



ISLH Webinar Q&A
Thursday, April 13, 2023
Dr. Patricia Chiusolo

Question: how to do the pipeline verification for NGS?

Answer: We check through literature to main genes involved and their hot sport region

Question: Does obtaining somatic DNA for germline testing always involve culturing cells?

Answer: Only if you use skin fibroblast

Question: can I see a sample NGS report from AML ALL

Answer: I attached an anonymous report to the mail

Question: Have you used optical genome sequencing?

Answer: No

Question: when using BMA for disease monitoring, how do you address potential issues like hemodilution?

Answer: We try to collect 1st bone marrow sample for MRD

Question: Regarding using BM sample for MRD, how concerning are the erythroid precursors?

Answer: We start from Fycoll, so the majority of them may be eliminated

Question: What is the TAT for NGS in ur lab ?

Answer: We perform a run of 12 sample/week and the TAT including analysis is 10 days

Pannello NGS per Neoplasie Mieloidi

Eseguito da	Richiesto da
Laboratorio Servizio di Ematologia e DH Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS	
Largo A. Gemelli 8 00168 Roma-Italia	Indirizzo

Paziente:**Data di raccolta del campione:****Diagnosi:****Tipo di materiale:**

Sangue midollare/DNA genomico

Data risultato:

Dettaglio geni analizzati (esoni): ASXL1 (13), CALR (9), CBL (8,9), CBLB (10), CEBPA (all), KIT (2, 8-11, 13 e 17), CSF3R (14-17), CUX1 (all), DNMT3A (all), EZH2 (all), IDH1 (4), IDH2 (4), IKZF1 (all), JAK2 (14), JAK3 (all), KRAS (all), MPL (all), NRAS (all), RUNX1 (all), SETBP1 (4), SF3B1 (13-16), SRSF2 (1), TET2 (3-11), TP53 (2-11), U2AF1 (2-6), WT1 (7-9), ZRSR2 (all)

Metodo analitico:

Sequenziamento massivo parallelo, Next Generation Sequencing (NGS) su piattaforma Miniseq (Illumina) mediante pannello Custom prodotto su Design Studio (Illumina).

Limite di rilevazione: $\geq 5\%$ frequenza variante allelica (FVA)

Analisi di interpretazione: ClinVar, COSMIC, Polyphen2 e dbSNP

Risultati:

L'analisi effettuata ha evidenziato le seguenti mutazioni:

Gene	ID trascritto	Variante	Alterazione Proteica	VAF	Ref
KRAS	NM_004985.5	c.34G>A	p.(Gly12Ser)	9%	COSM1152506

La variante p. (Gly12Ser) presente nel gene KRAS, è stata identificata come variante somatica patogena dal database di riferimento ClinVar e ritrovata nel tessuto emopoietico come descritto dal database di riferimento COSMIC (COSM1152506).

Questa variante di sequenza sostituisce la glicina, neutra e non polare, con la serina, neutra e polare, nel

codone 12 della proteina KRAS. L'analisi in silico dimostra che questa variante missenso ha un effetto deleterio sulla struttura/funzione proteica. Le mutazioni di KRAS sono state descritte in circa il 4% dei pazienti con sindrome mielodisplastica.

Inoltre, la variante presenta una frequenza di popolazione pari a 0.000016 nel database di popolazione TOP Med ALL. La stessa variante presenta uno score di predizione di potenziale patogenicità pari a 0.58 su PolyPhen2.

L'analisi ha inoltre evidenziato i seguenti polimorfismi:

Gene	ID trascritto	Variante	Alterazione Proteica	VAF	Ref
KIT	NM_000222.2	c.1621A>C	p.(Met541Leu)	50%	GnomAD

La variante p. Met541Leu, presente nel gene KIT, è stata interpretata come polimorfismo in base alla frequenza di popolazione pari a 0.09 dal database di popolazione GnomAD.

Responsabile del laboratorio

Biologo esecutore del test