



URO14 – et targeteret panel til urologiske prøver

DMPG-møde 2025

Anja E. Everhøj, Klinisk Akademiker

@ aneso@regionsjaelland.dk

☎ +45 2156 6926

🏠 Roskilde/Næstved Patologiafdeling



Udfordringer ved FFPE prostata nålebiopsier



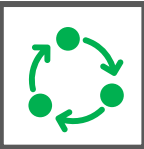
Alder på FFPE blokkene



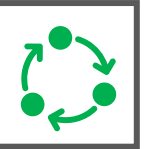
Fragmenteret DNA



Fikseringstider og opbevaring i FFPE



Mængden af væv og lav DNA koncentration



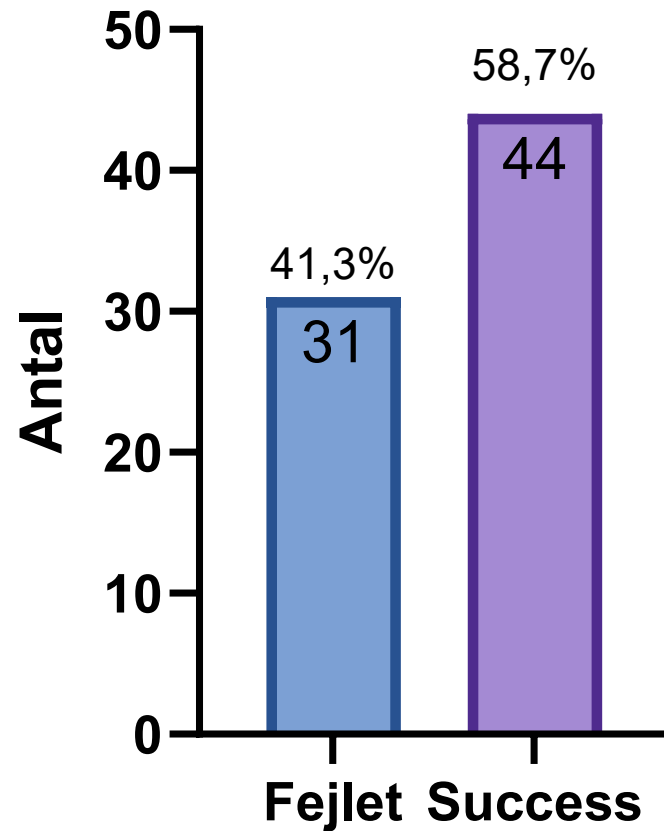
Lav tumor%



BRCA1 og BRCA2 NGS med ST40 på prostate prøver

- Før 2024

BRCA1 og BRCA2 NGS



Indførelse af speecvac

► Reports (MDPI). 2023 May 23;6(2):23. doi: [10.3390/reports6020023](https://doi.org/10.3390/reports6020023)

Rescue of Low-Yield DNA Samples for Next-Generation Sequencing Using Vacuum Centrifugal Concentration in a Clinical Workflow

[Lau K Vestergaard](#)¹, [Nicolai S Mikkelsen](#)¹, [Douglas V N P Oliveira](#)¹, [Tim S Poulsen](#)¹, [Estrid V Hoegdall](#)^{1,*}

Editor: Raffaele Palmirotta¹

► [Author information](#) ► [Article notes](#) ► [Copyright and License information](#)

PMCID: PMC12225422 PMID: [40729190](#)

► [Anal Biochem](#). 2019 Feb 1;566:16-19. doi: [10.1016/j.ab.2018.10.020](https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.10.020). Epub 2018 Oct 19.

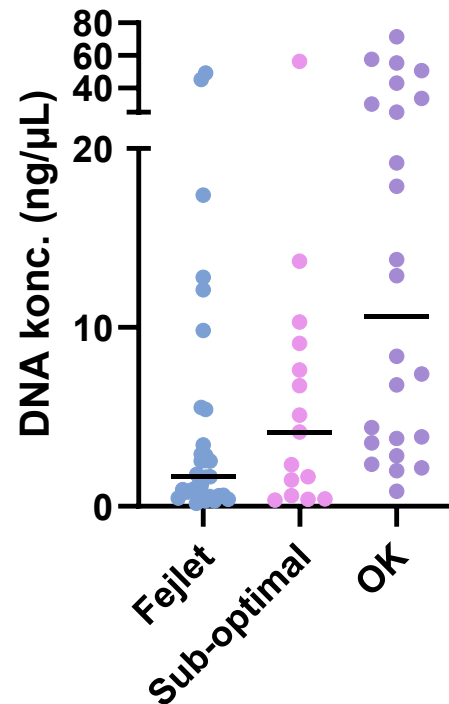
Does vacuum centrifugal concentration reduce yield or quality of nucleic acids extracted from FFPE biospecimens?

