

# Molekularpathologie

Real-Time PCR Kits – MSI und MLH1 Methylierung



## AmoyDx<sup>®</sup> Microsatellite Instability (MSI) Detection Kit und AmoyDx<sup>®</sup> MLH1 Methylation PCR Kit

Nachweis der Mikrosatelliten-Instabilität sowie DNA-Methylierung des Gens MLH1 an genomischer DNA aus FFPE-Gewebe

Die Fehlfunktion der DNA-Mismatch-Reparatur (MMR) spielt eine entscheidende Rolle bei der Tumorentstehung, unter anderem bei einem Subtyp des kolorektalen Karzinoms. Eine beeinträchtigte MMR manifestiert sich neben zahlreichen somatischen Mutationen auch als Mikrosatelliten-Instabilität (MSI) im Tumorzellgenom. Ursprung eines Ausfalls der MMR-Funktion ist das Fehlen eines oder mehrerer der MMR-Proteine MLH1, MSH2, MSH6, oder PMS2. Der Expressionsverlust von MSH2, MSH6 und PMS2 ist meist auf Mutationen in dem jeweiligen Gen zurückzuführen, ein MLH1-Verlust wird dagegen häufig durch eine Hypermethylierung in der Promotorregion des Gens verursacht [1].

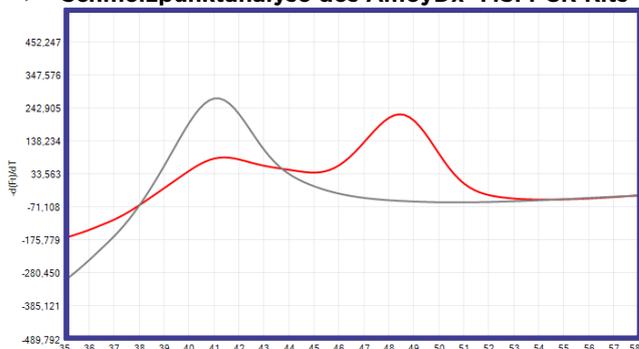
Das **AmoyDx<sup>®</sup> Microsatellite Instability (MSI) Detection Kit** ist ein Real-Time PCR-basierter Assay für den qualitativen Nachweis der MSI beim kolorektalen Karzinom. An acht Mononukleotid-Markern wird der MSI-Status der Tumorprobe anhand einer Schmelzkurvenanalyse bestimmt. In einer unabhängigen Vergleichsstudie an 100 italienischen Patienten zwischen dem MSI-Assay von AmoyDx<sup>®</sup> und einem kommerziellen Kit, das auf einer Fragmentlängenanalyse basiert, wurde eine Konkordanz von 100 % gefunden [2].

Das **AmoyDx<sup>®</sup> MLH1 Methylation PCR Kit** hingegen ist ein Real-Time PCR Assay, der qualitativ die *MLH1*-Promotormethylierung an bisulfit-modifizierter DNA an kolorektalen Karzinomen nachweisen kann.

### ► Funktionsprinzip des AmoyDx<sup>®</sup> MSI Detection Kits

Das AmoyDx<sup>®</sup> MSI Detection Kit basiert auf der HRM-Technologie (High Resolution Melting), bei der doppelsträngige PCR-Produkte im Anschluss an die PCR durch steigende Temperaturen in Einzelstränge aufgetrennt werden. Spezifische fluoreszenzmarkierte Sonden machen die PCR-Produkte sichtbar. Jedes PCR-Produkt schmilzt bei einer spezifischen Temperatur, wobei die Fluoreszenz des PCR-Produktes abnimmt. Bei einer instabilen Probe können zwei PCR-Produkte über ihren spezifischen Schmelzpunkt detektiert werden. Insgesamt werden acht Mononukleotid-Marker in vier Multiplex-PCR-Reaktionen analysiert. In jeder Reaktion wird zusätzlich ein Referenzgen als interne Kontrolle (IC) analysiert.

### ► Schmelzpunktanalyse des AmoyDx<sup>®</sup> MSI PCR Kits



**Graue Kurve:** Bei einem stabilen MSI-Marker entsteht nur ein PCR-Produkt, das einen Peak in der Schmelzpunktanalyse erzeugt.

**Rote Kurve:** Eine Mikrosatelliten-instabile Probe resultiert meist in zwei PCR-Produkten, es sind zwei Peaks in der Schmelzpunktanalyse zu sehen.

