinna-, munasarja- mao-, põievähid, samuti saab seda kasutada melanoomi, sarkoomide ja muude haruldaste kasvajate korral. NCCN juhendites toodud geenide nimekirjade järgi on paneeliga kaetud mitteväikerakulise kopsuvähi, jämesoolevähi, pärasoolevähi, melanoomi, rinnavähi, neuroendokriinsete kasvajate, emaka- ja emakakaela vähi, maovähi ning pankrease adenokartsinoomi olulised markerid.

Uuritavad geenid ja muutused

Täieliku nimekirja analüüsitavatest geenidest leiab peatüki lõpus ning kodulehelt <https://www.kliinikum.ee/geneetika>.

Lisaks on analüüsiga võimalik määrata mikrosatelliitide ebastabiilsust (MSI) ning kasvajakoe mutatsioonikoormust (TMB). Mikrosatelliitide ebastabiilsus uuritavas koes viitab DNA valepaardumise reparatsioonisüsteemi geenide defektile (*mismatch repair* – MMRd), mis on seotud erinevate pahaloomuliste kasvajate progressiooniga. Samuti on MSI farmakogeneetiliseks markeriks teatud immunoteraapiate korral (PMID: 31151482). Kasvajakoe mutatsioonikoormuse ühik on mutatsioonide arv ühe megabaasi DNA kohta.

Geenipaneeli sekveneerimisega tuvastatakse uuritud geenides punktmutatsioone ja väikseid (kuni 10 aluspaari suuruseid) insertioone-deletsioone (indeleid). Geenipaneeli sekveneerimisega ei ole võimalik tuvastada kromosomaalseid aberratsioone (suured deletsioonid ja duplikatsioonid, trisoomiad, translokatsioonid), üksikute geenide/eksonite deletsioone ja duplikatsioone, kordusjärjestusi ning üldjuhul ka reguleerivate alade muutusi väljaspool eksoneid.

Uuritav materjal, selle võtmine, saatmine ja säilitamine

Uuritavaks materjaliks sobivad kasvajakoe FFPE lõigud (algkolle, metastaas, retsidiiv). Soovituslik fikseerimise aeg alla 24 tunni. Elektroonses tellimuses on vajalik märkida saatediagnoos, kasvajamaterjali päritolu, histoloogiline kirjeldus. FFPE proovi saatmisel geneetiliseks uuringuks on vajalik, et patoloog hindaks kasvajarakkude sisaldust antud plakis. Luu korral ei sobi dekaltsifitseeritud materjal!

Elektroonse tellimise võimaluse puudumisel tuleb koos uuritava materjaliga saata molekulaardiagnostika laborisse täidetud tellimisleht – Somaatilised muutused

kasvajakoest (NGS, FFPE). Tellimislehe leiab kodulehelt
<https://www.kliinikum.ee/geneetika>.

Katsuti	Steriilne katsuti (1,5 mL)
Analüüsitav kogus	2×3 värskest lõigatud 10 µm paksust koelõiku, 3 lõiku ühes 1,5 mL katsutis. Kasvajarakke peaks materjalis olema $\geq 10\%$.
Säilivus	FFPE lõigud +4 °C juures 3–5 päeva. Laborisse võib saata toatemperatuuril.

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

Analüüsimeetod: järgmise põlvkonna sekveneerimistehnoloogia (*next generation sequencing* – NGS), Illumina TruSight™ Oncology 500.

Vastuse vorm

Kasvajakoest tuvastatud muutused ja interpretatsioon ning TMB/MSI hinnang.

Näidustus

Soliidtuumorite somaatiliste muutuste määramine erinevatest paikmetest (kasvajate diagnostika, sihtmärkravi määramine).

