

## I. Verwendete Gen-Panels

### Panel1v1 (Gliome):

Das untersuchte Gen-Panel umfasst Mutationshotspots (IDH1 (NM\_005896.2): Exon 4; IDH2 (NM\_002168.2): Exon 4; TERT (NM\_198253.2): Promotorbereich (Chr1: 1295228 und 1295250); BRAF (NM\_004333.4): Exon 11 und 15; H3F3A (NM\_002107.4): Exon 2) bzw. durchschnittlich 97 % der kodierenden Regionen (NRAS (NM\_002524.4): Exone 2-5; FUBP1 (NM\_003902.3): Exone 1-20; CDKN2C (NM\_001262.2): Exone 2 und 3; PIK3CA (NM\_006218.2): Exone 2-21; PIK3R1 (NM\_181523.2): Exone 2-16; EGFR (NM\_005228.3): Exone 1-28; CDKN2A (NM\_000077.4): Exon 1-3; CDKN2B (NM\_004936.3): Exone 1 und 2; PTEN (NM\_000314.4): Exone 1-9; RB1 (NM\_000321.2): Exone 1-27; TP53 (NM\_000546.5): Exone 2-11; NF1 (NM\_001042492.2): Exone 1-58; CIC (NM\_015125.3): Exone 1-20; NF2 (NM\_181832.2): Exone 1-17 und ATRX (NM\_000489.3): Exone 1-35) von insgesamt 20 Genen.

### Panel 2v1 (Gliome):

Das untersuchte Gen-Panel umfasst einen Mutationshotspot (FGFR1 (NM\_001174067.1): Exone 13 und 15) bzw. durchschnittlich 96 % der kodierenden Regionen (PIK3C2B (NM\_002646.3): Exone 28 und 29; MSH2 (NM\_000251.2): Exone 1-16; MSH6 (NM\_000179.2): Exone 1-10; MLH1 (NM\_000249.3): Exone 1-19; PDGFRA (NM\_006206.4): Exone 2-23; HIST1H3B (NM\_003537.3): Exon 1; DAXX (NM\_001141970.1): Exone 1-8; PMS2 (NM\_000535.5): Exone 1-15; MTAP (NM\_002451.3): Exone 1-8; NTRK2 (NM\_006180.3): Exone 4-21; TSC1 (NM\_000368.4): Exone 3-23; KRAS (NM\_004985.3): Exone 2-5; PTPN11 (NM\_002834.3): Exone 2-15; TSC2 (NM\_000548.3): Exone 2-42; PPM1D (NM\_003620.3): Exone 1-6) bzw. mehrere über das jeweilige Gen verteilte Amplikons (MDM4 (NM\_002393.4): Exone 6-7; ACVR1 (NM\_001111067.2): Exone 6-9; CCND3 (NM\_001760.3): Exone 4-5; MYB (NM\_001130173.1): Exone 4-8 und 10-13; CDK6 (NM\_001145306.1): Exon 8; MET (NM\_001127500.1): Exon 21; MYBL1 (NM\_001080416.2): Exone 5-8, 10-12 und 14; CCND1 (NM\_053056.2): Exon 4; CCND2 (NM\_001759.3): Exon 4; CDK4 (NM\_000075.3): Exone 2-5; MDM2 (NM\_002392.4): Exone 1-2; IRS2 (NM\_003749.2): Exon 1; Referenzgene: RAB7A (NM\_004637.5): Exone 4 und 5 und GABRG3 (NM\_033223.4): Intron 6) von insgesamt 30 Genen.

### Panel 3v3 (Gliome):

Das untersuchte Gen-Panel umfasst Mutationshotspots (IDH1 (NM\_005896.2): Exon 4; IDH2 (NM\_002168.2): Exon 4; TERT (NM\_198253.2): Promotorregion (Chr1: 1295228 und 1295250); BRAF (NM\_004333.4): Exone 10, 13 und 15; EGFR (NM\_005228.3): Exone 1-11; H3F3A (NM\_002107.4): Exone 2-3; HIST1H3B (NM\_003537.3): Exon 1; HIST1H3C (NM\_003531.2): Exon 1; HIST2H3C (NM\_021059.2): Exon 1; FGFR1 (NM\_001174067.1): Exone 13 und 15) bzw. durchschnittlich 98 % der kodierenden Regionen (NRAS (NM\_002524.4): Exone 2-5; FUBP1 (NM\_003902.3): Exone 1-20; CDKN2C (NM\_001262.2): Exone 2-3; PIK3CA (NM\_006218.2): Exone 1-21; PIK3R1 (NM\_181523.2): Exone 2-16; CDKN2A (NM\_000077.4): Exone 1-3; CDKN2B (NM\_004936.3): Exone 1-2; TSC1 (NM\_000368.4): Exone 3-23; PTEN (NM\_000314.4): Exone 1-9; RB1 (NM\_000321.2): Exone 1-27; TSC2 (NM\_000548.3): Exone 2-42; TP53 (NM\_000546.5): Exone 2-11; NF1 (NM\_001042492.2): Exone 1-58; CIC (NM\_015125.3): Exone 1-20; NF2 (NM\_181832.2): Exone 1-17 und ATRX (NM\_000489.3): Exone 1-35) bzw. mehrere über das jeweilige Gen verteilte Amplikons (MDM4 (NM\_002393.4): Exone 6-7; PDGFRA (NM\_006206.4): Exone 3-4; MYB (NM\_001130173.1): Exone 4-8 und 10; QKI (NM\_006775.2): Exone 1-8; CDK6 (NM\_001145306.1): Exon 8; MET (NM\_001127500.1): Exon 21; MYBL1 (NM\_001080416.2): Exone 8, 10-12 und 14; CDK4 (NM\_000075.3): Exone 2-5; MDM2 (NM\_002392.4): Exone 1-2; MTOR (NM\_004958.3): Exone 53 und 58; HIST2H2AA3 (NM\_003516.2): Exon 1; SDE2 (NM\_152608.3): Exon 7; PHF14 (NM\_014660.3): Exone 1-3; MTAP (NM\_002451.3): Exone 1-8; KLF6 (NM\_001300.5): Exone 1-4; ST8SIA6 (NM\_001004470.1): Exone 2-8; ITGB1 (NM\_002211.3): Exone 12-16; MBL2 (NM\_000242.2): Exone 1-4; MGMT (NM\_002412.3): Exone 1-5; GZMH (NM\_033423.3): Exone 1-5; HIF1A (NM\_001243084.1): Exone 1-2; EIF5 (NM\_001969.4): Exone 3-8; STK11 (NM\_000455.4): Exone 1-4 und 6; ACP5 (NM\_001111036.1): Exone 3-6; NDUFA13

