

# **Mutazioni dei geni BRCA1-BRCA2: applicazione della DGR 71-8681 del 29.03.2019**

## **Aspetti tecnici e interpretazione del risultato del test genetico**

Aula Igiene – Via Santena 5 - Torino  
AOU Città della Salute e della Scienza

12 Novembre 2019

**Francesca Vignolo Lutati**  
fvignololutati@cittadellasalute.to.it

AOU Città della Salute e della Scienza  
SC Genetica Medica U

# Mutazioni dei geni BRCA1-BRCA2

---

## Obbiettivi:

- Compilazione del **Modulo di richiesta analisi**
- Dare gli strumenti per interpretare un **referto** per analisi dei geni BRCA1-BRCA2 e per mutazione nota
- Metodo analitico
- Valutazione delle varianti a incerto significato (**UV-3**)

# Modulo Richiesta Analisi geni BRCA1-BRCA2

 AZIENDA OSPEDALIERO-UNIVERSITARIA Città della Salute e della Scienza di Torino	<b>RICHIESTA ANALISI GENI BRCA1-BRCA2 SU PRELIEVO DI SANGUE V.P.</b>	MODU.SC.009	Rev. 5
SC Genetica Medica U	MODULO	Data emissione 16.04.2019	Pagina <b>1 di 1</b>

Laboratorio Genetica Molecolare presidio Molinette, via Santena, 19 - 10126 Torino - tel 011-6336771 - fax 011-6335181

Spazio riservato al personale della segreteria

DNA n. \_\_\_\_\_ Cartella clinica n. \_\_\_\_\_

Provette pervenute in N°: \_\_\_\_\_ Contrassegnate: \_\_\_\_\_ Data arrivo campione: \_\_\_\_\_

## **IDENTIFICAZIONE DEL PAZIENTE**

COGNOME \_\_\_\_\_

NOME \_\_\_\_\_

DATA DI NASCITA \_\_\_\_\_

LUOGO DI NASCITA \_\_\_\_\_

Sesso:  Femmina  Maschio

TEL \_\_\_\_\_

E-mail \_\_\_\_\_

## **MEDICO RICHIEDENTE al quale verrà inviato il referto**

COGNOME \_\_\_\_\_

NOME \_\_\_\_\_

OSPEDALE \_\_\_\_\_

SC/SS/Ambulatorio \_\_\_\_\_

Qualifica:  Genetista  Altro specialista

TEL \_\_\_\_\_ FAX \_\_\_\_\_

E-mail \_\_\_\_\_

**Probando**       **Familiare** (numero cartella del probando se già esistente [riportata sul referto] \_\_\_\_\_)

**SI RICHIEDE:**       estrazione DNA + conservazione (**0270**: 91.36.5 x 1 + 91361.0 x 1)

**analisi completa dei geni BRCA1 e BRCA2** (ricerca di mutazione ignota) (**0602**: 91.30.3 x 16)

prelievo da eseguire c/o Centro Prelievi OIRM-Sant'Anna (eseguito il : \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_)

si inviano 2 provette di sangue da 4 ml (EDTA tappo viola – dal lunedì al giovedì)  
prelevate in data \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_ dalla struttura richiedente

**percorso diagnostico:**  tumore ovarico     tumore della mammella     soggetto sano a rischio

**note:** Eventuale urgenza e indicare le motivazioni \_\_\_\_\_

**ricerca di mutazione puntiforme nota in famiglia di BRCA1 o BRCA2** (**0628**: 91.30.3 x 1 + 91.38.6 x 1)

specificare gene, esone e mutazione nel box (il test comprende la conferma del risultato su seconda estrazione di DNA):

nel caso si tratti di una **delezione/duplicazione** nota in famiglia da ricercare con metodica MLPA annullare il codice 0628 e richiedere il **profilo 0110** (91.30.2 x 2) + **profilo 0125** (91.30.2 x 2) per la conferma del risultato su seconda estrazione.

prelievo da eseguire c/o Centro Prelievi OIRM-Sant'Anna (eseguito il : \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_)

si inviano 2 provette di sangue da 4 ml (EDTA tappo viola – dal lunedì al giovedì)  
prelevate in data \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_ dalla struttura richiedente

**Documenti in allegato:**

- impegnativa/DEMA del Medico richiedente coerente con il tipo di analisi richiesta
- richiesta tracciato C5 coerente con il tipo di analisi richiesta
- questionario per la raccolta della familiarità oncologica (obbligatorio per i probandi)
- esame istologico / relazione clinica (obbligatorio per i soggetti malati)
- referto analisi genetica del parente nel quale è stata identificata la mutazione (obbligatorio per i familiari)

Firma e timbro del

Medico Richiedente: \_\_\_\_\_

→ **consenso informato**  allegato

archiviato dal Medico Richiedente

Data della richiesta: \_\_\_\_\_

**Si prega il medico richiedente di compilare in stampatello leggibile**

Segnalare  
QUI eventuali  
URGENZE

# Referto Analisi geni BRCA1-BRCA2

Tipo campione: Sangue

Codice Campione: GM192226

N° provette: 2

Cartella:

Indicazione:

Medico richiedente:

## Analisi per la ricerca di mutazioni dei geni BRCA1 e BRCA2 (Tumore ereditario della mammella e dell'ovaio - AD, OMIM #604370 e #612555)

Metodo  
analitico e  
qualità

Ricerca di mutazioni puntiformi dei geni BRCA1 e BRCA2	esame eseguito con sequenziamento di nuova generazione (NGS) applicato all'analisi della regione codificante dei geni BRCA1 e BRCA2 + un minimo di 10 basi introniche fiancheggianti gli esoni (BRCA1: 20 bp al 5' e 10 bp al 3' - BRCA2: 14 bp al 5' e 10 bp al 3'). Library amplicon-based ottenuta con kit CE-IVD Devyser BRCA, allineamento delle sequenze e chiamata delle varianti eseguita con software Amplicon Suite (SmartSeq srl).
Ricerca di delezioni/duplicazioni	analisi statistica delle reads corrispondenti a ciascun amplicone sequenziato eseguita con software Amplicon Suite (SmartSeq srl)
<b>Qualità del sequenziamento di nuova generazione</b>	
percentuale di basi con almeno 20 reads:	100% (copertura minima e massima della regioni target: 358 e 5939 reads)

### Risultato

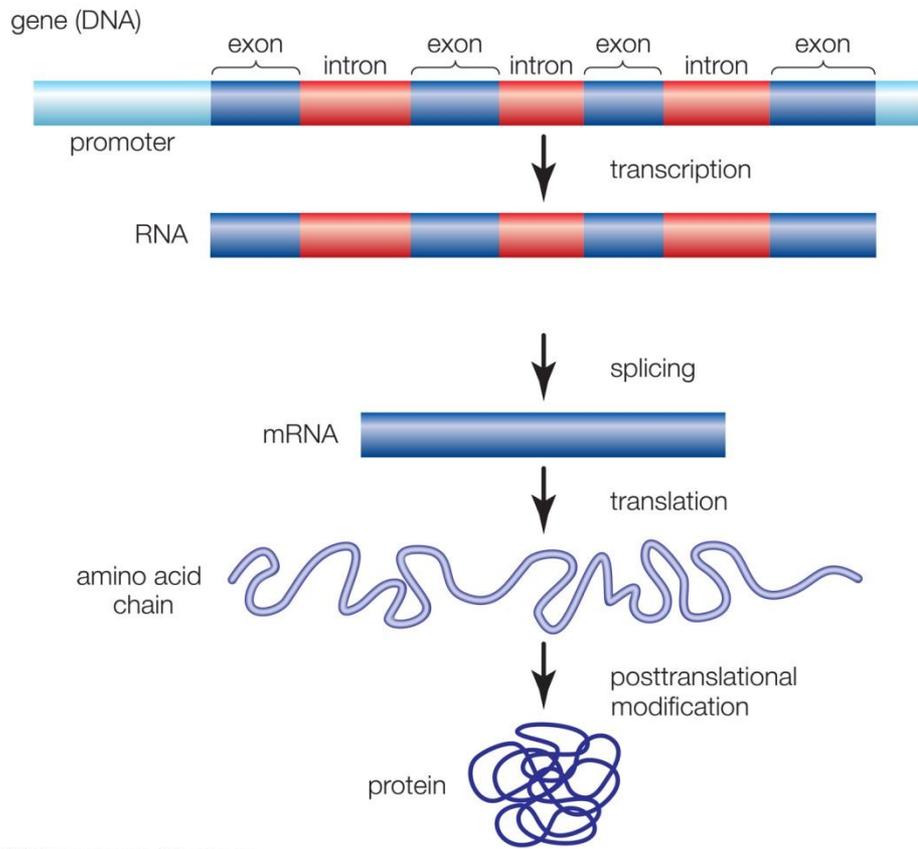
**Nessuna mutazione identificata.**

### Conclusioni

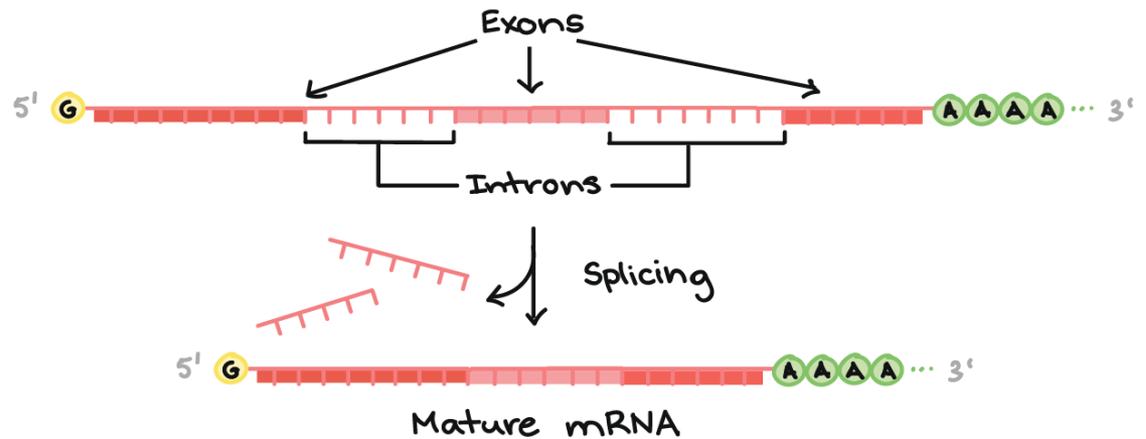
L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra non ha permesso di identificare alcuna mutazione puntiforme né delezione/duplicazione dei geni BRCA1 e BRCA2.

Il test eseguito non consente tuttavia di identificare varianti non rilevabili con metodiche di sequenziamento (traslocazioni, inversioni) o in regioni non analizzate (mutazioni introniche profonde, dei promotori o delle regioni trascritte ma non tradotte): ove necessario, il laboratorio si riserva di eseguire ulteriori approfondimenti e di comunicarne l'eventuale risultato se rilevante.

