# Next Generation Sequencing analyse bij hematologische aandoeningen

Dit is een volledig nieuwe versie van het document bij introductie van het nieuwe NGS panel (Hemato_v5). Belangrijke wijzigingen in het document zijn geel gemarkeerd.

Met Next Generation Sequencing (NGS) worden met het **Hemato_v4** of **Hemato_v5** panel varianten opgespoord in 116 (v4) of 195 (v5) genen bij patiënten met acute myeloïde leukemie (AML), myelodysplastisch syndroom (MDS), primaire myelofibrose (PMF), chronische myelomonocytaire leukemie (CMML), atypische chronische myeloïde leukemie (aCML), chronische neutrofiele leukemie (CNL), juveniele myelomonocytaire leukemie (JMML) maar ook B- en T-celmaligniteiten en bepaalde zeldzamere hematologische aandoeningen. Eind augustus 2025 zal de overstap gemaakt worden van het hemato_v4 panel naar het hemato_v5 panel. Welk panel gebruikt werd in de analyse, staat vermeld in de info in het rapport. De opbouw van het panel is gebaseerd op de richtlijnen van de ComPerMed commissie (https://www.compermed.be/nl) en aangevuld met een aantal genen die momenteel nog niet *standard-of-care* zijn maar waarvoor reeds een mogelijke rol in bepaalde aandoeningen aangetoond werd.

## Uitvoering en data-analyse

De analyse maakt gebruik van HyperCap hybridisatieprobes (Roche), waarna de sequenering gebeurt op een NextSeq2000, NovaSeq of NovaSeqX Plus (Illumina) toestel. Na sequentie-bepaling worden de bekomen sequenties gealigneerd met het menselijk genoom (versie hg38) en worden de varianten geïdentificeerd met behulp van een in-huis bcbio workflow. De library preparation, sequenering, primaire en secundaire data-analyse wordt uitgevoerd door het platform Moleculaire Diagnostiek UZ Gent (MDG) (https://www.cmgg.be/nl/zorgverlener/labguide/platform-moleculaire-diagnostiek-uz-gent-mdg).

**Overzicht van de genen en exonen die geanalyseerd worden met het hemato_v4 panel en de gebruikte referentiesequenties. Voor hemato_v5, zie de tabel die hierop volgt.**

| Gen | Chromosomale regio | Referentie-sequentie (RefSeq) | Referentie-sequentie (Ensembl) | Regio | Opmerking |
|---|---|---|---|---|---|
| *ANKDR26* | 10p12.1 | NM_014915.3 | ENST00000376087 | 5'UTR en ex1 | |
| *ARID1A* | 1p36.11 | NM_006015.6 | ENST00000324856 | ex1-20 | |
| *ASXL1* | 20q11.21 | NM_015338.6 | ENST00000375687 | ex12-13 | |
| *ATM* | 11q22.3 | NM_000051.4 | ENST00000675843 | ex2-63 | |
| *B2M* | 15q21.1 | NM_004048.4 | ENST00000648006 | ex1-3 | |
| *BCL2* | 18q21.33 | NM_000633.3 | ENST00000333681 | ex2 | resistentie tegen venetoclax |
| *BCOR* | Xp11.4 | NM_001123385.2 | ENST00000378444 | ex4-15 | |
| *BCORL1* | Xq26.1 | NM_021946.5 | ENST00000218147 | ex2-14 | |
| *BIRC3* | 11q22.2 | NM_001165.5 | ENST00000263464 | ex6-9 | |
| *BRAF* | 7q34 | NM_004333.6 | ENST00000646891 | ex6, 12, 13, 16 | |
| *BTG1* | 12q21.33 | NM_001731.3 | ENST00000256015 | ex1-20 | |
| *BTK* | Xq22.1 | NM_000061.3 | ENST00000308731 | ex11, 14-16 | resistentie tegen ibrutinib |
| *CALR* | 19p13.13 | NM_004343.4 | ENST00000316448 | 9 en 3'UTR (100 bp) | |
| *CARD11* | 7p22.2 | NM_032415.7 | ENST00000396946 | ex 4-10, 15, 20, 21 | |
| *CBL* | 11q23.3 | NM_005188.4 | ENST00000264033 | ex8-9 | |

