

Somaatilised muutused kasvajakoe (NGS, FFPE)

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

Somaatilisi muutuseid 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 Illumina TruSight™ Oncology 500, mis võimaldab samaaegselt analüüsida muutusi 523 geenis DNA tasemel ning 1385 geenis RNA tasemel. Analüüsiga on kaetud geenide kodeeriva ala mutatsioonide määramine ning amplifikatsioonide ja kogu geeni hõlmavate deletsioonide määramine; RNA põhistest muutustest määratakse fusioone ning splaissingu muutuseid. Eelkõige on meetodika mõeldud muutuste määramiseks soliidtuumoritest ning analüüs on disainitud ja optimeeritud formaliinis fikseeritud parafiini sisestatud (FFPE) lõikudest eraldatud DNA või RNA analüüsiks.

TruSight™ Oncology 500 on hetkel kõige suurema geenide arvuga kommertsiaalselt pakutav paneel, mis võimaldab testida somaatilisi muutusi väga erinevates kudedes. Sobivateks kasvajateks on kopsu-, kolorektaal-, rinna-, munasarja- mao-, põiekasvajad, samuti saab analüüsida melanoomi, sarkoomide ja muude haruldaste kasvajate korral. NCCN juhendites toodud testimist vajavate geenide nimekirjade järgi on paneeliga kaetud mitteväikerakulise kopsuvähi, jämesoole kasvaja, pärasoolekasvaja, melanoomi, rinnavähi, neuroendokriinsete kasvajate, emaka ja emakakaela kasvajate, maovähi, pankrease adenokartsinoomi seisukohast kõik olulised markerid.

Uuritavad geenid ja muutused

Võimaldab analüüsida samaaegselt kasvajakoe DNA muutusi 523 geenis ning RNA muutusi 1385 geenis. Täieliku nimekirja analüüsitavaatest 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 ning TMB farmakogeneetiliseks markeriks teatud immuunoteraapiate korral (PMID: 31151482). Lisaks võimaldab analüüs määrata homoloogse rekombinatsiooni defitsiitsust (HRD).

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

Uuritav materjal, selle võtmine, saatmine ja säilitamine

Uuritavaks materjaliks sobivad FFPE kasvajakoe (algkolle, metastaas, retsidiiv) lõigud. Soovituslik fikseerimise aeg alla 24h. Elektroonses tellimuses on vajalik märkida saatediagnoos, kasvajamaterjali päritolu, histoloogiline kirjeldus. FFPE proovi saatmisel

geneetiliseks uuringuks on vajalik, et patoloog hindaks kasvajarakkude sisalduse antud plokis. LUUMATERJALI KORRAL EI SOBI DEKALTSIFITSEERITUD MATERJAL!

Elektroonse tellimise võimaluse puudumisel tuleb koos uuritava materjaliga saata molekulaardiagnostika laborisse ka täidetud pabersaatekiri – Somaatilised muutused tuumorikoest (NGS, FFPE). Saatelehe leiab kodulehelt <https://www.kliinikum.ee/geneetikakeskus>.

Katsuti	Steriilsed 1,5 mL katsutid, 3-5 tk.
Analüüsitav kogus	FFPE koelõigud: 2×3 värskelt lõigatud 10 µm paksust koelõiku, 3 lõiku ühes 1,5 mL katsutis. Kasvajakke peaks materjalis olema $\geq 10\%$. HRD analüüsiks vajalik kasvajarakkude hulk $> 30\%$.
Säilivus	FFPE koelõigud: peale parafiinplokist lõikude tegemist 3–5 ööpäeva. Peale lõikude tegemist hoida +4 °C. 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. HRD analüüsi tellimisel lisaks HRD hinnang ning interpretatsioon.

