

## UNTERSUCHUNG 161 KLINISCH RELEVANTER TUMOR-GENE MITTELS NGS (DNA UND RNA)

### ANFORDERUNG

NGS-Panel austherapierte Patienten (161-Gen-Panel: Mutationen [DNA] und Fusionen [RNA])

### WISSENSCHAFTLICHER HINTERGRUND

Zahlreiche klinische Sequenzierprojekte haben ergeben, dass humane Tumore eine Vielzahl von Mutationen in verschiedenen Genen aufweisen können<sup>1</sup>. Darüber hinaus unterliegt die Tumor-DNA stetigen Veränderungen, so können sich beispielsweise unter Therapie Resistenz-Mutationen ausbilden. Diagnostisch nachgewiesene Mutationen, Gen-Fusionen und Kopienzahlveränderungen bieten mitunter Angriffspunkte für zielgerichtete Therapien, die auf bestimmte Signalwege abzielen<sup>2,3</sup>. Der Einsatz von so genannten Tumor-Multi-Gen-Panels ermöglicht hier zeitsparend die parallele Untersuchung einer Vielzahl von klinisch relevanten Genen. Solche Panels unterstützen somit die Weiterentwicklung der Präzisionsmedizin.

Das verwendete sogenannte „AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3“ (Illumina)<sup>4</sup> basiert auf der Next-Generation-Sequencing-Methode. Dieses Panel stellt eine Zusammenstellung von 161 möglicherweise therapeutisch und prognostisch relevanten DNA- und RNA-Abschnitten dar. Die untersuchten Abschnitte sind in den folgenden Tabellen gelistet:

#### 134 Gene untersucht auf Mutationen (\*nur Hotspots untersucht):

AKT1\*, AKT2\*, AKT3\*, ALK\*, AR\*, ARAF\*, ARID1A, ATM, ATR, ATRX, AXL\*, BAP1, BRAF\*, BRCA1, BRCA2, BTK\*, CBL\*, CCND1\*, CDK12, CDK4\*, CDK6\*, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CHEK1, CHEK2\*, CREBBP, CSF1R\*, CTNNB1\*, DDR2\*, EGFR\*, ERBB2\*, ERBB3\*, ERBB4\*, ERCC2\*, ESR1\*, EZH2\*, FANCA, FANCD2, FANCI, FBXW7, FGFR1\*, FGFR2\*, FGFR3\*, FGFR4\*, FLT3\*, FOXL2\*, GATA2\*, GNA11\*, GNAQ\*, GNAS\*, H3F3A\*, HIST1H3B\*, HNF1A\*, HRAS\*, IDH1\*, IDH2\*, JAK1\*, JAK2\*, JAK3\*, KDR\*, KIT\*, KNSTRN\*, KRAS\*, MAGOH\*, MAP2K1\*, MAP2K2\*, MAP2K4\*, MAPK1\*, MAX\*, MDM4\*, MED12\*, MET\*, MLH1, MRE11A, MSH2, MSH6, MTOR\*, MYC\*, MYCN\*, MYD88\*, NBN, NF1, NF2, NFE2L2\*, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NRAS\*, NTRK1\*, NTRK2\*, PALB2, PDGFRA\*, PDGFRB\*, PIK3CA\*, PIK3CB\*, PIK3R1, PMS2, POLE, PPP2R1A\*, PTCH1, PTEN, PTPN11\*, RAC1\*, RAD50, RAD51, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAF1\*, RB1, RET\*, RHEB\*, RHOA\*, RNF43, ROS1\*, SETD2, SF3B1\*, SLX4, SMAD4\*, SMARCA4, SMARCB1, SMO\*, SPOP\*, SRC\*, STAT3\*, STK11, TERT\*, TOP1\*, TP53, TSC1, TSC2, U2AF1\*, XPO1\*

#### 51 Gene untersucht auf Fusionen:

AKT2, ALK, AR, AXL, BRAF, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, EGFR, ERBB2, ERBB4, ERG, ESR1, ETV1, ETV4, ETV5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGR, FLT3, JAK2, KRAS, MDM4, MET, MYB, MYBL1, NF1, NOTCH1, NOTCH4, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUTM1, PDGFRA, PDGFRB, PIK3CA, PPARG, PRKACA, PRKACB, PTEN, RAD51B, RAF1, RB1, RELA, RET, ROS1, RSPO2, RSPO3, TERT

Die kodierende Sequenz bzw. die o.g. Hotspot-Bereiche (i.d.R. des Transkripts des längsten offenen Leserahmens) werden auf Punktmutationen und kleinere Deletionen und Insertionen untersucht. Des Weiteren werden die o.g. Gene auf spezifische, bereits bekannte Genfusionen untersucht. Eine detaillierte Auflistung der enthaltenen Genabschnitte bzw. Fusionen wird auf Anfrage gerne zur Verfügung gestellt. Auf wissenschaftlicher Basis wird außerdem eine Kopienzahl-Analyse durchgeführt

### UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Die NGS-Analytik kann an Tumormaterial durchgeführt werden, welches im Rahmen der pathologischen Diagnostik sowieso untersucht und verfügbar ist, sog. Paraffin-eingebettetes Gewebe (FFPE-Material).

## NACHWEISMETHODE

Ausgehend von Schnittpräparaten dieses Materials auf Glasobjektträgern kann der Pathologe Bereiche mit einem hohen Anteil an Tumorzellen anzeichnen, die für die Isolation der DNA und RNA in ein Gefäß überführt werden. Mit Hilfe der PCR-Technik und einer Sequenzieretechnik, dem Next-Generation-Sequencing-Verfahren, lassen sich dann aus der DNA und aus der in cDNA umgewandelten RNA die spezifischen Gene bzw. Genfusionen vermehren und analysieren. Nur das Next-Generation-Sequencing-Verfahren erlaubt die rasche Untersuchung von mehreren Millionen DNA-Basen in wenigen Tagen.

## LITERATUR

<sup>1</sup>Weinstein JN et al., Nat Genet. 2013 Oct;45(10):1113-20.

<sup>2</sup>Jones S et al., Sci Transl Med. 2015 Apr 15;7(283):283ra53.

<sup>3</sup>Carr TH et al., Nat Rev Cancer. 2016 Apr 26;16(5):319-29.

<sup>4</sup><https://emea.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-comprehensive-panel.html#>