| Gen | Chromosomale regio | Referentie-sequentie (RefSeq) | Referentie-sequentie (Ensembl) | Regio | Opmerking |
|---|---|---|---|---|---|
| *CBLB* | 3q13.11 | NM_170662.5 | ENST00000394030 | ex9-10 | |
| *CCL22* | 16q21 | NM_002990.5 | ENST00000219235 | ex2-3 | |
| *CCND1* | 11q13.3 | NM_053056.3 | ENST00000227507 | ex1 | |
| *CCND3* | 6p21.1 | NM_001760.5 | ENST00000372991 | ex5 | |
| *CD28* | 2q33.2 | NM_006139.4 | ENST00000324106 | ex1-4 | |
| *CD33* | 19q13.41 | NM_001772.4 | ENST00000262262 | ex2 (G13-N53) | enkel voor rs12459419 detectie (gemtuzumab ozogamicin sensitiviteit) |
| *CD58* | 1p13.1 | NM_001779.3 | ENST00000369489 | ex1-5 | |
| *CD79A* | 19q13.2 | NM_001783.4 | ENST00000221972 | ex4-5 | |
| *CD79B* | 17q23.3 | NM_000626.4 | ENST00000006750 | ex4-6 | |
| *CDKN2A* | 9p21.3 | NM_000077.5 | ENST00000304494 | ex1-2 | |
| *CEBPA* | 19q13.11 | NM_004364.5 | ENST00000498907 | ex1 | |
| *CREBBP* | 16p13.3 | NM_004380.3 | ENST00000262367 | ex1-31 | |
| *CSF3R* | 1p34.3 | NM_156039.3 | ENST00000373103 | ex14-17 | |
| *CUX1* | 7p22.1 | NM_001202543.2 | ENST00000360264 | ex1-24 | |
| *CXCR4* | 2q22.1 | NM_001008540.2 | ENST00000409817 | ex1 (F296-S356) | |
| *DDX3X* | Xp11.4 | NM_001356.5 | ENST00000644876 | ex2-16 | |
| *DDX41* | 5q35.3 | NM_016222.4 | ENST00000330503 | ex1-17 | |
| *DIS3* | 13q21.33 | NM_014953.5 | ENST00000377767 | ex1-3, 9-18 | |
| *DNMT3A* | 2p23.3 | NM_022552.5 | ENST00000321117 | ex2-23 | |
| *EGR2* | 10q21.3 | NM_000399.5 | ENST00000242480 | ex2 (P339-E412) | hotspots E356 en H384 |
| *EP300* | 22q13.2 | NM_001429.4 | ENST00000263253 | ex1-31 | |
| *ETNK1* | 12p12.1 | NM_018638.4 | ENST00000671733 | ex3 | |
| *ETV6* | 12p13.2 | NM_001987.5 | ENST00000396373 | ex1-8 | |
| *EZH2* | 7q36.1 | NM_004456.5 | ENST00000320356 | ex2-20 | |
| *FAS* | 10q23.31 | NM_000043.6 | ENST00000652046 | ex3-11 | |
| *FBXW7* | 4q31.3 | NM_033632.3 | ENST00000603548 | ex4-14 | |
| *FLT3* | 13q12.2 | NM_004119.3 | ENST00000241453 | ex1, 11-17, 20 | Detectie FLT3-ITD, FLT3-TKD (en andere SNVs) en CDX2 CNV afwijkingen |
| *FOXO1* | 13q14.11 | NM_002015.4 | ENST00000379561 | ex1 | |
| *GATA1* | Xp11.23 | NM_002049.4 | ENST00000376670 | ex1-6 | |
| *GATA2* | 3q21.3 | NM_032638.5 | ENST00000341105 | ex2-6 | ook intronen 2 en 4 |
| *GNA13* | 17q24.1 | NM_006572.6 | ENST00000439174 | ex1-4 | |
| *GNB1* | 1p36.33 | NM_002074.5 | ENST00000378609 | ex1 | |
| *HAVCR2* | 5q33.3 | NM_032782.5 | ENST00000307851 | ex2 (D74-G106) | hotspot Y82 |
| *HRAS* | 11p15.5 | NM_005343.4 | ENST00000311189 | ex2-4 | |
| *ID3* | 1p36.12 | NM_002167.5 | ENST00000374561 | ex1-2 | |
| *IDH1* | 2q34 | NM_005896.4 | ENST00000345146 | ex 4, 7 | |
| *IDH2* | 15q26.1 | NM_002168.4 | ENST00000330062 | ex 4, 7 | |
| *IL7R* | 5p13.2 | NM_002185.5 | ENST00000303115 | ex6 | |

| Gen | Chromosomale regio | Referentie-sequentie (RefSeq) | Referentie-sequentie (Ensembl) | Regio | Opmerking |
|---|---|---|---|---|---|
| *IRF4* | 6p25.3 | NM_002460.4 | ENST00000380956 | ex2-3 | |
| *JAK1* | 1p31.3 | NM_002227.4 | ENST00000342505 | ex12-16 | |
| *JAK2* | 9p24.1 | NM_004972.4 | ENST00000381652 | ex12-16, 20 | |
| *JAK3* | 19p13.11 | NM_000215.4 | ENST00000458235 | ex10-19 | |
| *KIT* | 4q12 | NM_000222.3 | ENST00000288135 | ex1-21 | |
| *KLF2* | 19p13.11 | NM_016270.4 | ENST00000248071 | ex1-3 | |
| *KMT2A* | 11q23.3 | NM_001197104.2 | ENST00000534358 | nvt | Enkel voor de detectie van *KMT2A*-PTD |
| *KMT2D* | 12q13.12 | NM_003482.4 | ENST00000301067 | ex2-55 | |
| *KRAS* | 12p12.1 | NM_004985.5 | ENST00000311936 | ex2-4 | |
| *MAP2K1* | 15q22.31 | NM_002755.4 | ENST00000307102 | ex2-3 | |
| *MEF2B* | 19p13.11 | NM_001145785.2 | ENST00000424583 | ex2-4 | |
| *MPL* | 1p34.2 | NM_005373.3 | ENST00000372470 | ex1-12 | |
| *MYC* | 8q24.21 | NM_002467.6 | ENST00000621592 | ex1-3 | |
| *MYD88* | 3p22.2 | NM_002468.5 | ENST00000650905 | ex3-5 | |
| *NF1* | 17q11.2 | NM_001042492.3 | ENST00000358273 | ex1-58 | |
| *NFE2* | 12q13.13 | NM_001136023.3 | ENST00000435572 | ex2-3 | |
| *NFKBIE* | 6p21.1 | NM_004556.3 | ENST00000619360 | ex1-6 | |
| *NOTCH1* | 9q34.3 | NM_017617.5 | ENST00000651671 | ex26-34 + 3'UTR hotspot | |
| *NOTCH2* | 1p12 | NM_024408.4 | ENST00000256646 | ex34 | |
| *NPM1* | 5q35.1 | NM_002520.7 | ENST00000296930 | ex5, 11 | |
| *NRAS* | 1p13.2 | NM_002524.5 | ENST00000369535 | ex2-3 | |
| *NSD2* | 4p16.3 | NM_001042424.3 | ENST00000508803 | ex20-21 | |
| *NUDT15* | 13q14.2 | NM_018283.4 | ENST00000258662 | ex1-3 | sensitiviteit voor mercapto-purines |
| *PHF6* | Xq26.2 | NM_032458.3 | ENST00000332070 | ex2-10 | |
| *PIK3CA* | 3q26.32 | NM_006218.4 | ENST00000263967 | ex10, 21 | |
| *PIM1* | 6p21.2 | NM_002648.4 | ENST00000373509 | ex1-4 | |
| *PLCG1* | 20q12 | NM_002660.3 | ENST00000685551 | ex1, 11, 15-19, 29 | |
| *PLCG2* | 16q23.2 | NM_002661.5 | ENST00000564138 | ex19, 20, 24, 27, 30 | resistentie tegen ibrutinib |
| *POT1* | 7q31.33 | NM_015450.3 | ENST00000357628 | ex5-19 | |
| *PPM1D* | 17q23.2 | NM_003620.4 | ENST00000305921 | ex6 | |
| *PRKCB* | 16p12.2 | NM_002738.7 | ENST00000643927 | ex9-17 | |
| *PRPF8* | 17p13.3 | NM_006445.4 | ENST00000304992 | ex30-31 | |
| *PTEN* | 10q23.31 | NM_000314.8 | ENST00000371953 | ex1-9 | |
| *PTPN11* | 12q24.13 | NM_002834.5 | ENST00000351677 | ex3, 13 | |
| *RAD21* | 8q24.11 | NM_006265.3 | ENST00000297338 | ex2-14 | |
| *RHOA* | 3p21.31 | NM_001664.4 | ENST00000418115 | ex2-55 | |
| *RUNX1* | 21q22.12 | NM_001754.5 | ENST00000675419 | ex2-9 | |
| *SETBP1* | 18q12.3 | NM_015559.3 | ENST00000649279 | ex4 | |
| *SF3B1* | 2q33.1 | NM_012433.4 | ENST00000335508 | ex12-18 | |
| *SGK1* | 6q23.2 | NM_001143676.3 | ENST00000367858 | ex1-9 | |
| *SH2B3* | 12q24.12 | NM_005475.3 | ENST00000341259 | ex2-8 | |
| *SMC1A* | Xp11.22 | NM_006306.4 | ENST00000322213 | ex1-25 | |
| *SMC3* | 10q25.2 | NM_005445.4 | ENST00000361804 | ex1-29 | |
| *SOCS1* | 16p13.13 | NM_003745.2 | ENST00000332029 | ex2 | |

