

«Молекулярный портрет опухоли»

Универсальная NGS-панель для персонализированного подбора терапии, адаптированная для анализа архивных гистологических образцов

Для чего:

- Чувствительность / резистентность к таргетной терапии ингибиторами тирозинкиназ
- Микросателлитная нестабильность (назначение иммунотерапии)
- Мутационная нагрузка опухоли, TMB (назначение иммунотерапии)
- Наследственные и соматические мутации в генах HRD (homologous recombination deficiency)
- Чувствительность / резистентность к цитостатической терапии
- Молекулярная дифференциальная диагностика гистологического типа

Технические особенности:

- Обогащение целевыми последовательностями методом гибридизации с биотинилированными зондами
- Идентификация перестроек как структурных вариантов ДНК без необходимости процессирования РНК
- Идентификация точковых мутаций, амплификаций, потерь гетерозиготности

Кровь и архивные блоки (FFPE)	Экстракция ДНК	Приготовление библиотек и обогащение	Секвенирование	Аннотация вариантов	Интерпретация и заключение
	 Микродиссекция тканей опухоли	 Таргетный захват 179 генов	 NextSeq 500/550/2000	 Соматические и герминальные мутации	

Литература:

Bailey MH, Tokheim C, Porta-Pardo E, Sengupta S, Bertrand D, Weerasinghe A, et al. Comprehensive Characterization of Cancer Driver Genes and Mutations. Cell. 2018 Apr 5;173(2):371-385.e18. doi: 10.1016/j.cell.2018.02.060.

Sondka Z, Bamford S, Cole CG, Ward SA, Dunham I, Forbes SA. The COSMIC Cancer Gene Census: describing genetic dysfunction across all human cancers. Nat Rev Cancer. 2018 Nov;18(11):696-705. doi: 10.1038/s41568-018-0060-1.

179 генов, соматические мутации которых часто встречаются в новообразованиях различных локализаций [на основании Cancer Gene Census (Sondka et al., 2018) и перечня драйверных генов, представленный в работе (Bailey et al., 2018)].

Соматические микромутации (однонуклеотидные замены, микроинсерции, микроделеции)

ABCB1, ABL1, ACVR2A, AKT1, ALK, APC, APOBEC3B, AR, ARAF, ARID1A, ASTE1, ATM, ATR, ATRX, B2M, BAP1, BCL2, BCOR, BRAF, BRCA1, BRCA2, BTK, EMSY, CCNB1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDH1, CDK1, CDK12, CDK2, CDK4, CDK6, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CEBPA, CHEK1, CHEK2, CIC, CREBBP, CSF1R, CTNNB1, CYLD, DDR2, DICER1, DNMT3A, EGFR, EP300, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERCC2, ESR1, EZH2, FAT1, FBXW7, FGF1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT1, FLT3, FLT4, FOXA1, FOXL2, FUBP1, GATA3, GNA11, GNAQ, GNAS, H3F3A, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, JAK1, JAK2, JAK3, KDR, KIT, KMT2C, KMT2D, KRAS, LATS1, LATS2, MAP2K1, MAP2K4, MAPK1, MAX, MCL1, MEN1, MET, MLH1, MSH2, MSH6, MTOR, MYC, MYCL, MYCN, MYD88, NF1, NF2, NFE2L2, NOTCH1, NOTCH2, NRAS, NSD1, NTRK1, PALB2, PAX5, PBRM1, PDGFRA, PDGFRB, PIK3CA, PIK3CB, PIK3R1, PIM1, PMS1, POLD1, POLE, PPP2R1A, PTCH1, PTEN, PTPN11, RAC1, RAD21, RAD51, RAD51C, RAD51D, RAF1, RB1, RBM10, RET, RHOA, RNF43, ROS1, RUNX1, SERPINB3, SERPINB4, SETBP1, SETD2, SF3B1, SMAD2, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMO, SOX9, STAG2, STK11, SUFU, TAF1B, TERT, TET1, TET2, TGFB1, TGFB2, TP53, TP53BP1, TSC1, TSC2, VHL, WT1

Амплификации

ABL1, AKT1, BCL2, BTK, EMSY, CCNB1, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDK1, CDK12, CDK2, CDK4, CDK6, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, FGF1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT1, FLT3, FLT4, KDR, KIT, MCL1, MET, MYC, MYCL, MYCN, PDGFRA, PDGFRB, PIK3CA, PIK3CB, PIK3R1, PIM1, SOX9, TGFB1, TGFB2, WT1

Микросателлитные маркеры

ABL1 (C)7-трек в экзоне 11, *ACVR2A* (A)8-трек в экзоне 10, *MCL1* (C)7-трек в экзоне 1, *PTEN* (T)9-трек в интроне 4, *PTEN* (A)6-трек в экзоне 7, *SMO* (C)6-трек в экзоне 12, *TET2* (AC)4-трек в экзоне 3 и др.

