

Analiza mutacji *FGFR3* w grupie 116 pacjentów z niezaawansowaną postacią raka pęcherza moczowego

Paulina Gapska¹, Roman Sosnowski², Paweł Stajno², Marcin Ligaj³, Monika Prochorec-Sobieszek³⁻⁴, Jerzy Pieczykolan¹,
Maciej Wieczorek⁵, Tomasz Demkow², Aleksandra Stańczak¹

¹Dział Badań Przedklinicznych, Celon Pharma S.A., Kiełpin, Polska

²Klinika Nowotworów Układu Moczowego, Centrum Onkologii- Instytut im. M. Skłodowskiej –Curie, Warszawa, Polska

³Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Centrum Onkologii- Instytut im. M. Skłodowskiej –Curie, Warszawa, Polska

⁴Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa, Polska

⁵Celon Pharma S.A., Kiełpin, Polska

METODY

Opracowano test do oznaczania mutacji w obrębie genu *FGFR3* w próbkach pochodzenia urotelialnego. Genotypowanie FFPE- DNA zostało oparte o zastosowanie spektrometrii mas z użyciem desorpcji/ionizacji laserowej wspomaganą matrycą z analizatorem czasu przelotu (MALDI-TOF MS) z wykorzystaniem systemu MassARRAY (Agena Bioscience Inc.).

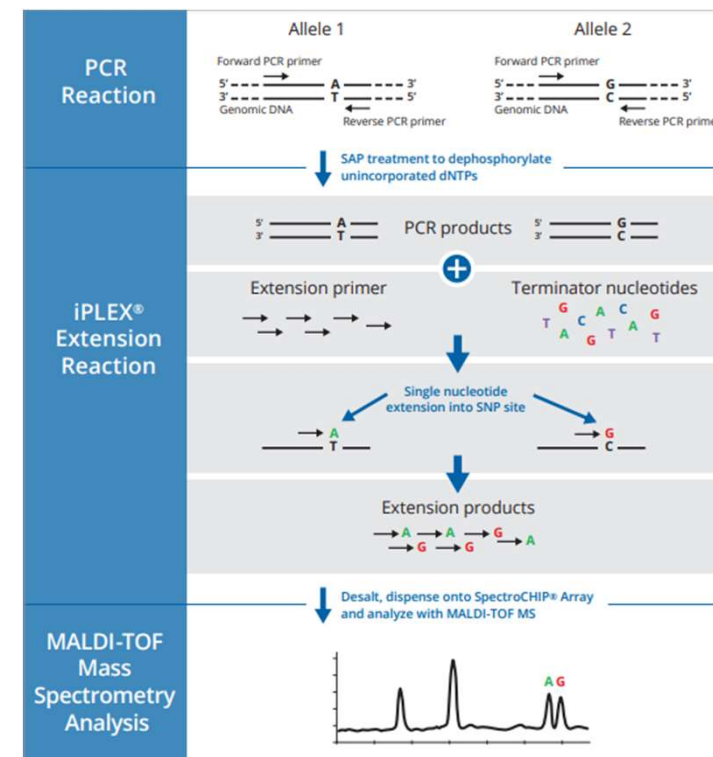
Oparta o spektrometrię mas metoda umożliwia genotypowanie poprzez wydłużenie startera o jeden nukleotyd (tzw. reakcja iPLEX) w badanym locus, generując produkty różniące się masą w zależności od posiadanego genotypu (typ dziki albo mutacja). Schematyczny przebieg badania przedstawia Rycina 1.

Układ badawczy (Tabela 1) został zaprojektowany z wykorzystaniem oprogramowania Assay Design Suit V2.0 (Agena Bioscience). Test obejmuje 6 najczęstszych, aktywujących mutacji genu *FGFR3*, które są oznaczane w dwóch reakcjach (5plex oraz 1plex).

Tabela 1: Zaprojektowany układ badawczy do oznaczania mutacji w genie *FGFR3*

Well /Assay	SNP		ASSAY_ID
W1A1	p.Y373C	c.1118A>G	FGFR3_G370C_Y373C_A391E#2
W1A2	p.A391E	c.1172C>A	FGFR3_G370C_Y373C_A391E#3
W1A3	p.K650EQ	c.1948A>G	FGFR3_K650EQ_K650MT#1
W1A4	p.R248C	c.742C>T	FGFR3_R248C_S249C#1
W1A5	p.S249C	c.746C>G	FGFR3_R248C_S249C#2
W2A1	p.G370C	c.1108G>T	FGFR3_G370C_Y373C_A391E#1

Rycina 1: Schematyczny przebieg genotypowania z zastosowaniem metody MALDI-TOF MS



Źródło: materiały informacyjne firmy Agena Biosciences

WYNIKI

Mutacje w genie *FGFR3* wykryto u 28 (24.14%) spośród 116 przebadanych pacjentów. Częstość występowania mutacji *FGFR3* była wyższa w grupie przypadków low-grade w porównaniu do high-grade NMIBC i wynosiła odpowiednio 28.12 i 19.23%.

