

分子病理学领域的挑战: NGS 变异评估和可行性结果报告



概述

在本案例研究中，您将了解到：

- 采用 NGS 技术的病理学实验室如何通过自动化解析和报告方案显著改善分析周期
- Alissa Interpret 如何帮助实验室自动完成变异评估标准操作规程并起草可行性结果报告

前言

随着新一代测序 (NGS) 的出现，临床遗传学和分子病理学实验室都面临着前所未有的新挑战。这份简短的白皮书展示了 Agilent Alissa 临床信息学平台的变异评估模块 Agilent Alissa Interpret 的界面友好功能如何有效地满足样品分析自动化和实验室报告的需求。本文示例将在分子病理学的背景下展示这些自动化功能。

案例

作为示例，我们采用了代表约 50 个已知特征性癌症基因的基因组合捕获试剂盒的结果。通过湿法实验室处理和原始数据分析从所得测序输出中识别 SNP 和插入缺失变异，然后将得到的变异数据 (VCF 文件格式) 以单个样本或测试批次上传到 Alissa Interpret 中。如图 1 所示，所得变异数据可作为实验室结果 (Lab Results) 及时地提供患者记录。

Status	Source	Sample ID	# Variants	Actions
Ready	Halolindel.vcf	HP01	52	
Ready	HalosNP.vcf	HP01	117	

图 1. 包含 SNP 和插入缺失的 Vcf 文件链接至肿瘤患者样本记录。共有 169 个变异可用于分析

结论汇总

Alissa Interpret 能够非常显著地提高临床肿瘤学实验室的分析速度并实现工作流程的标准化。



分析功能现在能够对所鉴定的变异自动执行标准操作规程。分析和解析步骤以决策树的形式呈现，该决策树之前通过许多具有已知结果的癌症样本进行构建并通过验证。变异经过决策树的决策并根据方案得到分类。

实验室通常希望执行如图 2 所示的过滤步骤：

- 是否存在于代表常见变异的公共数据库中。只要 3 个数据库（Exome Variant Server、1000 Genomes 和 dbSNP）中的 2 个存在该变异且次要等位基因频率超过 1%，则本特定方案将该变异标记为“良性”
- 非“同义”转录影响。只考虑对蛋白质可能有影响的变异
- 根据一些定制数据库进行筛查。在这种情况下，配置以下数据库
 - COSMIC 癌症变异数据库
 - 本实验室从在线资源（如 PubMed）中优化整理的一系列变异
 - 实验室从位点特异性数据库中选择和验证的已知和经过优化整理的 TP53 和 BRCA1 变异
 - 与肿瘤相关的一系列 ClinVar 变异
 - 已知药物的实验室特异性遗传标志物数据库

该分类树仅给出了一种示例，Alissa 临床信息学平台可提供更多的过滤器、数据库、算法和策略，例如肿瘤样本与健康样本的比较、生殖系标志物的遗传分析、各种预测算法、频率统计计算和大量样本集的使用等等。此外，该平台可根据实验室的需求进行量身定制。

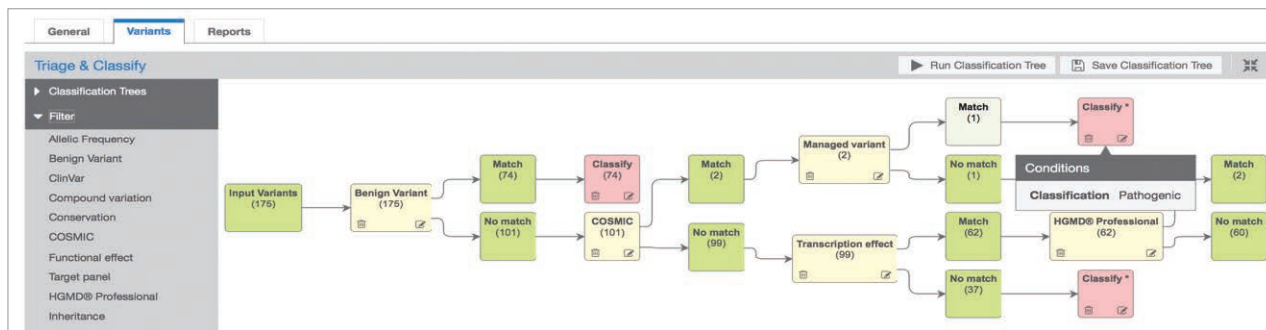


图 2. 以经过验证和存储的“决策树”形式显示的基本过滤策略。变异透过决策树进行筛选并接受分类。然后可以对其进行审查并写入报告

该方案可立即鉴定出致病性变异，并标记用于审查和报告。图 3 给出了一个简短列表 — 在这一示例中，是一种实验室已在其数据库中注释的已知药物相关的已知变异。

Effect	Benign	Likely benign	VOUS	Likely pathogenic	Pathogenic	Not Classified	Total
frameshift	0	0	0	0	0	41	41
nonsynonymous	31	0	0	1	1	19	52
stopgain	0	0	0	0	0	2	2
synonymous	31	18	0	0	0	0	49
Not specified	12	19	0	0	0	0	31
Total	74	37	0	1	1	62	175

