

Molekularpathologie

NGS - BRCA1/BRCA2 Mutationsanalyse



AmoyDx® BRCA Pro Panel

► Hintergrundinformationen

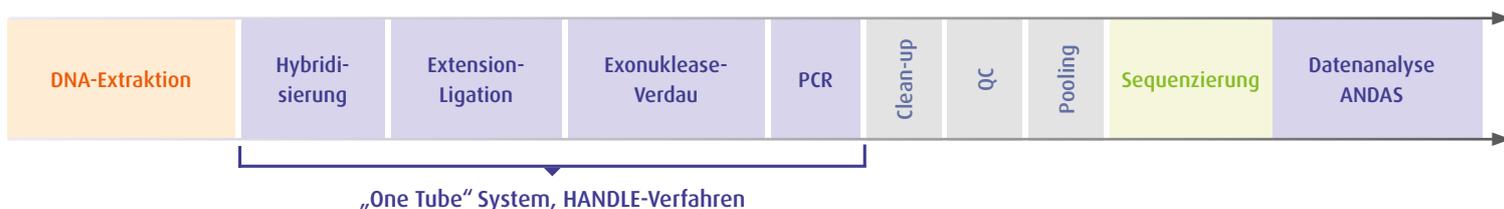
Die Tumorsuppressoren BRCA1 und BRCA2 sind essentiell für die Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen durch homologe Rekombination. Deletäre Mutationen in den dafür kodierenden Genen sind in soliden Tumoren häufig zu finden.

Für die Reparatur von DNA-Einzelstrangbrüchen spielt das Enzym PARP-1 (Typ I Poly ADP-Ribose Polymerase) eine wichtige Rolle. Mit PARP-Inhibitoren, die für die Behandlung von PatientInnen mit Ovarialkarzinomen oder Brustkrebs mit Mutationen in den BRCA1 und BRCA2 Genen zugelassen sind, kann das Tumorwachstum gehemmt werden. Durch Inhibition von PARP-1 werden dabei DNA-Schäden erzeugt, die ohne funktionelle BRCA1 und BRCA2 Proteine nicht repariert werden können [1-3].

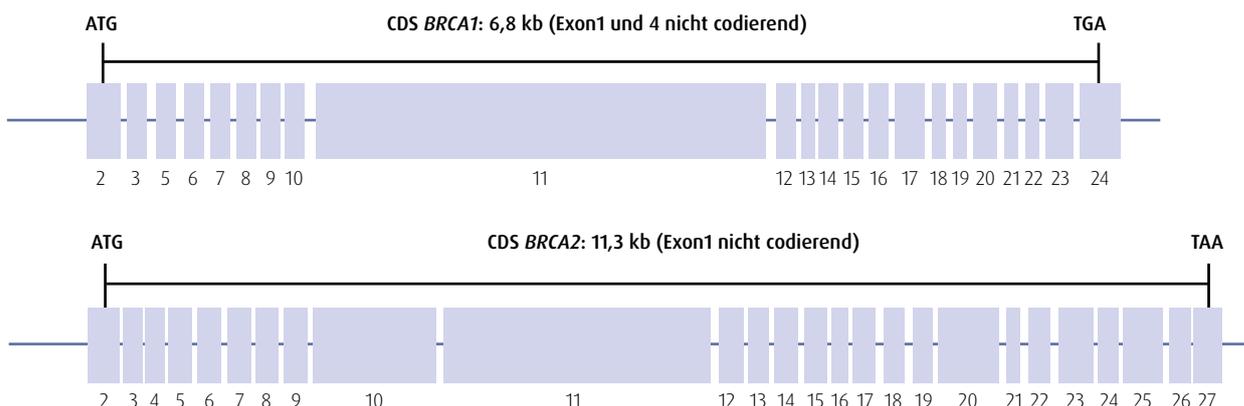
Die BRCA1 und BRCA2 Gene sind auf den Chromosomen 17 bzw. 13 lokalisiert. BRCA1 enthält 22, BRCA2 26 kodierende Exons. Inzwischen sind mehr als 3000 Mutationen bekannt, die die Funktion der BRCA Proteine beeinträchtigen. Diese beinhalten Punktmutationen, Insertionen, Deletionen sowie große Gen-Rearrangements (Large Rearrangements, LRs) und sind nicht in bestimmten Hot Spot-Regionen in den BRCA-Genen konzentriert. Gemäß den Richtlinien der IARC (International Agency for Research on Cancer) und dem ACMG (American College of Medical Genetics) können BRCA1 und BRCA2 Mutationen in fünf Kategorien klassifiziert werden. Bei PatientInnen mit BRCA1/2 Klasse 4 oder 5 Mutationen können PARP-Inhibitoren effektiv wirken.