[Ignacio Sánchez](#), [Fay Betsou](#), [William Mathieson](#)

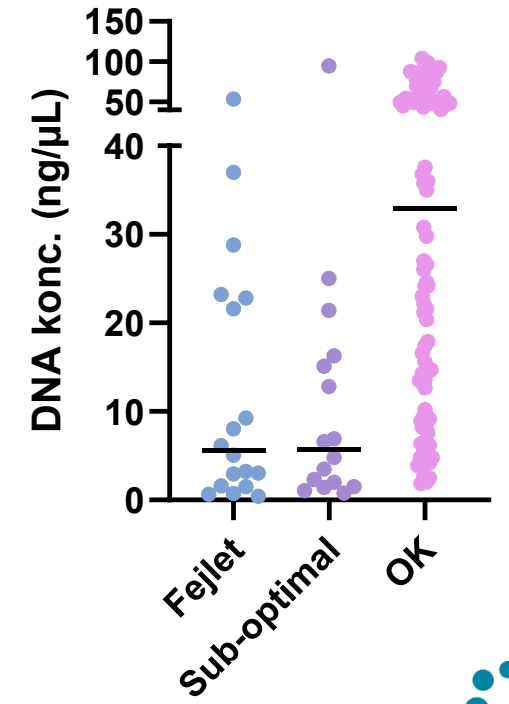
PMID: 30343041 DOI: [10.1016/j.ab.2018.10.020](https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.10.020)



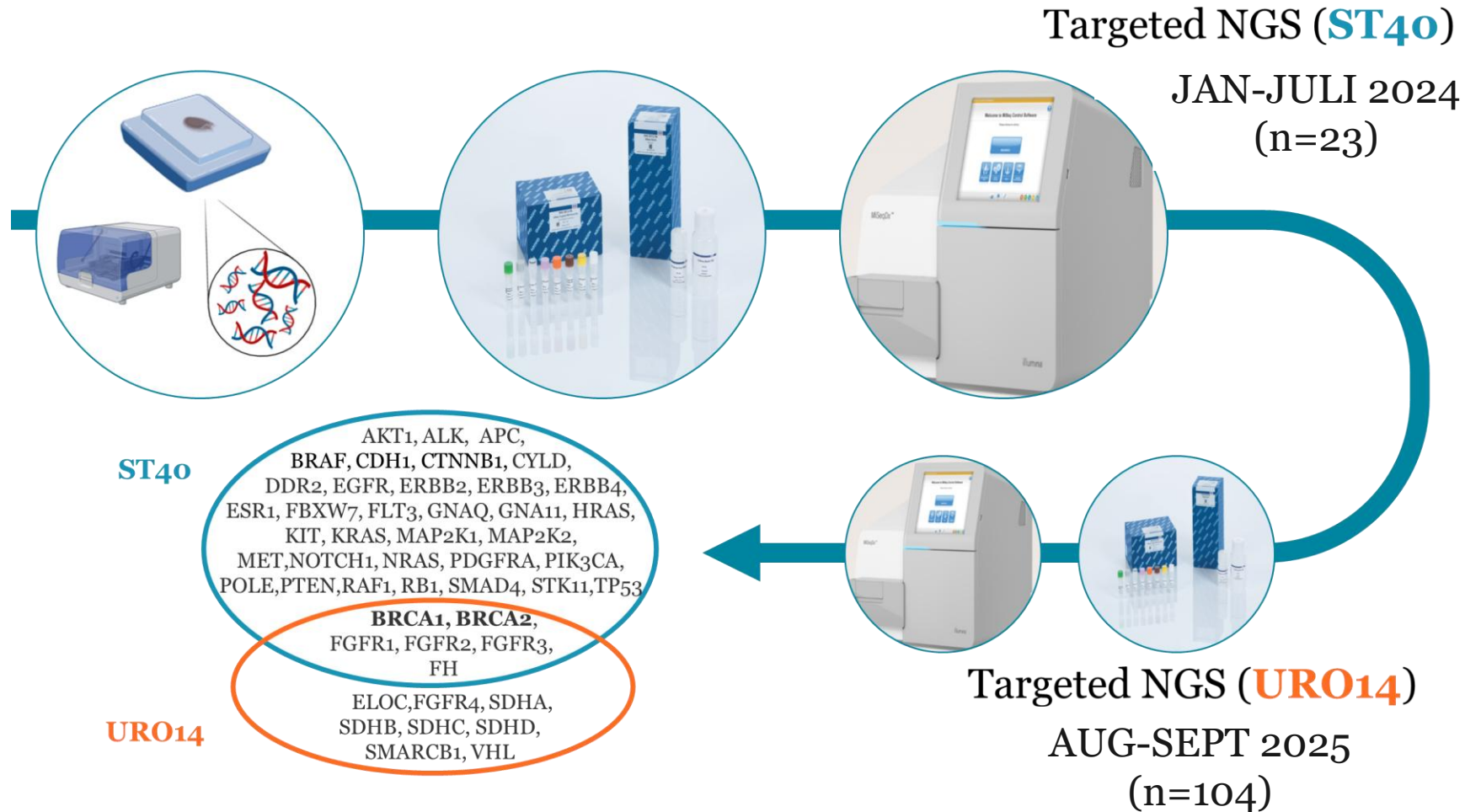
DNA konc. ST40 før 2024



DNA konc. efter 2024



Fra ST40 til URO14...

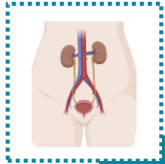


Teknikalteter

- Targeted design tilgang, komplette cds
- Øget primer densitet til 2.9: Fra 223 til 643 primers
- Designet i samarbejde med QIAGEN
- Kører på Illumina MiSeq platform (også i100)
- Kan kombineres med andre QIAGEN paneler



Organområdet - urologi



Gen	Exon	Blære	Nyre	Prostata	Penis	Testis
BRCA1	2-24					
BRCA2	2-27					
ELOC (TCEB1)	2-4					
FGFR1	2-18					
FGFR2	2-18					
FGFR3	2-18					
FGFR4	2-18					
FH	2-10					
SMARCB1	1-9					
SDHA	1-15					
SDHB	1-8					
SDHC	1-6					
SDHD	1-4					
VHL	1-3					

URO14

- Indeholder 14 gener
- Dækker alle kodende exons



Kan URO14 finde de samme varianter som ST40?

