

NGS analyse voor myeloïde maligniteiten

Het AmpliSeq for Illumina Myeloid Panel is een door Illumina ontwikkelde amplicon based sequencing test voor de analyse van 40 genen (hotspot en full-exon) die geassocieerd zijn met myeloïde maligniteiten en wordt uitgevoerd op het Illumina MiSeq toestel.

Uitsluitend significant klinisch belangrijke varianten, vermoedelijk significant klinisch belangrijke varianten en varianten met ongekende klinische betekenis, met een variant allel frequentie (VAF) vanaf 5% worden gerapporteerd. Varianten met een variant allel frequentie lager dan 5% worden niet gerapporteerd met uitzondering van (vermoedelijk) significant klinisch belangrijke varianten, die worden gerapporteerd vanaf een variant allel frequentie van 2%.

Software voor Bioinformatica analyse: Local Run Manager v2 en Variant Studio v3.0 (Illumina), bij de biologische classificatie van de varianten wordt de ComPerMed guideline gevolgd.

Gebruikt referentiegenoom: hg19

Het AmpliSeq for Illumina Myeloid Panel omvat volgende genen (hotspot of full-exon):

Gen	Transcript ID	Gen	Transcript ID	Gen	Transcript ID
ABL1	NM_005157.5	IDH1	NM_005896.3	PTPN11	NM_002834.4
ASXL1	NM_015338.5	IDH2	NM_002168.2	RB1	NM_000321.2
BCOR	NM_001123385.1	IKZF1	NM_006060.5	RUNX1	NM_001754.4
BRAF	NM_004333.6	JAK2	NM_004972.3	SETBP1	NM_015559.3
CALR	NM_004343.3	KIT	NM_000222.2	SF3B1	NM_012433.3
CBL	NM_005188.3	KRAS	NM_004985.4	SH2B3	NM_005475.2
CEBPA	NM_004364.3	MPL	NM_005373.2	SRSF2	NM_003016.4
CSF3R	NM_156039.3	MYD88	NM_001172567.1	STAG2	NM_001042749.2
DNMT3A	NM_175629.2	NF1	NM_001042492.2	TET2	NM_001127208.2
ETV6	NM_001987.4	NPM1	NM_002520.6	TP53	NM_000546.5
EZH2	NM_004456.4	NRAS	NM_002524.4	U2AF1	NM_006758.2
FLT3	NM_004119.2	PHF6	NM_032458.2	WT1	NM_024426.5
GATA2	NM_032638.4	PRPF8	NM_006445.3	ZRSR2	NM_005089.3
HRAS	NM_005343.4				

Per ziektebeeld zijn er gen regio's gedefinieerd die minimaal dienen te worden gecoverd. In geval van afwijking worden ze vermeld in het rapport.

MDS (exclusief MDS-IB2)

Gen	Gen regio	Kan bijdragen tot
ASXL1	Exon 13	Prognose
BCOR	Alle exonen	Diagnose
DNMT3A	Exon 8-23	Diagnose/prognose
EZH2	Exon 2-20 = volledig	Diagnose/prognose
RUNX1	Exon 2-9 = volledig	Diagnose/prognose
SF3B1	Exon 14, exon 15	Diagnose/prognose
SRSF2	Exon 1 - codon 95	Diagnose/prognose
STAG2	Alle exonen	Diagnose

Gen	Gen regio	Kan bijdragen tot
TET2	Exon 3, exon 9-11	Diagnose/prognose
TP53	Exon 2-11	Prognose/therapie
U2AF1	Exon 2 - codon 34, exon 6 - codon 157	Diagnose/prognose
ZRSR2	Alle exonen	Diagnose

PMF

Gen	Gen regio	Kan bijdragen tot
ASXL1	Exon 13	Diagnose/prognose
CALR	Exon 9	Diagnose/prognose
EZH2	Exon 2-20 = volledig	Diagnose/prognose
IDH1	Exon 4 - hotspot	Diagnose/prognose/therapie
IDH2	Exon 4 - hotspot	Diagnose/prognose/therapie
JAK2	Exon 12 - Phe537_Ile546, exon 14 - codon 617	Diagnose/prognose
MPL	Exon 10	Diagnose/prognose
SF3B1	Exon 14, exon 15	Diagnose
SRSF2	Exon 1 - codon 95	Diagnose/prognose
TET2	Exon 3, exon 9-11	Diagnose/prognose
TP53	Exon 2-11	Prognose
U2AF1	Exon 2 - codon 34, exon 6 - codon 157	Prognose