Muudetud 18.05.2023

Kadri Rekker/Mikk Tooming

TruSight Oncology 500 paneeliga kaetud geenid

* Fokaal amplifikatsioon

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

ABL1+	CEBPA	FBXW7	HSP90AA1	MST1	PRDM1	SRC
ABL2	CENPA	FGF1*	ICOSLG	MST1R	PREX2	SRSF2
ACVR1	CHD2	FGF10*	ID3	MTOR	PRKAR1A	STAG1
ACVR1B	CHD4	FGF14*	IDH1	MUTYH	PRKCI	STAG2
AKT1	CHEK1*	FGF19*	IDH2	MYB	PRKDC	STAT3
AKT2*	CHEK2*	FGF2*	IFNGR1	MYC*+	PRSS8	STAT4
AKT3+	CIC	FGF23*	IGF1	MYCL1*	PTCH1	STAT5A
ALK*+	CREBBP	FGF3*	IGF1R	MYCN*	PTEN*	STAT5B
ALOX12B	CRKL	FGF4*	IGF2	MYD88	PTPN11	STK11
ANKRD11	CRLF2	FGF5*	IKBKE	MYOD1	PTPRD	STK40
ANKRD26	CSF1R+	FGF6*	IKZF1	NAB2	PTPRS	SUFU
APC	CSF3R	FGF7*	IL10	NBN	PTPRT	SUZ12
AR*+	CSNK1A1	FGF8*	IL7R	NCOA3	QKI	SYK
ARAF	CTCF	FGF9*	INHBA	NCOR1	RAB35	TAF1
ARFRP1	CTLA4	FGFR1*+	INHA	NEGR1	RAC1	TBX3
ARID1A	CTNNA1	FGFR2*+	INPP4A	NF1	RAD21	TCEB1
ARID1B	CTNNB1	FGFR3*+	INPP4B	NF2	RAD50	TCF3
ARID2	CUL3	FGFR4*+	INSR	NFE2L2	RAD51	TCF7L2
ARID5B	CUX1	FH	IRF2	NFKBIA	RAD51B	TERC
ASXL1	CXCR4	FLCN	IRF4	NKX21	RAD51C	TERT
ASXL2	CYLD	FLI1+	IRS1	NKX31	RAD51D	TET1
ATM*	DAXX	FLT1+	IRS2	NOTCH1+	RAD52	TET2
ATR	DCUN1D1	FLT3+	JAK1	NOTCH2+	RAD54L	TFE3
ATRX	DDR2	FLT4	JAK2*+	NOTCH3+	RAF1*+	TFRC*
AURKA	DDX41	FOXA1	JAK3	NOTCH4	RANBP2	TGFBR1
AURKB	DHX15	FOXO1	JUN	NPM1	RARA	TGFBR2
AXIN1	DICER1	FOXO1	KAT6A	NRAS*	RASA1	TMEM127
AXIN2	DIS3	FOXP1	KDM5A	NRG1*+	RB1	TMPPRSS2+
AXL+	DNAJB1	FRS2	KDM5C	NSD1	RBM10	TNFAIP3
B2M	DNMT1	FUBP1	KDM6A	NTRK1+	RECQL4	TNFRSF14
BAP1	DNMT3A	FYN	KDR+	NTRK2+	REL	TOP1
BARD1	DNMT3B	GABRA6	KEAP1	NTRK3+	RET*+	TOP2A
BBC3	DOT1L	GATA1	KEL	NUP93	RFWD2	TP53
BCL10	E2F3	GATA2	KIF5B+	NUTM1	RHEB	TP63
BCL2+	EED	GATA3	KIT*+	PAK1	RHOA	TRAF2
BCL2L1	EGFL7	GATA4	KLF4	PAK3	RICTOR*	TRAF7
BCL2L11	EGFR*+	GATA6	KLHL6	PAK7	RIT1	TSC1
BCL2L2	EIF1AX	GEN1	KMT2B	PALB2	RNF43	TSC2
BCL6	EIF4A2	GID4	KMT2C	PARK2	ROS1+	TSHR
BCOR	EIF4E	GLI1	KMT2D	PARP1	RPS6KA4	U2AF1
BCORL1	EML4+	GNA11	KRAS*	PAX3+	RPS6KB1*	VEGFA
BCR	EP300	GNA13	LAMP1*	PAX5	+	VHL
BIRC3	EPCAM	GNAQ	LATS1	PAX7+	RPS6KB2	VTCN1
BLM	EPHA3	GNAS	LATS2	PAX8	RPTOR	WISP3
BMPR1A	EPHA5	GPR124	LMO1	PBRM1	RUNX1	WT1
BRAF*+	EPHA7	GPS2	LRP1B	PDCD1	RUNX1T1	XIAP
BRCA1*+	EPHB1	GREM1	LYN	PDCD1LG2	RYBP	XPO1
BRCA2*+	ERBB2*+	GRIN2A	LZTR1	PDGFRA*+	SDHA	XRCC2
BRD4	ERBB3*	GRM3	MAGI2	PDGFRB*+	SDHAF2	YAP1
BRIP1	ERBB4	GSK3B	MALT1	PDK1	SDHB	YES1
BTG1	ERCC1*	H3F3A	MAP2K1	PDPK1	SDHC	ZBTB2
BTK	ERCC2*	H3F3B	MAP2K2	PGR	SDHD	ZBTB7A
C11orf30	ERCC3	H3F3C	MAP2K4	PHF6	SETBP1	ZFHX3
CALR	ERCC4	HGF	MAP3K1	PHOX2B	SETD2	ZNF217
CARD11	ERCC5	HIST1H1C	MAP3K13	PIK3C2B	SF3B1	ZNF703
CASP8	ERG+	HIST1H2BD	MAP3K14	PIK3C2G	SH2B3	ZRSR2
CBFB	ERRFI1	HIST1H3A	MAP3K4	PIK3C3	SH2D1A	
CBL	ESR1*+	HIST1H3B	MAPK1	PIK3CA*+	SHQ1	
CCND1*	ETS1+	HIST1H3C	MAPK3	PIK3CB*	SLIT2	
CCND2	ETV1+	HIST1H3D	MAX	PIK3CD	SLX4	
CCND3*	ETV4+	HIST1H3E	MCL1	PIK3CG	SMAD2	
CCNE1*	ETV5+	HIST1H3F	MDC1	PIK3R1	SMAD3	
CD274	ETV6	HIST1H3G	MDM2*	PIK3R2	SMAD4	
CD276	EWSR1+	HIST1H3H	MDM4*	PIK3R3	SMARCA4	
CD74	EZH2	HIST1H3I	MED12	PIM1	SMARCB1	
CD79A	FAM123B	HIST1H3J	MEF2B	PLCG2	SMARCD1	
CD79B	FAM125A	HIST2H3A	MEN1	PLK2	SMC1A	
CDC73	FAM46C	HIST2H3C	MET*+	PMAIP1	SMC3	
CDH1	FANCA	HIST2H3D	MGA	PMS1	SMO	
CDK12	FANCC	HIST3H3	MITF	PMS2	SNCAIP	
CDK4*+	FANCD2	HLAA	MLH1	PNRC1	SOC51	
CDK6*	FANCE	HLAB	MLL+	POLD1	SOX10	
CDK8	FANCF	HLAC	MLLT3+	POLE	SOX17	
CDKN1A	FANCG	HNF1A	MPL	PPARG+	SOX2	
CDKN1B	FANCI	HNRNPK	MRE11A	PPM1D	SOX9	
CDKN2A	FANCL	HOXB13	MSH2+	PPP2R1A	SPEN	
CDKN2B	FAS	HRAS	MSH3	PPP2R2A	SPOP	
CDKN2C	FAT1	HSD3B1	MSH6	PPP6C	SPTA1	