(NM\_015965.6): Exone 1-5; URI1 (NM\_001252641.1): Exone 1-7; CDY1 (NM\_001003895.1): Exone 1-2; Referenzgene: RAB7A (NM\_004637.5): Exon 4-5 und GABRG3 (NM\_033223.4): Intron 6) von insgesamt 55 Genen. Folgende Gene wurden nur auf Kopienzahlveränderungen und nicht auf Sequenzveränderungen hin untersucht: MTOR, HIST2H2AA3, MDM4, SDE2, PDGFRA, MYB, QKI, CDK6, MET, MYBL1, MTAP, KLF6, ST8SIA6, ITGB1, MBL2, MGMT, CDK4, MDM2, GZMH, HIF1A, EIF5, NDUFA13, STK11, ACP5, URI und CDY1.

#### **Panel 4v1 (pädiatrische Neuroonkologie):**

Das untersuchte Gen-Panel umfasst Mutationshotspots (TERT (NM\_198253.2): Promotorbereich (Chr1: 1295228 und 1295250), BRAF (NM\_004333.4): Exon 15) bzw. durchschnittlich 90 % von relevanten Genabschnitten (MYCN (NM\_005378.4): Exone 2-3; GLI2 (NM\_005270.4): Exone 1-5 und 11; CTNNB1 (NM\_001904.3): Exon 3; SNCAIP (NM\_005460.2): Exone 1, 3-7, 9 und 10; DAXX (NM\_001141970.1): Exone 5-7; MYB (NM\_001130173.1): Exone 4-8; QKI (NM\_006775.2): Exone 1-5; MYC (NM\_002467.4): Exone 2-3; KBTBD4 (NM\_018095.4): Exon 4; NF1 (NM\_001042492.2): Exone 1-6; PPM1D (NM\_003620.3): Exone 1, 2, 4 und 5; C19MC Cluster (MIR512-2 (NR\_030181.1): Exon 1; MIR518C (NR\_030199.1): Exon 1; MIR519A2 (NR\_030222.1): Exon 1; MIR520G (NR\_030206.1): Exon 1); CDY1 (NM\_001003895.1): Exone 1-2) bzw. durchschnittlich 93 % der kodierenden Regionen (GFI1 (NM\_005263.3): Exone 6-11; TBR1 (NM\_006593.2): Exone 1-6; ZIC1 (NM\_003412.3): Exone 1-3; KIT (NM\_000222.2): Exone 1-21; APC (NM\_001127510.2): Exone 1, 3-17; PRDM6 (NM\_001136239.1): Exone 2-8; EDN1 (NM\_001955.4): Exone 1-5; CSNK2B (NM\_001320.5): Exone 2-7; CDK6 (NM\_001145306.1): Exone 2-8; SMO (NM\_005631.4): Exone 1-12; PTCH1 (NM\_001083603.1): Exone 1-23; GFI1B (NM\_004188.4): Exone 6-11; SUFU (NM\_016169.3): Exone 1-12; OTX2 (NM\_021728.3): Exone 3-5; DICER1 (NM\_177438.2): Exone 2-27; PALB2 (NM\_024675.3): Exone 1-13; SMTNL2 (NM\_001114974.1): Exone 2-8; TP53 (NM\_000546.5): Exone 2-11; CTDNEP1 (NM\_015343.4): Exone 2-9; VAT1 (NM\_006373.3): Exone 1-6; SMARCA4 (NM\_001128845.1): Exone 1-33; SMARCB1 (NM\_003073.3): Exone 1-9; BCOR (NM\_001123385.1): Exone 2-15; DDX3X (NM\_001356.3): Exone 1-17; KDM6A (NM\_021140.2): Exone 1-29; ZMYM3 (NM\_005096.3): Exone 2-25) von insgesamt 41 Genen/Gencluster. Ein Teil der Gene wurde nur auf Kopienzahlveränderungen und nicht auf Sequenzveränderungen untersucht (GFI1, MYCN, GLI2, SNCAIP, PRDM6, EDN1, DAXX, MYB, QKI, CDK6, MYC, GFI1B, OTX2, SMTNL2, NF1, PPM1D, C19MC Cluster, CDY1).

