

# Диагностика соматических мутаций в опухоли с использованием технологии секвенирования следующего поколения у пациентов с колоректальным раком и раком легкого

Жусина Ю.Г.<sup>1</sup>, Аксенова Е.В.<sup>1</sup>, Канивец И.В.<sup>1,2</sup>, Пьянков Д.В.<sup>1</sup>, Коростелев С.А.<sup>1</sup>

1 — ООО «Геномед»

115093, г. Москва, Подольское шоссе, 8 корпус 5

2 — ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

123242, г. Москва, Баррикадная ул., 2/1, стр. 1

Цель исследования – оценить распространённость редких мутаций в генах *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, а также долю мутантного аллеля (AF) в образцах у пациентов с раком легкого и колоректальным раком. Методом секвенирования следующего поколения (NGS) было исследовано 199 образцов ДНК, выделенной из парафиновых блоков, содержащих образцы опухоли. Редкие мутации при колоректальном раке выявлены у 12,8% пациентов; 20% образцов имели AF < 15%. Редкие мутации при раке легкого найдены у 24,2% пациентов; 27% образцов имели AF < 15%. NGS может быть рекомендовано как рутинный метод исследования соматических мутаций в опухоли. NGS обладает большими диагностическими возможностями в сравнении с ПЦР-тестами или секвенированием по Сэнгеру.

**Ключевые слова:** *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, NGS

**Для цитирования:** Жусина Ю.Г., Аксенова Е.В., Канивец И.В., Пьянков Д.В., Коростелев С.А. Диагностика соматических мутаций в опухоли с использованием технологии секвенирования следующего поколения у пациентов с колоректальным раком и раком легкого. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 62-63

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.06.62-63

**Автор для корреспонденции:** Жусина Юлия Геннадьевна; **e-mail:** zhusina@genomed.ru

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 20.05.2020

## Next-Generation Sequencing for somatic mutation detection in colorectal cancer and lung cancer

Zhusina J.G.<sup>1</sup>, Aksenova E.V.<sup>1</sup>, Kanivets I.V.<sup>1,2</sup>, Pyankov D.V.<sup>1</sup>, Korostelev S.A.<sup>1</sup>

1 — ООО «Genomed»

Podolskoye Shosse, 8, building 5, Moscow, 115093, Russian Federation.

2 — Russian Medical Academy of Postgraduate Education

Barricadnaya str., 2/1, Moscow, 125993, Russian Federation.

Study objective is to assess the prevalence of rare mutations in the *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* genes, as well as the proportion of the mutant allele frequency (AF) in the samples of patients with lung cancer and colorectal cancer. Materials and Methods: 199 samples of DNA isolated from paraffin blocks was studied using next generation sequencing. Study Results: rare mutations in colorectal cancer were detected in 12.8% of patients. 20% of the samples had AF < 15%. Rare mutations in lung cancer were observed in 24.2%. 27% of the samples had AF < 15%. Conclusion: Next Generation Sequencing (NGS) may be recommended as a routine method for detecting somatic mutations in a tumor. NGS has great diagnostic capabilities compared to PCR or Sanger sequencing.

**Key words:** *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, NGS

**For citation:** Zhusina J.G., Aksenova E.V., Kanivets I.V., Pyankov D.V., Korostelev S.A. Next-Generation Sequencing for somatic mutation detection in colorectal cancer and lung cancer. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 62-63 (In Rus)

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.06.62-63

**Corresponding author:** Zhusina Julia; **e-mail:** zhusina@genomed.ru

**Funding.** The study was conducted without sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Accepted:** 20.05.2020

Секвенирование следующего поколения (NGS) становится все более используемым методом, позволяющим анализировать соматические мутации в опухолевой ткани. NGS позволяет одновременно анализировать несколько сотен мутаций в одном образце, точно идентифицировать мутацию, а не только кодон в котором произошла аминокислотная замена, имеет высокую чувствительность, что дает возможность выявлять мутантный аллель с долей  $\geq 0,1\%$ . Этот метод позволяет диагностировать редкие мутации, а также снизить стоимость определения мутаций при использовании панели генов. В России рутинный поиск частых мутаций в генах *EGFR*, *BRAF*, *KRAS*, *NRAS* чаще всего осуществляется методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) или секвенированием по Сэнгеру. Диагностика соматических мутаций с использованием технологии NGS имеет определенные преимущества по сравнению с привычными подходами.