Diese Produkte sind nur für Forschungszwecke bestimmt (RUO).

# Molekularpathologie

## Real-Time PCR Kits – MSI und MLH1 Methylierung



### ► Funktionsprinzip des AmoyDx® MLH1 Methylation Kits

Nach einer Bisulfid-Konvertierung wird die Promotorregion von *MLH1* mit methylierungsspezifischen Primern amplifiziert. Das Amplifikationsprodukt wird dann anhand einer FAM-gelabelten Sonde detektiert, um methylierte CpG-Stellen in *MLH1* zu detektieren. Als interne Kontrolle wird im selben Ansatz das Gen *GAPDH* mit VIC/HEX-gelabelten Sonden nachgewiesen.

### ► Spezifikationen

	AmoyDx® MSI Detection Kit	AmoyDx® MLH1 Methylation PCR Kit
Regulatorischer Status	RUO	RUO
Erfasste Parameter	MSI-Status	Methylierung von <i>MLH1</i>
Validierte Real-Time PCR-Geräte	LightCycler® 480 II, cobas® z 480 und SLAN®-96S*	LightCycler® 480 II, cobas® z 480, QuantStudio™ 5, ABI™ 7500 und SLAN®-96S*
Probenmaterial	DNA aus FFPE-Gewebe	Bisulfid-behandelte DNA aus FFPE-Gewebe
DNA-Konzentration pro Probe (Spektrophotometer-Messung z. B. NanoDrop™*)	≥ 5 ng /µl	≥ 10 ng /µl

\* LightCycler und cobas sind eingetragene Markennamen der Firma Roche Diagnostics, QuantStudio, ABI und NanoDrop sind eingetragene Markennamen der Firma Thermo Fisher Scientific und SLAN ist ein eingetragener Markenname der Firma Shanghai Hongshi Medical Technology Co.,Ltd.

### ► Produktinformation

Bezeichnung	Menge	Format	Status	Bestell-Nr.
<b>AmoyDx® Microsatellite Instability (MSI) Detection Kit</b> Nachweis der Mikrosatelliten-Instabilität in acht Mononukleotid-Markern an genomischer DNA aus FFPE-Gewebe	1 Kit (24 Tests)	pre-loaded	RUO	ADX-MS01-BR ADX-MS01-DR
<b>AmoyDx® MLH1 Methylation PCR Kit</b> Nachweis der DNA-Methylierung des Gens <i>MLH1</i> an genomischer DNA aus FFPE-Gewebe	1 Kit (24 Tests)	Bulk	RUO	ADX-MM01-R

### ► AmoyDx® Real-Time PCR-Gerät

Bezeichnung	Status	Bestell-Nr.
<b>SLAN®-96S Real-Time PCR System*</b> Gerät verfügt über einen 96 x 0,2 ml Peltier-Heizblock, eine 4,0 °C/s max. Heizrate, eine Temperaturgenauigkeit ± 0,10 °C, 4 Fluoreszenzkanäle (FAM, HEX, ROX, Cy5) und eine Deckelheizung	CE/IVD**	SLAN-96S

\*Verfügbar in Deutschland und Österreich, \*\*CE/IVD-zertifiziert gemäß IVD

### ► Literatur

[1] Zippl M und Jochum W. Mikrosatelliten-Instabilität. SZO 4:19-25, 2019

[2] Maloberti T et al. Evaluation of Microsatellite Instability via High-Resolution Melt Analysis in Colorectal Carcinomas. J. Mol. Pathol. 5:512-519, 2024



Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren örtlichen Außendienstmitarbeiter oder an unser MolPath-Team (MolPath-scientific@zytomeds.com)

Erfahren Sie mehr: [www.zyto-med-systems.de](http://www.zyto-med-systems.de)

**ZytoMed Systems GmbH** | Anhalterstraße 16 | 14163 Berlin | Fon +49 30 804 984 990 | Fax +49 30 804 984 999 | [info@zyto-med-systems.de](mailto:info@zyto-med-systems.de)  
Lagerstraße 1-5 | Bauteil 1/2. OG/Top 11 | A-2103 Langenzersdorf | Fon +43 664 15 77 889 | [info@zyto-med-systems.de](mailto:info@zyto-med-systems.de)  
**ZytoMax Schweiz GmbH** | Europaallee 41 | CH-8004 Zürich | Fon +41 79 965 68 67 | [info@zytomax.ch](mailto:info@zytomax.ch)