#### **Panel 5v1 (Lymphome):**

Das untersuchte Gen-Panel umfasst Mutationshotspots (MYD88 (NM\_001172567.1): Exon 5, CD79B (NM\_001039933.1): Exon 6; AKT1 (NM\_001014431.1): Exone 3 und 6; JAK2 (NM\_004972.3): Exon 14) bzw. relevante Genabschnitte (NRAS (NM\_002524.4): Exone 2-5; MET (NM\_001127500.1): Exone 2, 11, 13, 16 und 19; RET (NM\_020975.4): Exone 10, 11, 13, 15 und 16; PTEN (NM\_000314.4): Exone 1, 3 und 5-8; TP53 (NM\_000546.5): Exone 2-11; STAT5B (NM\_012448.3): Exone 1-6, 9-19; BCL2 (NM\_000633.2): Exone 2 und 3) bzw. die kodierenden Regionen (TNFRSF14 (NM\_003820.2): Exone 1-8; SPEN (NM\_015001.2): Exone 1-15; ARID1A (NM\_006015.4): Exone 1-20; JAK1 (NM\_002227.2): Exone 2-25; BTG2 (NM\_006763.2): Exone 1-2; SOCS5 (NM\_014011.4): Exon 2; DUSP2 (NM\_004418.3): Exone 1-4; PTPN23 (NM\_015466.2): Exone 1-25; TBL1XR1 (NM\_024665.4): Exone 3-16; PIK3CA (NM\_006218.2): Exone 2-21; FGFR3 (NM\_001163213.1): Exone 2-18; KIT (NM\_000222.2): Exone 1-21; PTPN13 (NM\_080685.2): Exone 2-48; IRF4 (NM\_002460.3): Exone 2-9; HIST1H1E (NM\_005321.2): Exon 1; PIM1 (NM\_001243186.1): Exone 1-6; PRDM1 (NM\_001198.3): Exone 1-7; PTPRK (NM\_001135648.1): Exone 1-31; CARD11 (NM\_032415.4): Exone 2-25; EGFR (NM\_005228.3): Exone 1-28; BRAF (NM\_004333.4): Exone 1-18; MYC (NM\_002467.4): Exone 1-3; CD274 (NM\_014143.3): Exone 2-7; PDCD1LG2 (NM\_025239.3): Exone 2-7; PTPRD (NM\_002839.3): Exone 12-46; CDKN2A (NM\_000077.4): Exone 1-3; CD44 (NM\_000610.3): Exone 1-18; ODZ4/TENM4 (NM\_001098816.2): Exone 5-34; ATM (NM\_000051.3): Exone 2-63; ETS1 (NM\_001143820.1): Exone 2-10; PTPN6 (NM\_080548.4): Exone 1-15; KRAS (NM\_004985.3): Exone 2-5; MLL2/KMT2D (NM\_003482.3): Exone 1-54; STAT6 (NM\_003153.4): Exone 2-22; BTG1 (NM\_001731.2): Exone 1-2; PTPN11 (NM\_002834.3): Exone 2-15; CREBBP (NM\_004380.2): Exone 1-31; SOCS1 (NM\_003745.1): Exon 2; ERBB2 (NM\_004448.2): Exone 1-27; STAT3 (NM\_139276.2): Exone 2-24; SOCS3

(NM\_003955.3): Exon 2; GRB2 (NM\_002086.4): Exone 2-6; MUC16 (NM\_024690.2): Exone 1-84; TYK2 (NM\_003331.4): Exone 3-25; JAK3 (NM\_000215.3): Exon 2-24; PIM2 (NM\_006875.3): Exone 1-6) von insgesamt 57 Genen. MUC16 wurde nur auf Kopienzahlveränderungen und nicht auf Sequenzveränderungen untersucht.

### **Panel 6v1 (Meningeome):**

Next-Generation-Sequencing eines Meningeom-spezifischen Gen-Panels auf der Ion S5-Plattform.

Das untersuchte Meningeom-spezifische Gen-Panel umfasst Mutationshotspots (TERT (NM\_198253.2): Promotorbereich (Chr1: 1295228 und 1295250), BRAF (NM\_004333.4): Exon 15, KLF4 (NM\_004235.6): Exon 4, AKT1 (NM\_001014431.2): Exon 3) bzw. mindestens 97 % der kodierenden Regionen (BAP1 (NM\_004656.4): Exone 1-17, PBRM1 (NM\_0181042.5): Exone 3-30, PIK3CA (NM\_006218.4): Exone 2-21, SMO (NM\_005631.5): Exone 1-12, CDKN2A (NM\_000077.4): Exon 1-3, CDKN2B (NM\_004936.3): Exon 1 und 2, SUFU (NM\_016169.3): Exone 1-12, TRAF7 (NM\_032271.3): Exone 2-21, POLR2A (NM\_000937.5): Exone 1-29, SMARCE1 (NM\_003079.5): Exone 2-11, SMARCB1 (NM\_003073.5): Exone 1-9, NF2 (NM\_000268.4): Exone 1-16) von insgesamt 12 Genen bzw. 8 Amplikons auf Chromosom Y (CDY1B (NM\_001003895.1: Exon 1, Exon 2). Die chromosomalen Regionen 1p (rs56163802, rs11247593, rs11247594, rs11805942, rs2296454, rs3736909, rs17101101, rs2268697, rs2268699, rs2268700, rs2268701, rs1884296), 6p (rs172404, rs9368867, rs2235393, rs9462130, rs2073524, rs2073525, rs3130016, rs4607417, rs4236079, rs4554318), 6q (rs1572585, rs6940637, rs9343860, rs2152951, rs743589, rs3819409, rs9389278, rs4709716, rs9346960, rs9364688, rs2294709), 9p (rs3814960, rs2518720, rs3731197, rs2518723, rs3218020, rs3218012, rs3217992), 10p (rs10795547, rs6602278, rs2380204, rs10734014, rs2496084, rs3844358, rs11011266, rs1410232, rs2986928, rs2479337, rs2505414), 10q (rs4935028, rs9651311, rs12259288, rs1234225, rs2248293, rs555895, rs532678, rs10786682, rs10883753, rs7087984), 14q (rs1951126, rs11625358, rs4982907, rs4982908, rs698015, rs709947, rs1123285, rs4513027, rs10131275, rs7157322, rs12892375), 18p (rs3819090, rs8096970, rs8091774, rs751375, rs652587, rs9947027, rs34452937, rs56317320, rs9948560), 18q (rs1841396, rs2212618, rs1941938, rs614884, rs620898, rs8088712, rs4939650, rs9304407, rs2062313, rs7232266, rs7233147, rs2156099) 22q (rs5760020, rs9608186, rs738799, rs3859887, rs3859888, rs9625533, rs2531844, rs2079647, rs2530661, rs2857643, rs242071, rs1427385, rs2267183), Xp (rs62591597, rs6631161, rs5927694, rs5972333, rs2692993, rs1801187, rs2207086, rs6631737, rs2406560, rs5972773, rs6527364, rs4408051) werden mit häufig heterozygoten SNPs abgedeckt.

