

Metilazione del promotore del gene MGMT (O⁶-methylguanine DNA methyltransferase)

CATALOGO

REF: *ONC-001-25*
Codice *CND: W01060299*
Codice *RDM: 2256631/R*
Test: *25 Reazioni: 31 x 2*
Produttore: *BioMol Laboratories s.r.l.*

CONTENUTO DEL KIT

Il kit è composto da: reagenti per la modificazione con sodio bisolfito e per l'amplificazione in MSP- PCR
**non forniti nel kit i reagenti per la estrazione di DNA genomico.*

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO



INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

Dispositivo appartenente alla famiglia di dispositivi medici in vitro **REAL-TIME PCR QUALITATIVA IN EPIGENETICA**. Determinazione dello stato di metilazione del promotore del gene MGMT (O⁶-methylguanine DNA methyltransferase) mediante tecnica MSP (methylation-specific PCR) e successiva rilevazione mediante tecnica Real-Time PCR. Kit ottimizzato per strumentazione real-time PCR Biorad CFX96 Dx, Biorad Opus Dx e Agilent AriaDx.

BASI SCIENTIFICHE

La DNA O⁶-metilguanina metiltransferasi (MGMT) è un enzima di riparo del DNA codificato dal gene MGMT presente nel locus 10q26. L'enzima MGMT rimuove i gruppi alchilici dalla posizione O⁶ della guanina agendo da sé come accettore, e tale reazione porta ad una inattivazione irreversibile dell'enzima. La trascrizione di MGMT è regolata da meccanismi epigenetici. La metilazione dei dinucleotidi CpG nella regione del promotore di MGMT determina, infatti, silenziamento genico, perdita di espressione di MGMT ed incapacità di rimuovere gruppi alchilici dalla guanina metilata con conseguente alterazione della normale struttura del DNA.

§ Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. Proc Natl Acad Sci U S A 1996 Sep 3; 93(18): 9821-9826.

§ Role of MGMT as biomarker in colorectal cancer. World J Clin Cases 2014; 2(12): 835-839.

§ Characterizing DNA methylation alterations from The Cancer Genome Atlas. J Clin Invest 2014; Jan 2; 124(1): 17-23.

§ Detection of aberrant promoter hypermethylation of tumor suppressor genes in serum DNA from non-small cell lung cancer patients. Cancer Res 1999 59: 67-70.

SIGNIFICATO CLINICO

MGMT protegge le cellule normali dagli agenti cancerogeni, ma l'attività di MGMT protegge anche le cellule tumorali dagli effetti letali della chemioterapia con agenti alchilanti come la dacarbazina (DTIC) o il temozolomide (TMZ), ampiamente utilizzati per il trattamento del melanoma e del glioblastoma. MGMT rimuove, infatti, i gruppi metilici dalla posizione O⁶ delle guanine, rendendo in tal modo inefficace la TMZ. Nei glioblastomi la metilazione del promotore di MGMT è predittivo del beneficio terapeutico dell'agente alchilante temozolomide, come mostrato in diversi studi clinici di fase III, e lo stato di metilazione del gene MGMT è diventato il primo biomarcatore predittivo in neuro-oncologia.

La metilazione del promotore del gene MGMT gioca un ruolo importante anche nella carcinogenesi del colon-retto, verificandosi in circa il 30% -40% del cancro del colon-retto metastatico. Il suo ruolo prognostico non è ancora stato definito, ma la perdita di espressione di MGMT, che è secondaria alla metilazione del promotore del gene, si traduce in un'interessante alta risposta agli agenti alchilanti.

Metilazione del promotore del gene MGMT (O⁶-methylguanine DNA methyltransferase)

CATALOGO

REF: *ONC-001-25*
Codice *CND: W01060299*
Codice *RDM: 2256631/R*
Test: *25 Reazioni: 31 x 2*
Produttore: *BioMol Laboratories s.r.l.*

CONTENUTO DEL KIT

Il kit è composto da: reagenti per la modificazione con sodio bisolfito e per l'amplificazione in MSP-PCR
**non forniti nel kit i reagenti per la estrazione di DNA genomico.*

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO



CONTENUTO DEL KIT

DESCRIZIONE	ETICHETTA	VOLUME	CONSERVAZIONE
		ONC-001-25	
Reagente di conversione	Reagente di conversione	3 tubi	TA
Buffer di diluizione	Buffer A	900 µl	TA
Buffer	Buffer B	200 µl	TA
Buffer	Buffer C	15 ml	TA
Buffer di lavaggio	Buffer D	3 ml	TA
Buffer	Buffer E	5 ml	TA
Buffer	Buffer F	750 µl	TA
Colonnine	Colonnine	25	TA
Tubi di raccolta	Tubi di raccolta	25	TA
Mix oligonucleotidi	Mix A metilata 10X	1 x 85 µl	-20°C
Mix oligonucleotidi	Mix B non metilata 10X	1 x 85 µl	-20°C
Mix buffer ed enzima Taq polymerase	Mix Real time PCR 2X	1 x 850 µl	-20°C
H ₂ O deionizzata	H ₂ O deionizzata	2 x 1 ml	-20°C
DNA genomico o DNA ricombinante Metilato e non metilato	Controllo +	100 µl	-20°C

CARATTERISTICHE TECNICHE

COD. ONC-001-25

STABILITÀ	18 mesi
STATO DEI REAGENTI	Pronti all'uso
MATRICE BIOLOGICA	DNA genomico estratto da sangue intero, da tessuto, da cellule
CONTROLLO POSITIVO	DNA ricombinante per almeno 4 sedute analitiche
TECNOLOGIA	PCR in Real-time; oligonucleotidi e sonde specifiche; 1 canale di fluorescenza SYBR-GREEN/FAM
STRUMENTI PCR REAL TIME VALIDATI	Biorad CFX96 Dx, Biorad Opus Dx e Agilent AriaDx
TEMPO DI ESECUZIONE	150 min
PROFILO TERMICO	1 ciclo a 95 °C (15 min); 45 cicli 95 °C (40 sec) + 60 °C (40 sec) + 72 °C (40 sec); 1 ciclo di dissociazione a 70 °C con incremento di 0,2 °C
SPECIFICITÀ ANALITICA	Assenza di appaiamenti aspecifici di oligonucleotidi e sonde; assenza di cross-reattività
SENSIBILITÀ ANALITICA: LIMIT OF DETECTION (LOD)	≥ 2,5 ng di DNA modificato con sodio bisolfito
SENSIBILITÀ ANALITICA: LIMIT OF BLANK (LOB)	0% NCN
RIPRODUCIBILITÀ	99,9%
SPECIFICITÀ DIAGNOSTICA/SENSIBILITÀ DIAGNOSTICA	100%/98%