Перестройки

ALK, EWSR1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRB, RET, ROS1

«Молекулярный портрет опухоли» (продолжение)

Транслокации

Анализ транслокаций методом таргетного ДНК-секвенирования в контрольных образцах

ID	Химерный транскрипт, выявленный ранее	Fusion обнаруженный при таргетном ДНК-секвенировании	Число «подтверждающих» ридов	Средняя глубина покрытия целевых участков	Размер вставки ДНК-библиотеки
P8501	Несбалансированная экспрессия ALK	EML4-ALK	21	198,4	101,3
P12056	EML4ex6/ALKex20	EML4-ALK	25	307,4	132,6
B11250	EML4ex2/ALKex20	EML4-ALK	115	318,7	164,0
B2911	TFGex4/ROS1ex35	SOBP-ROS1, SCML4-ROS1	22	464,5	209,8
B1856	ETV6ex5/NTRK3ex15	ETV6-NTRK3	17	371,5	185,5
P12056	EML4ex6/ALKex20	EML4-ALK	59	407,7	179,7
P10301	EML4ex6/ALKex20	EML4-ALK, HIVEP3-ALK	42	638,0	191,0
P12242	EML4ex6/ALKex20	EML4-ALK	43	620,0	177,0
P10768	EML4ex6/ALKex20	ALK-intergenic	38	637,0	177,0
P12316	EML4ex13/ALKex20	EML4-ALK	30	285,0	143,0
P12459	EML4ex13/ALKex20	EML4-ALK	32	524,0	184,0
P12104	EML4ex13/ALKex20	EML4-ALK	376	682,0	198,0
P10050	EML4ex13/ALKex20	EML4-ALK, ALK-ACSBG1	57	643,0	189,0
P13703	EML4ex13/ALKex20	EML4-ALK	51	625,0	168,0
P10816	CD74ex6/ROS1ex34	PDE4D-ROS1, CD74-ROS1	23	458,0	186,0
P10420	SDC4ex2/ROS1ex32	SDC4-ROS1	35	577,0	149,0
P11972	CD74ex6/ROS1ex34	CD74-ROS1	36	462,0	180,0
P11173	CD74ex6/ROS1ex34	CD74-ROS1	43	780,0	197,0
P10212	KIF5Bex22/RETex12	KIF5B-RET	33	436,0	156,0
P9874	CCDC6ex1/RETex12	CCDC6-RET	12	566,0	193,0
P6811	KIF5Bex15/RETex12	KIF5B-RET	20	321,0	138,0
P8618	CCDC6ex1/RETex12	CCDC6-RET	51	455,0	171,0
P13666	ETV6ex5/NTRK3ex15	ETV6-NTRK3	59	648,0	159,0
P12056_2	EML4ex6/ALKex20	EML4-ALK	72	951,0	182,0
P13669	MEF2Dex6/NTRK1ex9	MEF2D-NTRK1, INSR-RET	142	635,0	149,0
P10972n	Несбалансированная экспрессия ALK	не обнаружены	-	235,8	144,4
P11479	ETV6ex5/NTRK3ex15	не обнаружены	-	269,1	135,7
B505	TFGex4/ROS1ex35	не обнаружены	-	332,6	157,5
P8739	TFGex4/ROS1ex35	не обнаружены	-	262,0	156,3
P7072	CD74ex6/ROS1ex34	не обнаружены	-	122,3	116,9
B2605	TFGex4/ROS1ex35	не обнаружены	-	290,4	158,4
P10761	Несбалансированная экспрессия ALK	не обнаружены	-	541,0	170,0