- 10 BRCA-positive prøver analyseret med både ST40 og URO14

	Materiale	Variant	ST40		URO14		ENS
Prøve 1	Lunge	BRCA1, c.1961delA*	4%	507x	4%	1428x	Ja
Prøve 2	Lunge	BRCA2, c.1705delC	12%	1202x	12%	1185x	Ja
Prøve 3	Lunge	BRCA1, c.1579A>T	13%	887x	14%	1736x	Ja
Prøve 4	Lunge	BRCA1, c.2940delA	61%	456x	54%	1112x	Ja
Prøve 5	Lunge	BRCA1, c.2331T>G	54%	597x	56%	2039x	Ja
Prøve 6	Lunge	BRCA2, c.9106C>T	12%	119x	11%	685x	Ja
Prøve 7	Lunge	BRCA2, c.5804delA	57%	161x	50%	780x	Ja
Prøve 8	Gyn	BRCA2, c.8426delT	28%	798x	28%	923x	Ja
		BRCA, c.9413delT	36%	618x	35%	1541x	Ja
Prøve 9	Gyn	BRCA1, c.967G>T	40%	108x	42%	1285x	Ja
Prøve 10	Cer	BRCA2, c.6952C>T	43%	1116x	40%	921x	Ja

*Homopolymert område

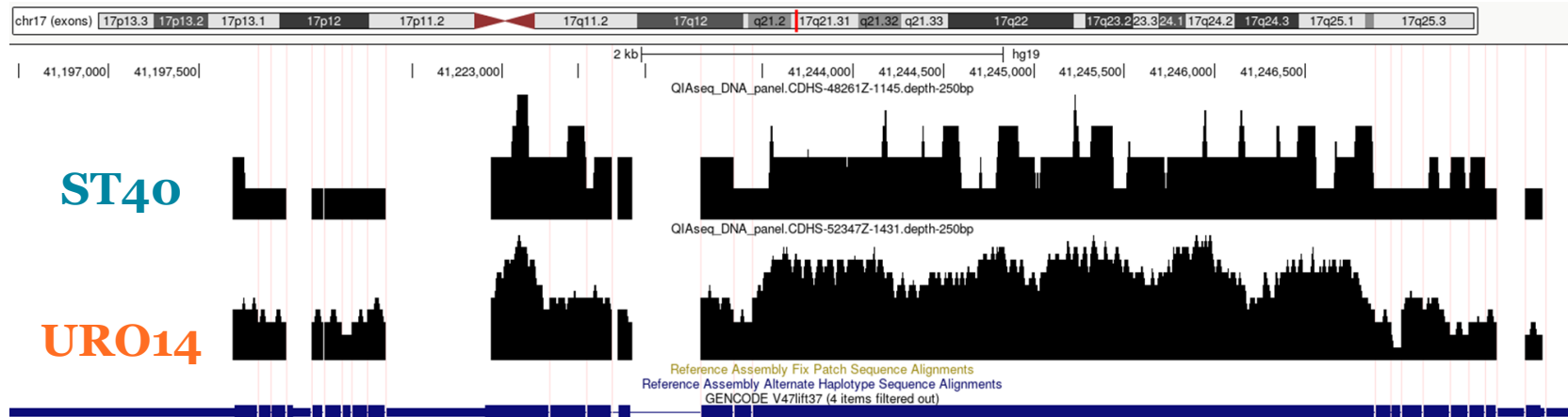


Øget primer coverage i URO14

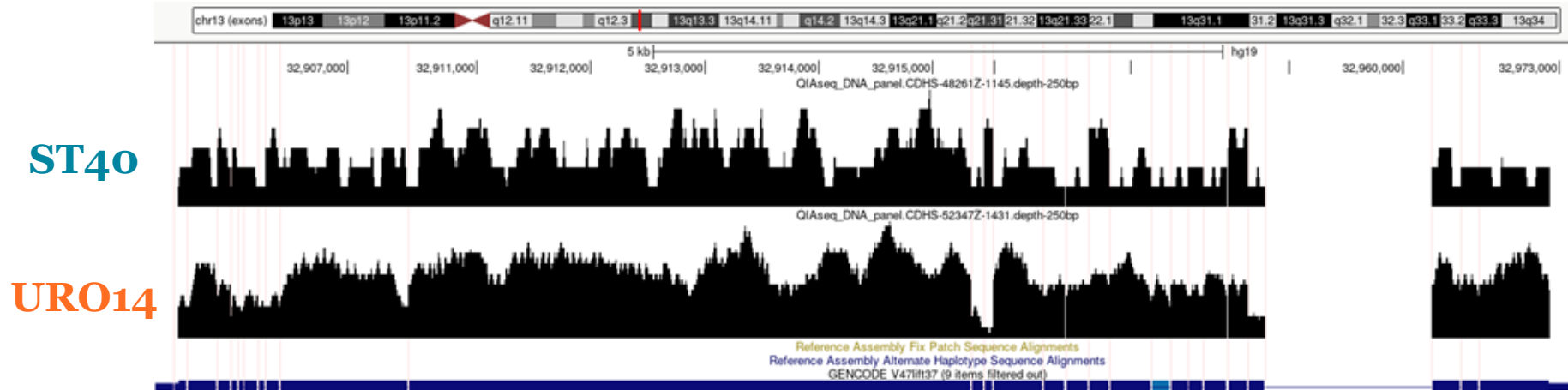
- BED filer

Ca. 2.9x højere primer coverage/dækning

BRCA1
(exon 2-24)