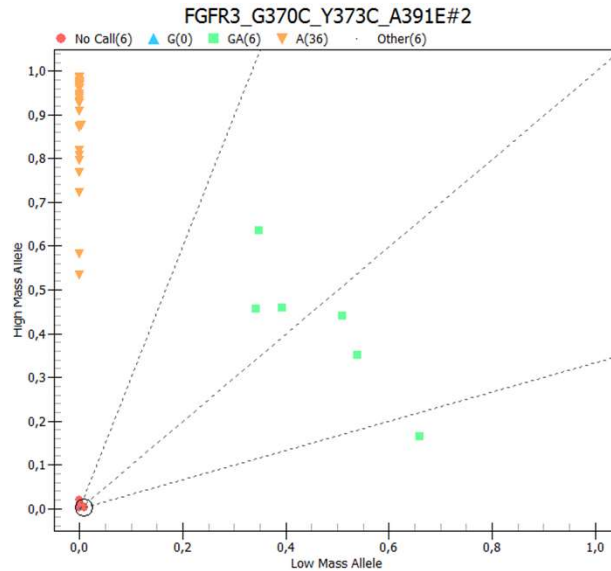
Mutacja w obrębie kodonu 373 (Y373C- izoforma IIIc) występowała z najwyższą częstością (10.53%). Kolejne wykrywane zmiany to: R248C (8.85%), S249C (2.68%) oraz G370C (2.63%). Nie wykryto mutacji w kodonie 391 oraz 650.

Skuteczność genotypowania określono na poziomie 95.31- 100 %, zależnie od badanej zmiany oraz grupy pacjentów objętej badaniem. Uzyskane wyniki przedstawiono w Tabeli 2.

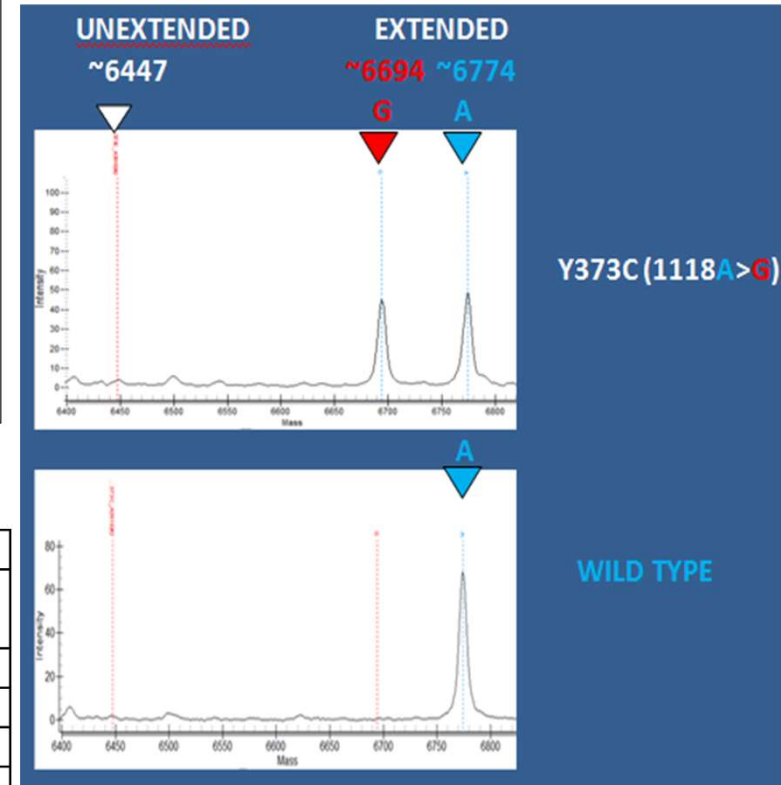
Tabela 2: Częstość występowania mutacji *FGFR3* w materiale FFPE-DNA pochodzenia urotelialnego

Mutations:			LG NMI-BC				HG NMI-BC				TOTAL NMI-BC			
SNP			Mutations		Coverage	Mutations		Coverage	Mutations		Coverage	Mutations		Coverage
			18/64	28.13%		10/52	19.23%		28/116	24.14%				
1.	p.Y373C	c.1118A>G	7/63	11.11%	63/64	98.44%	5/51	9.80%	51/52	98.08%	12/114	10.53%	114/116	98.28%
2.	p.R248C	c.742C>T	7/63	11.11%	63/64	98.44%	3/50	6%	50/52	96.15%	10/113	8.85%	113/116	97.41%
3.	p.S249C	c.746C>G	2/61	3.28%	61/64	95.31%	1/51	1.96%	51/52	98.08%	3/112	2.68%	112/116	96.55%
4.	p.G370C	c.1108G>T	2/63	3.17%	63/64	98.44%	1/51	1.96%	51/52	98.08%	3/114	2.63%	114/116	98.28%
5.	p.A391E	c.1172C>A	0/64	0%	64/64	100%	0/52	0%	52/52	100%	0/116	0%	116/116	100%
6.	p.K650EQ	c.1948A>G	0/63	0%	63/64	98.44%	0/52	0%	52/52	100%	0/115	0%	115/116	99.14%

Rycina 2: Przykład dyskryminacji alleli dla zmiany *FGFR3* Y373C

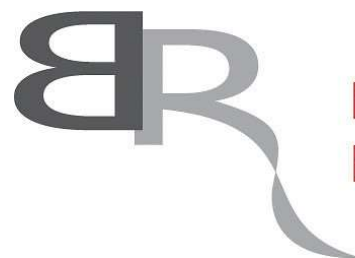


Rycina 3: Przykładowy obraz widm masowych dla zmiany *FGFR3* Y373C



Projekt "CELONKO,, jest dofinansowany z funduszy Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu STRATEGMED:

STRATEGMED2/266776/17/NCBR/2015



Narodowe Centrum
Badań i Rozwoju



CONFIDENTIAL - COPYRIGHT @CELON PHARMA S.A.

Shape the future of healthcare