

DIE TECHNOLOGIE DER GEWISSHEIT

ONCOMATE™ MSI



CE-zertifiziert

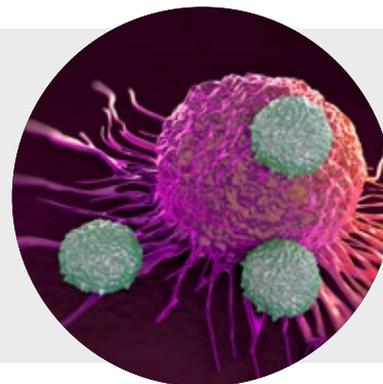
Was ist das OncoMate™ MSI Dx Analysis System?

Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System ist ein CE-zertifiziertes IVD-Medizinprodukt zur Charakterisierung des Status der Mikrosatelliteninstabilität (MSI) eines Tumors. Der Test ermöglicht Ärzten eine funktionale Messung eines DNA-Mismatch-Reparaturdefekts im Tumorgewebe des Patienten.

Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System liefert aussagekräftige Testergebnisse, die, gestützt durch eine Vielzahl globaler klinischer Leitlinien, zu einer besseren Entscheidung über eine mögliche Immuntherapie verhelfen. Darüber hinaus ermöglicht der Test die Erkennung von erblichen Krebserkrankungen wie dem Lynch-Syndrom.

Patienten mit MSI-H-Tumoren sprechen nachweislich mehr auf eine Immuncheckpoint-Inhibitor-Therapie an.

Tumore mit MSI-H-Status exprimieren tumorspezifische Antigene, welche zur Infiltration des Tumors durch Lymphozyten führen können. Einige Tumore können die Immunantwort des Körpers durch die Expression von PD-L1 blockieren. Diese Tumor-induzierte Hemmung der Immunzellaktivität kann mit Hilfe von Immuncheckpoint-Inhibitor-Therapien überwunden werden, welche die Immunantwort gegen die Tumorzellen sowie das generelle Ansprechen des Patienten auf die Therapie verstärken.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.

Mehr Wissen als Basis für die Wahl der besten Behandlung

Der Goldstandard zur Erforschung von MSI ist jetzt als CE-IVD-Test erhältlich, um diagnostischen Laboren einen einfachen Zugang zu dieser Technik zu ermöglichen. Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System ist ein CE-zertifiziertes IVD-Medizinprodukt, basierend auf denselben MSI-Loci, die sich in beinahe zwei Dekaden globaler klinischer Forschung als zuverlässig bewährt haben. Der Test dient in der Diagnostik bei Krebspatienten als Grundlage für die Wahl der vielversprechendsten Behandlungsoption.

**DNA aus soliden
Tumoren**

~ 2,5 Stunden
von der DNA zum
Ergebnis

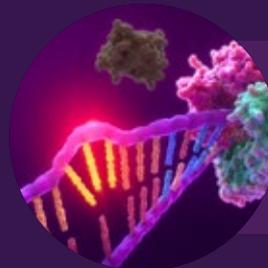
≤1 FFPE
Schnitt benötigt

1 ng
DNA

Was ist MSI?

Die Akkumulation von Insertions- oder Deletionsfehlern in repetitiven Mikrosatellitensequenzen in Krebszellen wird als Mikrosatelliteninstabilität bezeichnet und ist die Folge einer defekten Funktion eines oder mehrerer der wichtigsten DNA-Mismatch-Reparaturproteinen (dMMR).

Repetitive Mononukleotid- (homopolymere) Mikrosatellitensequenzen, die über das gesamte Genom verteilt vorkommen, sind besonders anfällig für Transkriptionsfehler. Daher ist eine gehäuft auftretende Mikrosatelliten Instabilität (MSI-H) ein Marker für Mutationen in bedeutenden DNA-MMR-Genen oder deren Ausschaltung durch Methylierung.



Erfahren Sie
mehr

Warum sollte man auf MSI testen?