### **IonAmpliSeq Cancer-Hotspot-Panel v2**

Das untersuchte Gen-Panel umfasst Mutationshotspots von 50 Genen (ABL1 (NM\_005157.5): Exone 4-7, AKT1 (NM\_001014431.1): Exone 3, 6; ALK (NM\_004304.4): Exone 23, 25; APC (NM\_000038.5): Exon 16; ATM (NM\_000051.3): Exone 8, 9, 12, 17, 26, 34-36, 39, 50, 54-56, 59, 61, 63; BRAF (NM\_004333.4): Exone 11, 15; CDH1 (NM\_004360.4): Exone 3, 8, 9; CDKN2A (NM\_001195132.1): Exon 2; CSF1R (NM\_005211.3): Exone 7, 22; CTNNB1 (NM\_001904.3): Exon 3; EGFR (NM\_005228.4): Exone 3, 7, 15, 18-21; ERBB2 (NM\_004448.3): Exone 19-21; ERBB4 (NM\_005235.2): Exone 3, 4, 6-9, 15, 23; EZH2 (NM\_004456.4): Exon 16; FBXW7 (NM\_033632.3): Exone 5, 8-11; FGFR1 (NM\_001174067.1): Exone 5, 8; FGFR2 (NM\_000141.4): Exone 7, 9, 12; FGFR3 (NM\_000142.4): Exone 7, 9, 14, 16, 18; FLT3 (NM\_004119.2): Exone 11, 14, 16, 20; GNA11 (NM\_002067.4): Exon 5; GNAQ (NM\_002072.4): Exon 5; GNAS (NM\_000516.5): Exone 8-9; HNF1A (NM\_000545.6): Exone 3-4; HRAS (NM\_001130442.2): Exone 2-3; IDH1 (NM\_005896.3): Exon 4; IDH2 (NM\_002168.3): Exon 4; JAK2 (NM\_004972.3): Exon 14; JAK3 (NM\_000215.3): Exone 4, 13, 16; KDR (NM\_002253.2): Exone 6, 7, 11, 19, 21, 26, 27, 30; KIT (NM\_000222.2): Exone 2, 9-11, 13-15, 17, 18; KRAS (NM\_033360.3): Exone 2-4; MET (NM\_001127500.2): Exone 2, 11, 14, 16, 19; MLH1 (NM\_000249.3): Exon 12; MPL (NM\_005373.2): Exon 10; NOTCH1 (NM\_017617.4): Exone 26, 27, 34; NPM1 (NM\_002520.6): Exon 11; NRAS (NM\_002524.4): Exone 2-4, PDGFRA (NM\_006206.5): Exone 12, 14, 15, 18; PIK3CA (NM\_006218.3): Exone 2, 5, 7, 8, 10, 14, 19, 21; PTEN (NM\_000314.6): Exone 1, 3, 5-8; PTPN11 (NM\_002834.4): Exone 3, 13; RB1 (NM\_000321.2): Exone 4, 6, 10, 11, 14, 17, 18, 20-22; RET (NM\_020975.4): Exone 10, 11, 13, 15, 16; SMAD4 (NM\_005359.5): Exone 3-6, 8-12; SMARCB1

(NM\_003073.4): Exone 2, 4, 5, 9; SMO (NM\_005631.4): Exone 3, 5, 6, 9, 11; SRC (NM\_198291.2): Exon 14; STK11 (NM\_000455.4): Exone 1, 4, 6, 8; TP53 (NM\_000546.5): Exone 2, 4-8, 10; VHL (NM\_000551.3): Exone 1-3).

### **IonAmpliSeq Colon and Lung Cancer Research Panel v2**

Das untersuchte Gen-Panel umfasst Mutationshotspots von 22 Genen (AKT1 (NM\_001014431.1): Exon 3, ALK (NM\_004304.4): Exone 22, 23, 25; BRAF (NM\_004333.4): Exone 11, 15; CTNNB1 (NM\_001904.3): Exon 3; DDR2 (NM\_006182.2): Exone 5, 8, 12 - 15, 17; EGFR (NM\_005228.4): Exone 12, 18-21; ERBB2 (NM\_004448.3): Exone 19-21; ERBB4 (NM\_005235.2): Exone 3, 4, 6-9, 15, 23; FBXW7 (NM\_033632.3): Exone 5, 8-11; FGFR1 (NM\_001174067.2): Exone 5, 8; FGFR2 (NM\_000141.4): Exone 7, 9, 12; FGFR3 (NM\_000142.4): Exone 7, 9, 14, 16, 18; KRAS (NM\_033360.3): Exone 2-4; MAP2K1 (NM\_002755.3): Exon 2; MET (NM\_001127500.2): Exone 2, 14, 16, 19; NOTCH1 (NM\_017617.4): Exone 26, 27; NRAS (NM\_002524.4): Exone 2-4; PIK3CA (NM\_006218.3): Exone 10, 14, 21; PTEN (NM\_000314.6): Exone 1, 3, 6-8; SMAD4 (NM\_005359.5): Exone 3, 5, 6, 8-12; STK11 (NM\_000455.4): Exone 1, 4, 5, 6, 8; TP53 (NM\_000546.5): Exone 2, 4-8, 10).

