



# **AlphaReal MGMT Scheda Tecnica**

**Prodotto: AlphaReal MGMT**  
**Codice prodotto: RT 604.20.20**  
**Adempimenti regolatori: IVDD 98/79/CE**  
**N° Tests: 20**

### **Destinazione d'uso - Impatto clinico**

Il gene MGMT è situato sul cromosoma 10q26 e codifica una proteina di riparazione del DNA che rimuove i gruppi alchilici dalla posizione O6 della guanina, un sito importante per l'alchilazione del DNA. La riparazione del DNA consuma la proteina MGMT e la cellula si vede costretta a rimpiazzarla. Lesioni non riparate e provocate dalla chemioterapia, specialmente a livello delle O6-metilguanine, causano immediatamente citotossicità e apoptosi.

Livelli elevati di attività di MGMT nelle cellule cancerose generano un fenotipo resistente all'effetto terapeutico degli agenti alchilanti, fattore decisivo del fallimento della terapia antitumorale.

Nel contempo, il silenziamento epigenetico del gene MGMT tramite metilazione del promotore è associato ad una diminuzione dell'espressione di MGMT e ad una ridotta capacità di riparazione del DNA. Nel corso dello sviluppo del tumore, il silenziamento del gene tramite metilazione del DNA è un importante meccanismo precoce attraverso il quale vengono disattivati i geni onco-soppressori.

Il silenziamento epigenetico del gene MGMT (O-metilguanina-metiltransferasi) tramite metilazione del promotore è stato associato ad una sopravvivenza generalmente maggiore in pazienti con glioblastoma che, oltre alla radioterapia, sono stati sottoposti a chemioterapia con agenti alchilanti quali carmustina o temozolomide.

In particolare, solamente i pazienti con glioblastoma contenente un promotore di MGMT metilato beneficiano del trattamento con temozolomide.

E' quindi fondamentale conoscere lo stato di metilazione del promotore del gene MGMT nelle cellule tumorali del paziente al fine di evitare la somministrazione di un farmaco che si può rivelare fallimentare nel management del paziente e che andrebbe somministrato ai soli pazienti con la più alta possibilità di trarre beneficio da esso.

### **Principio del metodo**

Il kit AlphaReal MGMT è un dispositivo diagnostico in vitro che ha lo scopo di valutare lo stato di metilazione del promotore del gene MGMT come indicatori della risposta di tumori al cervello (gliomi) al trattamento con TMZ (temozolomide).

La metilazione del DNA nelle CpG islands del promotore del gene MGMT viene identificata mediante modificazioni chimiche del DNA genomico con bisolfito di sodio e successiva PCR sensibile alla metilazione (MSP).

**Il kit Alpha Real MGMT offre un risultato quantitativo dello stato di metilazione del promotore del gene MGMT grazie all'utilizzo di standard di DNA, di una curva di calibrazione e di un gene di riferimento.**

### **Strumentazione**

L'applicazione di tecniche di fluorescenza ai protocolli di PCR e l'utilizzo di una opportuna strumentazione in grado di combinare l'amplificazione, l'individuazione e la quantificazione, hanno portato allo sviluppo della PCR



cinetica e delle metodologie di PCR Real Time che stanno rivoluzionando la possibilità di quantificare gli acidi nucleici.

La PCR Real Time consente di amplificare e rilevare il segnale simultaneamente in un sistema chiuso, evitando il rischio di contaminazioni. L'acquisizione e l'analisi dei dati si ottengono in breve tempo, riducendo al minimo il tempo di manipolazione. L'intero processo, che parte dalla PCR Real Time e termina con la quantificazione, è automatico, il che rende questa soluzione ideale per applicazioni di screening ad altissimo rendimento.

Il kit è stato ottimizzato utilizzando gli strumenti Mx3000™ (Stratagene) e ABI Prism7000™ (Applied Biosystems), ma è compatibile anche con i seguenti termociclatori PCR Real Time presenti sul mercato (Stratagene Mx4000™, ABI Prism7300/7500/7900™, StepOne Plus).

### **Limitazioni nell'uso del prodotto**

Questo kit è utilizzabile esclusivamente per diagnosi in vitro. Il prodotto non può essere rivenduto alterandone il contenuto senza il consenso scritto da parte dell'azienda. Il prodotto deve essere utilizzato solo da personale specificamente istruito e formato sulle procedure diagnostiche in vitro.

### **Limitazioni del metodo**

La metilazione del promotore di MGMT viene identificata tramite PCR Real Time quantitativa metilazione sensibile solamente in seguito a solfonazione del campione di DNA e degli standard forniti nel kit.

Il kit AlphaReal MGMT non funziona su DNA fortemente frammentato causato da eccessiva fissazione.

Il limite di individuazione è condizionato dalla durata di fissazione in formalina. Se il tessuto è fissato per più di 24 ore, gli acidi nucleici saranno di scarsa qualità.

### **Sensibilità analitica**

Il limite di individuazione analitica (limite di sensibilità) del kit AlphaReal MGMT è di 30 alleli di MGMT metilati in 300.000 alleli di MGMT non metilati.

### **Controllo di qualità**

In accordo con il Sistema di Gestione della Qualità UNI EN ISO 13485:2012 dell'azienda, ogni lotto del kit AlphaReal MGMT è testato a fronte di specifiche predeterminate in modo da garantire la qualità del prodotto.

### **Tempistiche del saggio**

Estrazione del DNA da campioni freschi, freschi congelati e fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE): 20 minuti dopo la digestione in proteinasi K; Trattamento con bisolfito di sodio: 5 ore e 30 minuti; Purificazione del DNA: 20 minuti; PCR Real Time: 120 minuti; Analisi dei dati: 30 minuti.

Totale: 8 ore e 40 minuti dopo il trattamento in proteinasi K

Nota 1: Il tempo indicato si riferisce al processamento di un singolo campione

Nota 2: La tempistica del saggio dipende dal numero di campioni da processare

Nota 3: Il tempo di lavoro del singolo utente è di circa 3 ore.

## AlphaGenics Biotech

AREA Science Park- Basovizza  
Edificio Q1- Statale 14 Km 169,5  
34149 Trieste

Tel: +390403755682- Fax: +390403755681

Email: [info@alphagenicsbiotech.com](mailto:info@alphagenicsbiotech.com)

P.I.C.F 01251340327