Da MSI in hohem Maße mit dem Lynch-Syndrom korreliert und in jüngster Zeit mit dem Ansprechen auf Immuncheckpoint-Inhibitoren-Therapeutika in Verbindung gebracht wird, empfehlen mehrere Fachrichtungen die Analyse des MSI-Status und/oder der DNA-Mismatch-Reparaturprotein-Expression (dMMR durch IHC) für viele verschiedene Krebsarten.⁴⁻⁹

Weltweit führende Vereinigungen von Onkologen, wie die Europäische Gesellschaft für Medizinische Onkologie (ESMO), das National Comprehensive Cancer Network und die American Society of Clinical Oncology, befürworten eine universelle Früherkennung von Darm- und Gebärmutterhalskrebs durch MSI, um Kandidaten für weitere diagnostische Tests auf das Lynch-Syndrom zu identifizieren.^{4,5,9}

ESMO erkennt die unterstützende Bedeutung von MSI- und dMMR-Tests an, um die Eignung von Patienten für Immuncheckpoint-Inhibitoren-Therapien zu ermitteln. Die Empfehlungen für MSI-Tests zu diesem Zweck wurden in der Literatur zusammengefasst.^{8,9}

Die ESMO-Arbeitsgruppe für Translationale Forschung und Präzisionsmedizin empfiehlt MSI-Tests für das Spektrum der Lynch-Syndrom-Tumoren, weil die Immuncheckpoint-Inhibitoren bei diesen Krebsarten von potenziellem Nutzen sein kann und weil die Identifizierung des Lynch-Syndroms auch weiteren Familienmitgliedern zugutekommen kann. Sie empfehlen, MSI-Tests durch PCR und dMMR-Bestimmung durch IHC parallel einzusetzen.

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.

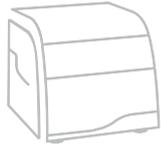
⁷Le, D.T. *et al.* (2017) Mismatch-repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 10.1126/science.aan6733.

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.

Über Nacht von der Probe zum Ergebnis

Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System fügt sich in einen breiten Workflow von der DNA-Extraktion aus Formalin-fixierten Paraffin-eingebetteten (FFPE) Gewebeprobe, über Quantifizierung der DNA, Amplifikation bestimmter Mikrosatellitenmarker mittels Multiplex-PCR, Separierung der Fragmente mit Kapillar-Elektrophorese, bis zur Datenanalyse und Interpretation ein.



Isolierung der DNA

aus FFPE-Proben



Quantifizierung der DNA

mittels fluoreszenzbasierter Reagenzien und Messgerät



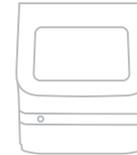
Amplifizierung der DNA

mittels OncoMate™ MSI Dx Analysis System



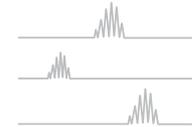
Kalibrierung des Farbspektrums

mittels OncoMate™ 5C Matrix Standard



Separierung und Detektion der Fragmente

mittels Kapillar-Elektrophorese-Instrument mit Fluoreszenzdetektion.



Datenanalyse und Berichtserstellung

mittels Fragment-Analysesoftware

Gesamtzeitaufwand: weniger als 10 Stunden oder über Nacht

Benötigte Materialien und Methoden

- FFPE-Gewebeprobe (1 ng DNA), jeweils aus normalem sowie Tumorgewebe
- DNA-Extraktionsmethode (z.B. *Maxwell® CSC Instrument mit Kit*)
- farbstoffbasierte dsDNA-Quantifizierungsmethode (z.B. *QuantiFlour® dsDNA System*)
- Thermocycler
- Gerät zur Kapillar-Elektrophorese
- OncoMate™ MSI Dx Analysis System
- OncoMate™ 5C Matrix Standard
- Fragmentanalyse-Software (z.B. *GeneMapper® Software*)

Test-Spezifikationen

Anforderungen an das Probenmaterial

FFPE-Proben von Normal- und Tumor-Gewebe mit einem Volumen von 0,1–2,07 mm³. Die Tumorprobe sollte mindestens 20 % verwertbare Tumorzellen enthalten.

DNA-Menge und -Qualität

Verwendung von 1 ng je Reaktion, quantifiziert mittels Fluoreszenzfarbstoff oder qPCR. Beide Methoden eignen sich zur verlässlichen Quantifizierung stark fragmentierter DNA aus FFPE-Proben

Thermocycler

Verwendung eines Thermocyclers mit Temperaturänderungsraten von 3,9°C – 5,0°C pro Sekunde.