| Gen | Chromosomale regio | Referentie-sequentie (RefSeq) | Referentie-sequentie (Ensembl) | Regio | Opmerking |
|---|---|---|---|---|---|
| *SRSF2* | 17q25.1 | NM_003016.4 | ENST00000392485 | ex1 | |
| *STAG2* | Xq25 | NM_001042749.2 | ENST00000218089 | ex3-35 | |
| *STAT3* | 17q21.2 | NM_139276.3 | ENST00000264657 | ex10-16, 19-21 | |
| *STAT5B* | 17q21.2 | NM_012448.4 | ENST00000293328 | ex14-18 | |
| *STAT6* | 12q13.3 | NM_003153.5 | ENST00000300134 | ex5, 9, 11-14, 16-18 | |
| *TCF3* | 19p13.3 | NM_003200.5 | ENST00000262965 | ex16-18 | |
| *TET2* | 4q24 | NM_001127208.3 | ENST00000380013 | ex3-11 | |
| *TNFAIP3* | 6q23.3 | NM_001270508.2 | ENST00000612899 | ex2-9 | |
| *TNFRSF14* | 1p36.32 | NM_003820.4 | ENST00000355716 | ex1-8 | |
| *TP53* | 17p13.1 | NM_000546.6 | ENST00000269305 | ex1-11 | ook beta en gamma exonen |
| *TPMT* | 6p22.3 | NM_000367.5 | ENST00000309983 | ex2-9 | sensitiviteit voor mercaptopurines |
| *TRAF2* | 9q34.3 | NM_021138.4 | ENST00000247668 | ex2-11 | |
| *U2AF1* | 21q22.3 | NM_006758.3 | ENST00000291552 | ex2, 6 | |
| *UBA1* | Xp11.3 | NM_003334.4 | ENST00000335972 | ex3 | VEXAS syndroom |
| *UBTF* | 17q21.31 | NM_014233.4 | ENST00000436088 | ex7, 13, 18-19 | Detectie *UBTF*-TD en *UBTF*::*ATXN7L3* fusie |
| *WT1* | 11p13 | NM_024426.6 | ENST00000452863 | ex7-9 | |
| *XPO1* | 2p15 | NM_003400.4 | ENST00000401558 | ex15 | |
| *ZEB2* | 2q22.3 | NM_014795.4 | ENST00000627532 | ex10 (G1023-A1085) | hotspots H1038 en Q1072 |
| *ZRSR2* | Xp22.2 | NM_005089.4 | ENST00000307771 | ex1-11 | |

**Overzicht van de genen en exonen die geanalyseerd worden met het hemato_v5 panel en de gebruikte referentiesequenties.**

| Gen | Chromosomale regio | Referentie sequentie (Ensembl) | Referentie sequentie (RefSeq) | Exon(en) | Vergelijking met v4 | Opmerkingen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *ABL1* | 9q34.12 | ENST00000318560 | NM_005157.6 | ex4-9 | **NIEUW** | |
| *AKT1* | 14q32.33 | ENST00000555528 | NM_005163.2 | ex3 | **NIEUW** | E17K hotspot |
| *ANKRD26* | 10p12.1 | ENST00000376087 | NM_014915.3 | 5'UTR-ex1 | identiek | |
| *ARAF* | Xp11.3 | ENST00000377045 | NM_001654.5 | ex7/10 | **NIEUW** | |
| *ARID1A* | 1p36.11 | ENST00000324856 | NM_006015.6 | ex1-20 | identiek | |
| *ASXL1* | 20q11.21 | ENST00000375687 | NM_015338.6 | ex12-13 | identiek | |
| *ASXL2* | 2p23.3 | ENST00000435504 | NM_018263.6 | ex12-13 | **NIEUW** | |
| *ATM* | 11q22.3 | ENST00000675843 | NM_000051.4 | ex2-63 | identiek | |
| *B2M* | 15q21.1 | ENST00000648006 | NM_004048.4 | ex1-3 | identiek | |
| *BAX* | 19q13.33 | ENST00000345358 | NM_138761.4 | ex1-63 | **NIEUW** | |
| *BCL2* | 1p22.3 | ENST00000333681 | NM_000633.3 | ex2 | identiek | |
| *BCL6* | 18q21.33 | ENST00000406870 | NM_001706.5 | ex8-9 | **NIEUW** | |
| *BCL7A* | 3q27.3 | ENST00000261822 | NM_001024808.3 | ex1 | **NIEUW** | |