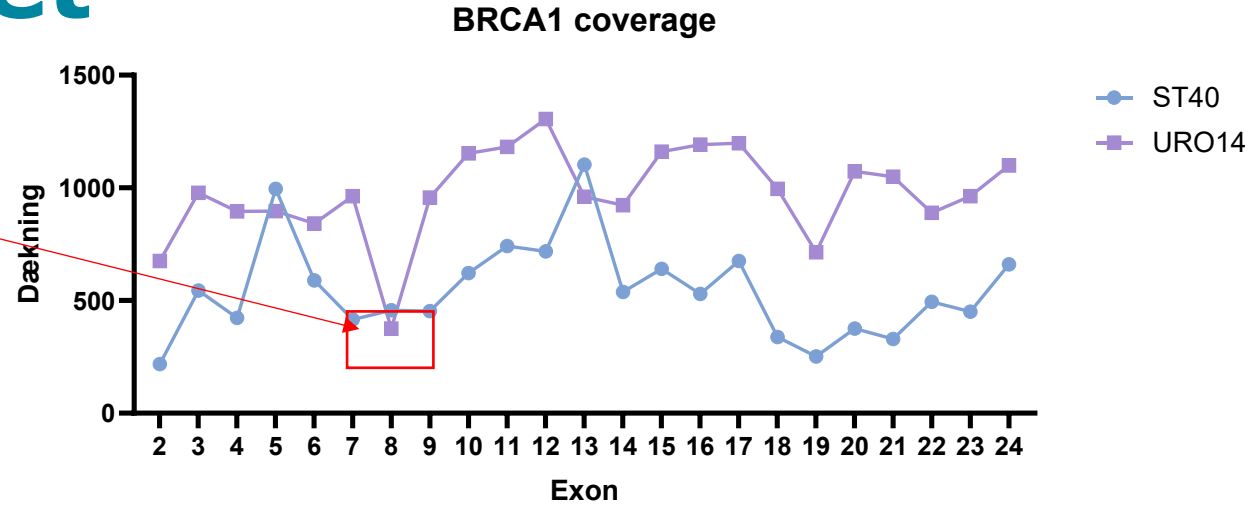


BRCA2
(exon 2-27)