Datenanalyse-Software

Rohdaten bestehend aus einem Mix von Fragmentlängen (65 bp bis 300 bp) mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen (5 Farben) werden geordnet dargestellt, die Allelgröße wird berechnet und der dazugehörige Marker ermittelt, sowie die Peaks entsprechend gekennzeichnet. Ergebnisse können ausgedruckt und exportiert werden.

Spektrale Kalibrierung

Vor der ersten Analyse muss eine Kalibrierung des Kapillar-Elektrophorese-Gerätes mit dem OncoMate™ 5C Matrix Standard (Katalog-Nr. MD3850) durchgeführt werden.

Kapillar-Elektrophorese

Folgende Spezifikationen sind erforderlich:

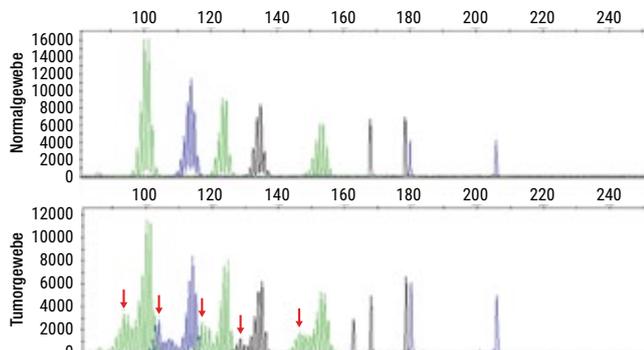
- Auflösung von 1 bp im Bereich von 60 bp \geq 300 bp Fragmentlänge
- Präzision der Größenordnung von \leq 0,15 bp über einen Bereich von 60 bp \geq 300 bp.
- Möglichkeit zur Kalibrierung und Detektion einer 5-Kanal-Messung mit Anregungs-Wellenlängen im Bereich von 480 nm bis 520 nm und einer Detektionsoptik für einen Bereich von ungefähr 500 nm bis 630 nm.

Informationen zu Biomarkern und Loci

Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System enthält Fluoreszenz-markierte Primer für die gleichzeitige Amplifikation von sieben Mikrosatellitenmarkern: fünf Mononukleotid-STR-Marker (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 und Mono-27) sowie zwei Pentanukleotid-Marker (Penta C und Penta D).

Die Mononukleotid-Marker dienen der Analyse des MSI-Status, wofür sie aufgrund ihrer hohen Sensitivität und Spezifität für Mismatch-Reparaturdefekte geeignet sind. Letztere äußern sich durch Veränderungen der Wiederholungszahlen der repetitiven Sequenzen der einzelnen Loci und werden damit sichtbar in veränderten Amplikonlängen. Die Pentanukleotid-Marker wurden aufgrund ihrer hohen Polymorphie in den Test mit aufgenommen, um sicherzustellen, dass das Probenpaar aus Normal- und Tumorgewebe vom selben Patienten stammt.

Test-Prinzip



Die Instabilität wird ermittelt durch PCR-Amplifikation von Normal- und Tumorgewebe einer Patientenprobe, gefolgt von der Fragmentgrößen-Analyse auf einem Kapillar-Elektrophorese-Gerät. Instabile Loci im Tumorgewebe werden durch rote Pfeile angezeigt.

Target Markers

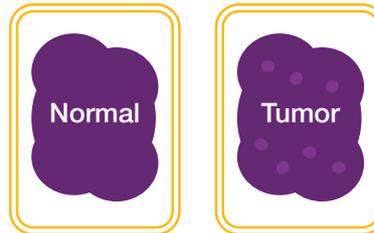


NCI empfohlen, überarbeitetes Bethesda-Panel mit zwei Pentanukleotid-Markern.¹⁰

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

Benötigte DNA-Menge

Nur 1 ng amplifizierbare DNA pro Reaktion benötigt.

Anforderung an das Probenmaterial

FFPE-Proben von Normal- und Tumorgewebe mit einem Volumen von 0,1–2,0 mm³. Die Tumorprobe sollte mindestens 20% verwertbare Tumorzellen enthalten.

