

TECHNOLOGIA DAJĄCA PEWNOŚĆ

ONCOMATE™ MSI



CERTYFIKAT CE IVD

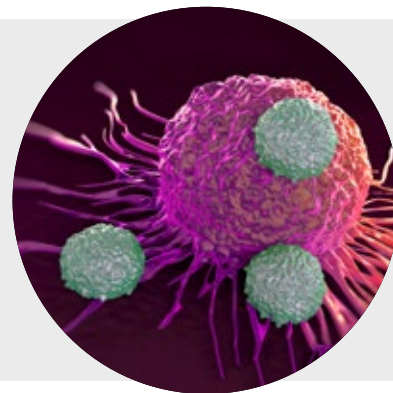
Czym jest OncoMate™ MSI Dx Analysis System?

OncoMate™ MSI Dx Analysis System to posiadający oznakowanie CE wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro* (IVD) służący do określania statusu niestabilności mikrosatelitarnej (MSI) nowotworu. Badanie umożliwia lekarzom funkcjonalny pomiar defektów systemu naprawy DNA (dMMR) w tkance nowotworowej pacjenta.

OncoMate™ MSI Dx Analysis System dostarcza wiarygodnych wyników, które w oparciu o globalne wytyczne pomagają w podjęciu decyzji dotyczącej zastosowania immunoterapii. Ponadto badanie umożliwia rozpoznanie nowotworów dziedzicznych, takich jak zespół Lyncha.

Pacjenci z nowotworami o wysokim stopniu niestabilności mikrosatelitarnej (MSI-H) lepiej reagują na terapię inhibitorami immunologicznych punktów kontrolnych.

Nowotwory o wysokim stopniu niestabilności mikrosatelitarnej (MSI-H) wytwarzają specyficzne antygeny, które mogą powodować infiltrację tkanki nowotworowej przez limfocyty. Niektóre nowotwory mogą blokować odpowiedź immunologiczną organizmu poprzez ekspresję PD-L1. Taka indukowana przez nowotwór blokada aktywności komórek układu odpornościowego może zostać wyeliminowana dzięki zastosowaniu terapii inhibitorami immunologicznych punktów kontrolnych (ICI), które wzmacniają odpowiedź immunologiczną skierowaną przeciwko komórkom nowotworowym, jak również ogólną reakcję pacjenta na terapię.¹⁻³



¹Mandal, R. *et al.* (2019) Genetic diversity of tumors with mismatch repair deficiency influences anti-PD-1 immunotherapy response. *Science* **364**, 485–91.

²Dudley, J.C. *et al.* (2016) Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade. *Clin. Cancer Res.* **22**, 813–820.

³Kok, M *et al.* (2019) How I treat MSI cancers with advanced disease. *ESMO Open* 4:e000511. doi:10.1136/esmoopen-2019-000511.

Większa wiedza podstawą wyboru najlepszego sposobu leczenia

Złoty standard stosowany w badaniach nad MSI jest teraz dostępny w formie testu z certyfikatem CE IVD, aby umożliwić laboratoriom diagnostycznym łatwy dostęp do tej technologii. OncoMate™ MSI Dx Analysis System jest posiadającym oznakowanie CE wyrobem medycznym do diagnostyki *in vitro* (IVD) opierającym się na loci MSI, które w ostatnich dwóch dekadach sprawdziły się w światowych badaniach klinicznych. Test ten jest stosowany w diagnostyce pacjentów z chorobami nowotworowymi jako podstawa wyboru najbardziej obiecującego sposobu leczenia.

DNA guzów litych

~ 2,5 godziny
od DNA do wyniku

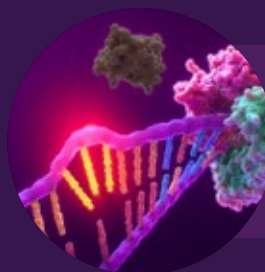
≤ 1 wycinek FFPE
do analizy

1 ng
DNA

Czym jest MSI?