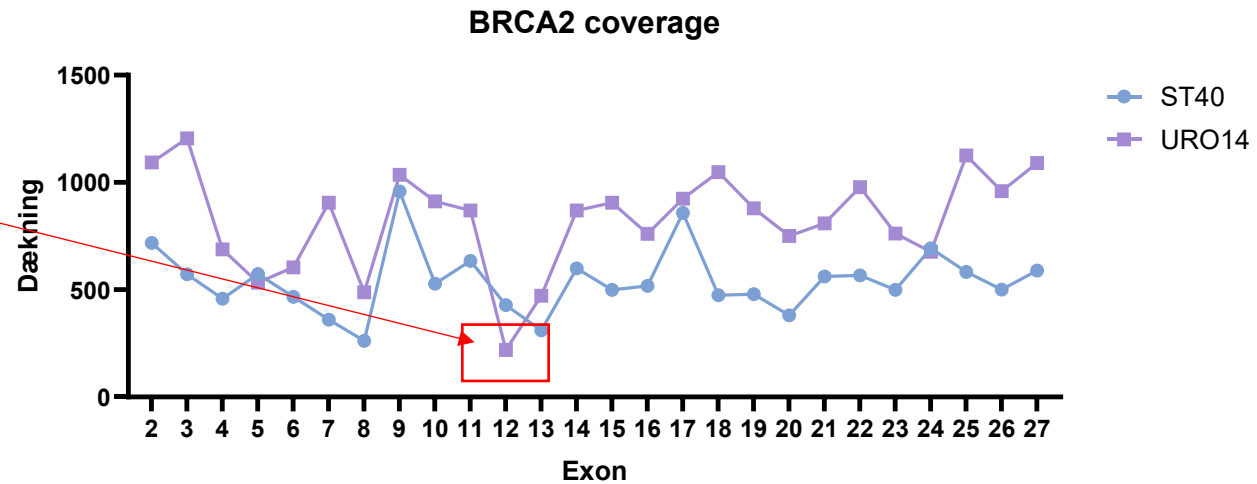


Dækning -Data-baseret

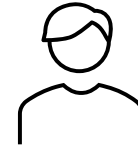
Primer udfald



Primer udfald



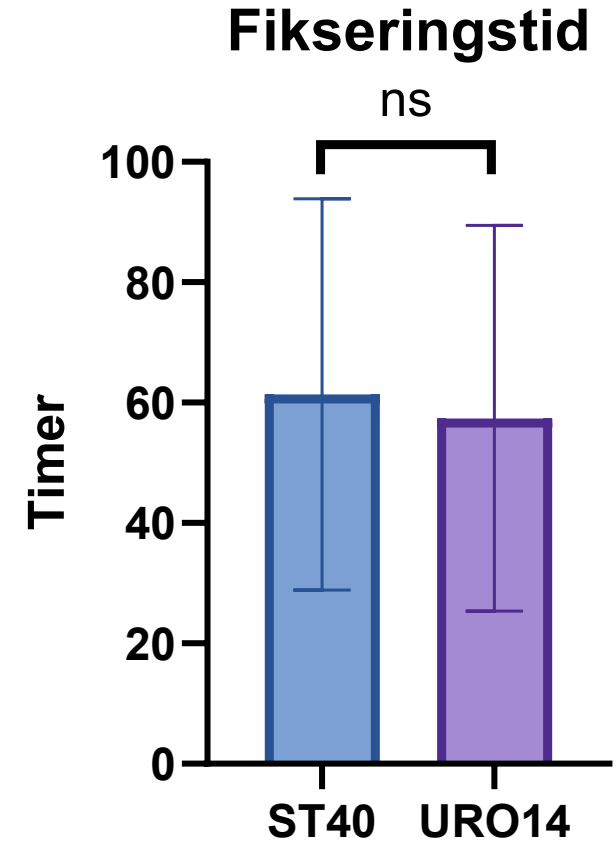
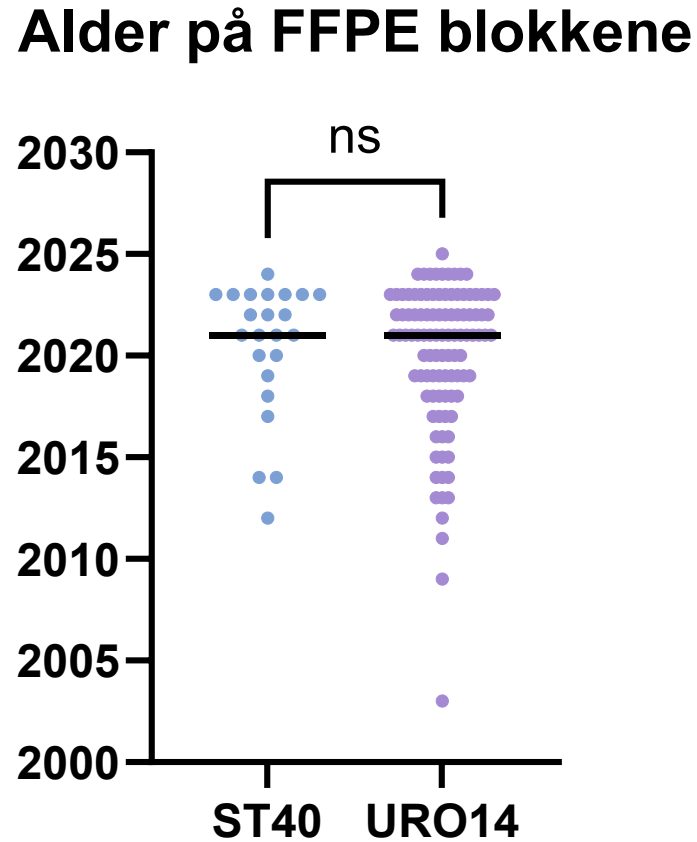
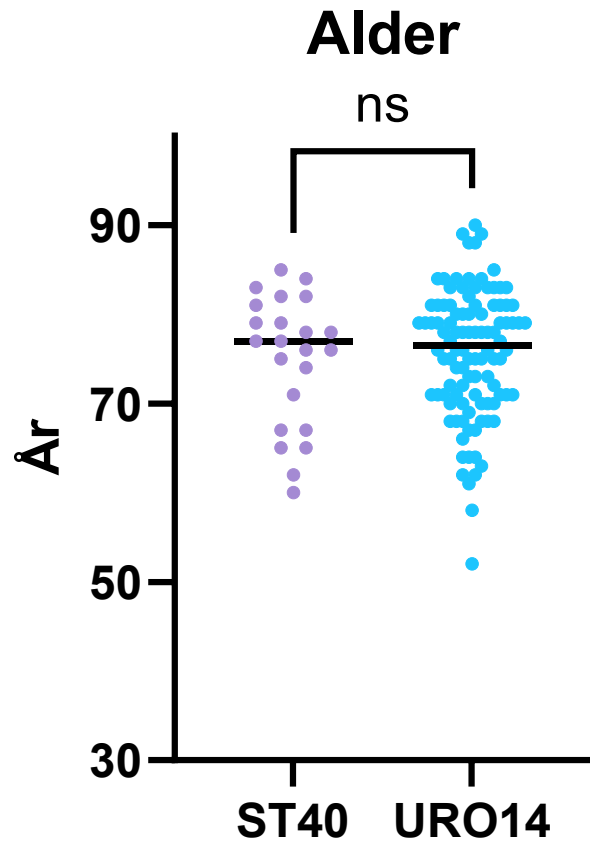
Inkluderet prøver