| Gen | Chromosomale regio | Referentie sequentie (Ensembl) | Referentie sequentie (RefSeq) | Exon(en) | Vergelijking met v4 | Opmerkingen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *BCL10* | 12q24.31 | ENST00000648566 | NM_003921.5 | ex1-3 | **NIEUW** | |
| *BCOR* | Xp11.4 | ENST00000378444 | NM_001123385.2 | ex2-15 | **ex2-3 toegevoegd** | |
| *BCORL1* | Xq26.1 | ENST00000218147 | NM_021946.5 | ex2-13 | identiek | |
| *BIRC3* | 11q22.2 | ENST00000263464 | NM_001165.5 | ex5-9 | **ex5 toegevoegd** | |
| *BRAF* | 7q34 | ENST00000646891 | NM_004333.6 | ex6/11/12/15 | identiek | |
| *BTG1* | 12q21.33 | ENST00000256015 | NM_001731.3 | ex1-2 | identiek | |
| *BTG2* | 1q32.1 | ENST00000290551 | NM_006763.3 | ex1-2 | **NIEUW** | |
| *BTK* | Xq22.1 | ENST00000308731 | NM_000061.3 | ex2/5/11/14-16 | **ex2/5 toegevoegd** | |
| *CALR* | 19p13.13 | ENST00000316448 | NM_004343.4 | ex3/9 + 3'UTR | **ex3 toegevoegd** | |
| *CARD11* | 7p22.2 | ENST00000396946 | NM_032415.7 | ex2-25 | **ex 2-3/11-14/16-19/22-25 toegevoegd** | |
| *CARMIL2 (RLTPR)* | 16q22.1 | ENST00000334583 | NM_001013838.3 | ex19 | **NIEUW** | |
| *CBFB* | 16q22.1 | ENST00000412916 | NM_022845.3 | ex3 | **NIEUW** | |
| *CBL* | 11q23.3 | ENST00000264033 | NM_005188.4 | ex1-16 | **ex1-7/10/16 toegevoegd** | |
| *CBLB* | 3q13.11 | ENST00000394030 | NM_170662.5 | ex9-10 | identiek | |
| *CCL22* | 16q21 | ENST00000219235 | NM_002990.5 | ex2-3 | identiek | |
| *CCND1* | 11q13.3 | ENST00000227507 | NM_053056.3 | ex1/5 | **ex5 toegevoegd** | |
| *CCND2* | 12p13.32 | ENST00000261254 | NM_001759.4 | ex5 | **NIEUW** | |
| *CCND3* | 6p21.1 | ENST00000372991 | NM_001760.5 | ex5 | **NIEUW** | |
| *CCR4* | 3p22.3 | ENST00000330953 | NM_005508.5 | ex2 (AA 311-361) | **NIEUW** | |
| *CCR6* | 6q27 | ENST00000341935 | NM_031409.4 | ex3 (AA 325-375) | **NIEUW** | |
| *CCR7* | 17q21.2 | ENST00000246657 | NM_001838.4 | ex3 (AA 320-378) | **NIEUW** | |
| *CD28* | 2q33.2 | ENST00000324106 | NM_006139.4 | ex1-4 | **ex1b toegevoegd** | |
| *CD33* | 19q13.41 | ENST00000262262 | NM_001772.4 | ex2 | identiek | enkel voor rs12459419 detectie (gemtuzumab ozogamicin sensitiviteit) |
| *CD58* | 1p13.1 | ENST00000369489 | NM_001779.3 | ex1-5 | identiek | |
| *CD70* | 19p13.3 | ENST00000245903 | NM_001252.5 | ex1-3 | **NIEUW** | |
| *CD79A* | 19q13.2 | ENST00000221972 | NM_001783.4 | ex4-5 | identiek | |
| *CD79B* | 17q23.3 | ENST00000006750 | NM_000626.4 | ex4-6 | identiek | |
| *CD83* | 6p23 | ENST00000379153 | NM_004233.4 | ex2 | **NIEUW** | |
| *CDKN2A* | 9p21.3 | ENST00000304494 | NM_000077.5 | ex1-3 | **ex3 en ex1 p14ARF toegevoegd** | |
| *CDKN2B* | 9p21.3 | ENST00000276925 | NM_004936.4 | ex1-2 | **NIEUW** | |
| *CEBPA* | 19q13.11 | ENST00000498907 | NM_004364.5 | ex1 | identiek | |
| *CHEK2* | 22q12.1 | ENST00000404276 | NM_007194.4 | ex2-15 | **NIEUW** | |
| *CREBBP* | 16p13.3 | ENST00000262367 | NM_004380.3 | ex1-31 | identiek | |
| *CRLF2* | Xp22.33 | ENST00000400841 | NM_022148.4 | ex6/11/12/15 | **NIEUW** | |
| *CSF3R* | 1p34.3 | ENST00000373103 | NM_156039.3 | ex14-17 | identiek | |
| *CTCF* | 16q22.1 | ENST00000264010 | NM_006565.4 | ex5-6 | **NIEUW** | |