► Workflow des AmoyDx® BRCA Pro Panels



► Abdeckung des AmoyDx® BRCA Pro Panels



Molekularpathologie

NGS – BRCA1/BRCA2 Mutationsanalyse



► Vorteile des AmoyDx® BRCA Pro Panels

- ▶ CE/IVD-zertifiziert
- ▶ Geringer Arbeitsaufwand durch Library-Präparation in nur fünf Schritten
- ▶ Die Schritte Hybridisierung – Extension/Ligation – Exonukleasereaktion – Amplifikation laufen im selben Reaktionsgefäß ab
- ▶ Herstellung der NGS-Library innerhalb von ca. 5 Stunden möglich
- ▶ Verwendung von UMI (Unique Molecular Identifier)-Sequenzen zur effizienten Identifizierung von PCR-Fehlern während der Datenanalyse
- ▶ Daten-Analyse auf dem ANDAS Server als unabhängiges stand-alone System für hohe Datensicherheit

► Spezifikationen des AmoyDx® BRCA Pro Panels

Regulatorischer Status	CE/IVD
Erfasste Gene	BRCA1, BRCA2
Zielregion	Alle kodierenden Exons, Exon-Intron Grenzen
Genomische Abdeckung	20,4 kb
Geeignetes Probenmaterial	DNA aus FFPE-Gewebe oder Blut
Geeignete Sequenzier-Plattformen	CE/IVD: Illumina NextSeq 500®, NextSeq 550Dx®, MiSeqDx®* RUO: Illumina NextSeq 500/550®, MiSeq®, MiniSeq®, iSeq 100®*
DNA-Menge	30-100 ng (Gewebe), 30-50 ng (Blut)
Erfasste Varianten	SNVs, InDels, zusätzlich LRs in DNA aus Blut
Anzahl der PCR-Pools	1
Sensitivität	2 % Allelfrequenz
Aufreinigungsschritte	1
Technologie	HANDLE
Output pro Probe	300 Mb (Gewebe), 60 Mb (Blut)
Daten-Analyse	Lokaler Server mit AmoyDx® Analysesoftware (ANDAS)

* NextSeq500®, NextSeq 550Dx®, NextSeq550®, MiSeq®, MiSeqDx® und iSeq 100® sind eingetragene Markennamen der Firma Illumina, Inc., 92122, San Diego, US

► Produktinformation

Bezeichnung	Status	Form	Menge	Bestell-Nr.
AmoyDx® BRCA Pro Panel				
Nachweis von BRCA1 und BRCA2 Mutationen an humaner genomischer DNA aus Blutproben und FFPE-Gewebe	CE/IVD	Bulk	1 Kit (24 Tests)	ADX-NBR04

► Lokale Auswertung der Sequenzdaten mit dem AmoyDx® NGS Data Analysis System

Bezeichnung	Status	Menge	Bestell-Nr.
ANDAS (AmoyDx® NGS Data Analysis System)			
Paket aus Server (Dell OEM Ready PowerEdge Server mit CentOS Betriebssystem) und vorinstallierter ANDAS Analyse-Software	CE/IVD	1 System	ANDAS-1

► Literatur

- [1] Kaufman B, et al. Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline BRCA1/2 mutation. J Clin Oncol 33:244-50, 2015
- [2] Mateo J, et al. DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. N Engl J Med 373:1697-708, 2015
- [3] Oza AM, et al. Olaparib combined with chemotherapy for recurrent platinum-sensitive ovarian cancer: a randomised phase 2 trial. Lancet Oncol 16:87-97, 2015

► Zweckbestimmung

Das AmoyDx® BRCA Pro Panel ist ein Next-Generation Sequencing (NGS)-basierter In-vitro-Diagnostiktest, der für die qualitative Detektion von BRCA1 und BRCA2 Varianten in DNA-Extrakten aus peripherem Vollblut sowie aus FFPE-Gewebe bestimmt ist. Die Analyse deckt alle kodierenden Exons, die Grenzregionen zwischen Exons und Introns, einige Introns sowie UTR-Regionen der BRCA1 und BRCA2 Gene ab.

In DNA aus Gewebe können mit dem Kit Punktmutationen (SNVs) und Insertionen sowie Deletionen (InDels) detektiert werden. In DNA aus Vollblut ist zusätzlich die Analyse von großen Rearrangements (LRs, Large Rearrangements) möglich. Der Assay ist zur Identifizierung von wahrscheinlich pathogenen und pathogenen Varianten (IARC Klasse 4 und 5) in PatientInnen mit Brustkrebs und Ovarialkarzinom bestimmt.

Das Kit ist nur zur Verwendung durch ausgebildetes Fachpersonal im Laborumfeld bestimmt.