### **Panel nNGMv1**

Das untersuchte Gen-Panel umfasst Mutationshotspots der folgenden 19 Gene: ALK (NM\_004304.4): Exone 22, 23, 24 und 25; BRAF (NM\_004333.4): Exone 11 und 15; CTNNB1 (NM\_001904.3): Exon 3; EGFR (NM\_005228.3): Exone 18, 19, 20 und 21; ERBB2 (NM\_004448.2): 8,19, und 20; FGFR1 (NM\_023110.2): 4, 5, 6, 7, 10, 12, 13, 14 und 15; FGFR2 (Transkript A: NM\_000141.4): Exone 6, 7, 8, 10, 11, 13, 14 und 15, , Transkript B: (NM\_022970.3): Exone 8, 9, 12 und 18; FGFR3 (NM\_000142.4): Exone 3, 6, 7, 9, 10, 12, 14, 16 und 18; FGFR4 (NM\_213647.1): 3, 6, 9, 12, 13, 15 und 16; IDH1 (NM\_005896.2): Exon 4; IDH2 (NM\_002168.2): Exon 4; KRAS (NM\_033360.2): Exone 2,3 und 4; MAP2K1 (NM\_002755.3): Exone 2 und 3; MET (NM\_001127500.2): Exone 14, 16, 17, 18 und 19 sowie Intron 13 und die ersten 100 bp von Intron 14; NRAS (NM\_002524.4): Exone 2, 3 und 4; PIK3CA (NM\_006218.2): Exone 10 und 21; PTEN (NM\_000314.4): Exone 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8; ROS1 (NM\_002944.2): Exone 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 und 41; TP53 (NM\_000546.5): Exone 4, 5, 6, 7, 8.

### **Panel nNGMv2**

Das untersuchte Gen-Panel umfasst Mutationshotspots der folgenden 27 Gene: ALK (NM\_004304.4): Exone 22, 23, 24 und 25; BRAF (NM\_004333.4): Exone 11 und 15; CTNNB1 (NM\_001904.3): Exon 3; EGFR (NM\_005228.3): Exone 18, 19, 20 und 21; ERBB2 (NM\_004448.2): 8,19, und 20; FGFR1 (NM\_023110.2): 4, 5, 6, 7, 10, 12, 13, 14 und 15; FGFR2 (Transkript A: NM\_000141.4): Exone 6, 7, 8, 10, 11, 13, 14 und 15, Transkript B: (NM\_022970.3): Exone 8, 9, 12 und 18; FGFR3 (NM\_000142.4): Exone 3, 6, 7, 9, 10, 12, 14, 16 und 18; FGFR4 (NM\_213647.1): 3, 6, 9, 12, 13, 15 und 16; HRAS (NM\_005343.4): Exone 2, 3 und 4; IDH1 (NM\_005896.2): Exon 4; IDH2 (NM\_002168.2): Exon 4; KEAP1 (NM\_203500.2): Exone 2, 3, 4, 5 und 6; KRAS (NM\_033360.2): Exone 2,3 und 4; MAP2K1 (NM\_002755.3): Exone 2 und 3; MET (NM\_001127500.2): Exone 14, 16, 17, 18 und 19 sowie Intron 13 und die ersten 100 bp von Intron 14; NRAS (NM\_002524.4): Exone 2, 3 und 4; NTRK1 (NM\_002529.3): Exone 13, 14, 15, 16 und 17; NTRK2 (NM\_006180.3): Exone 14, 15, 16, 17, 18 und 19; NTRK3 (NM\_001012338.2): Exone 15, 16, 17, 18, 19 und 20; PIK3CA (NM\_006218.2): Exone 10 und 21; PTEN (NM\_000314.4): Exone 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 und 8; RET (NM\_020975.6): Exone 10, 11, 13, 15 und 16; ROS1 (NM\_002944.2): Exone 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 und 41; STK11 (NM\_000455.4): Exone 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 und 9; TP53 (NM\_000546.5): Exone 4, 5, 6, 7, 8.

### **IonAmpliSeq RNA Fusion Lung Cancer Research Panel**

Next-Generation-Sequencing des IonAmpliSeq RNA Fusion Lung Cancer Research Panel (LifeTechnologies/Thermo Fisher). Dieses Fusion-Panel umfasst die über 70 häufigsten bekannten Lungenkrebs-assoziierten Fusionen der Gene ALK, RET, NTRK1 und ROS1 sowie die 5 Kontrollgene LLMA, TBP, MYC, HMBS, ITGB7.