Per una più completa valutazione del caso si rimanda al Medico richiedente



Analisi della regione codificante (gli esoni) + un minimo di 10 basi introniche fiancheggianti gli esoni



# tumore eredo-familiare mammella-ovaio

## Geni alto rischio BRCA1 – BRCA2

---

### Kit BRCA Devyser (CE-IVD): Geni BRCA1- BRCA2

- Analizziamo 32 campioni per volta (library + corsa MiSeq)
- Analisi contemporanea delle varianti puntiformi e delle CNV (No MLPA) tramite il *software* di analisi NGS AmpliconSuite
- Conferma di eventuali varianti su seconda estrazione di DNA tramite sequenziamento Sanger o MLPA
- Il tempo di esecuzione dall'arrivo del campione di sangue alla refertazione è di 2 mesi

# Test genetico - NGS

## Preparazione di una libreria ad ampliconi

Figure 1. Multiplex target amplification

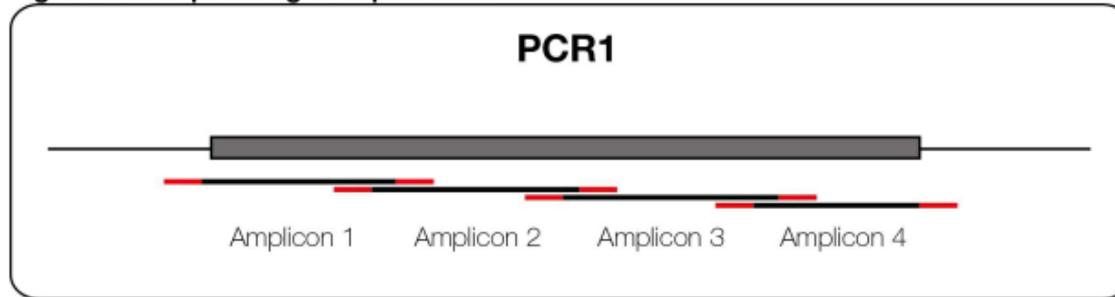
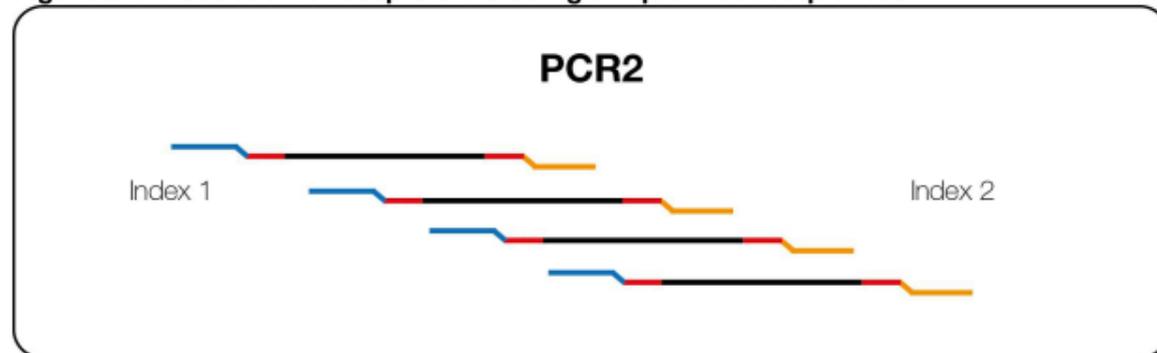


Figure 2. Introduction of adapters including unique index sequences

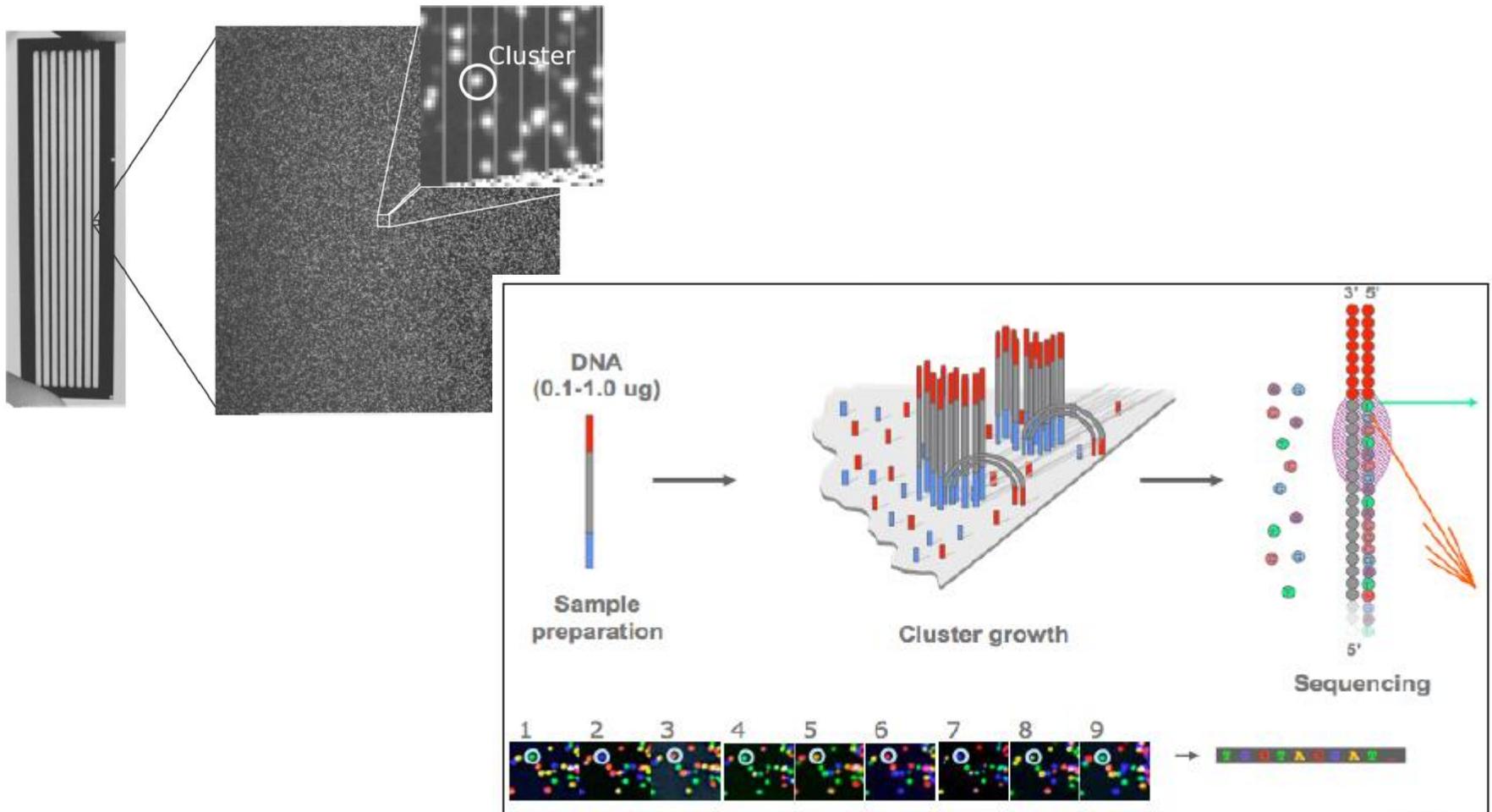


Pool delle librerie, purifica e carica sul MiSeq

# Sequencing by Synthesis: *MiSeq Illumina*



# Sequencing by Synthesis: *MiSeq Illumina*



# Data Analysis: *AmpliconSuite*

The screenshot displays the Amplicon Suite web interface. At the top, there are navigation buttons for 'Projects', 'New Project', 'Uploads', 'About', and 'Help'. The current user is identified as 'D18043'. The main content area shows details for sample 'EMQN3\_S19' under the project '2019\_10\_11\_B'. The sample details include: Kit (Devyser\_BRCA), Sample type (Germline), Number of samples (16), Status (Analyzed), Sequencing mode (N/A), Date (2019-10-14 22:33), Reference Genome (hg19), and Pipeline Version (Devyser\_BRCA\_v1.1.0). A list of samples with 'Open' buttons is visible on the right. Below the details, there are tabs for 'Coverage table', 'Coverage chart', and 'Project files'. The 'Coverage table' tab is active, showing a table with columns for amplicons and various samples, and rows for BRCA1 amplicons and their coverage values.

**Dato qualitativo della corsa:  
Coverage di tutti gli ampliconi  
dei geni BRCA1 e BRCA2**

Amplicon	EMQN1_S17	EMQN2_S18	EMQN3_S19	GM194236_S20	GM194273_S21	GM194275_S22	GM194291_S23	GM194294_S24	GM194300_S25	GM194302_S26	GM194322_S27	GM194323_S28
BRCA1_E02-1	552	400	603	625	530	478	511	442	462	681	593	530
BRCA1_E02-2	361	344	484	579	574	579	559	541	553	609	516	555
BRCA1_E03-1	629	615	616	547	507	507	525	470	445	582	540	492
BRCA1_E03-2	945	973	979	879	856	868	746	828	711	897	792	882
BRCA1_E05-1	1860	1795	1731	1467	1479	1389	1300	1364	1265	1684	1524	1465
BRCA1_E05-2	1023	925	963	800	862	829	821	590	718	887	862	708
BRCA1_E06-1	874	806	852	665	688	604	656	631	576	656	651	654
BRCA1_E06-2	782	796	829	684	722	641	695	662	635	672	709	665
BRCA1_E07-1	1408	1427	1459	1350	1428	1549	1349	1376	1346	1565	1237	1412
BRCA1_E07-2	464	423	432	303	366	307	351	280	310	326	337	356
BRCA1_E08-1	1679	1615	1888	1485	1634	1360	1519	1376	1366	1637	1487	1532
BRCA1_E08-2	470	419	416	349	345	357	329	325	281	361	349	394
BRCA1_E09-1	411	357	346	326	333	302	323	352	300	340	380	332
BRCA1_E09-2	548	662	607	468	603	572	590	536	588	530	529	613
BRCA1_E10-1	615	677	632	594	532	534	484	539	538	558	562	532
BRCA1_E10-2	1533	1884	1719	1630	1635	1603	1559	1510	1553	1716	1692	1504
BRCA1_F12_11-01	708	800	744	675	828	668	796	723	731	741	683	697

EMQN3\_S19

Status: analyzed

Warnings: none

# Chiamata delle varianti

Filters

Download

Filters

Genes to show:  Select all

Select genes

Variants:

