

TEST MOLECOLARI AD USO CLINICO

Next Generation Sequencing

Unità di Diagnostica Istopatologica e Molecolare
Divisione di Anatomia Patologica

via Giuseppe Ripamonti, 435, Milano

Segreteria Anatomia Patologica +39 02.57489421, ufficio.apa@ieo.it

Biologia.Molecolare@ieo.it.

Pannelli NGS per analisi su tessuto tumorale

Questi esami vengono eseguiti su tessuto tumorale ottenuto da campioni tissutali fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE) o campioni citologici.

Il patologo valuta l'adeguatezza di questi campioni per le indagini molecolari sulla base di criteri quantitativi e qualitativi inerenti al materiale e alla cellularità tumorale presente in esso.

Dai campioni ritenuti idonei vengono estratti DNA e/o RNA per le successive analisi molecolari.

Le analisi vengono effettuate mediante tecnologia Next Generation Sequencing (Ion Torrent PGM), Ion Reporter Software.

Nella nostra Unità sono attualmente disponibili **quattro saggi molecolari di NGS**. La scelta del pannello di geni da analizzare varia in funzione delle specifiche richieste cliniche. Di seguito sono riportati i geni analizzati in ciascuno dei saggi.

È inoltre disponibile un test molecolare basato su tecnologia NGS (**Oncomine™ BRCA Research Assay**) per l'analisi delle **mutazioni di BRCA1 e BRCA2** solo su tessuto tumorale (analisi "somatica").

i. **Oncomine™ Solid Tumour DNA Kit (CE-IVD)**

Analisi di hotspot mutazionali in 22 geni

Lista dei geni inclusi nel pannello

EGFR, ALK, ERBB2, ERBB4, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, DDR2, KRAS, PIK3CA, BRAF, AKT1, PTEN, NRAS, MAP2K1, STK11, NOTCH1, CTNNB1, SMAD4, FBXW7, TP53.

ii. Oncomine™ Focus Assay

Analisi di alterazioni molecolari (mutazioni, amplificazioni e geni di fusione) in 52 geni

Lista dei geni inclusi nel pannello

Hotspot di mutazioni

AKT1, ALK, AR, BRAF, CDK4, CTNNB1, DDR2, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, FGFR2, FGFR3, GNA11, GNAQ, HRAS, IDH1, IDH2, JAK1, JAK2, JAK3, KIT, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, MET, MTOR, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, RAF1, RET, ROS1, SMO.

Copy gain

ALK, AR, BRAF, CCND1, CDK4, CDK6, EGFR, ERBB2, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, KIT, KRAS, MET, MYC, MYCN, PDGFRA, PIK3CA.

Geni di fusione

ABL1, ALK, AKT3, AXL, BRAF, EGFR, ERBB2, ERG, ETV1, ETV4, ETV5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PPARG, RAF1, RET, ROS1.

iii. Oncomine™ Comprehensive Assay

Analisi delle alterazioni molecolari (mutazioni, copy number variants e geni di fusione) in 143 geni

Lista dei geni inclusi nel pannello

Hotspot di mutazioni

ABL1, AKT, ALK, AR, ARAF, BRAF, BTK, CBL, CDK4, CHEK2, CSF1R, CTNNB1, DDR2, DNMT3A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, EZH2, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, FOXL2, GATA2, GNA11, GNAQ, GNAS, HNF1A, HRAS, IDH1, IDH2, IFITM1, IFITM3, JAK1, JAK2, JAK3, KDR, KIT, KNSTRN, KRAS, MAGOH, MAP2K1, MAP2K2, MAPK1, MAX, MED12, MET, MLH1, MPL, MTOR, MYD88, NFE2L2, NPM1, NRAS, PAX5, PDGFRA, PIK3CA, PPP2R1A, PTPN11, RAC1, RAF1, RET, RHEB, RHOA, SF3B1, SMO, SPOP, SRC, STAT3, U2AF1, XPO1.

CDS (coding DNA sequence)

APC, ATM, BAP1, BRCA1, BRCA2, CDH1, CDKN2A, FBXW7, GATA3, MSH2, NF1, NF2, NOTCH1, PIK3R1, PTCH1, PTEN, RB1, SMAD4, SMARCB1, STK11, TET2, TP53, TSC1, TSC2, VHL, WT1.

Copy gain

ACVRL1, AKT1, APEX1, AR, ATP11B, BCL2L1, BCL9, BIRC2, BIRC3, CCND1, CCNE1, CD274(PDL1), CD44, CDK4, CDK6, CSNK2A1, DCUN1D1, EGFR, ERBB2, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, GAS6, IGF1R, IL6, KIT, KRAS, MCL1, MDM2, MDM4, MET, MYC, MYCL, MYCN, MYO18A, NKX2-1, NKX2-8, PDCD1LG2, PDGFRA, PIK3CA, PNP, PPARG, RPS6KB1, SOX2, TERT, TIAF1, ZNF217.

Geni di fusione

ALK, ABL1, AKT3, AXL, BRAF, CDK4, EGFR, ERBB2, ERG, ETV1, ETV4, ETV5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, NTRK1, NTRK3, PDGFRA, PPARG, RAF1, RET, ROS1.

Pannelli NGS per analisi su biopsia liquida

i. Oncomine™ Lung cfDNA Assay

L'analisi viene eseguita su 2 ml di plasma ottenuti da una provetta di sangue periferico/EDTA.

L'analisi mutazionale viene effettuata mediante tecnologia Next Generation Sequencing (Ion Torrent PGM), Ion Reporter Software.

Viene valutato simultaneamente lo stato mutazionale di 11 geni.

Lista dei geni inclusi nel pannello

ALK, BRAF, EGFR, ERBB2, KRAS, MAP2K1, MET, NRAS, PIK3CA, ROS1, TP53