



ALK-Nachweis an NSCLC im NordiQC-Ringversuch

Im Rahmen des Ringversuches Run 45 von NordiQC vom September 2015 haben die teilnehmenden Labors immunohistochemische Färbungen mit ALK-Antikörpern an nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen (NSCLC) durchgeführt.

Während insgesamt 67% der Teilnehmer den Ringversuch erfolgreich absolviert haben, erhielten sämtliche Labors, die den Klon 1A4 (auch OT1A4) verwendet haben, ein „good“ oder „optimal“. Unter Verwendung des Antikörpers 1A4 haben damit 100% der Teilnehmer bestanden [1].

Den von OriGene Technologies entwickelten ALK-

Antikörper des Klons 1A4 [2] bietet Zytomed Systems seit Ende 2014 als in vitro-Diagnostikum (CE/IVD) für die Immunhistochemie am NSCLC an.

In unseren Labors verwenden wir den Antikörper am NSCLC in einer Verdünnung von 1:200. Im Ringversuch Run 45 wurde er von den verschiedenen Teilnehmern in Verdünnungen zwischen 1:50 und 1:1000 eingesetzt.

Auf der NordiQC-Website sind die Protokolle mehrerer Labors verfügbar, die mit 1A4 auf vollautomatischen Färbesystemen optimale Ergebnisse erzielt haben [3].

► Vorzüge des Klons 1A4:

- Der ALK-Antikörper des Klons 1A4 ermöglicht am NSCLC in hohen Verdünnungen die verlässliche Darstellung des ALK-Proteins am NSCLC.
- Dies gilt auch für Fälle mit niedriger Expression, die mit anderen ALK-Antikörpern negativ erscheinen.
- Bedingt durch die geringe Immunglobulinkonzentration auf dem Gewebeschnitt ergibt sich ein klares und eindeutiges Signal.
- Für den Einsatz des Antikörpers an verschiedenen vollautomatischen Immunfärbesystemen sind optimierte Protokolle verfügbar.
- Die hohe Verdünnbarkeit des konzentrierten Antikörpers macht die ALK-Immunhistochemie wirtschaftlich durchführbar. Während andere ALK-Antikörper bei NSCLC meist 1:10 bis 1:100, oft in der Größenordnung von 1:20, verwendet werden müssen, ist 1A4 in Verdünnungen von 1:100 bis 1:200, gelegentlich auch noch höher verdünnt, einsetzbar.

► ALK-Antikörper (Klon 1A4) für Formalin fixierte Paraffinschnitte

Bezeichnung	Vorbehandlung	Verdünnung	Menge	Bestell-Nr.
ALK Klon: 1A4 Wirt: Maus	HIER in EDTA Puffer pH 9.0	1:100 – 1:200	0,1 ml	C0001MA01-MA
			0,5 ml	C0001MA05-MA

► Gen-Information

Gen	Bezeichnung	Synonyme	Gen-ID	Gen-Lokalisation
ALK	Anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase	CD246, NBLST3, ALK tyrosine kinase receptor	MIM105590	2p23.1

Immunhistochemischer Nachweis des ALK-Proteins an NSCLC: Vorbehandlung (HIER) in Tris-EDTA-Puffer pH 9.0
ALK-Antikörper 1A4 1:200

► Literatur

- [1] nordiqc.org/Assessments.htm (Anaplastic lymphoma kinase (ALK))
- [2] Shen Y *et al.* Development of a highly sensitive mouse monoclonal antibody for screening ALK-rearrangements in lung cancers. FASEB J 29:Meeting Abstract 417.11, April 2015
- [3] nordiqc.org/Protocols.htm (ALK – mAb OT1A4)
- [4] Gruber K *et al.* A novel, highly sensitive ALK antibody 1A4 facilitates effective screening for ALK rearrangements in lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. J Thorac Oncol 10:713-716, 2015
- [5] Wang Q *et al.* Antibody 1A4 with routine immunohistochemistry demonstrates high sensitivity for ALK rearrangement screening of Chinese lung adenocarcinoma patients: A single-center large-scale study. Lung Cancer 95:39-43, 2016

Weitere Produkte bei Zytomed Systems für den Nachweis von ALK-Translokationen

► Sonden für die *in situ*-Hybridisierung unserer Partnerfirma ZytoVision GmbH

FISH-Sonden

Bezeichnung	Markierung	Menge	Bestell-Nr.
ZytoLight® SPEC ALK Dual Color Break Apart Probe	Grün/Orange	50 µl (5 Tests)	Z-2124-50
		200 µl (20 Tests)	Z-2124-200
ZytoLight® SPEC ALK/EML4 TriCheck™ Probe	Grün/Orange/Blau	50 µl (5 Tests)	Z-2117-50
		200 µl (20 Tests)	Z-2117-200

CISH-Sonden

Bezeichnung	Markierung	Menge	Bestell-Nr.
ZytoDot® 2C SPEC ALK Break Apart Probe	DIG/DNP	100 µl (10 Tests)	C-3055-100
		400 µl (40 Tests)	C-3055-400

► Real-Time PCR Kits unserer Partnerfirma AmoyDx®

Bezeichnung	Format	Menge	Bestell-Nr.
EML4-ALK Fusion Gene Detection Kit	pre-loaded	1 Kit (12 Tests)	ADX-AE02
	Bulk	1 Kit (24 Tests)	ADX-AE01
ALK Gene Fusions and ROS1 Gene Fusions Detection Kit	pre-loaded	1 Kit (8 Tests)	ADX-AR01

Hinweis: AmoyDx® Kits sind in zwei Formaten erhältlich. Im „pre-loaded“-Format sind spezifische PCR-Mixe (Puffer, Primer, Sonden und Nucleotide) bereits in PCR-Tube-Strips vorgelegt. Der Anwender fügt lediglich die Proben-DNA und die ebenfalls im Kit enthaltene Taq-Polymerase hinzu. Im Falle der „Bulk“-Kits liegen die PCR-Mixe in größerer Abfüllung vor und der Anwender pipettiert diese selbst in geeignete PCR-Gefäße. Die PCR-Assays sind kompatibel mit vielen gängigen Real-Time PCR-Geräten.