Hide low quality

Hide variants called less than: 10 reads



Hide VAF below 20.0 %



Restrict to "in target" variants

Hide class 1, 2 variants

Show always class 4,5 variants

Gene	Class	Qual	Report	Type	Transcript	c.DNA	Protein	#Samples	VAF%	dbSNP
BRCA2	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_5UTR	NM_000059	c.-26G>A	-	308	47.81	rs1799943,
BRCA2	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_000059	c.3396A>G	p.Lys1132=	362	48.89	rs1801406,
BRCA2	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_000059	c.3807T>C	p.Val1269=	278	51.73	rs543304,
BRCA2	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_000059	c.4563A>G	p.Leu1521=	709	99.52	rs206075,
BRCA2	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_000059	c.6513G>C	p.Val2171=	709	99.48	rs206076,
BRCA2	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_000059	c.7242A>G	p.Ser2414=	270	48.86	rs1799955,
BRCA2	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_000059	c.7397T>C	p.Ala2466=	709	99.5	rs169547,
BRCA2	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_INTRON	NM_000059	c.7806-14T>C	-	497	51.84	rs9534262,
BRCA1	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_007294	c.4837A>G	p.Ser1613Gly	377	49.51	rs1799966,
BRCA1	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_007294	c.4308T>C	p.Ser1436=	376	48.86	rs1060915,
BRCA1	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_007294	c.3548A>G	p.Lys1183Arg	374	49.07	rs16942,
BRCA1	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_007294	c.3113A>G	p.Glu1038Gly	375	48.04	rs16941,
BRCA1	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_007294	c.2612C>T	p.Pro871Leu	390	51.71	*_rs397508,
BRCA1	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_007294	c.2311T>C	p.Leu771=	373	47.91	rs16940,
BRCA1	1	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_CDS	NM_007294	c.2082C>T	p.Ser694=	374	49.87	rs1799949,
BRCA1	5	H	<input checked="" type="checkbox"/>	s_INTRON	NM_007294	c.213-11T>G	-	1	49.86	rs80358061

Variant Summary

chr17:41256984:A:C

high/low qual: 1/2

Variant distribution

IGV Browser

1000g Browser

Read count	Forward	Reverse	Total
NT depth	1718	871	2589
Variant	856	435	1291
Mean quality	37	38	37
Homopolymer Length:	0		

Class: 5

Confirm as true low quality variant:

FVL - 06.11.2019

dbSNPs rs80358061,

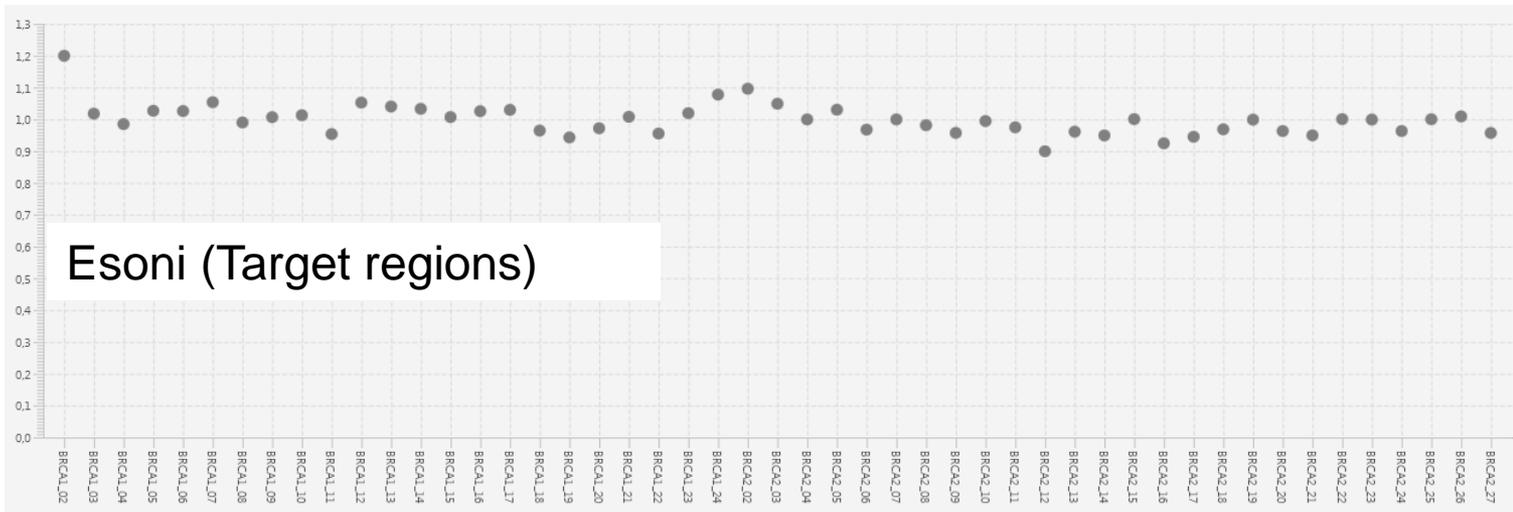
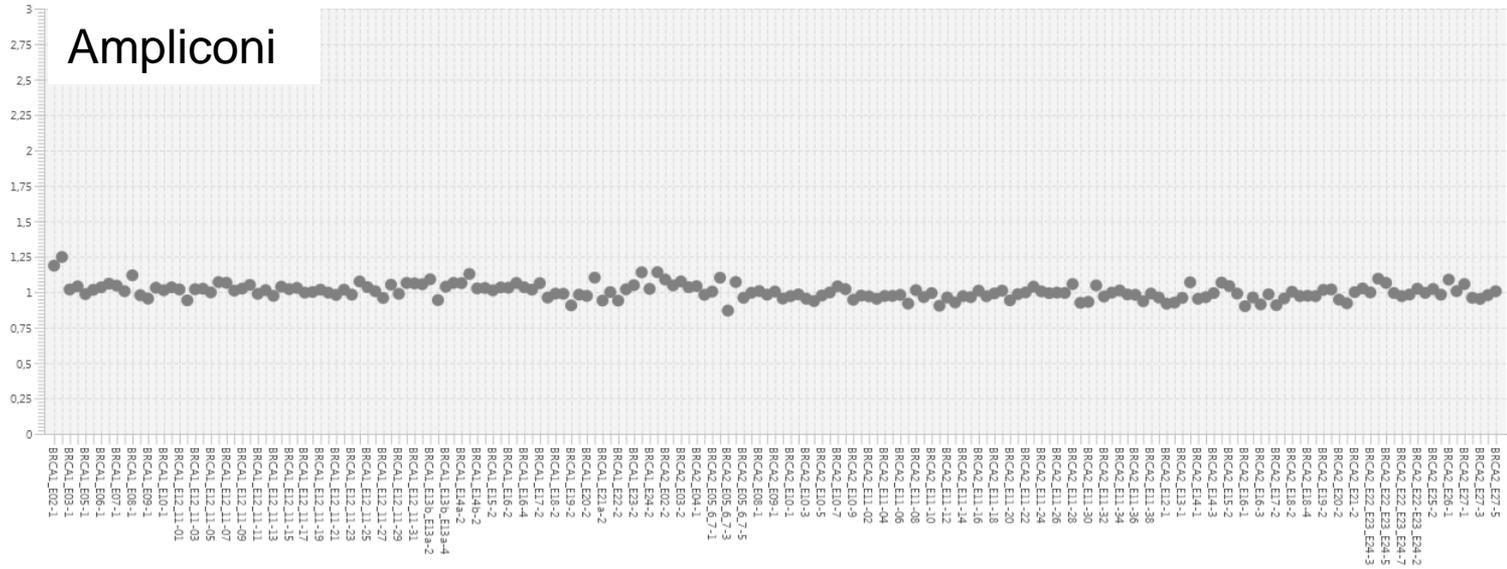
MAF dbSNPs < 5%

Functional predictors and databases:

dbSNP rs80358061  
ClinVar Pathogenic

# Analisi statistica delle CNV (Copy number variants)

Sample noise: average noise in amplicon coverage



# Referto Analisi geni BRCA1-BRCA2

Tipo campione: Sangue

Codice Campione: GM192226

N° provette: 2

Cartella:

Indicazione:

Medico richiedente:

## Analisi per la ricerca di mutazioni dei geni BRCA1 e BRCA2 (Tumore ereditario della mammella e dell'ovaio - AD, OMIM #604370 e #612555)

Ricerca di mutazioni puntiformi dei geni BRCA1 e BRCA2

esame eseguito con sequenziamento di nuova generazione (NGS) applicato all'analisi della regione codificante dei geni BRCA1 e BRCA2 + un minimo di 10 basi introniche fiancheggianti gli esoni (BRCA1: 20 bp al 5' e 10 bp al 3' - BRCA2: 14 bp al 5' e 10 bp al 3'). Library amplicon-based ottenuta con kit CE-IVD Devyser BRCA, allineamento delle sequenze e chiamata delle varianti eseguita con software Amplicon Suite (SmartSeq srl).

Ricerca di delezioni/duplicazioni

analisi statistica delle reads corrispondenti a ciascun amplicone sequenziato eseguita con software Amplicon Suite (SmartSeq srl)

Qualità del sequenziamento di nuova generazione

percentuale di basi con almeno 20 reads: 100% (copertura minima e massima della regioni target: 358 e 5939 reads)

### → Risultato

**Nessuna mutazione identificata.**

### → Conclusioni

L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra non ha permesso di identificare alcuna mutazione puntiforme ne' delezione/duplicazione dei geni BRCA1 e BRCA2.

Il test eseguito non consente tuttavia di identificare varianti non rilevabili con metodiche di sequenziamento (traslocazioni, inversioni) o in regioni non analizzate (mutazioni introniche profonde, dei promotori o delle regioni trascritte ma non tradotte): ove necessario, il laboratorio si riserva di eseguire ulteriori approfondimenti e di comunicarne l'eventuale risultato se rilevante.

Per una piu' completa valutazione del caso si rimanda al Medico richiedente

Limiti  
Cosa non  
vediamo

# Kit Devyser BRCA - Limiti

## *Human Cancer Biology*

*See commentary by Fackenthal et al., p. 4865*

### **BRCA2 Deep Intronic Mutation Causing Activation of a Cryptic Exon: Opening toward a New Preventive Therapeutic Strategy**

Olga Anczuków<sup>1</sup>, Monique Buisson<sup>1</sup>, Mélanie Léoné<sup>2</sup>, Christine Coutanson<sup>2</sup>, Christine Lasset<sup>3</sup>, Alain Calender<sup>2</sup>, Olga M. Sinilnikova<sup>1,2</sup>, and Sylvie Mazoyer<sup>1</sup>

BRCA2 IVS12+594T>G  
1400 casi analizzati  
negativi (pannello  
multigene HaloPlex in  
uso fino al 2018)

### **Identification of pathogenic retrotransposon insertions in cancer predisposition genes**

Yaping Qian<sup>1</sup>, Debora Mancini-DiNardo<sup>1</sup>, Thaddeus Judkins, Hannah C. Cox, Krystal Brown, Maria Elias, Nanda Singh, Courtney Daniels, Jayson Holladay, Bradford Coffee, Karla R. Bowles, Benjamin B. Roa<sup>\*</sup>

*Myriad Genetic Laboratories, Inc., 320 Wakara Way, Salt Lake City, UT 84108, USA*

## A Dominantly Inherited 5' UTR Variant Causing Methylation-Associated Silencing of *BRCA1* as a Cause of Breast and Ovarian Cancer

D.Gareth R. Evans,<sup>1,2,3,4,8,\*</sup> Elke M. van Veen,<sup>1,5,8</sup> Helen J. Byers,<sup>1,5</sup> Andrew J. Wallace,<sup>5</sup> Jamie M. Ellingford,<sup>1,5</sup> Glenda Beaman,<sup>1,5</sup> Javier Santoyo-Lopez,<sup>6</sup> Timothy J. Aitman,<sup>6</sup> Diana M. Eccles,<sup>7</sup> Fiona I. Lalloo,<sup>5</sup> Miriam J. Smith,<sup>1,5,8</sup> and William G. Newman<sup>1,4,5,8,\*</sup>

Received: 16 April 2018 | Revised: 1 September 2018 | Accepted: 7 September 2018

DOI: 10.1002/humu.23652

**RESEARCH ARTICLE**

WILEY  HUMAN GENOME VARIATION SOCIETY

***BRCA1* and *BRCA2* 5' noncoding region variants identified in breast cancer patients alter promoter activity and protein binding**

Leslie J. Burke<sup>1\*</sup>  | Jan Sevcik<sup>1,2\*</sup> | Gaetana Gambino<sup>1,3\*</sup> | Emma Tadini<sup>1,4</sup> |

# Referto Analisi geni BRCA1-BRCA2

Codifica BIC

## Risultato

Codifica

Presenza di mutazione in eterozigosi del gene BRCA2: c.3773\_3774delTT - p.(Phe1182\*).

