

**Disclaimer mutatie analyse myeloïde genen****Mutatie analyse ten behoeve van myeloïde maligniteiten<sup>a</sup>***Toelichting methode mutatie analyse*

Na DNA isolatie worden de relevante gen regio's en/of complete eiwitcoderende genen verrijkt met behulp van het capture SureSelect platform van Agilent. Hierbij wordt gebruik gemaakt van oligonucleotidenprobes (targeted). Mutatie analyse wordt vervolgens uitgevoerd met behulp van Next Generation Sequencing (NGS) op het Illumina NovaSeq platform. De dekking van het genpanel (zie Tabel 1) is 100%. Er wordt gestreefd naar een voldoende aantal reads (coverage) van de eiwitcoderende sequenties inclusief splice site regio's (+/- 10 intron nucleotiden) om de gewenste gevoeligheid te halen. Analyse van de sequenties om varianten te detecteren wordt gedaan met het software programma SeqNext (JSI Medical Systems). De nucleotide volgorde wordt vergeleken met het humane referentie genoom GRCH38/hg38. Voor interpretatie van de varianten wordt er gebruik gemaakt van ClinVar database, TP53 database, dbSNP, predictie algoritmen en de COSMIC database. Alleen (waarschijnlijk) pathogene mutaties worden gerapporteerd. De mate van aanwezigheid van een mutatie wordt uitgedrukt in variant allele frequency (VAF). Dit is het percentage mutant reads ten opzichte van het totaal aantal sequencing reads op de betreffende positie. Over het algemeen is de VAF cut-off van de ziekte-geassocieerde pakketten 5%. Uitzonderingen hier op zijn: VAF cut-off van MDS pakket 2%, JAK2, CALR en MPL 1%, IDH1/2 1%, TP53 1% (CLL).

Voor de TP53 analyse bij de aanvragen CLL 1<sup>e</sup> lijn en CLL 2<sup>e</sup> lijn wordt het materiaal geficollend om vervolgens uit de perifeer bloed mononucleaire cellen (PBMC) DNA te isoleren. De interpretatie van de uitslag hangt af van het aantal CLL cellen aanwezig in het aangeboden materiaal, zie Malcikova J., Leukemia 2024 voor aanbevelingen.

Een overzicht van de ziekte-geassocieerde pakketten is te zien in Tabel 2. De genen in het AML pakket zijn volgens de 2022 ELN aanbevelingen zie Döhner H., Blood 2022. De genen in het MDS pakket zijn volgens de 'Molecular International Prognostic Scoring System' (IPSS-M) zie Bernard E., NEJM 2022.

Voor vragen kunt u contact opnemen met unit HLA (CDL) via e-mail [cdl-hla@umcutrecht.nl](mailto:cdl-hla@umcutrecht.nl) of telefonisch via 088 75 576 71.

<sup>a</sup>Versie 6; 12 juli 2024, TP53 bij CLL cut-off 1% VAF (eerder 10% VAF)