MDS/MPN

Gen	Gen regio	Kan bijdragen tot
ASXL1	Exon 13	Diagnose/prognose
CALR	Exon 9	Diagnose/prognose
CSF3R	Exon 14 - codons 615/618 exon 17 - codons 768/776/779/798/810/818	Diagnose/therapie
JAK2	Exon 14 - codon 617	Diagnose/prognose
MPL	Exon 10	Diagnose/prognose
NRAS	Exon 2 - codons 12/13, exon 3 - codon 61	Prognose
RUNX1	Exon 2-9 = volledig	Prognose
SETBP1	exon 4 - hotspot	Diagnose/prognose
SF3B1	Exon 14, exon 15	Diagnose/prognose
SRSF2	Exon 1 - codon 95	Diagnose/prognose
TET2	Exon 3, exon 9-11	Diagnose/prognose

CNL

Gen	Gen regio	Kan bijdragen tot
ASXL1	Exon 13	Diagnose/prognose
CALR	Exon 9	Diagnose/prognose
CSF3R	Exon 14 - codons 615/618, exon 17 - codons 768/776/779/798/810/818	Diagnose/therapie
JAK2	Exon 14 - codon 617	Diagnose/prognose
MPL	Exon 10	Diagnose/prognose

Gen	Gen regio	Kan bijdragen tot
NRAS	Exon 2 - codons 12/13, exon 3 - codon 61	Prognose
RUNX1	Exon 2-9 = volledig	Prognose
SETBP1	exon 4 - hotspot	Diagnose/prognose
SF3B1	Exon 14, exon 15	Diagnose/prognose
SRSF2	Exon 1 - codon 95	Diagnose/prognose
TET2	Exon 3, exon 9-11	Diagnose/prognose

ET

Gen	Gen regio	Kan bijdragen tot
ASXL1	Exon 13	Diagnose/prognose
CALR	Exon 9	Diagnose/prognose
EZH2	Exon 2-20 = volledig	Diagnose/prognose
IDH1	Exon 4 - hotspot	Diagnose/prognose/therapie
IDH2	Exon 4 - hotspot	Diagnose/prognose/therapie
JAK2	Exon 12 - Phe537_Ile546, exon 14 - codon 617	Diagnose/prognose
MPL	Exon 10	Diagnose/prognose
SF3B1	Exon 14, exon 15	Diagnose/prognose
SRSF2	Exon 1 - codon 95	Diagnose/prognose
TET2	Exon 3, exon 9-11	Diagnose/prognose
TP53	Exon 2-11	Prognose
U2AF1	Exon 2 - codon 34, exon 6 - codon 157	Prognose

Voor enkele gen regio's wordt systematisch een te lage coverage (< 300x) waargenomen. Deze regio's bevatten geen specifieke, klinisch belangrijke hotspot locaties. (Systematische drop-out regio's)

Gen - exon	Overeenkomstige aminozuur regio	Hotspots aanwezig
BCOR - Exon 8p	Asp1168 - Ser1213	Neen
BCOR - Exon 9	Gly1283 - Ser1298	Neen
BRAF - Exon 1p	Met1 - Asn20	Neen
PRPF8 - Exon 19p	Leu914 - Gly958	Neen
PRPF8 - Exon 32	Lys1649 - Ser1713	Neen
RB1 - Exon 25	Thr841 - Ser888	Neen
SH2B3 - Exon 2p	Arg140 - Ala209	Neen
STAG2 - Exon 29	Lys975 - Val1018	Neen
ZRSR2 - Exon 5	Arg105 - Glu133	Neen

Beperkingen van de methode:

- Varianten gelegen in een homopolymeer, varianten gelegen in een regio met een GC rijk intron, varianten met een lage coverage (< 300 x) en varianten met een variant fractie beneden de detectielimiet kunnen leiden tot vals negatieve en/of vals positieve resultaten.
- De tumor suppressorgenen worden niet voldoende gesequeneerd waardoor niet alle mutaties die leiden tot verminderde activiteit van deze genen steeds kunnen worden gedetecteerd.
- Grotere insertie/deletie varianten zoals teruggevonden worden bij bijvoorbeeld FLT3 worden meestal wel gedetecteerd, maar de exacte insertie/deletie grootte is niet altijd te bepalen.

Klinische interpretatie:

- International Consensus Classification (ICC) of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical and genomic data Arber et al., Blood, 2022
- Genomic Profiling for Clinical Decision Making in Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia Duncavage et al., Blood, 2022
- The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms Khoury et al., Leukemia, 2022
- Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN Döhner et al., Blood, 2022

Bij vragen contacteer de Klinisch Biologen van het Laboratorium voor Klinische Biologie AZ Klina.

Uitzonderlijke uitvoering door Dienst Laboratoriumgeneeskunde AZ Delta omwille van calamiteit (stockbreuk reagens TruSight Myeloid Sequencing Panel).

Accreditatie voor samenwerkingsverband met Dienst Laboratoriumgeneeskunde AZ Delta (382-MED) voor uitvoering van het wet lab gedeelte in aanvraag.

Disclaimer: NGS kan geen onderscheid maken tussen somatische en germline mutaties.