## Oncomine Focus Assay RNA

Next-Generation-Sequencing des Oncomine Focus Assay RNA (Thermo Fisher). Dieses Fusions-Panel umfasst die Fusionen der Treibergene ABL1, AKT3, ALK, AXL, BRAF, EGFR, ERBB2, ERG, ETV1, ETV4, ETV5, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PPARG, RAF1, RET und ROS1. Im Detail handelt es sich um [Fusionspartner 1(Exon) – Fusionspartner 2(Exon)]: AGL4(6) - NTRK2(16), AGTRAP(5) - BRAF(8), MAGI3(10) - AKT3(3), TRIM33(16) - RET(12), TPM3(7) - ALK(20), TPM3(7) - NTRK1(10), TPM3(7) - NTRK1(12), TPM3(7) - ROS1(35), TPM3(3) - ROS1(36), LMNA(2) - NTRK1(11), BCAN(13) - NTRK1(11), NTRK1(17) - DYNC2H1(85), TPR(21) - NTRK1(10), TPR(21) - NTRK1(9), TPR(15) - ALK(20), TPR(6) - NTRK1(12), TPR(6) - NTRK1(12), TPR(4) - MET(15), NFASC(20) - NTRK1(10), SLC45A3(1) - BRAF(8), SLC45A3(1) - ERG(4), SLC45A3(1) - FGFR2(1), SLC45A3(1) - FGFR2(2), IRF2BP2(1) - NTRK1(10), IRF2BP2(1) - NTRK1(11), IRF2BP2(1) - NTRK1(12), C2orf44(4) - ALK(20), NCOA1(21) - ALK(1), CLIP4(12) - ALK(23), ALK(11) - PTPN3(3), MEMO1(2) - ALK(7), STRN(3) - ALK(20), STRN(3) - NTRK2(15), STRN(3) - NTRK2(16), EML4(2) - ALK(20), EML4(2) - ALK(20), EML4(2) - NTRK3(14), EML4(3) - ALK(20), EML4(6) - ALK(17), EML4(6) - ALK(18), EML4(6) - ALK(19), EML4(6) - ALK(20), EML4(6) - ALK(20), EML4(6) - NTRK3(14), EML4(6) - ALK(20), EML4(7) - ALK(20), EML4(13) - ALK(20), EML4(13) - ALK(20), EML4(13) - ALK(20), EML4(14) - ALK(20), EML4(14) - ALK(20), EML4(14) - ALK(20), EML4(14) - ALK(20), EML4(14) - ALK(20), EML4(14) - ALK(20), EML4(15) - ALK(20), EML4(17) - ALK(20), EML4(17) - ALK(20), EML4(17) - ALK(20), EML4(17) - ALK(20), EML4(17) - ALK(20), EML4(17) - ALK(20), EML4(18) - ALK(20), EML4(20) - ALK(20), EML4(20) - ALK(20), EML4(21) - ALK(20), SMEK2(9) - ALK(2), ACTG2(2) - ALK(18), DCTN1(26) - ALK(20), RANBP2(18) - ALK(20), PAX8(10) - PPARG(2), PAX8(9) - PPARG(2), PAX8(8) - PPARG(2), PAX8(7) - PPARG(2), ATIC(7) - ALK(20), TFG(4) - ALK(20), TFG(4) - NTRK1(9), TFG(4) - ROS1(35), TFG(5) - ALK(20), TFG(5) - MET(15), TFG(5) - NTRK1(10), TFG(6) - ALK(20), TFG(6) - NTRK1(10), TFG(6) - NTRK3(14), TFG(6) - NTRK3(15), TBL1XR1(9) - RET(12), TBL1XR1(9) - RET(11), FGFR3(14) - TACC3(11), FGFR3(15) - TACC3(11), FGFR3(16) - TACC3(10), FGFR3(16) - TACC3(11), FGFR3(17) - TACC3(11), FGFR3(17) - TACC3(13), FGFR3(17) - TACC3(10), FGFR3(17) - TACC3(7), FGFR3(17) - TACC3(11), FGFR3(17) - TACC3(4), FGFR3(17) - AES(2), FGFR3(17) - BAIAP2L1(2), FGFR3(17) - ELAVL3(2), FGFR3(17) - TACC3(10), FGFR3(17) - TACC3(11), FGFR3(17) - TACC3(5), FGFR3(17) - TACC3(6), FGFR3(17) - TACC3(8), FGFR3(17) - TACC3(9), FGFR3(17) - TACC3(9), FGFR3(17) - TACC3(4), FGFR3(18) - TACC3(7), FGFR3(18) - TACC3(4), FGFR3(18) - TACC3(11), FGFR3(18) - TACC3(10), FGFR3(18) - TACC3(10), AFAP1(14) - NTRK2(12), AFAP1(3) - RET(12), SLC34A2(4) - ROS1(32), SLC34A2(4) - ROS1(34), SLC34A2(13) - ROS1(32), SLC34A2(13) - ROS1(34), SLC34A2(13) - ROS1(36), SEC31L1\_SEC31A(22) - ALK(20), SEC31L1\_SEC31A(21) - ALK(20), PAPSS1(5) - BRAF(9), SSBP2(12) - NTRK1(12), FCHSD1(13) - BRAF(9), CD74(7) - NTRK1(10), CD74(6) - ROS1(32), CD74(6) - ROS1(34), CD74(6) - ROS1(35), CD74(4) - ROS1(33), PWWP2A(1) - ROS1(36), SQSTM1(5) - NTRK1(10), SQSTM1(5) - NTRK1(12), SQSTM1(5) - NTRK2(13), SQSTM1(5) - NTRK2(17), SQSTM1(5) - NTRK3(14), TRIM27(3) - RET(12), HLA\_A(7) - ROS1(34), GOPC(8) - ROS1(35), GOPC(4) - ROS1(36), CEP85L(8) - ROS1(36), EZR(10) - ROS1(34), EZR(10) - ROS1(35), QKI(6) - NTRK2(16), KDELR2(5) - ROS1(35), KDELR2(5) - ROS1(35), TAX1BP1(8) - BRAF(11), EGFR(1) - EGFR(8), GTF2IRD1(7) - ALK(20), HIP1(28) - ALK(20), HIP1(21) - ALK(20), AKAP9(8) - BRAF(9), BAIAP2L1(9) - MET(15), CUX1(10) - RET(12), MET(13) - MET(15), CAPZA2(4) - MET(11), PTPRZ1(1) - MET(2), PTPRZ1(3) - MET(2), PTPRZ1(8) - MET(2), SND1(16) - BRAF(9), TRIM24(9) - BRAF(9), TRIM24(9) - RET(12), TRIM24(12) - NTRK2(15), KIAA1549(18) - BRAF(9), KIAA1549(17) - BRAF(10), KIAA1549(16) - BRAF(10), KIAA1549(15) - BRAF(11), KIAA1549(15) - BRAF(9), FAM131B(2) - BRAF(9), PCM1(29) - RET(12), ERLIN2(8) - FGFR1(2), BAG4(1) - FGFR1(8), BAG4(2) - FGFR1(6), FGFR1(17) - TACC1(7), HOOK3(11) - RET(12), C8orf34(2) - MET(15), ESRP1(13) - RAF1(6), OXR1(9) - MET(13), B4GALT1(1) - RAF1(8), FKBP15(25) - RET(12), TRAF1(6) - ALK(20), CEL(7) - NTRK1(7), NACC2(4) - NTRK2(13), ACBD5(11) - RET(12), KIF5B(24) - ALK(20), KIF5B(24) - RET(11), KIF5B(24) - RET(8), KIF5B(23) - RET(12), KIF5B(22) - RET(12), KIF5B(17) - ALK(20), KIF5B(16) - RET(12), KIF5B(15) - ALK(20), KIF5B(15) - ALK(20), KIF5B(15) - RET(11), KIF5B(15) - RET(12), NCOA4\_ELE1(6) - RET(12), NCOA4(7) - RET(12), CCDC6(8) - RET(11), CCDC6(8) - RET(12), CCDC6(5) - ROS1(35), CCDC6(2) - RET(12), CCDC6(1) - RET(11), CCDC6(1) - RET(12), CCDC6(1) - RET(13), CCDC6(1) - RET(12), CCDC6(1) - RET(11), RUFY2(9) - RET(12), VCL(16) - ALK(20), VCL(16) - NTRK2(12), KIAA1598(11) - ROS1(36), FGFR2(17) - AFF3(7), FGFR2(17) - BICC1(2), FGFR2(17) - CASP7(2), FGFR2(17) - CIT(23), FGFR2(17) - KIAA1967\_CCAR2(4), FGFR2(17) - MGEA5(12), FGFR2(17) -