## Conclusioni

Commento

L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra ha dimostrato la presenza della mutazione in eterozigosi dell'**esone 11 del gene BRCA2: c.3773\_3774delTT - p.(Phe1182\*)** (delezione dei due nucleotidi Timina in posizione 3773 e 3774 con cambiamento del codone 1182 codificante un residuo di Fenilalanina in segnale prematuro di stop - variante di classe 5 il cui effetto biologico previsto e' la sintesi di una proteina tronca e verosimilmente non funzionante o la degradazione dell'RNA messaggero - codifica HGVS c.3545\_3546delTT).

Codifica HGVS

Per il soggetto analizzato e' quindi indicato un adeguato programma di sorveglianza clinica e di prevenzione primaria. Data l'età del soggetto e dell'ovaio causale, è necessario un follow-up regolare e di ricorrenza t... genetico.

Il test eseguito non...  
inversioni) o in r...  
tradotte): ove ne...  
risultato se rilevar...

Il presente referto

## Validato da

Francesca Vignolo Lutati

(Data Validazione: 13/06/2019 )

Codifica varianti come da "Breast Cancer Information Core" e secondo Den Dunnen et al. Hum.Mutal. 2016;37:564-569 (<http://varnomen.hgvs.org/>).  
Sequenze di riferimento NM\_007294.3 (BRCA1) e NM\_000059 (BRCA2).

Per la codifica cDNA:

Codifica BIC: codifica storica

Codifica HGVS: codifica internazionale, dall'ATG

Conversione:

BRCA1: BIC = HGVS + 119

BRCA2: BIC = HGVS + 228

# interpretazione varianti

## terminologia

---

**mutazione:** cambiamento permanente della sequenza nucleotidica (causa di malattia)

**polimorfismo:** cambiamento della sequenza nucleotidica con  $f > 1\%$

**variante:**

- classe 1: **benigna**
- classe 2: **verosimilmente benigna**
- classe 3: **effetto biologico incerto (da rivalutare nel tempo)**
- classe 4: **verosimilmente patogenetica**
- classe 5: **patogenetica**

**Linee Guida ACMG 2015**

**Table 1: IARC 5-tiered classification system with accompanying recommendations for family management<sup>a</sup>**

Class	Quantitative Measure: <b>Probability of Pathogenicity</b>	Predictive Testing of At-Risk Relatives	Surveillance for At-Risk Relatives	Research Testing of Relatives
<b>5: Pathogenic</b>	<b>&gt;0.99</b>	Yes	Full high-risk guidelines for variant carriers	Not indicated
<b>4: Likely pathogenic</b>	<b>0.95-0.99</b>	Yes <sup>b</sup>	Full high-risk guidelines for variant carriers	Yes
<b>3: Uncertain</b>	<b>0.05-0.949</b>	No <sup>b</sup>	Based on family history & other risk factors	Yes
<b>2: Likely not pathogenic or of little clinical significance</b>	<b>0.001-0.049</b>	No <sup>b</sup>	Based on family history & other risk factors - treat as "no BRCA1/2 pathogenic variant detected" for this disorder	Yes
<b>1: Not pathogenic or of no clinical significance</b>	<b>&lt;0.001</b>	No <sup>b</sup>	Based on family history & other risk factors - treat as "no BRCA1/2 pathogenic variant detected" for this disorder	Not indicated

Probabilità che sia patologica ≥ 95%

**Larga classe**

Probabilità che sia neutrale > 95%

<sup>a</sup>Adapted for clarity from original tabular presentation published ([Plon et al., 2008](#))

<sup>b</sup>Recommend continued testing of proband for any additional available testing modalities available for *BRCA1/2* e.g. rearrangements.

# Tipologia di varianti:

- Varianti puntiformi

1. varianti **MISSENSO** (cambio di amminoacido)

Esempio: BRCA1 c.5242C>A; p.Ala1708Glu (A1708E)

2. varianti **NON SENSO** (codone aa -> Codone di STOP: TAA - TAG -TGA)

Esempio: BRCA1 c.5370C>T; p.Arg1751\* (R1751\*)

3. difetti di **SPLICING** ( $\pm 1$  e  $\pm 2$ )

Esempio: BRCA2 IVS19+1G>A

4. piccole inserzioni o delezioni (**FRAMESHIFT**)

Esempi:

BRCA1 c.900dupT; p.(Tyr261Leufs\*4)

BRCA1 c.3445\_3448del4bp p.(Lys1109Serfs\*7)

BRCA2 c.10178\_10184delinsCA - p.(Leu3317Profs\*8)

- Delezioni/Duplicazioni di esoni

# Referto Analisi geni BRCA1-BRCA2

## → Risultato

**Presenza di delezione in eterozigosi degli esoni 18 e 19 del gene BRCA1.**

## → Conclusioni

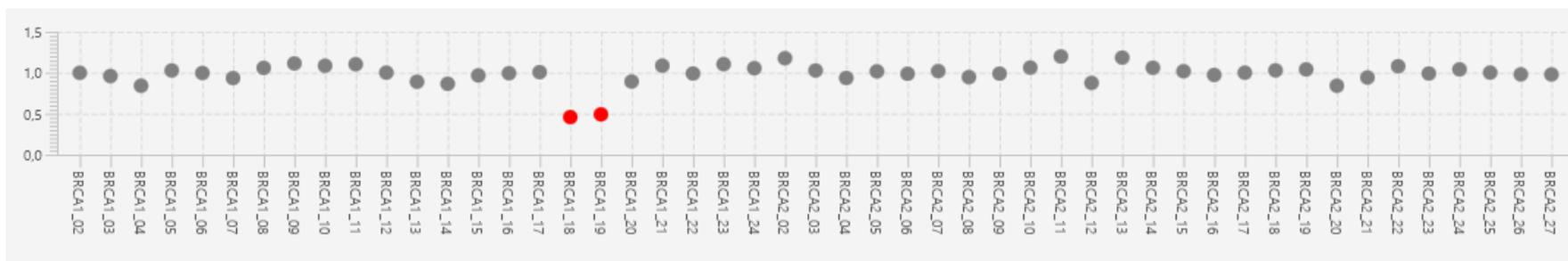
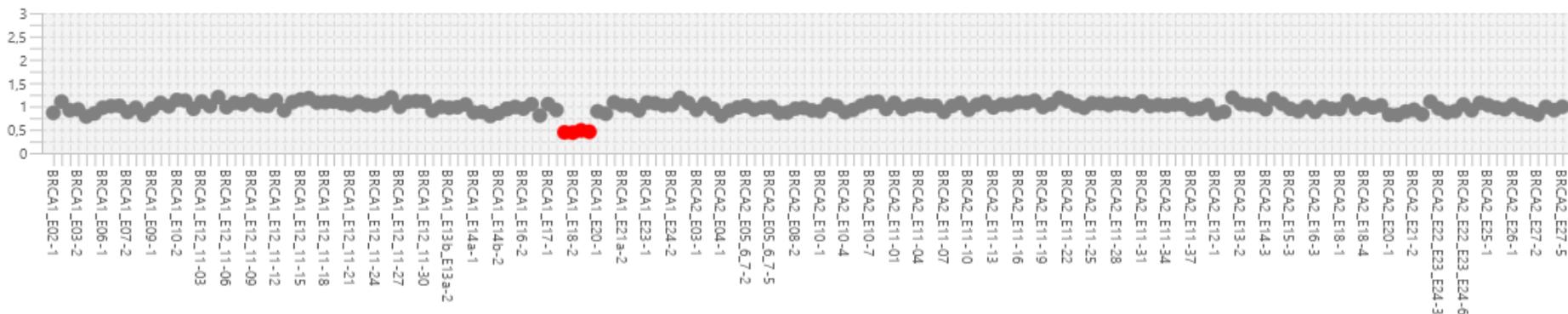
L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra ha dimostrato la presenza della **delezione** in eterozigosi degli **esoni 18 e 19 del gene BRCA1**, nota dalla letteratura (*Montagna M et al, Hum Mol Genet 2003, 12:1055-1061*, delezione *out-of-frame* con slittamento del codice di lettura dal codone 1692 e creazione di un segnale prematuro di stop al codone 1693 - variante di classe 5 il cui effetto biologico previsto e' la sintesi di una proteina tronca e verosimilmente non funzionante o la degradazione dell'RNA messaggero - **codifica HGVS c.5075\_5193del - p.(Asp1692Alafs\*2)**

Per il soggetto analizzato e' quindi indicato un adeguato programma di sorveglianza clinica e di prevenzione primaria. Data la natura autosomica dominante della predisposizione allo sviluppo dei tumori della mammella e dell'ovaio causata dalle mutazioni dei geni BRCA1/2, sussiste un rischio del 50% di trasmissione alla prole e di ricorrenza tra i parenti di primo grado: per i parenti adulti a rischio sono quindi indicati consulenza e test genetico.

Il test eseguito non consente tuttavia di identificare varianti non rilevabili con metodiche di sequenziamento (traslocazioni, inversioni) o in regioni non analizzate (mutazioni introniche profonde, dei promotori o delle regioni trascritte ma non tradotte): ove necessario, il laboratorio si riserva di eseguire ulteriori approfondimenti e di comunicarne l'eventuale risultato se rilevante.

Il presente referto non puo' essere copiato o riprodotto se non nella sua interezza.