Kumulacja mutacji typu insercja i delecja w tandemowych sekwencjach mikrosatelitarnych komórek nowotworowych jest określana mianem niestabilności mikrosatelitarnej i jest wynikiem nieprawidłowej funkcji jednego lub kilku białek systemu naprawy błędnie sparowanych zasad DNA (MMR).

Tandemowe mikrosatelitarne (homopolimeryczne) sekwencje mononukleotydowe występujące w całym genomie są szczególnie podatne na błędy transkrypcji. W związku z tym występująca często wysoka niestabilność mikrosatelitarna (MSI-H) jest indykátorem mutacji DNA w głównych genach MMR lub ich epigenetycznego wyciszania poprzez metylację.



Obejrzyj film
i dowiedz się
więcej o MSI

Dlaczego warto wykonać badanie MSI?

Ponieważ MSI jest silnie związana z zespołem Lyncha, jak również z odpowiedzią na terapie inhibitorami immunologicznych punktów kontrolnych (ICI), wiele wyspecjalizowanych instytucji zaleca analizę statusu MSI oraz/lub ekspresji białek systemu naprawy błędnie sparowanych zasad DNA (m.in. metodą immunohistochemiczną, IHC) dla różnych chorób nowotworowych.⁴⁻⁹

Najważniejsze międzynarodowe organizacje zrzeszające onkologów, takie jak Europejskie Towarzystwo Onkologii Medycznej (ESMO), National Comprehensive Cancer Network (NCCN) oraz Amerykańskie Towarzystwo Onkologii Klinicznej (ASCO) popierają wczesne rozpoznanie raka jelita grubego oraz raka szyjki macicy w oparciu o badanie MSI w celu identyfikacji kandydatów do dalszych badań diagnostycznych zespołu Lyncha.^{4,5,9}

Europejskie Towarzystwo Onkologii Medycznej (ESMO) potwierdza znaczenie badań MSI oraz pomiaru defektów systemu naprawy DNA (dMMR) w celu kwalifikacji pacjentów do terapii ICI. Zalecenia dotyczące badań MSI zostały przedstawione w niniejszej bibliografii.^{8,9}

Grupa Robocza ds. Badań Translacyjnych i Medycyny Precyzyjnej ESMO zaleca przeprowadzanie badań MSI nowotworów ze spektrum zespołu Lyncha z uwagi na potencjalną przydatność terapii ICI w ich leczeniu. Ponadto, zidentyfikowanie zespołu Lyncha może przynieść korzyść innym członkom rodziny chorego. Zaleca się również, aby analiza MSI z zastosowaniem reakcji PCR oraz analiza dMMR metodą IHC były przeprowadzane równocześnie.

⁴National Comprehensive Cancer Network (www.nccn.org).

⁵Sepulveda, A.R. *et al.* (2017) Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *J. Mol. Diag.* **19**, 187–225.

⁶Le, D.T. *et al.* (2015) PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *New Engl. J. Med.* **372**, 2509–20.

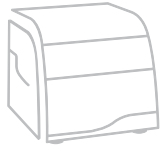
⁷Le, D.T. *et al.* (2017) Mismatch-repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 10.1126/science.aan6733.

⁸Luchini, C. *et al.* (2019) ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Annals of Oncol Published online* May 6, 2019.

⁹Stjepanovic, N. *et al.* (2019) Hereditary gastrointestinal cancers: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.*, **30**, 1558–71.

Od próbki do wyniku w jeden dzień

OncoMate™ MSI Dx Analysis System jest kluczowym elementem procedury składającej się z izolacji DNA z próbek tkanek utrwalonych w parafinie (FFPE), oznaczania ilościowego DNA, amplifikacji określonych markerów mikrosatelitarnych przy użyciu multipleksowej reakcji PCR, rozdzielania fragmentów metodą elektroforezy kapilarnej, a następnie analizy i interpretacji danych.