Näidustus

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

TruSight Oncology 500 kaetud geenid

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

ABL1+	CHD2	FGF19	IGF1	MYD88	PTPRS	TAF1
ABL2	CHD4	FGF2	IGF1R	MYOD1	PTPRT	TBX3
ACVR1	CHEK1	FGF23	IGF2	NAB2	QKI	TCEB1
ACVR1B	CHEK2	FGF3	IKBKE	NBN	RAB35	TCF3
AKT1	CIC	FGF4	IKZF1	NCOA3	RAC1	TCF7L2
AKT2	CREBBP	FGF5	IL10	NCOR1	RAD21	TERC
AKT3+	CRKL	FGF6	IL7R	NEGR1	RAD50	TERT
ALK+	CRLF2	FGF7	INHA	NF1	RAD51	TET1
ALOX12B	CSF1R+	FGF8	INHBA	NF2	RAD51B	TET2
ANKRD11	CSF3R	FGF9	INPP4A	NFE2L2	RAD51C	TFE3
ANKRD26	CSNK1A1	FGFR1+	INPP4B	NFKBIA	RAD51D	TFRC
APC	CTCF	FGFR2+	INSR	NKX21	RAD52	TGFBR1
AR+	CTLA4	FGFR3+	IRF2	NKX31	RAD54L	TGFBR2
ARAF	CTNNA1	FGFR4+	IRF4	NOTCH1+	RAF1+	TMEM127
ARFRP1	CTNNB1	FH	IRS1	NOTCH2+	RANBP2	TMPRSS2+
ARID1A	CUL3	FLCN	IRS2	NOTCH3+	RARA	TNFAIP3
ARID1B	CUX1	FLI1+	JAK1	NOTCH4	RASA1	TNFRSF14
ARID2	CXCR4	FLT1+	JAK2+	NPM1	RB1	TOP1
ARID5B	CYLD	FLT3+	JAK3	NRAS	RBM10	TOP2A
ASXL1	DAXX	FLT4	JUN	NRG1+	RECQL4	TP53
ASXL2	DCUN1D1	FOXA1	KAT6A	NSD1	REL	TP63
ATM	DDR2	FOXL2	KDM5A	NTRK1+	RET+	TRAF2
ATR	DDX41	FOXO1	KDM5C	NTRK2+	RFWD2	TRAF7
ATRX	DHX15	FOXP1	KDM6A	NTRK3+	RHEB	TSC1
AURKA	DICER1	FRS2	KDR+	NUP93	RHOA	TSC2
AURKB	DIS3	FUBP1	KEAP1	NUTM1	RICTOR	TSHR
AXIN1	DNAJB1	FYN	KEL	PAK1	RIT1	U2AF1
AXIN2	DNMT1	GABRA6	KIF5B+	PAK3	RNF43	VEGFA
AXL+	DNMT3A	GATA1	KIT+	PAK7	ROS1+	VHL
B2M	DNMT3B	GATA2	KLF4	PALB2	RPS6KA4	VTCN1
BAP1	DOT1L	GATA3	KLHL6	PARK2	RPS6KB1+	WISP3
BARD1	E2F3	GATA4	KMT2B	PARP1	RPS6KB2	WT1
BBC3	EED	GATA6	KMT2C	PAX3+	RPTOR	XIAP
BCL10	EGFL7	GEN1	KMT2D	PAX5	RUNX1	XP01
BCL2+	EGFR+	GID4	KRAS	PAX7+	RUNX1T1	XRCC2
BCL2L1	EIF1AX	GLI1	LAMP1	PAX8	RYBP	YAP1
BCL2L11	EIF4A2	GNA11	LATS1	PBRM1	SDHA	YES1
BCL2L2	EIF4E	GNA13	LATS2	PDCD1	SDHAFA2	ZBTB2
BCL6	EML4+	GNAQ	LMO1	PDCD1LG2	SDHB	ZBTB7A
BCOR	EP300	GNAS	LRP1B	PDGFRA+	SDHC	ZFHX3
BCORL1	EPCAM	GPR124	LYN	PDGFRB+	SDHD	ZNF217
BCR	EPHA3	GPS2	LZTR1	PDK1	SETBP1	ZNF703
BIRC3	EPHA5	GREM1	MAGI2	PDPK1	SETD2	ZRSR2
BLM	EPHA7	GRIN2A	MALT1	PGR	SF3B1	
BMPR1A	EPHB1	GRM3	MAP2K1	PHF6	SH2B3	
BRAF+	ERBB2+	GSK3B	MAP2K2	PHOX2B	SH2D1A	
BRCA1+	ERBB3	H3F3A	MAP2K4	PIK3C2B	SHQ1	
BRCA2+	ERBB4	H3F3B	MAP3K1	PIK3C2G	SLIT2	
BRD4	ERCC1	H3F3C	MAP3K13	PIK3C3	SLX4	
BRIP1	ERCC2	HGF	MAP3K14	PIK3CA+	SMAD2	
BTG1	ERCC3	HIST1H1C	MAP3K4	PIK3CB	SMAD3	
BTK	ERCC4	HIST1H2BD	MAPK1	PIK3CD	SMAD4	
C11orf30	ERCC5	HIST1H3A	MAPK3	PIK3CG	SMARCA4	
CALR	ERG+	HIST1H3B	MAX	PIK3R1	SMARCB1	
CARD11	ERRF1	HIST1H3C	MCL1	PIK3R2	SMARCD1	
CASP8	ESR1+	HIST1H3D	MDC1	PIK3R3	SMC1A	
CBFB	ETS1+	HIST1H3E	MDM2	PIM1	SMC3	
CBL	ETV1+	HIST1H3F	MDM4	PLCG2	SMO	
CCND1	ETV4+	HIST1H3G	MED12	PLK2	SNCAIP	
CCND2	ETV5+	HIST1H3H	MEF2B	PMAIP1	SOCS1	
CCND3	ETV6	HIST1H3I	MEN1	PMS1	SOX10	
CCNE1	EWSR1+	HIST1H3J	MET+	PMS2	SOX17	
CD274	EZH2	HIST2H3A	MGA	PNRC1	SOX2	
CD276	FAM123B	HIST2H3C	MITF	POLD1	SOX9	
CD74	FAM175A	HIST2H3D	MLH1	POLE	SPEN	
CD79A	FAM46C	HIST3H3	MLL+	PPARG+	SPOP	
CD79B	FANCA	HLAA	HLAA	MLLT3+	SPTA1	
CDC73	FANCC	HLAB	HLAB	MPL	SRC	
CDH1	FANCD2	HLAC	HLAC	MRE11A	SRSF2	
CDK12	FANCE	HNF1A	HNF1A	MSH2+	STAG1	
CDK4+	FANCF	HNRNP	HNRNP	MSH3	STAG2	
CDK6	FANCG	HOXB13	HOXB13	MSH6	STAT3	
CDK8	FANCI	HRAS	HRAS	MST1	STAT4	
CDKN1A	FANCL	HSD3B1	HSD3B1	MST1R	STAT5A	
CDKN1B	FAS	HSP90AA1	HSP90AA1	MTOR	STAT5B	
CDKN2A	FAT1	ICOSLG	ICOSLG	MUTYH	STK11	
CDKN2B	FBXW7	ID3	ID3	MYB	STK40	
CDKN2C	FGF1	IDH1	IDH1	MYC+	SUFU	
CEBPA	FGF10	IDH2	IDH2	MYCL1	SUZ12	
CENPA	FGF14	IFNGR1	IFNGR1	MYCN	SYK	