

Next Generation Sequencing: Erläuterungen zum Bericht und Berichtsinterpretation

Welche Informationen finden sich im Bericht

Unsere Berichte enthalten in der Regel zwei Teile. Im ersten Teil finden sich bislang gut etablierte prädiktive Genmutationen (siehe Liste unten). In einem zweiten Teil werden alle anderen relevanten Mutationen genannt.

Der als Tumorzellgehalt angegebene Prozentsatz entspricht dem Verhältnis der Tumorzellen zur Gesamtanzahl der untersuchten Zellen. Es wurde dafür ein geeignetes Areal ausgewählt und selektiv untersucht.

Der nach dem Mutationsnamen angegebene Prozentsatz entspricht dem Verhältnis von mutierten Sequenzen zur Gesamtanzahl der amplifizierten Sequenzen dieses Hotspots (sog. allelic frequency).

Mutationen mit bekannter klinischer Relevanz werden als: pathogen – wahrscheinlich pathogen – unbekannte Bedeutung – wahrscheinlich benigne – benigne bewertet. Diese Klassifizierung wurde vom American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology vorgeschlagen (Richards S. et al, Genet Med., 17: 405-423, 2015).

Wenn eine Mutation in „Clinvar“ (ein Verzeichnis, das die Beziehung zwischen humanen Variationen und Phänotypen beschreibt) zwar vorkommt aber hierzu nichts Näheres bekannt ist oder widersprüchliche Daten vorliegen wird diese als „unbekannte Bedeutung“ klassifiziert. Mutationen, die in „Clinvar“ mit dem Vermerk „drug response“ geführt werden erscheinen in der Rubrik „Prädiktive Resultate“. Falls eine Mutation im „Clinvar“ nicht verzeichnet ist, wird im Methodikteil keine Referenz angegeben (\triangleq „nicht bekannt“ als Bewertung). Ein entsprechender Link zur korrespondierenden Seite auf „Clinvar“ finden Sie in der Rubrik „Methodik“ des NGS-Berichtes.

Gefundene Mutationen werden in jedem Fall genannt. Für nicht in der Diagnose aufgeführte Gene kann davon ausgegangen werden, dass in den entsprechenden vom Panel abgedeckten Hotspots keine Mutation vorliegt. Nicht analysierbare Gene oder Genabschnitte werden als solche im Bericht kenntlich gemacht.

Zusätzlich wird ein Kommentar angegeben, dass für Mutationen, die in ca. 50% der untersuchten Zellen gefunden wurden eine mögliche Keimbahnmutation/Polymorphismus nicht ausgeschlossen werden kann.

Beispiel eines NGS-Berichtes:

Resultat der molekularen Zusatzuntersuchung

B2015.99999:

Labium minus (Exzision):

Pigmentiertes noduläres malignes Melanom des Labium minus links (Tumordurchmesser 7mm) mit Ulzeration (Durchmesser des Ulkus 5mm). Tumorinfiltration der retikulären Dermis. 20 Mitosen pro mm². Keine Tumorregression. Keine Gefässinvasion. Keine perineurale Ausbreitung. Das Melanom reicht bis in einen seitlichen Resektionsrand und bis 0,2mm vor den tiefen Resektionsrand.

Resultat der Gensequenzierungen des Oncomine™ Focus Assay (Tumorzellgehalt 90%):

Prädiktive Resultate:

BRAF: p.V600E (48%), Bewertung: pathogen

Übrige Resultate:

SMAD4: p.W524C (68%), Bewertung: nicht bekannt

KIT: p.M541L (52%), Bewertung : benigne

Kommentar:

Der nach dem Mutationsnamen angegebene Prozentsatz entspricht dem Verhältnis von mutierten Sequenzen zur Gesamtanzahl der amplifizierten Sequenzen dieses Hotspots (sog. allelic frequency). Bei einer Allelfrequenz von ca. 50% kann eine Keimbahnmutation/Polymorphismus nicht ausgeschlossen werden

Methodik:

Link für die Mutationsreferenzen:

KRAS: p.G13D: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/12580/>

Anreicherung der Tumorzellen auf einen Anteil von mindestens 20% durch gezieltes mechanisches Ablösen von Objektträgern. Anschliessend folgen DNA-Extraktion aus Tumormaterial, Amplifikation der Zielsequenzen und Next-Generation-Sequencing (NGS) (Ion Torrent, Life Technologies).

Wichtige prädiktive Mutationen:

Gen	Malignom	Therapierelevanz	Wichtigste Mutationen
KRAS	Kolon/Rektum-Karzinom	Resistenz für Anti-EGFR-Antikörper	G12, G13, Q61, A146
NRAS	Kolon/Rektum-Karzinom	Resistenz für Anti-EGFR-Antikörper	G12, G13, Q61, A146
NRAS	Melanom	Ansprechen auf MEK-TKI	G12, G13, Q61, A146
BRAF	Melanom	Ansprechen auf BRAF-Inhibitoren	V600E, V600K, V600R
KIT	GIST	Ansprechen auf TKI	Exon 9, 11, 13 und 17 Mutationen
PDGFRA	GIST	Resistenz für TKI	D842V, D842-843M, RD841-842KI
EGFR	Lungenkarzinom	Ansprechen auf EGFR-TKI	Exon 19 Deletionen, Exon 21 L858R
	Lungenkarzinom	Eingeschränkte Datenlage für ein Ansprechen auf EGFR-TKI	Exon 18 Punktmutationen, Exon 21 L861Q, Duale Mutationen (Exon 19 oder 21 Mutationen mit Exon 20, S768I Mutation)
	Lungenkarzinom	Resistenz für EGFR-TKI	Exon 20 Insertion, Exon 20 S768I Einzelmutation, Exon 20 T790M Mutation
HER2	Lungenkarzinom	Ansprechen auf Anti-Her2-Antikörper	Exon 20 In-frame Insertionen
BRCA1/2	Ovarkarzinom	Ansprechen auf PARP-Inhibitoren	Alle inaktivierenden Mutationen von BRCA1/2

GIST: Gastrointestinaler Stromatumor, TKI: Tyrosinkinaseinhibitoren