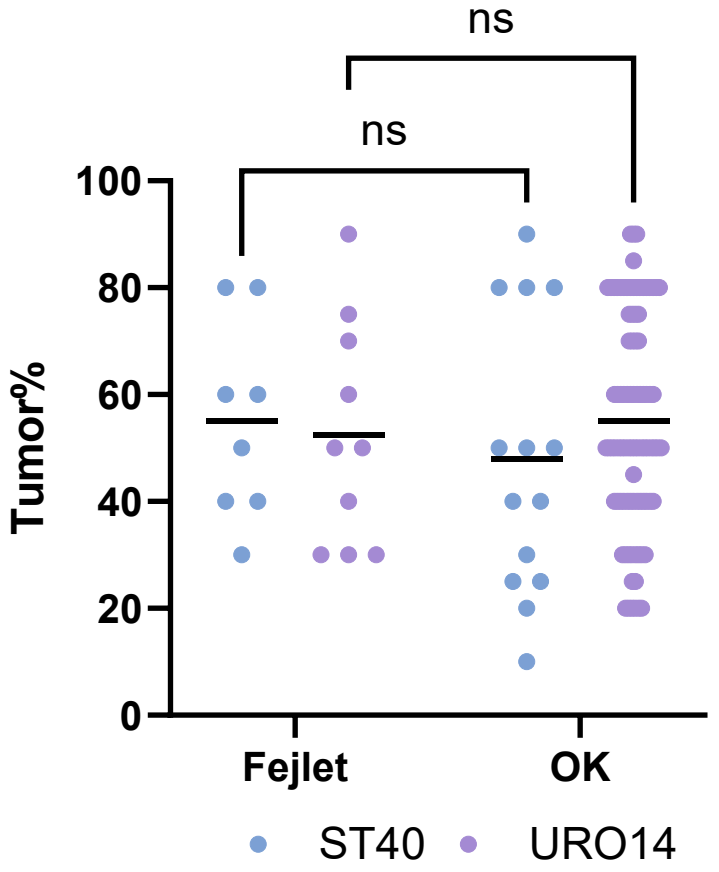
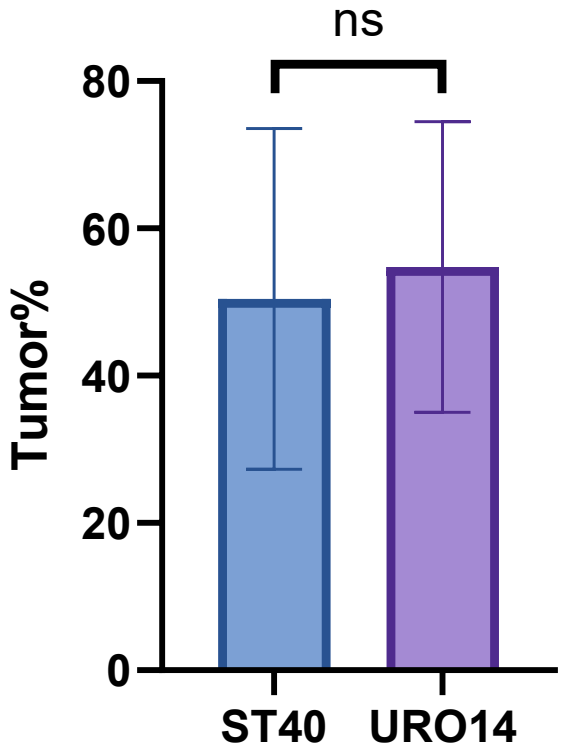
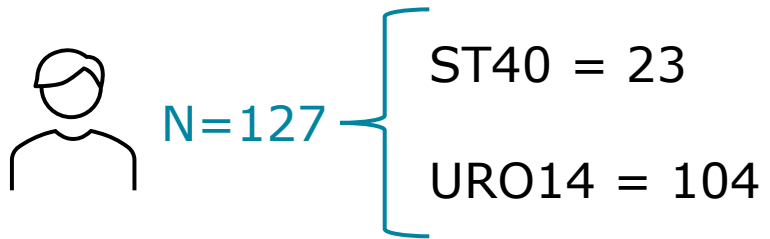
N=127