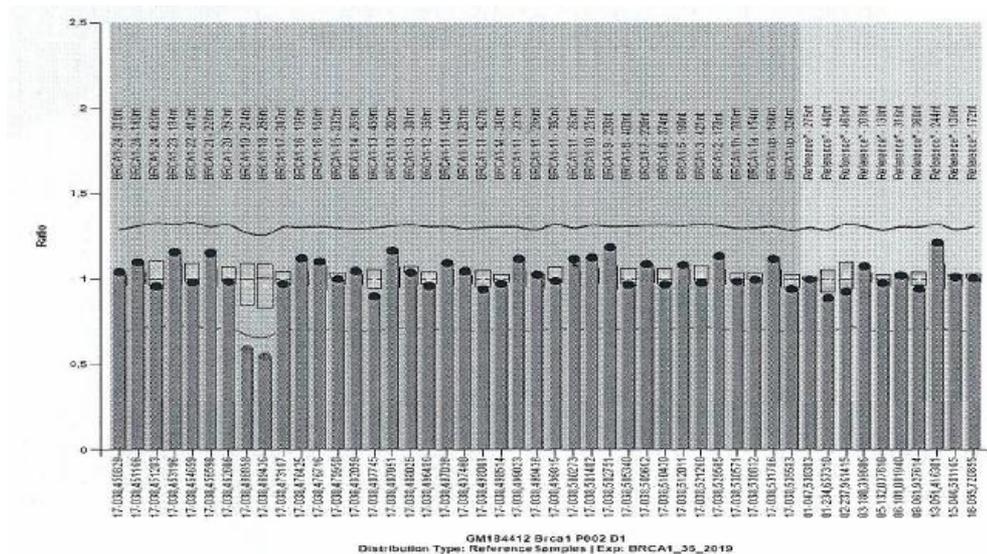
# NGS: analisi statistica delle reads per l'identificazione di CNVs



Amplicon	Allele count
BRCA1_E18-1	1
BRCA1_E18-2	1
BRCA1_E19-1	1
BRCA1_E19-2	1

Target region	Allele count
BRCA1_18	1
BRCA1_19	1

# conferma del risultato su seconda estrazione di DNA con metodica MLPA



D [nt] Gene-exon crom. h18 loc. height area **ratio**

412	BRCA1-22	17q21.31	17-038,454659	1673	14737	0,98
226	BRCA1-21	17q21.31	17-038,456598	2607	16472	1,15
393	BRCA1-20	17q21.31	17-038,462606	2235	19970	0,98
214	BRCA1-19	17q21.31	17-038,468858	1233	7422	<b>0,59</b>
256	BRCA1-18	17q21.31	17-038,469436	1285	8148	<b>0,55</b>
347	BRCA1-17	17q21.31	17-038,473167	2256	17738	0,97
196	BRCA1-16	17q21.31	17-038,476425	2370	14637	1,12
160	BRCA1-16	17q21.31	17-038,476716	2040	12541	1,1

**delez. esoni 18-19**



# Referto Analisi geni BRCA1-BRCA2

## Risultato

**Nessuna mutazione identificata.**

## Conclusioni

L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra non ha permesso di identificare alcuna mutazione puntiforme né delezione/duplicazione dei geni BRCA1 e BRCA2.

Nell'**esone 11 del gene BRCA2** è presente la variante missenso in eterozigosi **c.6064T>C (p.Ser1946Pro)** (HGVS: c.5836T>C; rs80358811). Si tratta di una variante rara (8 soggetti eterozigoti su 141.152 individui in gnomAD - 8/133.896 non-cancer) riportata nel *database* UMD come variante di significato incerto, mentre in ClinVar è riportata anche come verosimilmente benigna. La sostituzione amminoacidica p.Ser1946Pro tra un residuo polare non carico e uno idrofobico è semi-conservativa (*Grantham Distance*= 74, BLOSUM62= -1) e interessa un residuo non conservato (è presente la Prolina nelle sequenze di molti orologi): i modelli di valutazione di tipo evolutivo ed integrato sono tutti concordi nell'attribuire un giudizio di neutralità (tollerata per SIFT, Provean, PolyPhen2, MutationTaster, A-GVGD (C0), MutAssessor, GERP, LRT, DANN, FATHMM, FATHMM-MKL). Inoltre nel *database* BIC è riportata in un caso con una mutazione patogenetica del gene BRCA1 e nella casistica di *Azzollini J et al., 2016* co-occorre con una mutazione patogenetica in BRCA1/2 supportando il giudizio di neutralità. In letteratura è stata riportata in un caso con patologia mammaria benigna (*Suter NM, 2004*), in due sorelle con tumore dell'ovaio, ma anche in due sorelle sane della stessa famiglia (*Chao A, 2016*) e nello studio di *Kwong A et al, 2016* è stata riportata nella popolazione di controlli sani. Infine la sostituzione nucleotidica c.6064T>C non sembra attivare siti critici di *splicing* secondo 5 modelli informatici di simulazione dello *splicing*. Allo stato attuale delle conoscenze, la variante ha effetto biologico sconosciuto pur in assenza di elementi a favore di un potenziale effetto patogenetico (Variante di classe 3 senza evidenze di patogenicità).

# linee guida di riferimento per l'interpretazione di varianti genetiche

© American College of Medical Genetics and Genomics

ACMG STANDARDS AND GUIDELINES

Genetics  
in Medicine

## Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology

Sue Richards, PhD<sup>1</sup>, Nazneen Aziz, PhD<sup>2,16</sup>, Sherri Bale, PhD<sup>3</sup>, David Bick, MD<sup>4</sup>, Soma Das, PhD<sup>5</sup>, Julie Gastier-Foster, PhD<sup>6,7,8</sup>, Wayne W. Grody, MD, PhD<sup>9,10,11</sup>, Madhuri Hegde, PhD<sup>12</sup>, Elaine Lyon, PhD<sup>13</sup>, Elaine Spector, PhD<sup>14</sup>, Karl Voelkerding, MD<sup>13</sup> and Heidi L. Rehm, PhD<sup>15</sup>; on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee

The American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) previously developed guidance for the interpretation of sequence variants.<sup>1</sup> In the past decade, sequencing technology has evolved rapidly with the advent of high-throughput next-generation sequencing. By adopting and leveraging next-generation sequencing, clinical laboratories are now performing an ever-increasing catalogue of genetic testing spanning genotyping, single genes, gene panels, exomes, genomes, transcriptomes, and epigenetic assays for genetic disorders. By virtue of increased complexity, this shift in genetic testing has been accompanied by new challenges in sequence interpretation. In this context the ACMG convened a workgroup in 2013 comprising representatives from the ACMG, the Association for Molecular Pathology (AMP), and the College of American Pathologists to revisit and revise the standards and guidelines for the interpretation of sequence variants. The group consisted of clinical laboratory directors and clinicians. This report represents expert opinion of the workgroup with input from ACMG, AMP, and College of American Pathologists stakeholders. These recommendations primarily apply to the breadth of genetic tests used in clinical laboratories, including genotyping, single genes, panels,

exomes, and genomes. This report recommends the use of specific standard terminology—"pathogenic," "likely pathogenic," "uncertain significance," "likely benign," and "benign"—to describe variants identified in genes that cause Mendelian disorders. Moreover, this recommendation describes a process for classifying variants into these five categories based on criteria using typical types of variant evidence (e.g., population data, computational data, functional data, segregation data). Because of the increased complexity of analysis and interpretation of clinical genetic testing described in this report, the ACMG strongly recommends that clinical molecular genetic testing should be performed in a Clinical Laboratory Improvement Amendments–approved laboratory, with results interpreted by a board-certified clinical molecular geneticist or molecular genetic pathologist or the equivalent.

*Genet Med* advance online publication 5 March 2015

**Key Words:** ACMG laboratory guideline; clinical genetic testing; interpretation; reporting; sequence variant terminology; variant reporting

# interpretazione VUS

## processo complesso

---

### Elementi di valutazione nuove varianti

- **frequenza** della variante in individui sani e malati
- **posizione** e conseguenze della variante nucleotidica
- **conservazione** nell'evoluzione del residuo
- **modelli** di predizione *in silico*
- **struttura e funzione** della proteina
- **letteratura scientifica: evidenze cliniche e funzionali**  
(casistiche, test funzionali, analisi RNA, LOH, studi caso-controllo, analisi di segregazione)

**Utilizzo di databases di riferimento come ClinVar, UMD e BRCA Exchange**

# interpretazione VUS

---

## **Nel referto la variante classe 3:**

**(probabilità di essere patogena tra il 5% e il 94,9%)**

- **3 senza evidenze di patogenicità**
- **3 (significato biologico incerto/sconosciuto)**
- **3 per la quale non si può escludere un potenziale effetto patogenetico**

# Referto Analisi geni BRCA1-BRCA2

## Risultato

**Nessuna mutazione identificata.**

## Conclusioni

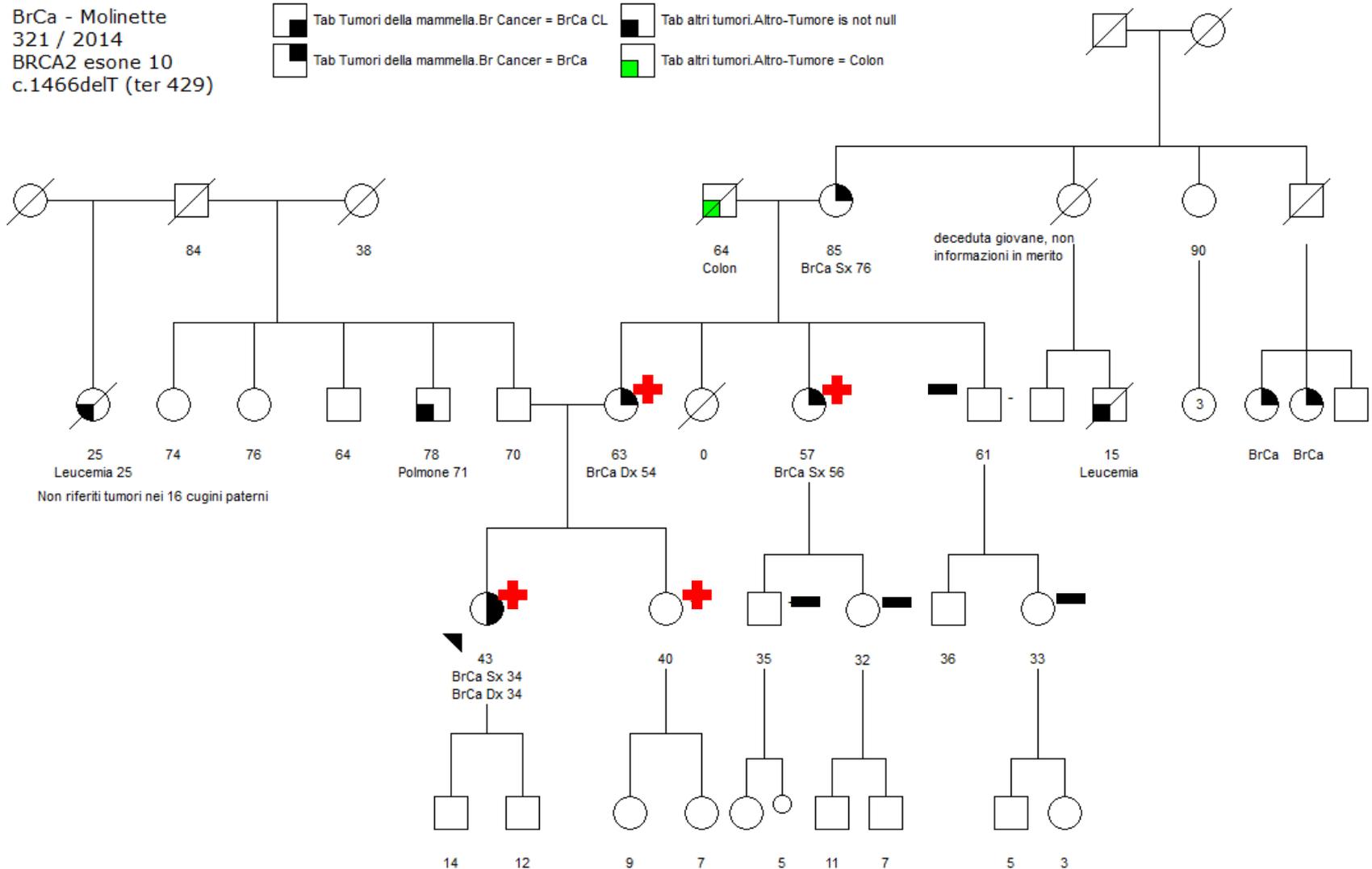
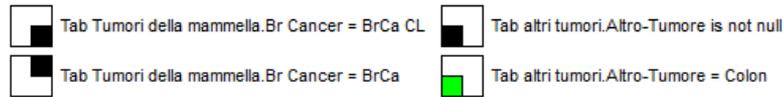
L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra non ha permesso di identificare alcuna mutazione puntiforme né delezione/duplicazione dei geni BRCA1 e BRCA2.

