

NGS-geenipaneelitutkimus tiettyjen kliinisesti merkittävien somaattisten DNA-mutaatioiden osoittamiseksi kudospnäytteestä

9944 Ts-NGSsCa1

Patologia

Tiedustelut

Tekniikka:

014 2691740 Molekyylibiologi

Vastaukset:

014 2691540 Osastonsihteerit

Indikaatio

BRAF-, PDGFRA-, EGFR- (ERBB1), KRAS-, NRAS-, KIT- (CD117), PIK3CA- (p110-alpha), TP53- (p53), ERBB2- (HER-2, NEU), AKT1, ALK, CTNNB1, ERBB3, ESR1 (ER α), FOXL2, GNA11, GNAQ, IDH1, IDH2, MET, RAF1 ja RET-mutaatioiden osoittaminen kudospnäytteestä (valikoidut geenialueet).

Syöpäpaneeliin on yhdistetty mikrosatelliittialueiden sekvensointiin perustuva MSI-testi.

Tutkimus korvaa aikaisemmin pyrosekvensointi- ja qPCR-menetelmillä mm. paksu- ja peräsuolisyöpänäytteistä tehdyt KRAS-, NRAS-, BRAF-tutkimukset, melanoomanäytteistä tehdyt BRAF-mutaatioanalyysit sekä keuhkosyövän kudospnäytteistä tehdyt EGFR-geenin tutkimukset.

Näyte

Patologian laboratorioon arkistoitu parafiiniblokki. Erillistä näytettä ei tarvita.

Jos tutkimuspyyntö on sairaanhoitopiirin ulkopuolelta, näytteeksi lähetetään parafiiniblokki ja sitä vastaava HE-lasi. Jos blokkia on leikattu paljon HE:n jälkeen, pyydetään blokista värjäämään uusi HE-lasi, joka vastaa blokin nykytilannetta. Näytteen edustavuuden arvioimiseksi on tärkeää, että käytettävissä on blokkia parhaiten edustava HE-lasi. Lähettävän laboratorion patologi tekee arvion näytteen/leikkeen kasvainsolujen määrästä ja merkitsee edustavan kasvainkohdan lähetettävään HE-lasiin. Näytteen mukaan liitetään [lähete](#), johon arvio kasvainsolujen määrästä kirjataan. Huomioitavaa on, että kovien kudosten pehmenneksittäminen voi vaikuttaa näytteen DNA:han niin, että näyte ei sovellu tutkimukseen. Näyte lähetetään huoneenlämmössä.

Lähetys: Keski-Suomen sairaala Nova, Molekyylipatologia, Patologian osasto, Hoitajantie 3, 40620 Jyväskylä.

Näytteen käsittely

Tutkittavaksi toimitetusta materiaalista valitaan edustava alue siten, että kasvainsolujen tumien osuus pyritään saamaan riittävän suureksi (vähintään 20%). Patologi arvioi tumien osuuden kaikista tutkimusalueella olevista tumista, merkitsee sen vastauksen ja ottaa huomioon näytteen edustavuutta arvioidessaan.

Lähete

Tutkimuspyynnöt tehdään sähköisesti. Sairaanhoitopiirin ulkopuolelta tuleva tutkimuspyyntö tehdään erillisellä [lähetteellä](#).

Menetelmä

Saadusta näytteestä eristetään DNA ja eristetystä DNA:sta monistetaan tutkittavat geenialueet PCR-tekniikalla (Qiaseq: Human Actionable Solid Tumor Panel, Qiagen). Tutkittavien geenialueiden emäsjärjestys määritetään sekvensoimalla näytteet Illuminan NextSeq500 laitteella.

Tutkittavat geenit ja geenialueet, joista mahdolliset mutaatiot raportoidaan:

Koko koodaava alue: ERBB2 (HER-2, NEU), PIK3CA (p110-alpha), TP53 (p53), MET, KEAP1, STK11 (LKB1).

Valikoidut eksonit: BRAF, PDGFRA, EGFR (ERBB1), KRAS, NRAS, KIT (CD117).

”HotSpot” alueet: AKT1, ALK, CTNNB1, ERBB3, ESR1 (ER α), FOXL2, GNA11, GNAQ, IDH1, IDH2, RAF1, RET.

Tutkimuksella voidaan todeta yhden emäksen muutoksia (pistemutaatiot), pieniä insertioita ja deleetioita. Tutkimuksella ei voida todeta geenifuusioita (esim. ALK), suuria deleetioita tai insertioita. Paneelilla voidaan osoittaa ainakin joitakin MET eksonin 14 ohiluennan aiheuttavia mutaatioita (eksonin 14 skipping mutaatio). Geenifuusiot tutkitaan RNA paneelilla (RNAfuus 10113).

MSI-testi

MSI-testi on yhdistetty NGS syöpäpaneeliin Ts-NGSsCa1. MSI-testauksessa sekvensoidaan yhdeksän mikrosatelliittialuetta joiden instabiiliteettia mitataan.

Testattavat lokukset: BAT40(T)37, MONO-27(T)27, BAT26(A)27, NR24(T)23, BAT25(T)25, NR22(T)21, HSP110-T17(T)17, NR21(A)21, BAT34C4(A)18.

Tutkimuksessa käytetään seuraavia raja-arvoja:

-MSS (stabiili), 0-15% instabiileja lokuksia.

-MSI-low (MSI-L) 16-40% instabiileja lokuksia.

-MSI-high (MSI-H) yli 40% instabiileja lokuksia. Viittaa MMR-mekanismien toimimattomuuteen. Suositellaan MMR-proteiinien immunohistokemiallista värjäämistä.

Vastausaika

Tutkimuksia tehdään viikoittain. Molekyylogeneettisten tutkimusten vastausaika on noin 10 työpäivää.

Lausunto

Tutkimuksesta annetaan lausunto.