Gene	Position	Ref	Patient	Read Depth	Type	Transcript	cDNA	Location	Exon	Effect	Protein	Classification	Confirmed Classification	References	MVL							Report	Actions		
BRAF	7:140,453,136	A	A	T	105	snp	NM_004333.4	c.1799T>A	exonic	15	nonsynonymous	p.Val600Glu	Pathogenic	Pathogenic		Biom	BRCA	Canc	Clin	Cosm	Other	Similarities	Info		

图 3. 所得变异 — 在这一示例中，鉴定出单个变异并标记以便生成报告。有多种其他工具可用：(a) 检查先前是否在实验室中出现过、(b) 链接到多个网络资源、(c) 所有变异信息的概览、(d) c. 和 p. 符号、(e) 表示数据库与名为“管理变异列表”的优化数据库中其他样本出现频率的条形图

作为工作流程的最后一步，Alissa Interpret 可以通过便捷的模板系统创建实验报告。可使用默认模板，但通常需要根据实验室报告需求和布局要求对模板进行定制。

该模板系统的强大之处在于其自动化功能：


- 根据分析内容自动插入文本简介。例如，当存在特定的 BRAF p.Val600Glu 变异时，报告模板将配置为自动插入有关 BRAF 基因、该特定变异、已知用于该变异的药物或链接至内部数据库的临床试验的信息
- 自动生成结果段落
- 自动生成默认相关变异的概览表
- 自动包括方案、免责声明、后续建议
- 自动包括数据库版本、方案版本等相关信息提供完整的临床可追溯性

根据实验室需求量身定制自动起草的报告，可用于审查、处理、下载或导出为 PDF 或 Word 文件，如本案例研究最后一页的**图 4**所示。

Alissa Interpret NGS — 结论

Alissa Interpret 能够帮助病理学和医学实验室非常显著地提高临床肿瘤学相关分析的速度并实现工作流程的标准化，同时还为肿瘤学家提供信息丰富的个性化报告。

如需了解更多信息，请访问 www.agilent.com/lifesciences/alissa 获取系统演示。



Patient						
Name:	P_HP01					
Gender:	Male					
Creation date:	16.09.2014					
Analysis						
Reference number:	A_HP01					
Domain:	Oncology					
Target panel:	50 gene target panel used					
Date :	16.09.2014					
Clinical details						
HP:0012056 Cutaneous melanoma - The presence of a `melanoma` (MPATH:359) of the `skin` (FMA:7163).						
Reported variants						
Gene	Transcript	Zyg	eNomen	protein	Read	Label
BRAF	NM_004333.4	0/1	c.1799T>A	p.Val600Glu	105.0	Pathogenic
Affected gene information						
<p>BRAF This gene encodes a protein belonging to the raf/mil family of serine/threonine protein kinases. This protein plays a role in the MAP kinase/ERKs signaling pathway which affects cell division, differentiation, and secretion.</p> <p>Mutations in this gene are associated with cardiofaciocutaneous syndrome, a disease characterized by heart defects, mental retardation and a distinctive facial appearance. Mutations in this gene have also been associated with various cancers, including non-Hodgkin lymphoma, colorectal cancer, malignant melanoma, thyroid carcinoma, non-small cell lung carcinoma, and adenocarcinoma of lung. A pseudogene, which is located on chromosome X, has been identified for this gene. An important paralog gene is FPGT-TNNI3K.</p>						
Interpretation						
<p>Tafinlar, a BRAF inhibitor, is approved to treat patients with melanoma whose tumors express the BRAF V600E gene mutation. Mekinist, a MEK inhibitor, is approved to treat patients whose tumors express the BRAF V600E or V600K gene mutations. Approximately h</p>						

图 4. 根据报告模板自动起草报告的示例

注：无论是内容还是布局，报告可以完全根据实验室需求进行定制。

(a) 模板可包括样本、结果、公共信息、数据库、文献注释等所有信息

(b) 表格列表可以包括便于阅读的变异概览，包括读出序列深度、命名、转录本、基因定义、分类等各种参数

(c) 自动生成的文本可以以情境相关的方式插入：如果变异 x 或基因 Y 出现在可报告结果中，则相应地包括预先配置的文本。在这一示例中，因为报告中出现了这种变异，“受影响基因信息”标题会自动包括 BRAF 基因部分

预期用途声明

Alissa Interpret 软件适用于使用公共、商业和客户内部数据源的变异存储、可视化和标注。该软件使最终用户能够通过设置流程来执行或自动化执行遗传变异分类，还具备记录变异评估和起草变异分析报告的功能。这种整合能力允许与外部软件系统自动交换变异和报告信息。

Alissa Interpret 软件旨在为接受过培训的实验室专业人员、临床遗传学家和分子病理学家提供决策支持软件平台，以用于在临床信息背景下分析和解析人类样品中的遗传变异。

了解更多信息：

www.agilent.com/lifesciences/alissa

发送邮件至 cad.info@agilent.com

PR7000-0745

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2017

2017年6月30日，中国出版

5991-8534ZHCN

可靠结果，完整方案

Alissa Interpret 是美国的 I 类豁免医疗器械、欧洲的 CE IVD 以及加拿大和澳大利亚的 I 类 IVD 器械。



Agilent Technologies