OFD1(3), FGFR2(17) - TACC3(11), CARS(17) - ALK(20), ERC1(7) - RET(12), ERC1\_ELKS(11) - RET(12), ERC1(11) - ROS1(36), ERC1(12) - RET(12), ERC1(17) - RET(12), A2M(22) - ALK(19), ETV6(4) - NTRK2(16), ETV6(4) - NTRK3(14), ETV6(4) - NTRK3(15), ETV6(5) - NTRK2(15), ETV6(5) - NTRK2(16), ETV6(5) - NTRK3(14), ETV6(5) - NTRK3(15), PPFIBP1(9) - ROS1(35), SCAF11(1) - PDGFRA(2), LRIG3(16) - ROS1(35), CLIP1(19) - ROS1(36), ZCCHC8(2) - ROS1(36), KTN1(29) - RET(12), GOLGA5(7) - RET(12), EML1(17) - ABL1(2), KLC1(9) - ALK(20), MYO5A(23) - NTRK3(14), MYO5A(23) - ROS1(35), TPM1(8) - ALK(20), COX5A(1) - NTRK3(15), BTBD1(4) - NTRK3(14), AKAP13(35) - RET(12), AKAP13(36) - RET(12), MPRIP(14) - NTRK1(12), MPRIP(18) - NTRK1(12), MPRIP(21) - NTRK1(12), WIPF2(1) - ERBB2(4), CDC27(16) - BRAF(9), CLTC(31) - ALK(20), CLTC(31) - ROS1(35), PRKAR1A(2) - ALK(20), PRKAR1A(7) - RET(12), RNF213(15) - NTRK1(12), KIAA1468(10) - RET(12), TPM4(7) - ALK(20), AXL(20) - MBIP(4), SDC4(4) - ROS1(32), SDC4(4) - ROS1(34), SDC4(2) - ROS1(32), SDC4(2) - ROS1(34), TMPRSS2(5) - ERG(4), TMPRSS2(5) - ERG(5), TMPRSS2(4) - ERG(4), TMPRSS2(4) - ERG(5), TMPRSS2(3) - ERG(4), TMPRSS2(3) - ETV5(2), TMPRSS2(2) - ERG(2), TMPRSS2(2) - ERG(4), TMPRSS2(2) - ERG(5), TMPRSS2(2) - ERG(2), TMPRSS2(1) - ETV1(4), TMPRSS2(2) - ETV1(5), TMPRSS2(1) - ETV5(2), TMPRSS2(1) - ERG(2), TMPRSS2(1) - ERG(3), TMPRSS2(1) - ERG(4), TMPRSS2(1) - ERG(5), TMPRSS2(1) - ERG(6), TMPRSS2(1) - ERG(2), TMPRSS2(1) - ETV1(4), TMPRSS2(1) - ETV1(5), TMPRSS2(1) - ETV5(2), TMPRSS2(1) - ETV4(3), SPECC1L(10) - RET(11), SPECC1L(10) - RET(12), MSN(9) - ROS1(34).