Izolacja DNA

z próbek tkanek
utrwalonych
w parafinie (FFPE)



Oznaczenie ilościowe DNA

przy pomocy
fluorescencyjnych
barwników i przyrządu
pomiarowego



Amplifikacja DNA

przy pomocy
OncoMate™ MSI Dx
Analysis System



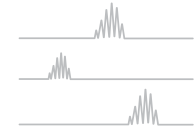
Kalibracja spektrum barwników

przy pomocy
OncoMate™ 5C
Matrix Standard



Rozdzielanie i wykrywanie fragmentów

dzięki aparatowi
do elektroforezy
kapilarnej z detekcją
fluorescencyjną



Analiza danych i tworzenie sprawozdań

przy pomocy
oprogramowania do
analizy fragmentów

Czas trwania eksperymentu: mniej niż 10 godzin

Potrzebne materiały

- próbka FFPE (1 ng DNA) tkanki zdrowej i tkanki nowotworowej
- metoda izolacji DNA (*np. urządzenie Maxwell® CSC z odpowiednim zestawem odczynników*)
- metoda oznaczania ilościowego dsDNA z zastosowaniem barwników (*np. QuantiFlour® dsDNA System*)
- termocykler
- aparat do elektroforezy kapilarnej
- OncoMate™ MSI Dx Analysis System
- OncoMate™ 5C Matrix Standard
- program do analizy fragmentów DNA (*np. GeneMapper® Software*)

Specyfikacja testu

Wymogi dotyczące próbki

Próbki FFPE tkanki zdrowej i tkanki nowotworowej o objętości 0,1–2,07 mm³. Próbką tkanki nowotworowej powinna zawierać przynajmniej 20% zdalnych do badania komórek nowotworowych.

Ilość i jakość DNA

1 ng do jednej reakcji, ilość oznaczona przy pomocy reakcji qPCR lub barwnika fluorescencyjnego wiążącego dsDNA. Obydwie metody zapewniają wiarygodną ocenę ilościową wysoce fragmentowanego DNA oczyszczonego z tkanek FFPE.

Termocykler

Termocykler o szybkości zmiany temperatury bloków od 3,9°C do 5,0°C na sekundę.

Opogramowanie do analizy danych

Nieprzetworzone dane z mieszaniny fragmentów DNA (od 65 bp do 300 bp) oznaczonych różnymi barwnikami fluorescencyjnymi (5 kolorów) są przedstawiane w sposób uporządkowany, obliczana jest wielkość alleli i ustalany właściwy znacznik, a następnie wartości szczytowe zostają odpowiednio oznaczone. Wyniki można drukować i eksportować.

Kalibracja spektralna

Przed pierwszą analizą należy przeprowadzić kalibrację spektralną aparatu do elektroforezy kapilarnej przy użyciu standardu OncoMate™ 5C Matrix Standard (nr kat. MD3850).

Elektroforeza kapilarna

Wymagana specyfikacja:

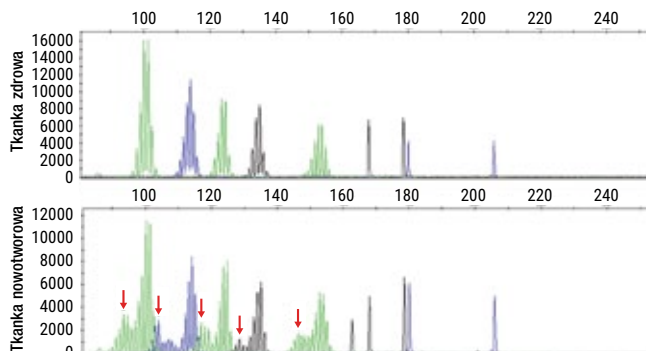
- rozdzielczość 1 bp w zakresie długości fragmentu 60 bp $\geq$ 300 bp
- dokładność określania wielkości od 0,15 bp w zakresie od 60 bp $\geq$ 300 bp
- możliwość kalibracji i detekcji pięciokanałowej z długością fali wzbudzenia od 480 nm do 520 nm oraz elementami optycznymi do detekcji od około 500 nm do 630 nm