| Gen | Chromosomale regio | Referentie sequentie (Ensembl) | Referentie sequentie (RefSeq) | Exon(en) | Vergelijking met v4 | Opmerkingen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *CUX1* | 7q22.1 | ENST00000360264 | NM_001202543.2 | ex1-24 + 9 extra 3' exonen uit NM_001913.5 | **extra exonen toegevoegd** | |
| *CXCR4* | 2q22.1 | ENST00000409817 | NM_001008540.2 | ex1 (F296-S356) | identiek | |
| *CYBB* | Xp21.1 | ENST00000378588 | NM_000397.4 | ex1-13 | **NIEUW** | |
| *DDX3X* | Xp11.4 | ENST00000644876 | NM_001356.5 | ex1-17 | **ex1/17 toegevoegd** | |
| *DDX41* | 5q35.3 | ENST00000330503 | NM_016222.4 | ex1-17 | identiek | |
| *DHX15* | 4p15.2 | ENST00000336812 | NM_001358.3 | ex3 | **NIEUW** | |
| *DIS3* | 13q21.33 | ENST00000377767 | NM_014953.5 | ex1-21 | **ex1b/4-8/19-21 toegevoegd** | |
| *DKC1* | Xq28 | ENST00000369550 | NM_001363.5 | ex1-15 | **NIEUW** | |
| *DNMT3A* | 2p23.3 | ENST00000321117 | NM_022552.5 | ex2-23 | identiek | |
| *DTX1* | 12q24.13 | ENST00000548759 | NM_004416.3 | ex1 | **NIEUW** | |
| *EGR2* | 10q21.3 | ENST00000242480 | NM_000399.5 | ex2 (P339-E412) | identiek | |
| *ELANE* | 19p13.3 | ENST00000263621 | NM_001972.4 | ex1-5 | **NIEUW** | |
| *EP300* | 22q13.2 | ENST00000263253 | NM_001429.4 | ex1-31 | identiek | |
| *ERCC6L2* | 9q22.32 | ENST00000653738 | NM_020207.7 | ex1-19 | **NIEUW** | |
| *ERG* | 21q22.2 | ENST00000288319 | NM_182918.4 | ex1-10 | **NIEUW** | |
| *ETNK1* | 12p12.1 | ENST00000671733 | NM_018638.5 | ex2-3 | **ex2 toegevoegd** | |
| *ETV6* | 12p13.2 | ENST00000396373 | NM_001987.5 | ex1-8 | identiek | |
| *EZH2* | 7q36.1 | ENST00000320356 | NM_004456.5 | ex2-20 | identiek | |
| *FADD* | 11q13.3 | ENST00000301838 | NM_003824.4 | ex1-2 | **NIEUW** | |
| *FAS* | 10q23.31 | ENSG00000026103 | NM_000043.6 | ex1-9 | **ex1b toegevoegd** | |
| *FBXW7* | 4q31.3 | ENST00000603548 | NM_033632.3 | ex2-12 | identiek | |
| *FGFR2* | 10q26.13 | ENST00000358487 | NM_000141.5 | ex7/9/12/14 | **NIEUW** | |
| *FGFR3* | 4p16.3 | ENST00000440486 | NM_000142.5 | ex7-9/12/14 | **NIEUW** | |
| *FGFR4* | 5q35.2 | ENST00000292408 | NM_002011.5 | ex2/4/7/9/12-14/16 | **NIEUW** | |
| *FLT3* | 13q12.2 | ENST00000241453 | NM_004119.3 | ex11-17/20 | identiek | |
| *FOXO1* | 13q14.11 | ENST00000379561 | NM_002015.4 | ex1 | identiek | |
| *FYN* | 6q21 | ENST00000354650 | NM_002037.5 | ex7/14 | **NIEUW** | |
| *GATA1* | Xp11.23 | ENST00000376670 | NM_002049.4 | ex1-6 | identiek | |
| *GATA2* | 3q21.3 | ENST00000341105 | NM_032638.5 | ex2-6 | identiek | ook intronen 2 en 4 |
| *GFI1* | 1p22.1 | ENST00000294702 | NM_005263.5 | ex2 | **NIEUW** | |
| *GNA13* | 17q24.1 | ENST00000439174 | NM_006572.6 | ex1-4 | identiek | |
| *GNAI2* | 3p21.31 | ENST00000313601 | NM_002070.4 | ex7 | **NIEUW** | |
| *GNAS* | 20q13.32 | ENST00000371085 | NM_000516.7 | ex8-9 | **NIEUW** | |
| *GNB1* | 1p36.33 | ENST00000378609 | NM_002074.5 | ex5 | identiek | |
| *H3-3A (H3F3A)* | 1q42.12 | ENST00000366815 | NM_002107.7 | ex2 | **NIEUW** | |
| *HAVCR2 (TIM-3)* | 5q33.3 | ENST00000307851 | NM_032782.5 | ex2 (D74-G106) | identiek | |
| *HRAS* | 11p15.5 | ENST00000311189 | NM_005343.4 | ex2-4 | identiek | |
| *ID3* | 1p36.12 | ENST00000374561 | NM_002167.5 | ex1-2 | identiek | |
| *IDH1* | 2q34 | ENST00000345146 | NM_005896.4 | ex4/7 | identiek | |
| *IDH2* | 15q26.1 | ENST00000330062 | NM_002168.4 | ex4/7 | identiek | |
| *IKZF1* | 7p12.2 | ENST00000331340 | NM_006060.6 | ex5 | **NIEUW** | |
| *IL2RA* | 10p15.1 | ENST00000379959 | NM_000417.3 | ex1-8 | **NIEUW** | |