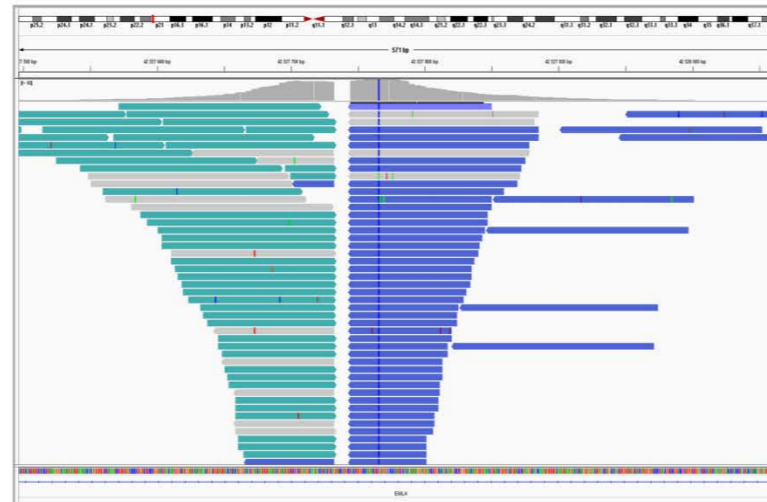


Рисунок 2. Пример детекции структурных перестроек. Образец P12104, фрагмент гена *EML4* (зеленые и синие фрагменты соответствуют ридам, картирующимся на *EML4* и *ALK*). Визуализация в IGV.

Микромутации



Рисунок 5. Высокая чувствительность: пример детекции мутации *TP53* с фракцией мутантных копий в образце 5%.

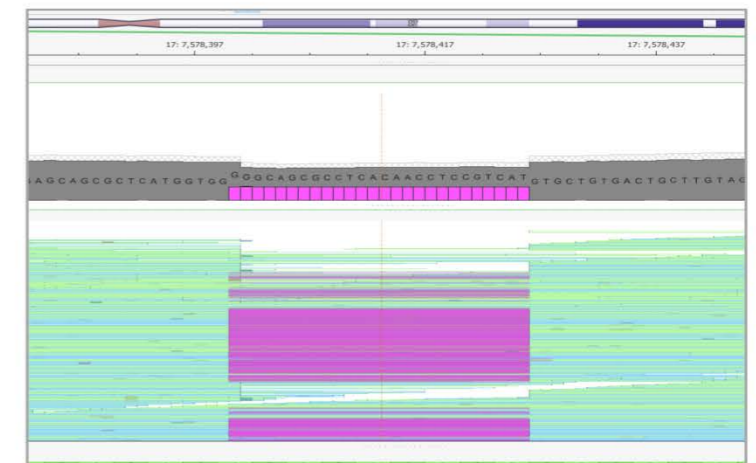


Рисунок 6. Плотное покрытие пробami целевых участков позволяет детектировать протяженные aberrации (на рисунке делеция 25 п.о. в гене *TP53*).

Делеции и потери гетерозиготности (LOH)

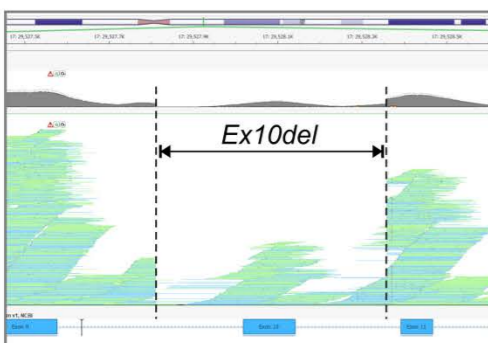


Рисунок 3. Соматическая делеция экзона 10 гена *NF1* в опухолевой ткани



Рисунок 4. Однуклеотидная замена в сайте сплайсинга экзона 13 *BRCA2*, частичная потеря гетерозиготности (LOH) в опухолевой ткани



Делеции и потери гетерозиготности (LOH)

«Молекулярный портрет опухоли» (продолжение)