Informacje dotyczące biomarkerów i loci

OncoMate™ MSI Dx Analysis System zawiera znakowane fluorescencyjnie startery dla jednoczesnej amplifikacji siedmiu markerów mikrosatelitarnych: pięciu mononukleotydowych (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 i Mono-27) oraz dwóch pentanukleotydowych (Penta C i Penta D).

Mononukleotydowe markery mikrosatelitarne służą do analizy statusu MSI ze względu na wysoką czułość oraz specyficzność w stosunku do pomiaru defektów systemu naprawy DNA (dMMR). Wyraża się to jako zmiana długości powtórzeń repetetywnych sekwencji pojedynczych loci i widoczne jest jako zmieniona długość amplikonu. Pentanukleotydowe markery mikrosatelitarne zostały włączone do testu ze względu na wysoki poziom polimorfizmu dla potwierdzenia, że próbki tkanki zdrowej i tkanki nowotworowej pochodzą od tego samego pacjenta.

Zasada działania



Niestabilność jest określana dzięki amplifikacji DNA metodą PCR z tkanki zdrowej i tkanki nowotworowej pacjenta, po której następuje analiza wielkości fragmentów poprzez elektroforezę kapilarną. Niestabilne loci w tkance nowotworowej są zaznaczone czerwonymi strzałkami.

Markery

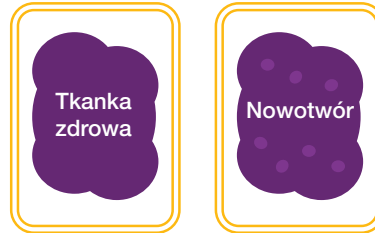
BAT-26		Penta D	
NR-21	BAT-25	MONO-27	
NR-24		Penta C	

Zalecane przez NCI (National Cancer Institut; Narodowy Instytut Raka) pięć markerów mononukleotydowych z zaktualizowanego panelu Bethesda i dwa markery pentanukleotydowe.¹⁰

¹⁰Umar *et al.* (2004) Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (lynch syndrome) and microsatellite instability. *J. Natl. Cancer Inst.* **96**, 261–8.

Wyjściowa ilość DNA

Do jednej reakcji potrzeba tylko 1 ng
zdatnego do amplifikacji DNA.

Wymogi dotyczące próbek

Próbki FFPE tkanki zdrowej i tkanki
nowotworowej o objętości 0,1–2,0 mm³.
Próbka tkanki nowotworowej powinna zawierać
przynajmniej 20% zdatnych do badania
komórek nowotworowych.

Czas trwania testu

Szybka, multipleksowa reakcja PCR
o zoptymalizowanej dokładności i wydajności,
dostarcza informacji w zaledwie 2,5 godziny.

Pewne wyniki z niewielkiej próbki

OncoMate™ MSI Dx Analysis System dostarcza wynik na podstawie DNA
z pojedynczego wycinka tkanki FFPE. Próbka tkanki nowotworowej zawierająca
≥20% komórek nowotworowych wystarczy, aby uzyskać wiarygodny wynik.

Badanie zgodności przeprowadzone u pacjentów z rakiem jelita grubego
potwierdza porównywalność wyników OncoMate™ MSI Dx Analysis System
z metodą immunohistochemiczną. Tym samym system umożliwia identyfikację
pacjentów, dla których dalsze badania diagnostyczne mogą przynieść korzyści.