| Gen | Chromosomale regio | Referentie sequentie (Ensembl) | Referentie sequentie (RefSeq) | Exon(en) | Vergelijking met v4 | Opmerkingen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *IL6ST* | 5q11.2 | ENST00000381298 | NM_002184.4 | ex3-16 | **NIEUW** | |
| *IL7R* | 5p13.2 | ENST00000303115 | NM_002185.5 | ex6 | identiek | |
| *IRF4* | 6p25.3 | ENST00000380956 | NM_002460.4 | ex2-3 | identiek | |
| *IRF8* | 16q24.1 | ENST00000268638 | NM_002163.4 | ex2-3/9 | **NIEUW** | |
| *JAK1* | 1p31.3 | ENST00000342505 | NM_002227.4 | ex2-25 | **ex2-11/17-25 toegevoegd** | |
| *JAK2* | 9p24.1 | ENST00000381652 | NM_004972.4 | ex12-16/20 | identiek | |
| *JAK3* | 19p13.11 | ENST00000458235 | NM_000215.4 | ex10-19 | identiek | |
| *JUNB* | 19p13.13 | ENST00000302754 | NM_002229.3 | ex1 | **NIEUW** | |
| *KDM6A (UTX)* | Xp11.3 | ENST00000611820 | NM_001291415.2 | ex12/22-26 | **NIEUW** | |
| *KIT* | 4q12 | ENST00000288135 | NM_000222.3 | ex1-21 | identiek | |
| *KLF2* | 19p13.11 | ENST00000248071 | NM_016270.4 | ex1-3 | identiek | |
| *KMT2A* | 11q23.3 | ENST00000534358 | NM_001197104.2 | nvt | **extra regio's toegevoegd** | Enkel voor de detectie van KMT2A-PTD |
| *KMT2D* | 12q13.12 | ENST00000301067 | NM_003482.4 | ex2-55 | identiek | |
| *KRAS* | 12p12.1 | ENST00000311936 | NM_004985.5 | ex2-4 | identiek | |
| *LUC7L2* | 7q34 | ENST00000354926 | NM_016019.5 | ex1-10 | **NIEUW** | |
| *MAP2K1* | 15q22.31 | ENST00000307102 | NM_002755.4 | ex1-11 | **ex1/4-11 toegevoegd** | |
| *MAP3K1* | 5q11.2 | ENST00000399503 | NM_005921.2 | ex14-20 | **NIEUW** | |
| *MBD4* | 3q21.3 | ENST00000429544 | NM_001276270.2 | ex1-8 | **NIEUW** | |
| *MEF2B* | 19p13.11 | ENST00000424583 | NM_001145785.2 | ex2-4 | identiek | |
| *MEFV* | 16p13.3 | ENST00000219596 | NM_000243.3 | ex1-10 | **NIEUW** | |
| *MEN1* | 11q13.1 | ENST00000450708 | NM_001370260.1 | ex2-10 | **NIEUW** | |
| *MPL* | 1p34.2 | ENST00000372470 | NM_005373.3 | ex1-12 | **ex1b toegevoegd** | |
| *MS4A1 (CD20)* | 11q12.2 | ENST00000345732 | NM_152866.3 | ex3-8 | **NIEUW** | |
| *MSC* | 8q13.3 | ENST00000325509 | NM_005098.4 | ex1 | **NIEUW** | |
| *MYC* | 8q24.21 | ENST00000621592 | NM_002467.6 | ex1-3 | identiek | |
| *MYD88* | 3p22.2 | ENST00000650905 | NM_002468.5 | ex3-5 | identiek | |
| *NF1* | 17q11.2 | ENST00000358273 | NM_001042492.3 | ex1-58 | identiek | |
| *NFE2* | 12q13.13 | ENST00000435572 | NM_001136023.3 | ex2-3 | identiek | |
| *NFKBIE* | 6p21.1 | ENST00000619360 | NM_004556.3 | ex1-6 | identiek | |
| *NLRC4* | 2p22.3 | ENST00000402280 | NM_001199138.2 | ex2-9 | **NIEUW** | |
| *NLRP3* | 1q44 | ENST00000336119 | NM_004895.5 | ex2-10 | **NIEUW** | |
| *NOD2* | 16q12.1 | ENST00000647318 | NM_001370466.1 | ex2-12 | **NIEUW** | |
| *NOTCH1* | 9q34.3 | ENST00000651671 | NM_017617.5 | ex26-34 + 3'UTR hotspot | identiek | |
| *NOTCH2* | 1p12 | ENST00000256646 | NM_024408.4 | ex34 | identiek | |
| *NPM1* | 5q35.1 | ENST00000296930 | NM_002520.7 | ex5-11 | **ex6-10 toegevoegd** | |
| *NRAS* | 1p13.2 | ENST00000369535 | NM_002524.5 | ex2-3 | identiek | |
| *NSD2 (WHSC1)* | 4p16.3 | ENST00000508803 | NM_001042424.3 | ex18-19 | identiek | |
| *NT5C2* | 10q24.33 | ENST00000404739 | NM_012229.5 | ex3-4/11/15-18 | **NIEUW** | |
| *NTRK1* | 1q23.1 | ENST00000524377 | NM_002529.4 | ex14-15 | **NIEUW** | |
| *NTRK2* | 9q21.33 | ENST00000376213 | NM_001018064.3 | ex7/12/15/16 | **NIEUW** | |
| *NTRK3* | 15q25.3 | ENST00000360948 | NM_001012338.3 | ex7/13/15-17/20 | **NIEUW** | |

