

Molekularpathologie

HANDLE Classic NGS Panel



Nachweis von Genfusionen und Mutationen bei NSCLC, Kolonkarzinom und GIST

Das AmoyDx® HANDLE Classic NGS Panel

ZytoMed Systems bietet ab sofort das HANDLE Classic NGS Panel unserer Partnerfirma AmoyDx® für das Next Generation Sequencing (NGS) an. Das neue Library Preparation Kit dient dem Nachweis von Genfusionen und Mutationen in 32 für das nichtkleinzellige Lungenkarzinom (NSCLC), das Kolonkarzinom und für gastrointestinale Stromatumoren (GIST) therapierelevanten Genen.

Mit diesem Panel werden alle in den NCCN Guidelines (6/2018, National Comprehensive Cancer Network®) und der S3-Leitlinie (02/2018) für das NSCLC beschriebenen Gene erfasst, für die zugelassene zielgerichtete Therapien zur Verfügung stehen. Darüber hinaus werden weitere hochaktuelle target-Gene analysiert, z. B. Fusionen von NTRK1-3.

Die Herstellung der NGS-Library basiert auf dem HANDLE-Verfahren (Halo-shape ANnealing and De-

fer-Ligation Enrichment). Dieses schnelle Protokoll besteht aus lediglich sechs Schritten und erlaubt die Herstellung der Library in nur einem Arbeitstag (siehe Workflow-Schema). Alle Reaktionen finden in nur einem Reaktionsgefäß pro Patienten-Probe statt. Als Ausgangsmaterial wird genomische DNA für den Mutationsnachweis und RNA für den Fusionsnachweis verwendet. Wird kein Fusionsnachweis benötigt, so kann nur mit DNA gearbeitet werden, da der für den Fusionsnachweis erforderliche cDNA-Synthese Schritt dann entfällt.

Die Analyse der mit dem HANDLE Classic NGS Panel generierten Daten erfolgt mit dem AmoyDx® NGS Data Analysis System (ANDAS), bestehend aus einer separat erhältlichen Workstation mit vorinstallierter Analysesoftware. Die Auswertung der Sequenzdaten erfolgt lokal und in wenigen Schritten.



► Spezifikationen des AmoyDx® HANDLE Classic NGS Panels

Anzahl erfasster Gene	32
Genomische Abdeckung	ca. 18 kb
Probenmaterial	DNA und RNA aus FFPE Gewebe
Geeignete Sequenzier-Plattform	Illumina MiniSeq®, MiSeq®, NextSeq500®, HiSeq®, NovaSeq®
Benötigte DNA Menge / RNA Menge	50 ng DNA / 20 ng RNA
Erfasste Varianten	SNVs, indels, fusions, CNVs
Anzahl der PCR Pools pro Probe	1
Amplicon-Größe	120 – 160bp
Sensitivität	2 %
Output pro Probe	0,4 Gb
Arbeitstage für die Library-Herstellung	1
Technologie	HANDLE-Verfahren
Daten-Analyse	Lokale Workstation mit AmoyDx® Analysesoftware (ANDAS)
Verwendete Datenbanken im ANDAS-Analysemodul	ClinVar, COSMIC, dbSNP, 1000 Genomes, PubMed

Molekularpathologie

HANDLE Classic NGS Panel



Target-Gene im AmoyDx® HANDLE Classic NGS Panel

Gen	Variante
ALK	SNV/InDel/Fusion
ROS1	SNV/InDel/Fusion
RET	SNV/InDel/Fusion
FGFR1	SNV/InDel/Fusion
FGFR2	SNV/InDel/Fusion
FGFR3	SNV/InDel/Fusion
EGFR	SNV/InDel
BRAF	SNV/InDel
ERBB2	SNV/InDel/CNV
KRAS	SNV/InDel
NRAS	SNV/InDel

Gen	Variante
PIK3CA	SNV/InDel
DDR2	SNV/InDel
POLE	SNV/InDel
RB1	SNV/InDel
AKT1	SNV/InDel
MAP2K1	SNV/InDel
IDH1	SNV/InDel
IDH2	SNV/InDel
MSH6	SNV/InDel
PDGFRA	SNV/InDel
KIT	SNV/InDel

Gen	Variante
PTEN	SNV/InDel
TP53	SNV/InDel
SMAD4	SNV/InDel
MET	Fusion/CNV
NTRK1	Fusion
NTRK2	Fusion
NTRK3	Fusion
NRG1	Fusion
RICTOR	CNV
CTNNB1	SNV/InDel

Workflow des HANDLE Classic NGS Panels: 6 Schritte – 6 Stunden – 1 Tube

1	Reverse Transkription	Proben RNA, Puffer, RT-Enzym für cDNA Synthese	40 min
2	Hybridisierung	Zugabe von genomischer DNA, Puffer, HS-Probes für die Hybridisierung	125 min
3	Extension/Ligation	Zugabe des HS-Extension-Ligation Master Mix; Erzeugung von zirkulären Produkten	10 min
4	Exonuklease-Verdau	Zugabe von HS-Exonuklease A und B zur Entfernung nicht-zirkulärer DNA	40 min
5	PCR-Amplifikation	Zugabe von HS-PCR Master Mix, H ₂ O, HS-S5 und HS-N7 Primer zur Library Amplifikation	40 min
6	Aufreinigung	Aufreinigung über „Magnetic Beads“	40 min



Gesamt: ca. 6 h

QC & Sequenzierung

Produktinformation

Library Preparation Kit

Bezeichnung	CE/IVD	Format	Menge	Bestell-Nr.
AmoyDx® HANDLE Classic NGS Panel	-	Bulk	1 Kit (24 Tests)	ADX-HCNP01-R

Datenanalyse

Bezeichnung	CE/IVD	Menge	Bestell-Nr.
ANDAS (AmoyDx® NGS Data Analysis System) Paket aus Server (Dell PowerEdge T640 Server mit CentOS 6.X Betriebssystem) und vorinstallierter ANDAS Analyse-Software mit ADXBRCa, ADXLC10, ADXHS-Classic Analyse-Modul	✓	1 Paket	ANDAS-1

Vorteile des AmoyDx® HANDLE Classic NGS Panels

- ▶ Library Preparation in nur einem Arbeitstag!
- ▶ Geringer Arbeitsaufwand durch Library Preparation in nur 6 Schritten!
- ▶ Einfaches „One-tube“ System: Die Schritte cDNA-Synthese, Hybridisierung, Extension/Ligation, Exonukleasereaktion und Amplifikation laufen im selben Reaktionsgefäß ab!
- ▶ Nur eine PCR-Aufreinigung am Ende der Library Preparation nötig!
- ▶ Verwendung von UID (unique identifier) Sequenzen zur effizienten Korrektur von Sequenzierfehlern.
- ▶ Analyse auf der ANDAS Workstation als unabhängiges lokales stand-alone System für hohe Datensicherheit!
- ▶ Für viele gängige Illumina-Sequenzierplattformen geeignet!