≤ **1** wycinek
tkanki
FFPE

Informacja o produkcji

OncoMate™ MSI Dx Analysis System (Numer katalogowy MD3140)

Element zestawu	Nr kat.	Ilość
Water, Amplification Grade	MD193A	1 × 1,250 µl
OncoMate™ MSI 5X Master Mix	MD280A	1 × 200 µl
Size Standard 500	MD500A	1 × 100 µl
OncoMate™ MSI 5X Primer Mix	MD705A	1 × 200 µl
2800M Control DNA	MD810A	1 × 25 µl



OncoMate™ 5C Matrix Standard (Numer katalogowy MD3850)

Element zestawu	Nr kat.	Ilość
Matrix Dilution Buffer	MD191A	5 × 200 µl
5C Matrix Mix	MD430A	1 × 150 µl



Użycie zgodne z przeznaczeniem

OncoMate™ MSI Dx Analysis System to oparty na reakcji PCR test do określania statusu niestabilności mikrosatelitarnej (MSI) DNA wyizolowanego z utrwalonych w parafinie (FFPE) próbek ludzkich tkanek guzów litych.

Test umożliwia stworzenie profili allelicznych markerów mikrosatelitarnych DNA z próbek FFPE tkanki nowotworowej i tkanki zdrowej tego samego pacjenta dzięki metodzie reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) oraz analizie wielkości fragmentów zamplifikowanych markerów przy pomocy elektroforezy kapilarnej. Status MSI jest określany poprzez porównanie profili allelicznych. Zwiększenie bądź zmniejszenie liczby powtórzeń sekwencji DNA w komórkach nowotworowych w porównaniu z DNA zdrowych komórek tego samego pacjenta świadczy o MSI. Dlatego też konieczne jest równoczesne badanie tkanki zdrowej oraz tkanki nowotworowej tego samego pacjenta w ramach jednego testu, aby na podstawie porównania ich profili allelicznych uzyskać właściwy wynik.

OncoMate™ MSI Dx Analysis System nie jest przeznaczony do diagnozowania konkretnych chorób. Jest on zalecany dla pacjentów z potwierdzoną chorobą nowotworową, dla których dodatkowa analiza genetyczna może przynieść korzyści. Wyniki badań uzyskanych przy użyciu tego testu muszą być zinterpretowane przez właściwy personel medyczny z uwzględnieniem innych danych klinicznych, historii chorób w rodzinie i wyników laboratoryjnych. Produkt przeznaczony jest wyłącznie do użytku w profesjonalnych ośrodkach diagnostycznych.

^(a) U.S. Pat. Nos. 7,749,706 and 7,902,343

^(b) U.S. Pat. No. 9,139,868, European Pat. No. 2972229 and other patents pending.

^(c) TMR-ET, CXR-ET and WEN dyes are proprietary.



W razie pytań, zapraszamy do kontaktu z naszym działem doradztwa technicznego:
Genetic@promega.com

TECHNOLOGIA DAJĄCA PEWNOŚĆ

ONCOMATE™ MSI

Dowiedz się więcej na:
promega.com/OncoMateInfo

Maxwell i QuantiFluor są rejestrowanymi znakami towarowymi firmy Promega Corporation. OncoMate jest znakiem towarowym firmy Promega Corporation. GeneMapper jest rejestrowanym znakiem towarowym firmy Thermo Fisher Scientific. OncoMate™ MSI Dx Analysis System i OncoMate™ 5C Matrix Standard są obecnie dostępne tylko w Wielkiej Brytanii oraz w wybranych krajach europejskich.



Promega GmbH

Gutenbergring 10
69190 Walldorf · Niemcy
www.promega.com

Zamówienia

Telefon +48 22 531 06 67
Faks +48 22 531 06 69
pl_custserv@promega.com

Doradztwo Techniczne

Telefon +48 22 531 06 68
Faks +48 22 531 06 69
pl_techserv@promega.com

Dołącz do nas

 @promegagmbh
 Promega Corporation
 Promega Corporation