**Цель и задачи исследования** — оценить преимущества NGS по сравнению с другими методами для диагностики соматических мутаций в опухоли у пациентов с колоректальным раком и раком легкого.

### Материалы и методы

Исследовались 199 образцов опухоли (парафиновые блоки, FFPE) пациентов с ранее установленным диагнозом: 122 с колоректальным раком (КРР) и 77 с раком легкого (РЛ). Во всех образцах проводился анализ мутаций в генах *EGFR*, *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*. Образцы поступили в течение 2019 г., от пациентов получено информированное согласие.

ДНК выделяли с использованием QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN, Нидерланды), для оценки качества и эффективной концентрации ДНК применялся набор QuantumDNA-156 (Евроген, Россия). Концентрацию ДНК на других этапах исследования определяли с помощью Qubit™ dsDNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Подготовка библиотеки проводилась с использованием Accel-amplicon plus EGFR pathway panel (Swift Bioscience, США), последующее секвенирование на секвенаторе MiSeq (Illumina, США) по протоколам производителей. Анализ данных секвенирования проводили с помощью собственного программного обеспечения «Геномед Онко».

### Результаты

Из 122 образцов КРР мутации были обнаружены в 70 (57,4%). Оценивалась частота встречаемости мутаций, в том числе тех, которые не входят в большинство ПЦР-тест систем. Среди мутаций в гене *KRAS* 14,5% составили редкие мутации 61, 146, 59 кодонов. В гене *BRAF* помимо мутации V600 была обнаружена мутация p.Thr599Ple (7,7%). В образцах пациентов с РЛ мутации были обнаружены у 33 пациентов (42,9%). Почти половину составили мутации в гене *EGFR* (48,5%). Редкие мутации (не L858R и не делеции 19 экзона) составили 37,5%: 25% — инсерции 20 экзона, 12,5% — миссенс-мутации 18 и 19 экзона (p.Leu747Ser, p.Gly719Ala). 2 обнаруженные мутации в гене *BRAF* оказались не V600 мутациями (p.Gly466Ala, p.Gly469Ala). Для оценки чувствительности NGS по сравнению с секвенированием по Сэнгеру без использования блокирующих проб оценивалась доля мутантного аллеля (AF%) в образцах с условным порогом минимальной чувствительности метода Сэнгера 15%. Среди пациентов с КРР 20% имели AF 5–14%. Среди пациентов с РЛ 27% пациентов имели AF 3–12%.

В нашем исследовании NGS выявило редкие мутации у 12,8% пациентов с КРР и у 24,2% пациентов с РЛ. Это больше, чем позволяют выявить многие ПЦР-тест системы, в том числе тест-системы, имеющие регистрационное удостоверение на территории Российской Федерации. NGS позволило выявить мутации у достаточно большой группы пациентов (20% и 24,2% пациентов с КРР и РЛ, соответственно), у которых они не были бы выявлены при использовании секвенирования по Сэнгеру без блокирующих проб. Внедрение NGS для поиска частых соматических мутаций в опухоли в рутинную практику позволяет выявлять большее число пациентов, имеющих важные драйверные мутации, помогая осуществлять более эффективное консультирование или лечение.

### Литература/ References

1. Gilson P., Franczak C., Dubouis L., et al. Evaluation of KRAS, NRAS and BRAF hotspot mutations detection for patients with metastatic colorectal cancer using direct DNA pipetting in a fully-automated platform and Next-Generation Sequencing for laboratory workflow optimization. *PLoS One*. 2019;14(7):e0219204. doi:10.1371/journal.pone.0219204
2. Jing C., Mao X., Wang Z., et al. Next-generation sequencing-based detection of EGFR, KRAS, BRAF, NRAS, PIK3CA, Her-2 and TP53 mutations in patients with non-small cell lung cancer. *Mol Med Rep*. 2018;18(2):2191–2197. doi:10.3892/mmr.2018.9210