✓ Микросателлитная нестабильность

- MSS
- MSI-H

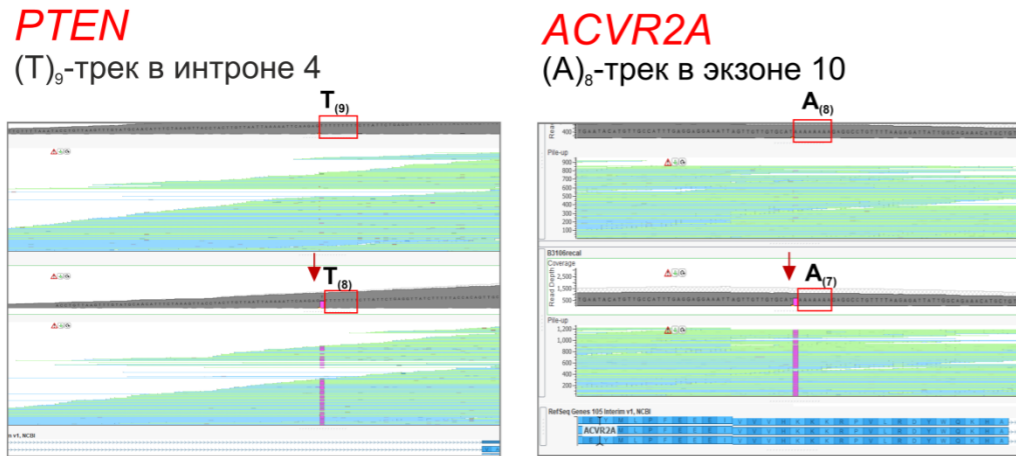


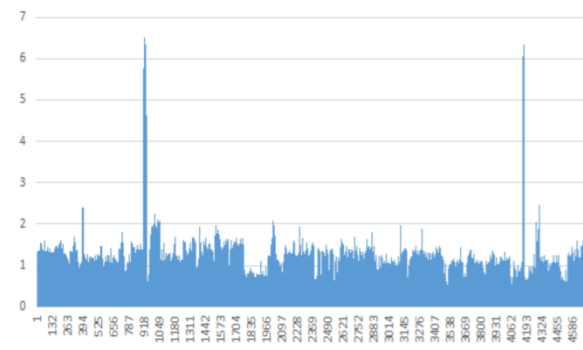
Рисунок 7. Примеры **детекции нестабильности в области однонуклеотидных повторов**. MSS, microsatellite stable; MSI-H, microsatellite instability, high. Визуализация в Golden Helix

	MSI+ (PTK)	MSS (PTK)	MSS (PL)	MSS (лимфоциты периферической крови)
ACVR2A (A) ₈ -трек в экзоне 10	+ (del)	-	-	-
MCL1 (C) ₇ -трек в экзоне 1	+ (del)	-	-	-
TET2 (AC) ₄ -трек в экзоне 3	+ (del)	-	-	-
SMO (C) ₆ -трек в экзоне 12	+ (del)	-	-	-
PTEN (T) ₉ -трек в интроне 4	+ (del)	-	-	-
PTEN (A) ₆ -трек в экзоне 7	+ (del)	-	-	-
ABL1 (C) ₇ -трек в экзоне 11	+ (del)	-	-	-

Таблица 2. Сравнение изменения длин моно- и динуклеотидных повторов в контрольных образцах с MSI и MSS

Примечание: «+ (del)» – изменение длины трека за счет делеции, «-» – нет изменения длины

PIK3CA, CCNE1



ERBB2

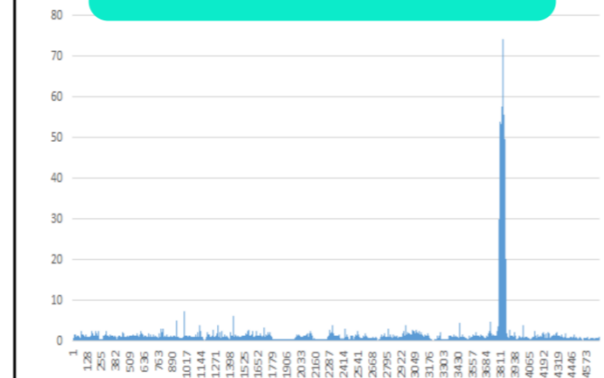


Рисунок 8. Примеры детекции **амплификаций**. ✓

Публикации, в которых отражен опыт использования панели:

Avanesyan AA, Sokolenko AP, Ivantsov AO, Kleshchev MA, Maydin MA, Bizin IV, et al. Gastric Cancer in BRCA1 Germline Mutation Carriers: Results of Endoscopic Screening and Molecular Analysis of Tumor Tissues. Pathobiology. 2020;87(6):367-374. doi: 10.1159/000511323.

Iyevleva AG, Aleksakhina SN, Sokolenko AP, Baskina SV, Venina AR, Anisimova EI, et al. Somatic loss of the remaining allele occurs approximately in half of CHEK2-driven breast cancers and is accompanied by a border-line increase of chromosomal instability. Breast Cancer Res Treat. 2022 Jan 12. doi: 10.1007/s10549-022-06517-3.

Sokolenko AP, Gorodnova TV, Bizin IV, Kuligina ES, Kotiv KB, Romanko AA, et al. Molecular predictors of the outcome of paclitaxel plus carboplatin neoadjuvant therapy in high-grade serous ovarian cancer patients. Cancer Chemother Pharmacol. 2021 Sep;88(3):439-450. doi: 10.1007/s00280-021-04301-6.