





NGS e mutazioni nel trapianto di CSE: quali informazioni agli ematologi?

F.E. Bertinetto, D. Bongioanni, E. Garino, A. Giordano,
T. Melchiorre, L. Rocchi, S. Alizzi, G.A. Mazzola, A. Amoroso

S.C. Immunogenetica e Biologia dei Trapianti U., Città della Salute e
della Scienza di Torino, Torino

INTRODUZIONE

- 
- 2017: Accreditamento EFI per NGS
- 2018: 801 campioni tipizzati in NGS
- 2019: 1781 campioni tipizzati in NGS (da gennaio a luglio)
introduzione NGS a pieno regime

- 
- trapianto di CSE (pazienti, MUD, ecc.) e donatori CSE all'iscrizione
 - materiale di partenza: sangue intero, swab

Analisi dal 01 aprile al 02 luglio 2019 con la **libreria IMGT/HLA 3.35.0**:

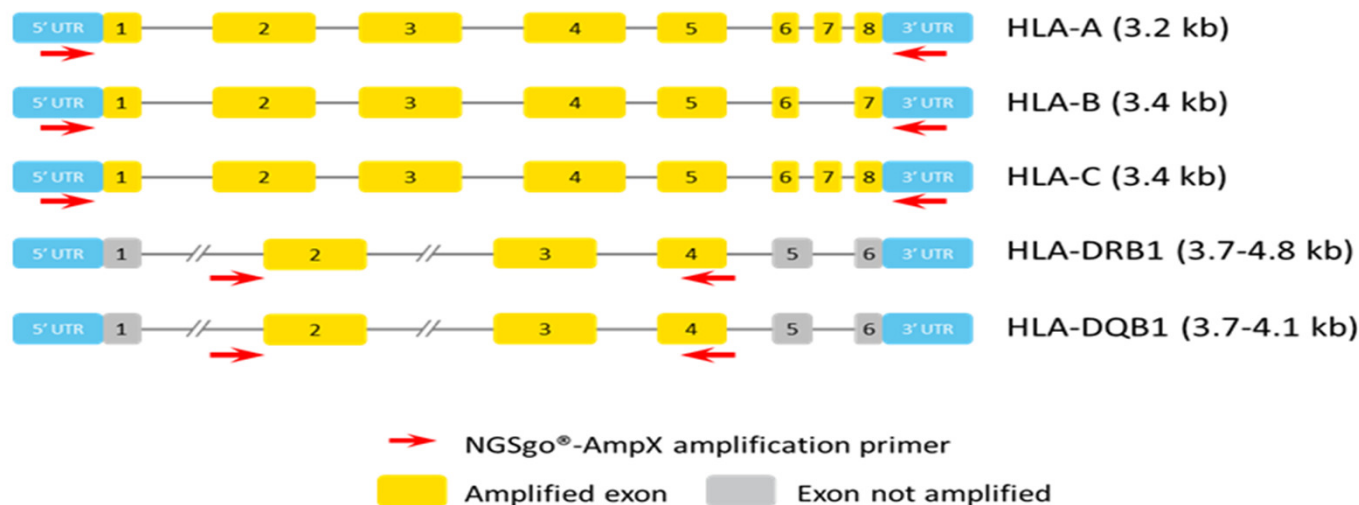
- 19 corse NGS su MiSeq
- 1086 campioni

MATERIALI E METODI

Copertura genica kit NGSgo:

GENDX

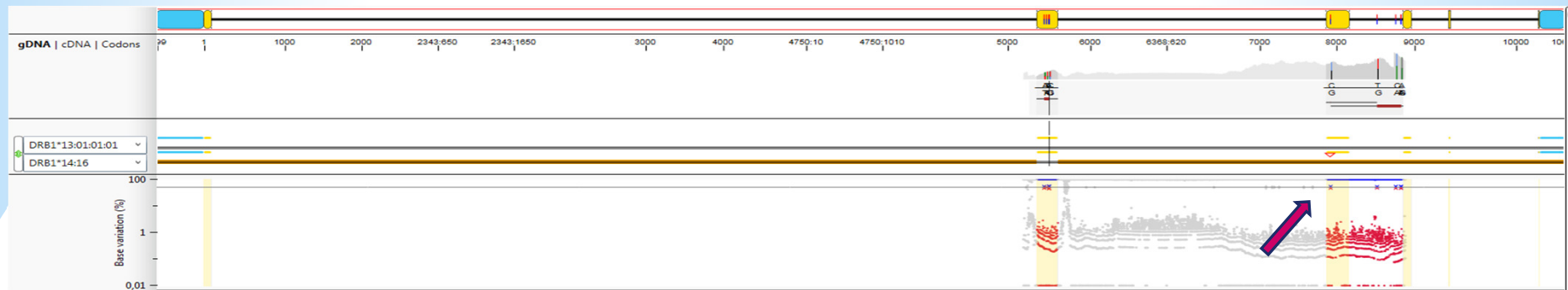
- Classe I: intero gene
- Classe II: dall'esone 2 all'inizio dell'esone 4