### Archer FusionPlex Duesseldorf Lung and Neuro

Next-Generation-Sequencing des Archer FusionPlex Duesseldorf Lung and Neuro (ArcherDX). Dieses Fusions-Panel umfasst die Fusionen der Gene ALK, BRAF, C11orf95, CIC, DDX31, EGFR, ETV1, EWSR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FOXR2, GF11, KRAS, MET, MN1, MYB, MYBL1, MYC, NDRG1, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PRKCA, RAF1, RELA, RET, ROS1, STAT6, WHSC1 und YAP1. Im Detail handelt es sich um Fusionen der Gene (NM-Nr., Exone, Richtung der Primer) ALK (NM\_004304: 2, 4, 6, 10, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 26; 5' sowie 23, 25; 3'), BRAF (NM\_004333: 2, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16; 5' sowie 1, 3, 7, 8, 10, 13; 3'), C11orf95 (NM\_001144936: 2, 3, 4, 5; 3'), CHMP2A (NM\_198426: 3, 4; 3'), CIC (NM\_015125: 16, 17, 18, 19, 20; 3'), DDX31 (NM\_022779: 17, 18, 19; 3'), EGFR (NM\_005228: 7, 8, 9, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21; 5' sowie 1, 24, 25; 3'), ETV1 (NM\_004956: 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13; 5'), EWSR1 (NM\_005243: 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14; 3'), FGFR1 (NM\_015850: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 17; 5' sowie 12, 17; 3'), FGFR2 (NM\_000141: 2, 5, 7, 8, 9, 10; 5' sowie 16, 17; 3'), FGFR3 (NM\_000142: 3, 5, 8, 9, 10; 5' sowie 16, 17, 18; 3'), FOXR2 (telomer von FOXR2: ChrX: 55562076-55562106 und 55634649-55634669 (GRCh37)), GF11 (NM\_001127216: 2, 3, 4, 5, 6; 5'), KRAS (NM\_004985: 2, 3; 5'), MET (NM\_000245: 2, 4, 5, 6, 13, 14, 15, 16, 17, 21; 5' sowie 2, 13; 3'), MN1 (NM\_002430: 1, 2; 3'), MYB (NM\_001130173: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16; 3'), MYBL1 (NM\_001080416: 10; 5' sowie 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15; 3'), MYC (NM\_002467: 1, 2, 3; 5' sowie 1, 2; 3'), NDRG1 (NM\_001135242: 10, 11, 13; 5'), NRG1 (NM\_004495: 1, 2, 3, 4, 6, 8; 5' sowie 1; 3'), NTRK1 (NM\_002529: 2, 4, 6, 8, 10, 11, 12, 13; 5'), NTRK2 (NM\_006180: 5, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17; 5'), NTRK3 (NM\_002530: 4, 7, 10, 12, 13, 14, 15, 16; 5' sowie: 13, 14, 15; 3'), PDGFRA (NM\_006206: 10, 11, 12, 13, 14, 15; 5'), PRKCA (NM\_002737: 4, 5, 6, 9; 5'), RAB7A (NM\_004637: 3, 4; 3'), RAF1 (NM\_002880: 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12; 5' sowie 4, 5, 6, 7, 9; 3'), RELA (NM\_021975: 3, 4; 5'), RET (NM\_020630: 2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16; 5'), ROS1 (NM\_002944: 2, 4, 7, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37; 5' sowie 38; 3'), STAT6 (NM\_001178078: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 15, 16, 17, 18, 19, 20; 5'), VCP (NM\_007126: 14, 15; 3'), WHSC1 (NM\_133330: 3, 4, 5, 6, 7; 5') und YAP1 (NM\_001130145: 1, 2; 5' sowie 1, 5, 6, 7; 3') mit einem unbekanntem Fusionspartner. Des Weiteren werden die Mutationen ALK (NM\_004304): T1151-C1156, F1174, L1196-S1206, G1269, BRAF (NM\_004333): V600, EGFR (NM\_005228): E709-G719, E746-L760, V774-G796, L858-L861, KRAS (NM\_004985): G12-G13, Q61, RET (NM\_020630): A883, M918 und ROS1 (NM\_002944): G2032 abgedeckt.

## II. Zugehörige Methodik

**NGS-Sequenzanalyse v1:** Next-Generation-Sequencing des ... Panels auf der Ion S5 Plattform. Die Quantifizierung der DNA erfolgte mittels Quantifluor ONE dsDNA System (Promega) und durch ein

TaqMan Copy Number Reference Assay, human RNase P (ThermoFisher Scientific). Die Library wurde mittels IonAmpliSeq Library Kit 2.0 (ThermoFisher Scientific) erstellt. Die Sequenzierung wurde auf dem Ion S5 (ThermoFisher Scientific) durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mithilfe der Torrent Suite 5.10.0, Ion Reporter v5.10.2.0, IGV v2.5.0. Für die Interpretation der Varianten wurden folgende öffentliche Datenbanken herangezogen CIVIC, dbSNP, COSMIC, cBioPortal, cancerhotspots.org, ClinVar und OncoKB. Nach Herausfiltern von Artefakten und anzunehmenden Keimbahnvarianten wurden Varianten mit Allelfrequenzen  $\geq 5\%$  berichtet, die die Aminosäuresequenz verändern und nicht als benigne beschrieben sind. Zusätzlich wurden Hotspot-Varianten im TERT-Promotor berichtet, falls vorhanden und vom Panel abgedeckt.

**NGS-Kopienzahlanalyse v1:** Kopienzahlanalyse auf der Grundlage der normalisierten Anzahl der Reads (RPKM) des Next-Generation-Sequencing Datensatzes mithilfe der Software NextGENe, SoftGenetics, unter Anwendung eines Hidden-Markov-Modells.

**NGS-Fusionstranskriptanalyse v1:** Next-Generation-Sequencing des ... Panels auf der Ion S5 Plattform. Die Quantifizierung der RNA erfolgte mittels Quantifluor ONE RNA System (Promega). Die cDNA-Synthese erfolgte mit dem QuantiTEct Reverse Transcription Kit (Qiagen). Die Library wurde mittels IonAmpliSeq Library Kit 2.0 (ThermoFisher Scientific) erstellt. Die Sequenzierung wurde auf dem Ion S5 (ThermoFisher Scientific) durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mithilfe der Torrent Suite 5.10.0, Ion Reporter v5.10.2.0.

**NGS-Fusionstranskriptanalyse Archer v1:** Next-Generation-Sequencing des ... Panels auf der Ion S5 Plattform. Die Quantifizierung der RNA erfolgte mittels Quantifluor ONE RNA System (Promega). Die cDNA-Synthese erfolgte mit dem QuantiTEct Reverse Transcription Kit (Qiagen). Die Library wurde mittels Archer FusionPlex Duesseldorf Lung and Neuro Kit (ArcherDX) erstellt. Die Sequenzierung wurde auf dem Ion S5 (ThermoFisher Scientific) durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mithilfe der Archer Suite Analysis v6.2.7.

### III. Kurzdarstellung in den Befunden:

*Im Befund finden Sie einen Verweis auf die oben genannten Panels und die zugehörige Analyse, z.B. in der folgenden Form:*

Methoden:

1. Histologische Untersuchung der eingesandten Tumorprobe anhand eines HE-Präparates zur Bestimmung des Tumorzellgehaltes.
2. Extraktion von DNA aus dem Paraffinmaterial.
3. Next-Generation-Sequencing des Panels nNGMv2 mit NGS-Sequenzanalyse v1.
4. Extraktion von RNA aus Paraffinmaterial.
5. Next-Generation-Sequencing des Archer FusionPlex Duesseldorf Lung and Neuro Panel mit NGS-Fusionstranskriptanalyse Archer v1.

Details zur Methodik s. <https://www.uniklinik-duesseldorf.de/patienten-besucher/klinikeninstitutezentren/institut-fuer-neuropathologie/diagnostik/molekulare-diagnostik>