Kantonsspital
Baselland

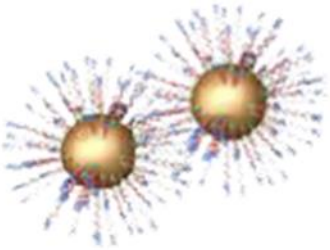
Institut für Pathologie
Prof. Dr. med. Gieri Cathomas, Chefarzt

NGS (Next Generation Sequencing)

Die Methode Next Generation Sequencing ermöglicht das parallele Sequenzieren vieler Genabschnitte in einem Sequenzierungslauf und wird daher auch Hochdurchsatz oder auch Tiefensequenzierung genannt.

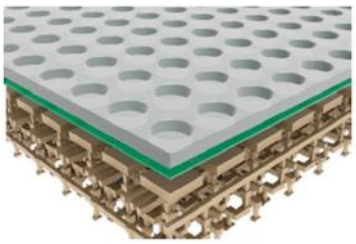
Wir benutzten Geräte der Firma „life technologies“ (Teil von ThermoFisher Scientific) mit der Ion Torrent™ Technologie. Diese Technologie übersetzt die Sequenzinformation (A,T,C und G) direkt in eine digitale Form (0 und 1) mittels eines Semiconductor Chips. Durch die gezielte Auswahl eines *Panels* (Multiplex-Primer System) z.B. „Oncomine™ Focus Assay“ können die gesuchten Gene an den *Hotspots* auf Mutationen wie Punktmutationen, Insertionen und/oder Deletionen, Amplifikationen und Fusionen untersucht werden.

Dabei werden nur 10 ng der tumor-angereichterten DNA und/oder RNA eines Patienten benötigt. Die RNA wird bei der reversen Transkription in cDNA umgeschrieben. Die DNA und/oder cDNA wird mittels des Primerpools (*Panel*) in einer PCR Reaktion zu einer *Library* vervielfältigt. Durch den Vorgang der *Templation* wird ein DNA-Molekül an ein Partikel (*Sphere*) gebunden. Dieses gebundene DNA-Molekül wird wiederum am Partikel vervielfältigt, so dass ein monoclonales Partikel (*Sphere)* (siehe Bild) entsteht.



Spheres
(Bild von life technologies)

Dieser Partikel wird in einem *Well* auf den Semiconductor Chip (siehe Bild) geladen und durch Zugabe von Nukleotiden sequenziert. Dabei wird die pH-Wert Änderung, ausgelöst durch den Einbau eines Nukleotids und des dabei freiwerdenen Wasserstoffatoms, gemessen. Diese Rohdaten werden dann über Ion Torrent Suite Software™ verarbeitet und durch die Ion Reporter™ Software ausgewertet.



Chipausschnitt
(Bild von life technologies

Mittels definierter Qualitätskriterien werden die Ergebnisse der Patienten ausgewertet und durch den FA beurteilt.

Wir verwenden hauptsächlich das Panel „Oncomine™ Focus Assay“. Für spezifische Fragestellungen sind aber auch folgende Panels im Angebot.

- Ion AmpliSeq™ Cancer Hotspot Panel v2
- Ion AmpliSeq™ Colon and Lung Cancer Research Panel v2
- Ion AmpliSeq™ RNA Fusion Lung Cancer Research Panel

Mit Erfolg haben wir bereits an verschiedenen Ringversuchen der Anbieter EMQN und QuIP teilgenommen. Die Zertifikate sind ebenfalls auf der Homepage ersichtlich. Seit Ende Juni 2017 haben wir die Methode des NGS akkreditiert.

Liestal Mühlemattstrasse 11 CH-4410 Liestal T +41 (0)61 925 26 20 F +41 (0)61 925 20 94 pathologie@ksbl.ch www.ksbl.ch