| Gen | Chromosomale regio | Referentie sequentie (Ensembl) | Referentie sequentie (RefSeq) | Exon(en) | Vergelijking met v4 | Opmerkingen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *NUDT15* | 13q14.2 | ENST00000258662 | NM_018283.4 | ex1-3 + SNP rs73189762 | **extra SNP die expressie reguleert** | sensitiviteit voor mercaptopurines, enkel in de context van ALL |
| *PAX5* | 9p13.2 | ENST00000358127 | NM_016734.3 | ex1-10 | **NIEUW** | |
| *PDGFRA* | 4q12 | ENST00000257290 | NM_006206.6 | ex12/14-16/18 | **NIEUW** | |
| *PHF6* | Xq26.2 | ENST00000332070 | NM_032458.3 | ex2-10 | identiek | |
| *PIGA* | Xp22.2 | ENST00000333590 | NM_002641.4 | ex2-6 | **NIEUW** | |
| *PIK3AP1* | 10q24.1 | ENST00000339364 | NM_152309.3 | ex1-17 | **NIEUW** | |
| *PIK3CA* | 3q26.32 | ENST00000263967 | NM_006218.4 | ex2/8/10/12/21 | **ex2/8/12 toegevoegd** | |
| *PIK3CD* | 1p36.22 | ENST00000377346 | NM_005026.5 | ex3-24 | **NIEUW** | |
| *PIK3R1* | 5q13.1 | ENST00000521381 | NM_181523.3 | ex2-16 | **NIEUW** | |
| *PIM1* | 6p21.2 | ENST00000373509 | NM_002648.4 | ex1-6 | **ex5/6 toegevoegd** | |
| *PIM2* | Xp11.23 | ENST00000376509 | NM_006875.4 | ex2 | **NIEUW** | |
| *PLCG1* | 20q12 | ENST00000685551 | NM_002660.3 | ex1/11/15-19/29 | identiek | |
| *PLCG2* | 16q23.3 | ENST00000564138 | NM_002661.5 | ex19-20/24/26-27/30 | **ex26 toegevoegd** | |
| *POT1* | 7q31.33 | ENST00000357628 | NM_015450.3 | ex5-19 | identiek | |
| *PPM1D* | 17q23.2 | ENST00000305921 | NM_003620.4 | ex6 | identiek | |
| *PRKCB* | 16p12.2 | ENST00000643927 | NM_002738.7 | ex9-17 | identiek | |
| *PRPF8* | 17p13.3 | ENST00000304992 | NM_006445.4 | ex2-43 | **ex2-30/33-43 toegevoegd** | |
| *PRPS1* | Xq22.3 | ENST00000372435 | NM_002764.4 | ex1-7 | **NIEUW** | |
| *PTEN* | 10q23.31 | ENST00000371953 | NM_000314.8 | ex1-9 | identiek | |
| *PTPN11* | 12q24.13 | ENST00000351677 | NM_002834.5 | ex3/8/12/13 | **ex8/12 toegevoegd** | |
| *RAD21* | 8q24.11 | ENST00000297338 | NM_006265.3 | ex2-14 | identiek | |
| *RAP1B* | 12q15 | ENST00000250559 | NM_015646.6 | ex2-7 | **NIEUW** | |
| *RB1* | 13q14.2 | ENST00000267163 | NM_000321.3 | ex1-27 | **NIEUW** | |
| *RHOA* | 3p21.31 | ENST00000418115 | NM_001664.4 | ex2-55 | identiek | |
| *RTEL1* | 20q13.33 | ENST00000360203 | NM_001283009.2 | ex2-35 | **NIEUW** | |
| *RUNX1* | 21q22.12 | ENST00000675419 | NM_001754.5 | ex2-9 | identiek | |
| *SAMD9* | 7q21.2 | ENST00000379958 | NM_017654.4 | ex3 | **NIEUW** | |
| *SAMD9L* | 7q21.2 | ENST00000318238 | NM_152703.5 | ex5 | **NIEUW** | |
| *SBDS* | 7q11.21 | ENST00000246868 | NM_016038.4 | ex1-5 | **NIEUW** | |
| *SETBP1* | 18q12.3 | ENST00000649279 | NM_015559.3 | ex4 | identiek | partieel |
| *SF3B1* | 2q33.1 | ENST00000335508 | NM_012433.4 | ex12-18 | identiek | |
| *SGK1* | 6q23.2 | ENST00000367858 | NM_001143676.3 | ex1-9 | identiek | |
| *SH2B3* | 12q24.12 | ENST00000341259 | NM_005475.3 | ex2-8 | **ex2b toegevoegd** | |
| *SMC1A* | Xp11.22 | ENST00000322213 | NM_006306.4 | ex1-25 | identiek | |
| *SMC3* | 10q25.2 | ENST00000361804 | NM_005445.4 | ex1-29 | identiek | |
| *SOCS1* | 16p13.13 | ENST00000332029 | NM_003745.2 | ex2 | identiek | |
| *SRSF2* | 17q25.1 | ENST00000392485 | NM_003016.4 | ex1 | identiek | |
| *STAG2* | Xq25 | ENST00000218089 | NM_001375366.1 | ex3-35 | identiek | |
| *STAT1* | 2q32.2 | ENST00000361099 | NM_007315.4 | ex3-25 | **NIEUW** | |
| *STAT3* | 17q21.2 | ENST00000264657 | NM_139276.3 | ex2-24 | **ex2-9/22-24 toegevoegd** | |

| Gen | Chromosomale regio | Referentie sequentie (Ensembl) | Referentie sequentie (RefSeq) | Exon(en) | Vergelijking met v4 | Opmerkingen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *STAT5B* | 17q21.2 | ENST00000293328 | NM_012448.4 | ex2-19 | **ex2-13/19 toegevoegd** | |
| *STAT6* | 12q13.3 | ENST00000300134 | NM_003153.5 | ex5/9/11-18 | **ex15 toegevoegd** | |
| *STING1 (TMEM173)* | 5q31.2 | ENST00000330794 | NM_198282.4 | ex3-8 | **NIEUW** | |
| *TCF3* | 19p13.3 | ENST00000262965 | NM_003200.5 | ex16-18 | **ex17/18 toegevoegd** | |
| *TERC* | 3q26.2 | ENST00000602385 | NR_001566.3 | volledig | **NIEUW** | |
| *TERT* | 5p15.33 | ENST00000310581 | NM_198253.3 | promoter | **NIEUW** | |
| *TET2* | 4q24 | ENST00000380013 | NM_001127208.3 | ex3-11 | identiek | |
| *TINF2* | 14q12 | ENST00000267415 | NM_001099274.3 | ex1-9 | **NIEUW** | |
| *TLR8* | Xp22.2 | ENST00000218032 | NM_138636.5 | ex1-2 | **NIEUW** | |
| *TNFAIP3 (A20)* | 6q23.3 | ENST00000612899 | NM_006290.4 | ex2-9 | identiek | |
| *TNFRSF1A* | 12p13.31 | ENST00000162749 | NM_001065.4 | ex1-10 | **NIEUW** | |
| *TNFRSF14* | 1p36.32 | ENST00000355716 | NM_003820.4 | ex1-8 | **ex6 aangepast** | |
| *TP53* | 17p13.1 | ENST00000269305 | NM_000546.6 | ex1-11 | identiek | ook beta en gamma exonen |
| *TPMT* | 6p22.3 | ENST00000309983 | NM_000367.5 | ex2-9 | identiek | sensitiviteit voor mercaptopurines, enkel in de context van ALL |
| *TRAF2* | 9q34.3 | ENST00000247668 | NM_021138.4 | ex2-11 | identiek | |
| *U2AF1* | 21q22.3 | ENST00000291552 | NM_006758.3 | ex2/6/8 | **ex8 toegevoegd** | |
| *UBA1* | Xp11.3 | ENST00000335972 | NM_003334.4 | ex2-26 | **ex2/4-26 toegevoegd** | |
| *UBTF* | 17q21.31 | ENST00000436088 | NM_014233.4 | ex9/12-13 | **ex9/12 toegevoegd** | |
| *VAV1* | 19p13.3 | ENST00000602142 | NM_005428.4 | ex5/13/15/17/ 20/25-26 | **NIEUW** | |
| *WT1* | 11p13 | ENST00000452863 | NM_024426.6 | ex9-9 | identiek | |
| *XPO1* | 2p15 | ENST00000401558 | NM_003400.4 | ex15 | identiek | |
| *ZEB2* | 2q22.3 | ENST00000627532 | NM_014795.4 | ex10 (G1023-A1085) | identiek | hotspots H1038 en Q1072 |
| *ZRSR2* | Xp22.2 | ENST00000307771 | NM_005089.4 | ex1-12 | **ex12 toegevoegd** | |

Enkel varianten in de aangeduide regio's (exonen en soms UTR's, promotersequentie of intronen) worden geanalyseerd, met +/- 20 bp aan beide kanten van de exonen.