Nell'**esone 11 del gene BRCA2** è presente la variante missenso in eterozigosi **c.6064T>C (p.Ser1946Pro)** (HGVS: c.5836T>C; rs80358811). Si tratta di una variante rara (8 soggetti eterozigoti su 141.152 individui in gnomAD - 8/133.896 non-cancer) riportata nel *database* UMD come variante di significato incerto, mentre in ClinVar è riportata anche come verosimilmente benigna. La sostituzione amminoacidica p.Ser1946Pro tra un residuo polare non carico e uno idrofobico e' semi-conservativa (*Grantham Distance*= 74, *BLOSUM62*= -1) e interessa un residuo non conservato (e' presente la Prolina nelle sequenze di molti orologi); i modelli di valutazione di tipo evolutivo ed integrato sono tutti concordi nell'attribuire un giudizio di neutralità (tollerata per SIFT, Provean, PolyPhen2, MutationTaster, A-GVGD (C0), MutAssessor, GERP, LRT, DANN, FATHMM, FATHMM-MKL). Inoltre nel *database* BIC è riportata in un caso con una mutazione patogenetica del gene BRCA1 e nella casistica di *Azzollini J et al., 2016* co-occorre con una mutazione patogenetica in BRCA1/2 supportando il giudizio di neutralità. In letteratura è stata riportata in un caso con patologia mammaria benigna (*Suter NM, 2004*), in due sorelle con tumore dell'ovaio, ma anche in due sorelle sane della stessa famiglia (*Chao A, 2016*) e nello studio di *Kwong A et al, 2016* è stata riportata nella popolazione di controlli sani. Infine la sostituzione nucleotidica c.6064T>C non sembra attivare siti critici di *splicing* secondo 5 modelli informatici di simulazione dello *splicing*. Allo stato attuale delle conoscenze, la variante ha effetto biologico sconosciuto pur in assenza di elementi a favore di un potenziale effetto patogenetico (Variante di classe 3 senza evidenze di patogenicità).

# tumore eredo-familiare mammella-ovaio

## ricerca di mutazione nota in famiglia

BrCa - Molinette  
321 / 2014  
BRCA2 esone 10  
c.1466delT (ter 429)



**Probando**   **Familiare** (numero cartella del probando se già esistente [riportata sul referto] \_\_\_\_\_)

**SI RICHIEDE:**  estrazione DNA + conservazione (**0270**: 91.36.5 x 1 + 91361.0 x 1)

**analisi completa dei geni BRCA1 e BRCA2** (ricerca di mutazione ignota) (**0602**: 91.30.3 x 16)

prelievo da eseguire c/o Centro Prelievi OIRM-Sant'Anna (eseguito il : \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_)

si inviano 2 provette di sangue da 4 ml (EDTA tappo viola – dal lunedì al giovedì)  
prelevate in data \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_ dalla struttura richiedente

**percorso diagnostico:**  tumore ovarico  tumore della mammella  soggetto sano a rischio

**note:** Eventuale urgenza e indicare le motivazioni \_\_\_\_\_

  **ricerca di mutazione puntiforme nota in famiglia di BRCA1 o BRCA2** (**0628**: 91.30.3 x 1 + 91.38.6 x 1)

specificare gene, esone e mutazione nel box (il test comprende la conferma del risultato su seconda estrazione di DNA):

Mutazione del gene BRCA1  
VEDI REFERTO ALLEGATO



nel caso si tratti di una **delezione/duplicazione** nota in famiglia da ricercare con metodica MLPA annullare il codice 0628 e richiedere il **profilo 0110** (91.30.2 x 2) + **profilo 0125** (91.30.2 x 2) per la conferma del risultato su seconda estrazione.

prelievo da eseguire c/o Centro Prelievi OIRM-Sant'Anna (eseguito il : \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_)

si inviano 2 provette di sangue da 4 ml (EDTA tappo viola – dal lunedì al giovedì)  
prelevate in data \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_ dalla struttura richiedente

**Documenti in allegato:**

- impegnativa/DEMA del Medico richiedente coerente con il tipo di analisi richiesta
-   richiesta tracciato C5 coerente con il tipo di analisi richiesta
-   questionario per la raccolta della familiarità oncologica (obbligatorio per i probandi)
-   esame istologico / relazione clinica (obbligatorio per i soggetti malati)
-   referto analisi genetica del parente nel quale è stata identificata la mutazione (obbligatorio per i famiglia)

Firma e timbro del

 **consenso informato**  allegato

Medico Richiedente: \_\_\_\_\_

archiviato dal Medico Richiedente

Data della richiesta: \_\_\_\_\_

**Si prega il medico richiedente di compilare in stampatello leggibile**

# Referto Mutazione nota: mutazione puntiforme

Tipo campione: Sangue

Codice Campione: GM192819

N° provette: 2

Cartella:

Indicazione:

Medico richiedente:

## Analisi per la ricerca di mutazione puntiforme nota del gene BRCA1 o BRCA2

(Tumore ereditario della mammella e dell'ovaio - AD, OMIM #604370 e #612555)

Gene e sequenza di riferimento: **BRCA2 (NM\_000059.3)**

Ricerca di mutazione puntiforme:	analisi in sequenza Sanger della regione genica contenente la mutazione specificata nella richiesta
Conferma del risultato:	su seconda estrazione di DNA mediante analisi conformazionale in DHPLC della regione genica contenente la mutazione

Metodo  
analitico

### Risultato

**Presenza della mutazione in eterozigosi del gene BRCA2 c.1466delT p.(Leu413Hisfs\*17)**

### Conclusioni

L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra ha dimostrato la PRESENZA della mutazione in eterozigosi dell'esone 10 del gene BRCA2 c.1466delT p.(Leu413Hisfs\*17) (delezione del nucleotide Timina in posizione 1466 con slittamento del modulo di lettura dal codone 413 e creazione di un segnale prematuro di stop al codone 429, variante di classe 5 il cui effetto biologico previsto e' la sintesi di una proteina tronca e verosimilmente non funzionante o la degradazione dell'RNA messaggero - codifica HGVS c.1238delT).

Per il soggetto analizzato e' quindi indicato un adeguato programma di sorveglianza clinica e di prevenzione. Data la natura autosomica dominante delle mutazioni del gene BRCA2, sussiste un rischio del 50% di trasmissione alla prole e di ricorrenza tra i parenti di primo grado: per i parenti adulti a rischio sono quindi indicati consulenza e test genetico.

Per una piu' completa valutazione del caso si rimanda al Medico richiedente e si consiglia di eseguire una consulenza genetica.

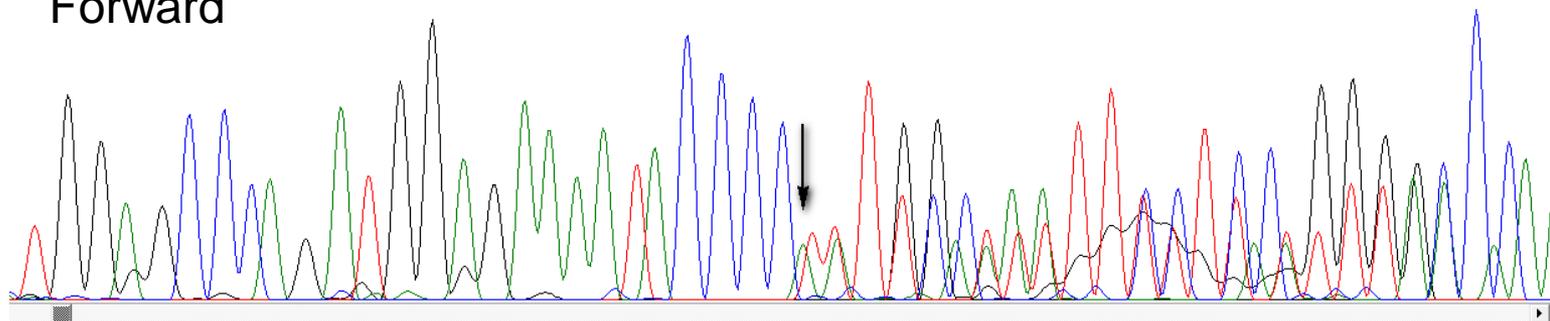
# Referto Mutazione nota: mutazione puntiforme

## Sequenziamento Sanger

Selected: none Sample: 15\_GM192819\_BRCA2\_EX\_10\_3\_NEW\_F File: C:\Dati\pogliara\MUTATION DETECTION\BRCA\_CHEK2\COLLATERALI\_BRCA\seq\_da\_leggere\_PDF\_DHPLC\GM192818\_GM192819\_BRCA2\_ex10-3new\20190723\_F

T G G A G C C C A G A T G G A G A A A A T A C C C C T T T G G C T A N T T N C T N C T G G G G N C C A

Forward

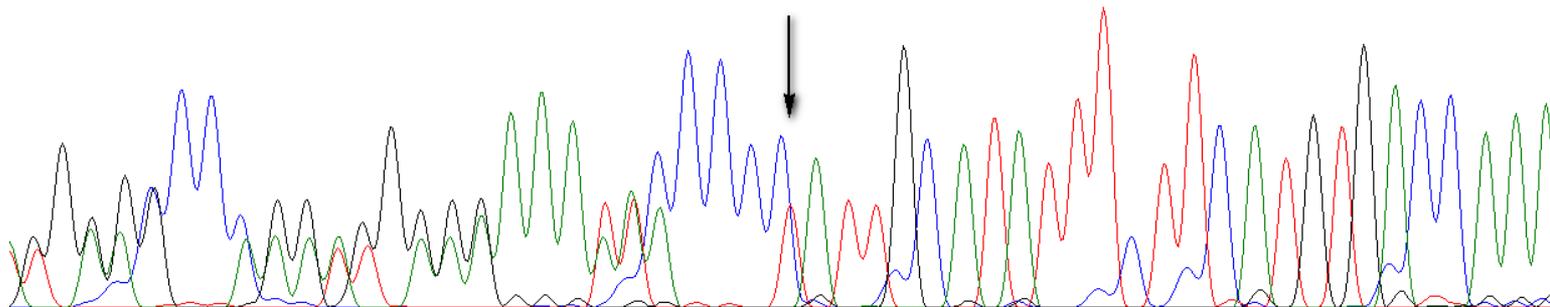


BI Chromatogram: C:\Dati\pogliara\MUTATION DETECTION\BRCA\_CHEK2\COLLATERALI\_BRCA\seq\_da\_leggere\_PDF\_DHPLC\GM192818\_GM192819\_BRCA2\_ex10-3new\20190723\_PLATE1\_H02\_16\_GM192819\_BRC...