ST40 = 23

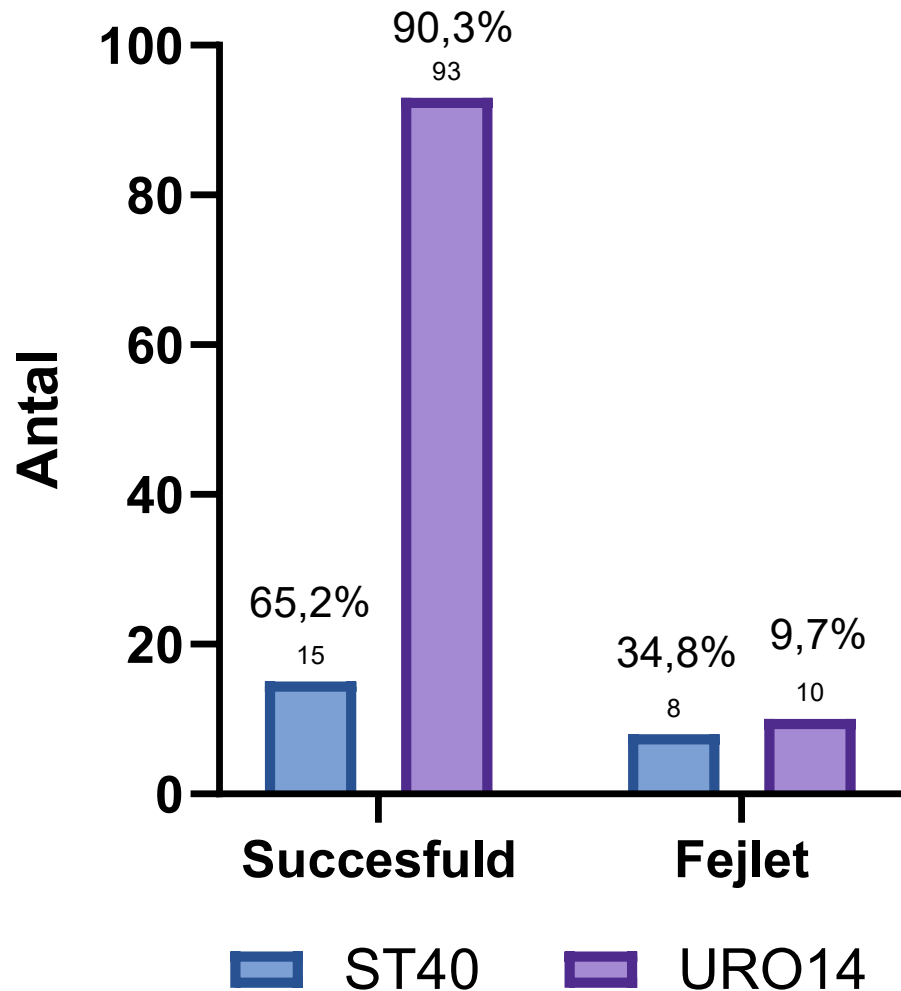
URO14 = 104



Inkluderet prøver



Øget succesrate med URO14

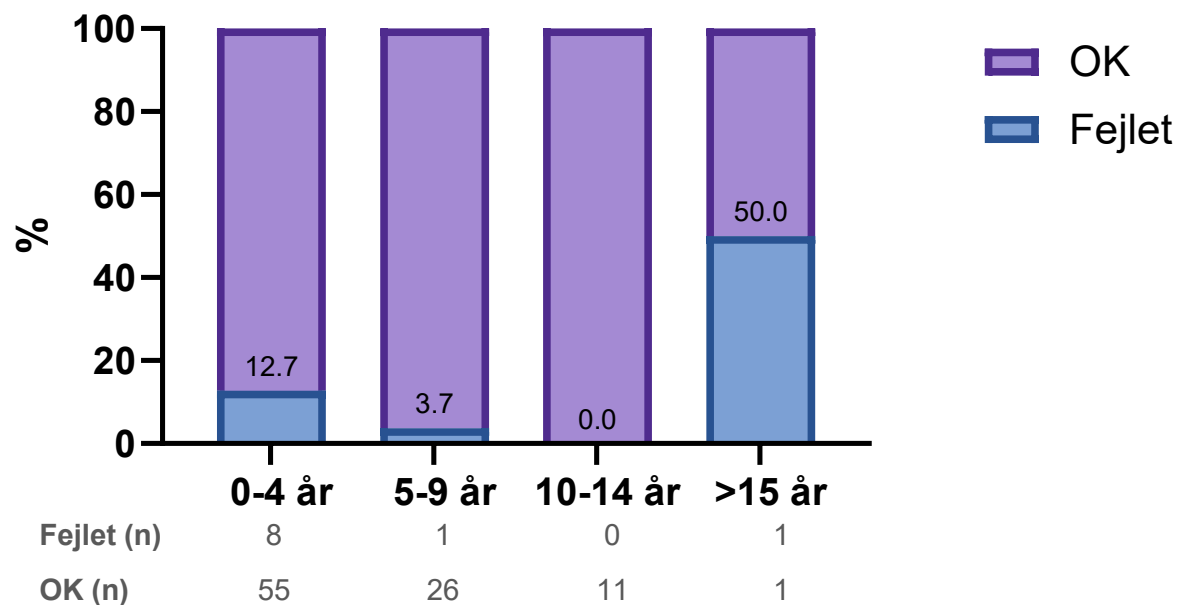


- Der er ikke ændret i de præanalytiske arbejdsgange (udover speedvac af DNA)
- Eneste ændring er selve panelet



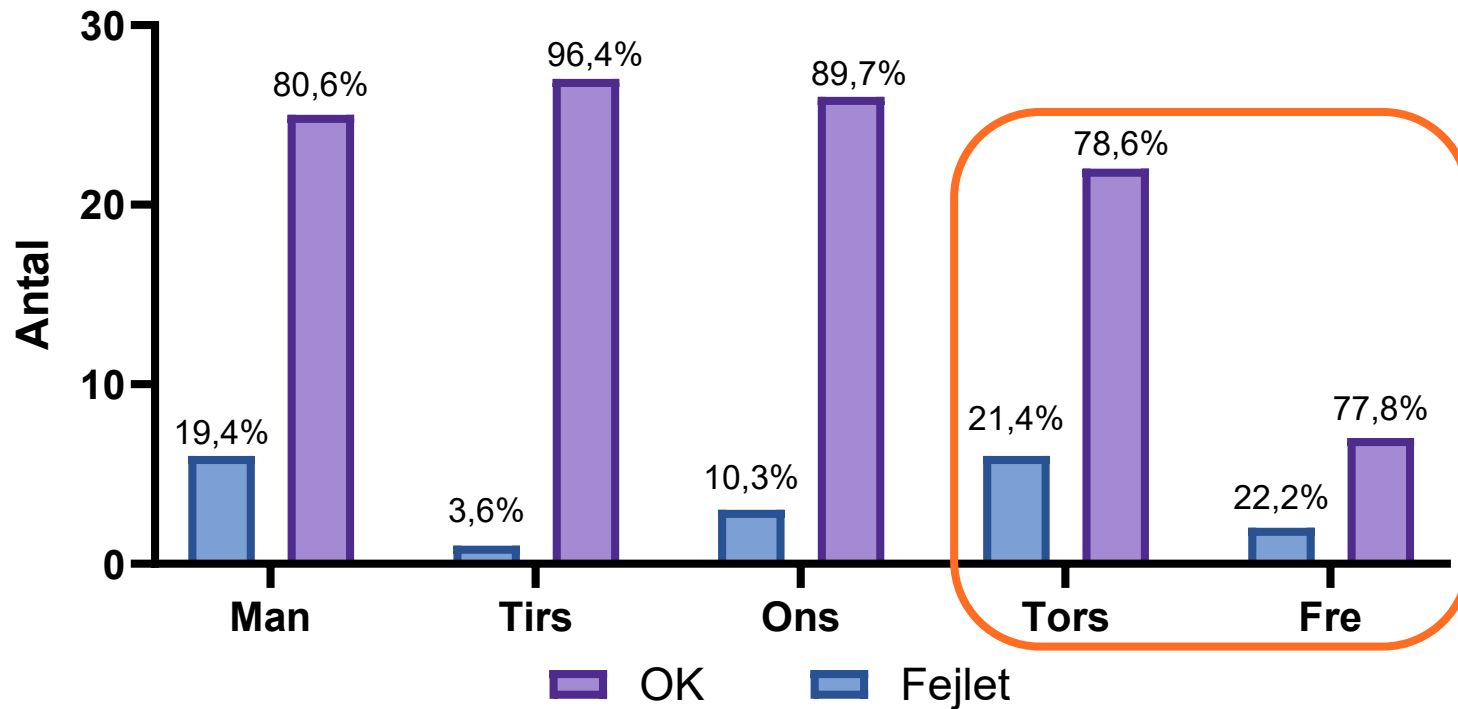
Alder på FFPE-blok og successrate - Kun URO14

- Der ses en overvægt at "yngre" blokke.
- Der ses ikke en tendens til at alder på blokken hænger sammen med succesraten.