Versie 5; 5 februari 2024, ASXL1 toegevoegd aan CML pakket

Versie 4; oktober 2023 – 5 februari 2024

Disclaimer mutatie analyse myeloïde genen

<b>Gen</b>	<b>Referentie transcript</b>	<b>Target regio</b>	<b>Specifieke target(s)</b>
ANKRD26	NM_014915	alle coderende exonen	
ASXL1	NM_015338	exon 13	
BCOR	NM_001123385	alle coderende exonen	
BCORL1	NM_001379451	alle coderende exonen	
BRAF	NM_004333	exon 15	V600
CALR	NM_004343	exon 9	o.a. type 1, type 2
CBL	NM_005188	exon 8, 9	
CEBPA	NM_004364	exon 1	o.a. bZIP domein
CSF3R	NM_156039	exon 14, 17	o.a. T618I, T615
DDX41	NM_016222	alle coderende exonen	
DNMT3A	NM_022552	alle coderende exonen	R882
ETNK1	NM_018638	exon 3	H243Y, N244, G245
ETV6	NM_001987	alle coderende exonen	
EZH2	NM_004456	alle coderende exonen	
FLT3	NM_004119	exon 14/15, 20	D835, D836
GATA2	NM_032638	exon 2 - 6	
GNB1	NM_002074	exon 6, 7	K57, G53, I81
IDH1	NM_005896	exon 4	R132
IDH2	NM_002168	exon 4	R140, R172
JAK2	NM_004972	exon 12, 14	V617F
KIT	NM_000222	exon 8, 17	D419, D816
KMT2A	NM_01197104	exon 5 - 8	MLL-PTD
KRAS	NM_004985	exon 2, 3	G12, G13, Q61
MPL	NM_005373	exon 10	W515, S505
NF1	NM_001042492	alle coderende exonen	Thr676
NFE2	NM_001136023	exon 1, 2	
NPM1	NM_002520	exon 11	o.a. type A, B, D
NRAS	NM_002524	exon 2, 3	G12, G13, Q61
PHF6	NM_001015877	alle coderende exonen	
PPM1D	NM_003620	alle coderende exonen	
PRPF8	NM_006445	alle coderende exonen	
PTPN11	NM_002834	exon 3, 13	
RAD21	NM_006265	alle coderende exonen	
RUNX1	NM_001754	alle coderende exonen	
SETBP1	NM_015559	exon 4	o.a. D868, G870, I871
SF3B1	NM_012433	exon 13 - 16	o.a. K700, K666, R625
SRSF2	NM_003016	exon 1, 2	P95
STAG2	NM_001042750	alle coderende exonen	
TET2	NM_1127208	alle coderende exonen	
TP53	NM_000546	alle coderende exonen	
U2AF1	NM_006758	exon 2, 6, 7	S34, Q157
UBA1	NM_003334	exon 2 - 5	M41
WT1	NM_024426	exon 7, 9	
ZRSR2	NM_005089	alle coderende exonen	

Tabel 1 Overzicht genpanel

Disclaimer mutatie analyse myeloïde genen

aCML	AML	CLL*	CML	CMML	CNL	ET	HES/CEL-NOS	MDS	PMF	PMF additioneel	PV
ASXL1	ANKRD26 ASXL1 BCOR BCORL BRAF		ASXL1	ASXL1			ASXL1	ASXL1 BCOR BCORL		ASXL1	
CALR	CBL CEBPA			CALR	CALR	CALR	CBL	CBL CEBPA	CALR	CBL	
CSF3R	CSF3R DDX41 DNMT3A				CSF3R						
ETNK1	ETV6 EZH2 FLT3 GATA2			FLT3			DNMT3A	DNMT3A ETNK1 ETV6 EZH2 FLT3 GATA2 GNB1 IDH1 IDH2		DNMT3A	
JAK2	IDH1 IDH2 JAK2 KIT		JAK2	IDH1 IDH2 JAK2	JAK2	JAK2	JAK2		JAK2	IDH1 IDH2 JAK2	JAK2
MPL	KRAS NF1			MPL	MPL	MPL	KRAS	KMT2A KRAS NF1	MPL	KRAS	
	NPM1 NRAS PHF6 PPM1D			NPM1 NRAS			NRAS	NPM1 NRAS PHF6 PPM1D PRPF8 PTPN11		NFE2 NRAS	
SETBP1	PTPN11 RAD21 RUNX1 SETBP1 SF3B1 SRSF2 STAG2 TET2 TP53 U2AF1 WT1 ZRSR2	TP53		RUNX1 SETBP1 SRSF2 TET2			RUNX1 SF3B1 SRSF2 TET2 U2AF1	RUNX1 SETBP1 SF3B1 SRSF2 STAG2 TP53 U2AF1 UBA1# WT1		SF3B1 SRSF2 TET2 TP53 U2AF1	

Tabel 2 Ziekte-geassocieerde pakketten

\*CLL eerste lijn: IGHV mutatie status wordt bepaald met behulp van Sanger sequenzen.

#UBA1 kan los worden aangevraagd bij verdenking VEXAS