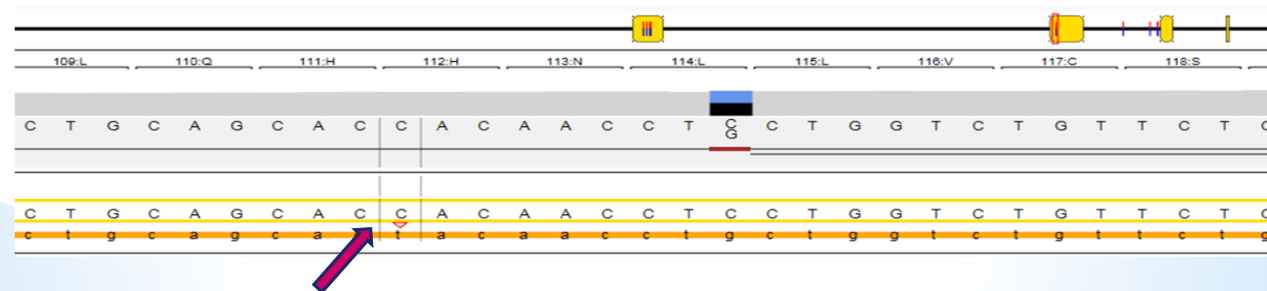
Tale copertura genica ha portato ad individuare frequentemente diversi tipi di mutazioni

TIPOLOGIE DI MUTAZIONI

- Database IMGT/HLA: alcuni alleli non sono sequenziati completamente

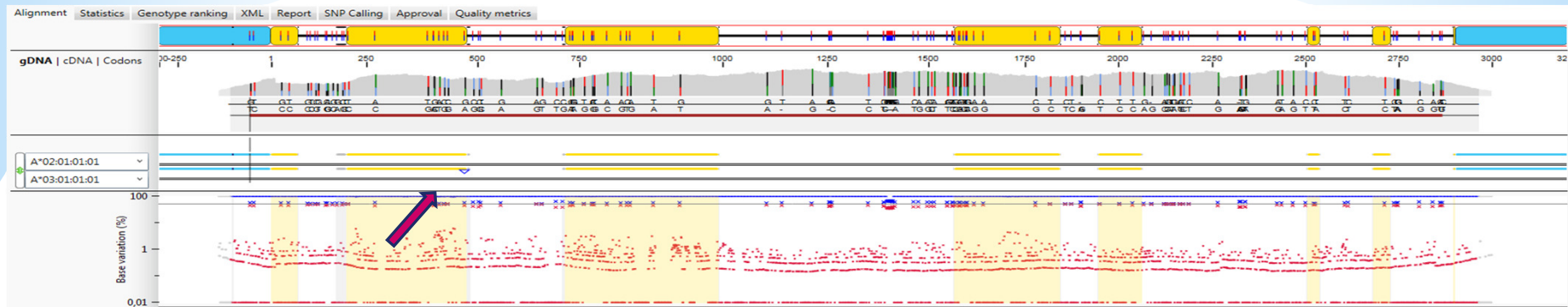


Locus DRB1: esone 3, gDNA 7922, cDNA 421, Codone 112a, TAC → CAC, Tyr → His



TIPOLOGIE DI MUTAZIONI

- **Posizione** della mutazione:
 1. Mutazioni negli esoni 2 e 3 per classe I e esone 2 per classe II (Standard EFI)
 2. Mutazioni negli esoni diversi dai suddetti
 3. Mutazioni negli introni e in UTR



Locus A: esone 2, gDNA 467, cDNA 337, Codone 89a, **GAG** → **AAG**, Glu → Lys



RISULTATI

Individuati **191** mutazioni in **186** campioni (UTR, introni ed esoni):

Mutazioni **esoniche**: 9

	St. EFI	Altri ex
Locus A:	2	0
Locus B:	1	3
Locus C:	0	0
Locus DRB1:	0	1
Locus DQB1:	0	2



Mutazioni **esoniche**:

- se presenti negli esoni 2 e 3 della classe I e nell'esone 2 della classe 2 (3 casi) il laboratorio ha confermato le mutazioni con SBT o in una nuova corsa NGS

Mutazioni **UTR e introni**: 182

Locus A:	6
Locus B:	36
Locus C:	19
Locus DRB1:	104
Locus DQB1:	17



Mutazioni **introniche**:

- alcune sono state riscontrate in diversi casi: la mutazione più frequente (65 casi) è stata la posizione 8290:1 dell'introne 3 in diversi alleli del DRB1*04 (non sequenziati negli introni)
- non confermate

Attenzione: codoni di stop e zone di splicing

CONCLUSIONI

La politica del laboratorio, tesa a fornire in tempi rapidi una risposta efficace alle ematologie, è quella di adottare la seguente linea di comportamento:

- Mutazioni in UTR o introni
- Mutazioni esoniche al di fuori degli esoni 2 e 3 per la classe I e 2 per la classe II
- Mutazioni esoniche negli esoni 2 e 3 per la classe I e 2 per la classe II

Definizione dell'allele mediante il **gruppo P** di appartenenza

Identificazione dell'allele con il termine "**New**" e descrizione della mutazione nel referto



Identificare in ambito AIBT una linea guida nazionale per la gestione dei dati di tipizzazione ottenuti con tecnica NGS da condividere con gli ematologi, in forza del ruolo di riferimento che i laboratori HLA devono avere nell'ambito dei trapianti di CSE.



Grazie