

Studi teknik skoring status human epidermal growth factor receptor-2 (HER-2) pada jaringan kanker payudara dengan metode quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) = Study of human epidermal growth factor receptor-2 (HER-2) status scoring technique in breast cancer tissues by quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR) method

Farida Mirnawati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20444852&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Penelitian dilakukan untuk menentukan nilai cut-off dalam skoring status HER-2 pada pasien kanker payudara dengan metode qPCR. DNA genom sebanyak 72 sampel yang diekstraksi dari jaringan kanker payudara dianalisis menggunakan metode $\Delta\Delta\text{CT}$ untuk mengetahui jumlah salinan gen HER-2 sampel secara relatif yang telah diketahui statusnya oleh IHC. Jumlah salinan gen HER-2 dinyatakan sebagai rasio gen HER-2 terhadap gen acuan yang digunakan, yaitu whn. Kurva standar dihasilkan dari pengenceran serial plasmid standar pGEM-T easy HER-2 dan pGEM-T easy whn, dikembangkan untuk kontrol kualitas pengujian. Evaluasi kualitas qPCR yang optimal ditentukan dengan nilai koefisien determinasi (R^2) $>0,980$, persentase efisiensi dalam kisaran $90\% - 105\%$, dan konfirmasi produk spesifik dengan analisis melt peak dan elektroforesis gel. Nilai cut-off didapat dari perhitungan nilai kuartil untuk menetapkan batas negatif, borderline, dan positif amplifikasi HER-2 pada sampel. Hasil analisis qPCR dibandingkan kesesuaiannya terhadap status yang telah diperoleh dari evaluasi IHC sebelumnya. Kurva standar untuk kedua plasmid standar menunjukkan performa yang baik, dan konfirmasi sampel dengan analisis melt peak dan elektroforesis gel menunjukkan puncak dan pita tunggal spesifik. Nilai cut-off yang didapatkan dalam penelitian adalah $2,16$ untuk negatif, $>2,16$ dan $4,19$ untuk borderline, dan $>4,19$ untuk positif amplifikasi HER-2. Hasil analisis qPCR dengan nilai cut-off yang dibandingkan dengan status IHC menghasilkan kesesuaian 67% .

<hr>

ABSTRACT

The research aimed to determine cut-off value in HER-2 scoring status on breast cancer patients by qPCR method. Total of 72 genomic DNA samples extracted from breast cancer tissues were analyzed using $\Delta\Delta\text{CT}$ method to measure relatively HER-2 gene copy number of samples previously identified by IHC. HER-2 gene copy number was expressed as a ratio of HER-2 gene to the reference gene used, namely whn. Standard curve was generated by serial dilution of pGEM-T easy HER-2 and pGEM-T easy whn plasmid standard, developed for quality control assay. For evaluation, optimal qPCR assay was determined by coefficient of determination value (R^2) >0.980 , percentage of efficiency in the range of $90\% - 105\%$, and specific product was confirmed by melt peak analysis and gel electrophoresis. Cut-off value was obtained from quartile calculation to establish the status of negative, borderline, and positive amplification of HER-2 in the samples. Further, result of qPCR analysis was compared with IHC status. Standard curves for both plasmid standards showed a good performance, and confirmed by melt peak and gel electrophoresis showed single peak and single band specific. For the cut-off value, this study suggested 2.16 for negative,

>2.16 and ≤4.19 for borderline, and >4.19 for positive HER-2 amplification. The result of qPCR analysis with cut-off value was compared with IHC status has concordance 67%.