Ugedag og succes

Ugedag og succes



	ST40	
	Fejlet	OK
Man	25,0%	75,0%
Tirs	0,0%	100,0%
Ons	16,7%	83,3%
Tors	83,3%	16,7%
Fre	50,0%	50,0%

	URO14	
	Fejlet	OK
Man	18,5%	81,5%
Tirs	4,3%	95,7%
Ons	8,7%	91,3%
Tors	4,5%	95,5%
Fre	14,3%	85,7%

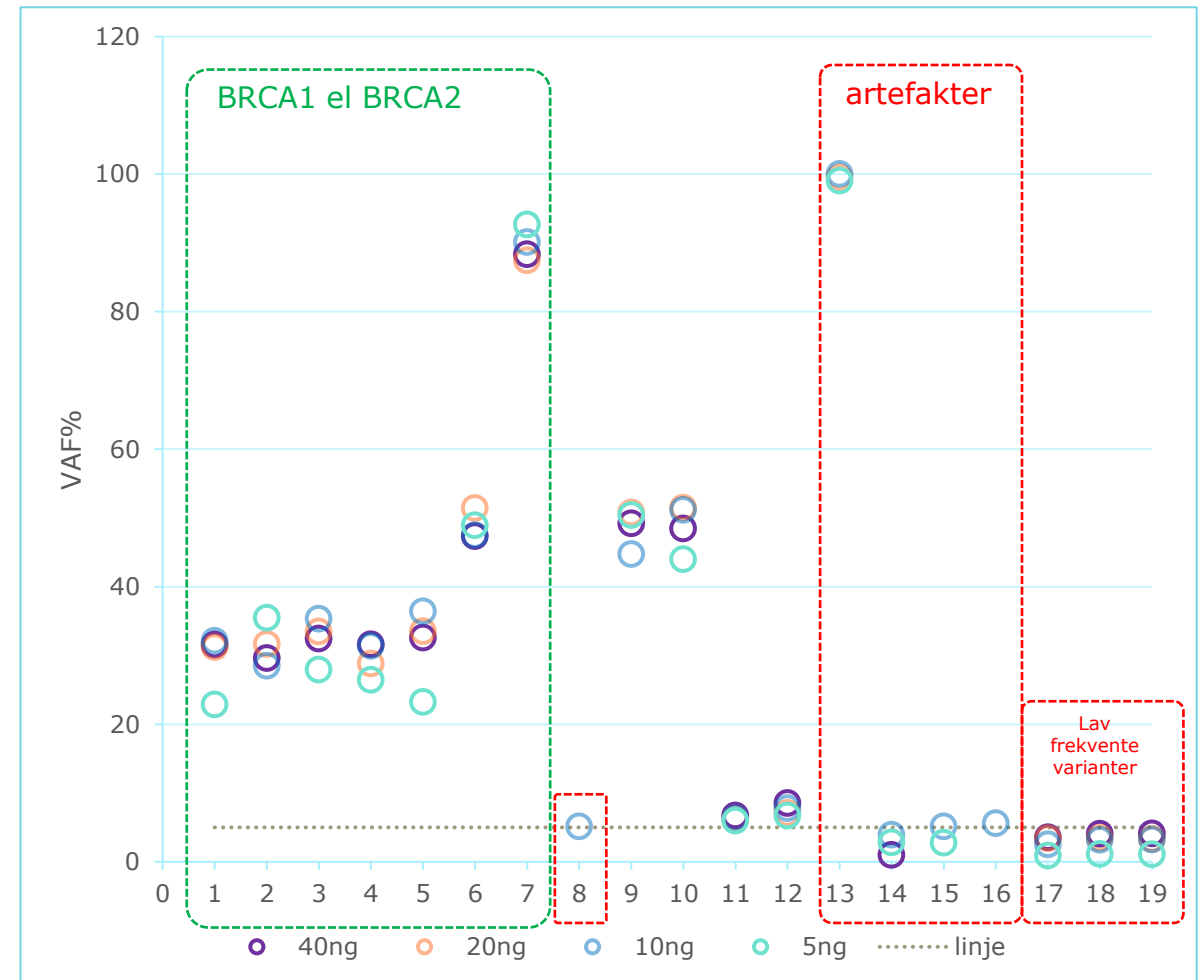


DNA input mængde

- Samme prøve » varierende DNA input (40ng, 20ng, 10ng og 5ng)

	40ng	20ng	10ng	5ng
Average length after trim	119,68	121,88	122,23	121,65
Percentage of target region with coverage \geq threshold	98,35	98,35	96,7	95,6
Percentage of reads mapped in pairs	98,52	98,4	98,29	98,65
Average number of reads per UMI	4,54	6,7	9,39	11,47
Average quality, UMI reads	49,43	49,01	48,49	49,61

- Der ses overvejende ens dækning trods lavere DNA-input.
- Dog introduceres der flere artefakter ved lavere DNA-input.



Hvad kunne vi godt tænke os mere?

Store strukturelle forandring i BRCA-generne

- Dette mangler at blive undersøgt





Stort tak til alle i det Molekylære patologisk team