Selected: none Sample: 16\_GM192819\_BRCA2\_EX\_10\_3\_NEW\_R File: C:\Dati\pogliara\MUTATION DETECTION\BRCA\_CHEK2\COLLATERALI\_BRCA\seq\_da\_leggere\_PDF\_DHPLC\GM192818\_GM192819\_BRCA2\_ex10-3new\20190723\_F

G G G G N C C C G G N G G G G G A A A T N C C C C C A T T G C A T A T T T C T T C A T G T G A C C A A A

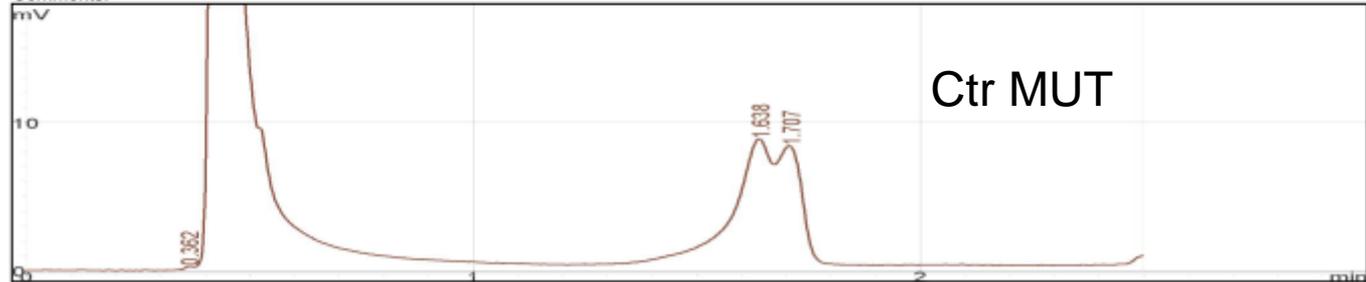
Reverse



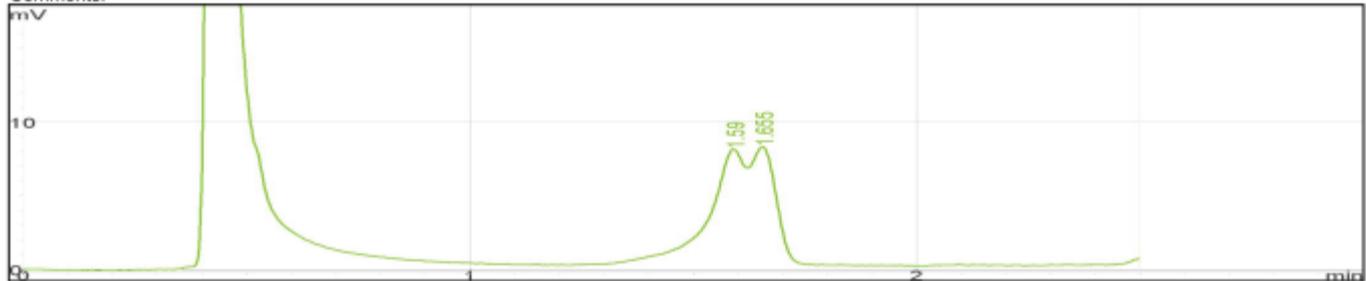
# Referto Mutazione nota: conferma mutazione puntiforme DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography)

Tecnica di ripartizione su colonna cromatografica in fase liquida in condizioni di semi denaturazione

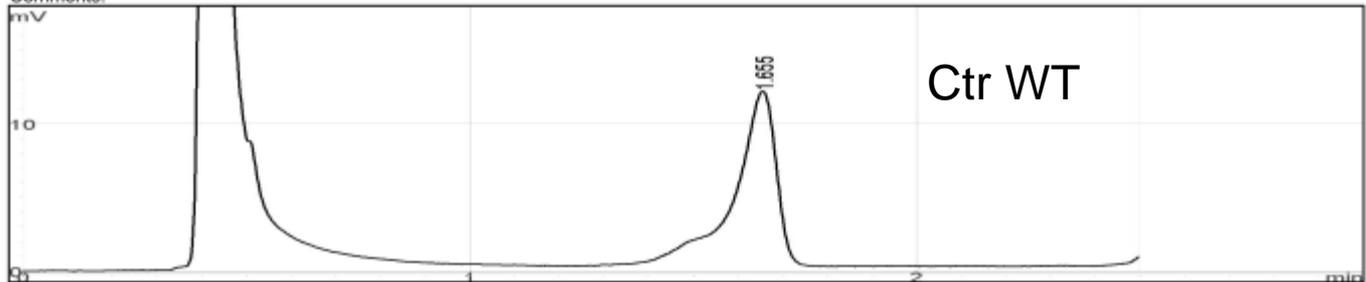
User: WADMIN Project: BRCA\_07\_2019 Sample Name: 140621@56  
Tray: 17lug\_GM192541\_693\_732\_818\_542\_733\_819 Temp(min): 56°C Press.(min): 981 psi Vial: 90 Volume: 3µL  
Method: FAST\_Brca2\_ex10-3new\_56.0C Temp(max): 56°C Press.(max): 1223 psi Injection Date: 2019-07-17 13:39:22.0  
Comments:



User: WADMIN Project: BRCA\_07\_2019 Sample Name: GM192819new  
Tray: 17lug\_GM192541\_693\_732\_818\_542\_733\_819 Temp(min): 56°C Press.(min): 996 psi Vial: 92 Volume: 3µL  
Method: FAST\_Brca2\_ex10-3new\_56.0C Temp(max): 56°C Press.(max): 1223 psi Injection Date: 2019-07-17 13:46:49.0  
Comments:



User: WADMIN Project: BRCA\_07\_2019 Sample Name: 142193wt  
Tray: 17lug\_GM192541\_693\_732\_818\_542\_733\_819 Temp(min): 56°C Press.(min): 1095 psi Vial: 93 Volume: 3µL  
Method: FAST\_Brca2\_ex10-3new\_56.0C Temp(max): 56°C Press.(max): 1252 psi Injection Date: 2019-07-17 13:50:28.0  
Comments:



# Referto Mutazione nota: mutazione puntiforme

**Tipo campione:** Sangue **Codice Campione:** GM192818  
**N° provette:** 2  
**Cartella:**  
**Indicazione:** Ricerca della mutazione dell'esone 10 del gene BRCA2 c.1466delT p.(Leu413Hisfs\*17) identificata in un membro affetto della famiglia.  
**Medico richiedente:**

## **Analisi per la ricerca di mutazione puntiforme nota del gene BRCA1 o BRCA2 (Tumore ereditario della mammella e dell'ovaio - AD, OMIM #604370 e #612555)**

**Gene e sequenza di riferimento:** BRCA2 (NM\_000059.3)  
**Ricerca di mutazione puntiforme:** analisi in sequenza Sanger della regione genica contenente la mutazione specificata nella richiesta  
**Conferma del risultato:** su seconda estrazione di DNA mediante analisi conformazionale in DHPLC della regione genica contenente la mutazione

### **Risultato**

#### **Assenza della mutazione**

### **Conclusioni**

L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra ha dimostrato l'ASSENZA della mutazione c.1466delT - p.(Leu413Hisfs\*17) dell'esone 10 del gene BRCA2 (codifica HGVS c.1238delT). Il risultato del test indica che la mutazione identificata nel nucleo familiare non e' stata trasmessa al soggetto analizzato. Ai fini della stima del rischio oncologico, il risultato del test deve comunque essere interpretato nel contesto clinico.

### **Limiti**

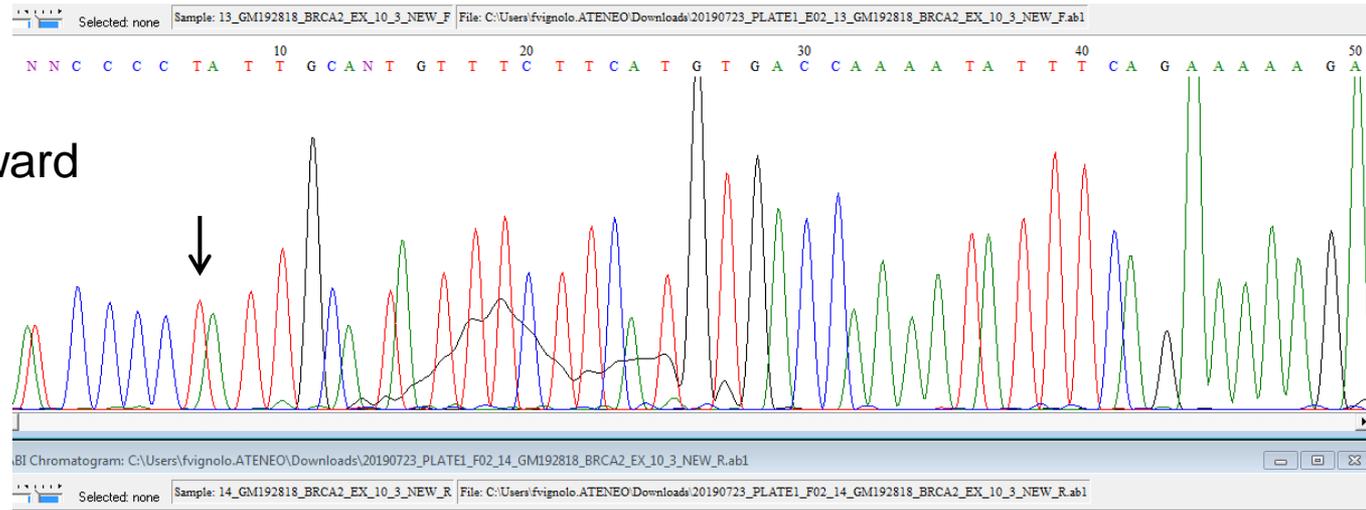
La sensibilità del metodo analitico e' superiore al 98% ma non e' possibile escludere (nonostante il risultato sia stato confermato in DHPLC) la rara evenienza della mancata amplificazione di un allele a causa di varianti nella regione di appaiamento dei primers o il fenomeno dell'allelic drop-out.

Il presente referto non puo' essere trascritto o riprodotto se non nella sua interezza.