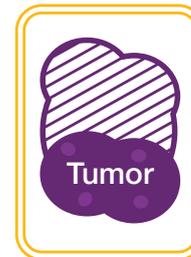
Testdauer

Eine schnelle Multiplex-Reaktion mit ausbalancierter Genauigkeit und Effizienz, welche in nur 2,5 Stunden eine Aussage zur eingesetzten DNA liefert.

Valide Ergebnisse bei minimalem Probeneinsatz

Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System liefert ein MSI-Ergebnis mit einem Bruchteil der DNA aus nur einem FFPE-Schnitt. Eine Tumorprobe mit einem Tumorgehalt von $\geq 20\%$ reicht aus, um mit dem System zuverlässiges ein Ergebnis zu erhalten.

Eine Konkordanz-Studie an Darmkrebs-Patienten, bestätigt die Vergleichbarkeit der Ergebnisse des OncoMate™ MSI Dx Analysis Systems mit der Immunhistochemie. Es bietet damit die Möglichkeit der Identifikation von Patienten, die von weiteren diagnostischen Tests profitieren können.



≤ 1 FFPE Schnitt

Produktinformationen

OncoMate™ MSI Dx Analysis System (Katalog-Nr. MD3140)

| Komponente | Teilnummer | Menge |
|-----------------------------|------------|--------------|
| 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 (Katalog-Nr. MD3850)

| Komponente | Teilnummer | Menge |
|------------------------|------------|------------|
| Matrix Dilution Buffer | MD191A | 5 × 200 µl |
| 5C Matrix Mix | MD430A | 1 × 150 µl |



Bestimmungsgemäßer Gebrauch

Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System ist ein Test zur Bestimmung des Mikrosatelliteninstabilitäts-Status solider Tumoren mittels PCR von aufgereinigter DNA aus menschlichen FFPE-Gewebeproben.

Es erzeugt Fragmentgrößen-Profile der Allele von Mikrosatellitenmarkern aus FFPE-Gewebeproben von Tumor- und Normalgewebe desselben Patienten mittels PCR der DNA, gefolgt von einer Größenseparierung der amplifizierten Marker mittels Kapillar-Elektrophorese. Der MSI-Status wird erhoben durch den Vergleich der Allel-Profile. Eine Erhöhung oder eine Reduzierung der Anzahl an Wiederholungen der DNA-Sequenzen in den Tumorzellen im Vergleich zur DNA aus normalen Zellen desselben Patienten, zeigt MSI an. Deshalb müssen Normal- und Tumorgewebe desselben Patienten zusammen getestet werden, um aus deren Vergleich ein gültiges Ergebnis zu erhalten.

Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System ist nicht für die Diagnose spezifischer Erkrankungen bestimmt. Es ist für Patienten bestimmt, die bereits eine bestätigte Krebsdiagnose haben und von einer zusätzlichen genetischen Analyse profitieren könnten. Durch die Anwendung des Produkts erhaltene Testergebnisse müssen von geeignetem medizinischem Personal analysiert und in Verbindung mit anderen klinischen Befunden, Familien-Historie und weiteren Laboraten interpretiert werden. Das Produkt ist ausschließlich für den Gebrauch im professionellen diagnostischen Bereich geeignet.

^(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.



Wie können wir Ihnen helfen?
Kontaktieren Sie unseren technischen
Service unter:
Genetic@promega.com

DIE TECHNOLOGIE DER GEWISSHEIT

ONCOMATE™ MSI

Weitere Informationen finden Sie hier:
[promega.com/OncoMateInfo](https://www.promega.com/OncoMateInfo)

Maxwell und QuantiFluor sind registrierte Handelsmarken der Promega Corporation. OncoMate ist eine Handelsmarke der Promega Corporation.

GeneMapper ist eine registrierte Handelsmarke von Thermo Fisher Scientific.

Das OncoMate™ MSI Dx Analysis System und die OncoMate™ 5C Standards sind derzeit nur in Großbritannien und ausgewählten europäischen Ländern erhältlich.



Promega GmbH

Gutenbergring 10
69190 Walldorf
www.promega.com

Bestellungen, Preis- und Lieferanfragen

Telefon +49 6227 6906-291
Fax +49 6227 6906-222
de_custserv@promega.com

Fragen zu Produktanwendungen

Telefon +49 6227 6906-290
de_techserv@promega.com

Folgen Sie uns online

 @promegagmbh
 Promega Corporation
 Promega Corporation