Alle genen worden voor elk staal geanalyseerd en alle relevante varianten gerapporteerd, ongeacht de onderliggende pathologie, met uitzondering voor varianten in *CD33*, *TPMT* en *NUDT15*. Voor *CD33* wordt de aanwezigheid van p.(Ala14Val) (rs12459419) enkel gerapporteerd in de context van AML. Varianten in *TPMT* en *NUDT15* worden enkel gerapporteerd in de context van B-ALL, T-ALL of T-LBL. Voor andere pathologieën is de info beschikbaar op aanvraag. De klinische interpretatie van de gedetecteerde varianten is wel specifiek voor de onderliggende pathologie.

**Regio's met systematische drop-out en analyse van de coverage**

Voor sommige regio's wordt systematisch een verlaagde *coverage* gedetecteerd en is de afwezigheid van varianten onder voorbehoud. In onderstaande tabel worden de regio's met systematische drop-out opgelijst. Wanneer varianten gedetecteerd worden in deze regio's, worden deze wel gerapporteerd indien ze door voldoende *reads* (>30) bevestigd worden. Deze regio's worden niet meer opgelijst in de het rapport onder de drop-out regio's.

Voor het hemato_v4 panel:

| Hemato_v4 panel | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Gen** | **Chromosomale regio** | **Exon** | **Aminozuren** | **Hotspots** |
| *DDX3X* | chrX:41339036-41339083 | 3 | Verlaagde coverage bevindt zich in het intron hieraan voorafgaand | Geen |
| *TNFAIP3* | chr6:137874845-137875035 | 3 | Verlaagde coverage bevindt zich in het intron hieraan voorafgaand | Geen |

Voor het hemato_v5 panel:

| Hemato_v5 panel | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Gen** | **Chromosomale regio** | **Exon** | **Aminozuren** | **Hotspots** |
| *DDX3X* | chrX:41339036-41339083 | 3 | Verlaagde coverage bevindt zich in het intron hieraan voorafgaand | Geen |
| *TNFAIP3* | chr6:137874845-137875035 | 3 | Verlaagde coverage bevindt zich in het intron hieraan voorafgaand | Geen |

De detectie van FLT3-ITD (*internal tandem duplication*) werd gevalideerd tot een grootte van 120 bp, wat volstaat voor 98.6% van de patiënten met een FLT3-ITD (Schnittger et al., Genes Chromosomes and Cancer 2012). Grotere ITDs kunnen in deze analyse gemist worden, maar worden wel gedetecteerd met de snelle FLT3 mutatieanalyse met capillaire elektroforese die ook steeds uitgevoerd wordt voor patiënten met AML of AML/MDS.

Wanneer andere regio's een te lage coverage/gevoeligheid vertonen, worden deze vermeld in de rapportering. Een verlaagde coverage kan een technische reden hebben maar kan anderzijds ook indicatief zijn voor de aanwezigheid van een kleine of grote deletie. Dit dient met de cytogenetica gecorreleerd te worden.

**Detectielimiet en sensitiviteit/specificiteit**

In de analyse worden alle varianten (uitgezonderd de (vermoedelijk) benigne varianten) met een *variant allele frequency* (VAF) **> 5%** gerapporteerd. Pathogene en vermoedelijk pathogene varianten worden ook gerapporteerd indien de VAF tussen 2 en 5% bedraagt en er > 30 reads zijn met deze variant.

Wanneer vergeleken wordt met de resultaten die bekomen werden met andere analyses vertonen zowel het Hemato_v4 als het Hemato_v5 panel een sensitiviteit van 100% en een specificiteit van 100%.

**Aangeboren varianten**

Deze analyse maakt geen onderscheid tussen aangeboren en verworven varianten.

**Rapportering**

In de technische validatie worden de varianten geclassificeerd volgens biologische impact op het eiwit waarvoor het transcript codeert. Hierin worden 4 biologische categorieën gebruikt:

- **Pathogene variant**: gekende pathogene variant in een hotspot, bv. *JAK2* p.(Val617Phe) of V617F
- **Vermoedelijk pathogene variant**: variant die met grote zekerheid als pathogeen mag aanzien worden, maar waarvan de pathogeniciteit nog niet sluitend aangetoond werd
- **Varianten met ongekende betekenis (*Variant of unknown significance*; VUS**): variant waarvan de impact op het eiwit niet betrouwbaar kan ingeschat worden
- **(Vermoedelijk) Benigne variant:** variant waarvan geen invloed op het eiwit verwacht wordt, deze varianten komen voor in de normale populatie.

Enkel de eerste drie types worden in het rapport vermeld. De varianten met ongekende betekenis (VUS) in coderende regio's worden afzonderlijk van de andere varianten gerapporteerd. VUS in intronische of intergenische regio's worden niet gerapporteerd.

Voor de klinische interpretatie worden enkel de pathogene en vermoedelijk pathogene varianten beoordeeld, zonder onderscheid te maken tussen beide. Varianten met ongekende betekenis (VUS) worden niet opgenomen in de klinische interpretatie. De klinische interpretatie volgt zo goed mogelijk de meest recente internationale richtlijnen en literatuur. Hierbij wordt zowel de diagnostische, prognostische als therapeutische impact ingeschat.

Daarnaast wordt de info over de gebruikte methode, de NGS indicatie voor de terugbetaling en de MOC registratie eveneens apart gerapporteerd.

**Terugbetaling**

De terugbetaling van NGS analyses wordt geregeld via de NGS conventie (art.22 6°bis). De aandoeningen waarvoor de NGS analyse terugbetaald zijn en de voorwaarden waaraan voldaan moet worden, worden frequent aangepast. Daarom wordt voor een actuele lijst verwezen naar de website van het RIZIV (https://www.riziv.fgov.be/nl/professionals/verzorgingsinstellingen-en-diensten/laboratoria/hemato-oncologie-terugbetaling-van-moleculair-biologische-testen-met-next-generation-sequencing). De lijst is terug te vinden onderaan de pagina als "Bijlage 2: Hematologische maligniteiten".

**Accreditatie**

Deze analyse is BELAC geaccrediteerd sinds 2/12/2019.