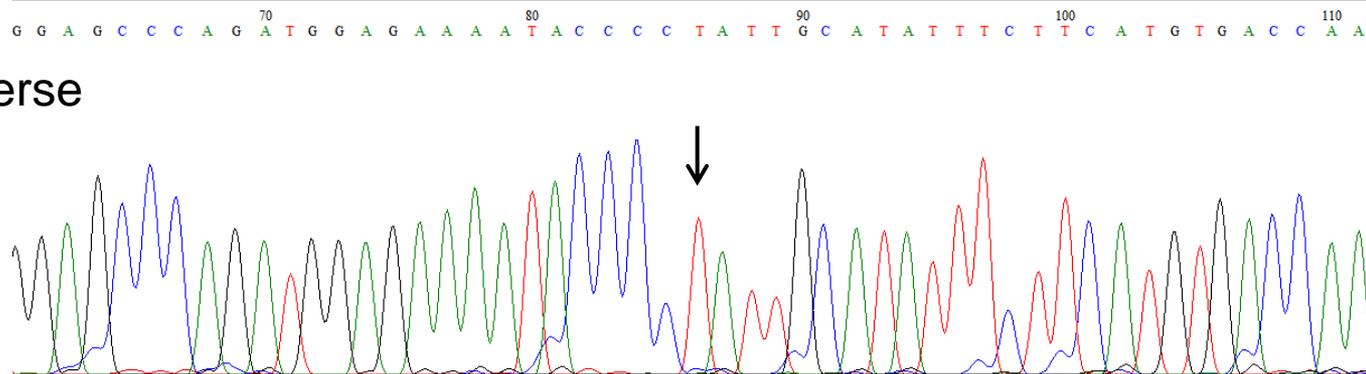
# Referto Mutazione nota: mutazione puntiforme

## Sequenziamento Sanger

Forward

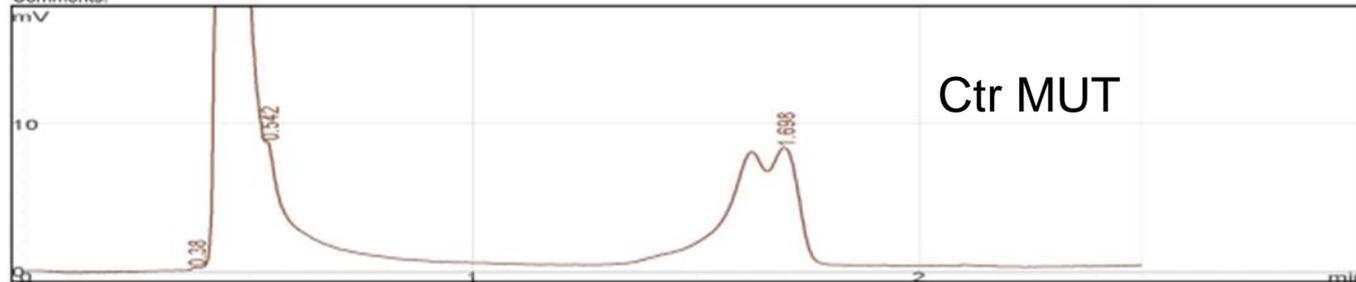


Reverse

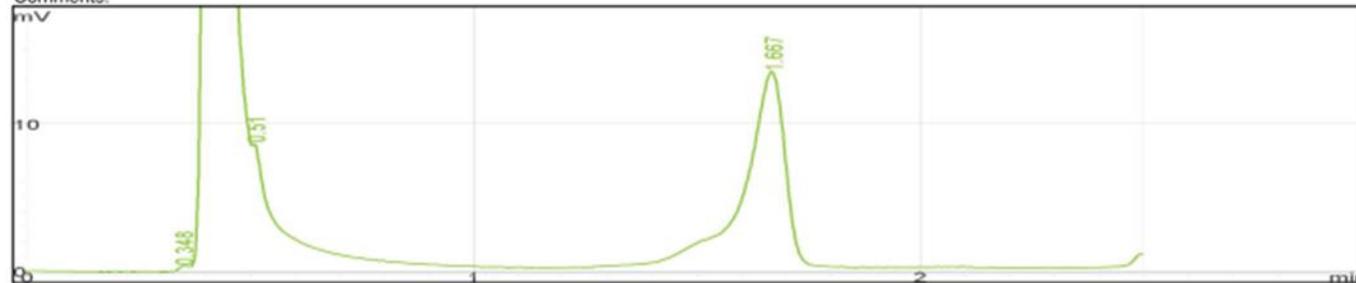


# Referto Mutazione nota: conferma mutazione puntiforme DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography)

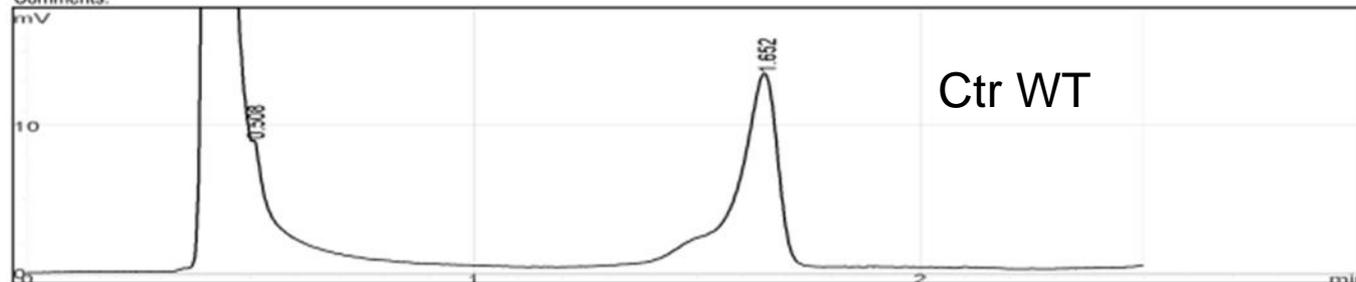
User: WADMIN Project: BRCA\_07\_2019 Sample Name: 140621@56  
Tray: 17lug\_GM192541\_693\_732\_818\_542\_733\_819 Temp(min): 56°C Press.(min): 1067 psi Vial: 75 Volume: 3µL  
Method: FAST\_Brca2\_ex10-3new\_56.0C Temp(max): 56°C Press.(max): 1280 psi Injection Date: 2019-07-17 15:53:36.0  
Comments:



User: WADMIN Project: BRCA\_07\_2019 Sample Name: GM192818new  
Tray: 17lug\_GM192541\_693\_732\_818\_542\_733\_819 Temp(min): 56°C Press.(min): 1209 psi Vial: 77 Volume: 3µL  
Method: FAST\_Brca2\_ex10-3new\_56.0C Temp(max): 56°C Press.(max): 1280 psi Injection Date: 2019-07-17 16:00:58.0  
Comments:



User: WADMIN Project: BRCA\_07\_2019 Sample Name: 142193wt  
Tray: 17lug\_GM192541\_693\_732\_818\_542\_733\_819 Temp(min): 56°C Press.(min): 1124 psi Vial: 78 Volume: 3µL  
Method: FAST\_Brca2\_ex10-3new\_56.0C Temp(max): 56°C Press.(max): 1294 psi Injection Date: 2019-07-17 16:04:35.0  
Comments:



**NB:** Nel raro caso in cui la mutazione nota sia una **DELEZIONE** o **DUPLICAZIONE** di **ESONI** del gene BRCA1 o BRCA2 si devono richiedere i profili 0110 + 0125 (prestazione 91.30.2 x 4) in quanto si tratta di una diversa metodica analitica

## **MLPA** (Multiplex Ligation Probe-dependent Amplification)

ricerca di mutazione puntiforme nota in famiglia di BRCA1 o BRCA2 (~~0628: 91.30.3 x 1 + 91.30.6 x 1~~)  
specificare gene, esone e mutazione nel box (il test comprende la conferma del risultato su seconda estrazione di DNA):

DELEZIONE ESONI 18-19 GENE BRCA1 tramite MLPA (profili 0110 + 0125)  
VEDI REFERTO ALLEGATO

nel caso si tratti di una **delezione/duplicazione** nota in famiglia da ricercare con metodica MLPA annullare il codice 0628 e richiedere il **profilo 0110** (91.30.2 x 2) + **profilo 0125** (91.30.2 x 2) per la conferma del risultato su seconda estrazione.

# Referto Mutazione nota: delezione/duplicazione esoni

Tipo campione: Sangue

Codice Campione: GM192861

N° provette: 2

Cartella:

Indicazione:

Medico richiedente:

## Analisi per la ricerca di delezione / duplicazione genica con metodica MLPA

Gene/geni e sequenza di riferimento BRCA1 (NM\_007294.3)

Ricerca di delezioni/duplicazioni nell'intera regione codificante del gene BRCA1 eseguita con metodica MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) utilizzando SALSA MLPA P002\_D1 probemix

Conferma del risultato: su seconda estrazione di DNA con metodica MLPA utilizzando la probemix di cui sopra

Metodo  
analitico

### Risultato

#### Presenza della delezione in eterozigosi degli esoni 18 e 19 del gene BRCA1

### Conclusioni

L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra ha dimostrato la PRESENZA della delezione in eterozigosi degli esoni 18 e 19 del gene BRCA1, nota dalla letteratura (Montagna M et al, Hum Mol Genet 2003, 12:1055-1061, delezione out-of-frame con slittamento del codice di lettura dal codone 1692 e creazione di un segnale prematuro di stop al codone 1693 - variante di classe 5 il cui effetto biologico previsto e' la sintesi di una proteina tronca e verosimilmente non funzionante o la degradazione dell'RNA messaggero - codifica HGVS c.5075\_5193del - p.(Asp1692Alafs\*2)

Per il soggetto analizzato e' quindi indicato un adeguato programma di sorveglianza clinica e di prevenzione. Data la natura autosomica dominante delle mutazioni del gene BRCA1, sussiste un rischio del 50% di trasmissione alla prole e di ricorrenza tra i parenti di primo grado: per i parenti adulti a rischio sono quindi indicati consulenza e test genetico. Per una piu' completa valutazione del caso si rimanda al medico richiedente e si consiglia di eseguire una consulenza genetica.

Il presente referto non puo' essere copiato o riprodotto se non nella sua interezza.

# Referto Mutazione nota: delezione/duplicazione esoni

Tipo campione: Sangue

Codice Campione: GM192862

N° provette: 2

Cartella:

Indicazione:

Medico richiedente:

## Analisi per la ricerca di delezione / duplicazione genica con metodica MLPA

Ricerca di delezioni/duplicazioni	nell'intera regione codificante del gene BRCA1 eseguita con metodica MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) utilizzando SALSA MLPA P002_D1 probemix
Conferma del risultato:	su seconda estrazione di DNA con metodica MLPA utilizzando la probemix di cui sopra
Gene/geni e sequenza di riferimento	BRCA1 (NM_007294.3)

### Risultato

**Assenza della delezione degli esoni 18 e 19 del gene BRCA1**

### Conclusioni

L'analisi genetica eseguita nelle condizioni riportate sopra ha dimostrato l'ASSENZA della delezione del gene BRCA1 comprendente gli esoni 18 e 19. Il risultato del test indica che la delezione identificata nel nucleo familiare non e' stata trasmessa al soggetto analizzato. Ai fini della stima del rischio oncologico, il risultato del test deve comunque essere interpretato nel contesto clinico.

Il presente referto non puo' essere copiato o riprodotto se non nella sua interezza.

# Mutazioni dei geni BRCA1-BRCA2

---

Abbiamo visto:

- Compilazione del **Modulo di richiesta analisi** per analisi completa e mutazione nota + **allegati**
- Interpretazione del risultato del **referto**: negativo (classe 1 e 2), mutato (classe 4 e 5), varianti di significato incerto (classe 3)
- Metodo analitico
- Valutazione delle varianti a incerto significato (**UV-3**): scala di grigi