

IDENTIFICAZIONE DELLE MUTAZIONI PIÙ FREQUENTI NEL GENE CODIFICANTE IL RECETTORE DEL FATTORE DI CRESCITA EPIDERMICO (EGFR)

AMPLI-set EGFR RT

Cat. n. 2.003RT

EGFR (epidermal growth factor receptor) è un recettore di membrana tirosina chinasi appartenente alla famiglia dei recettori ErbB. Questo recettore, una volta legato il suo specifico ligando EGF (epidermal growth factor) e TGFb (transforming growth factor b), attiva molteplici vie di trasduzione del segnale che regolano vari processi cellulari: divisione, apoptosi, motilità, adesione.

Mutazioni dell'EGFR sono implicate in circa il 30% di tutti i tumori epiteliali. Circa il 90% delle mutazioni di *EGFR* comprendono una sostituzione di leucina con arginina in posizione 858 (L858R) e una delezione nell'esone 19, che influenza la sequenza conservata **ELREA (delE746-A750)**. Queste mutazioni causano un'attivazione costitutiva della porzione tirosinchinasica di EGFR, destabilizzando la sua conformazione autoinibente, normalmente mantenuta in assenza di ligando; queste mutazioni attivanti conferiscono ipersensibilità agli inibitori tirosinchinasi **gefitinib e erlotinib**. Diversi studi retrospettivi hanno evidenziato come le mutazioni di *EGFR* siano un fattore predittivo indipendente di risposta, *overall survival* (OS) e *progression-free survival* (PFS) in pazienti con **tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC)** trattati con **gefitinib**, la maggior parte dei quali sottoposti a precedente chemioterapia.

Il kit permette di individuare le delezioni, mutazioni e inserzioni nell'esone 18, 19, 20, 21 del gene EGFR (epidermal growth factor receptor) **Mutazione G719X (S,C,A) esone 18, Delezioni n. 31 E19del esone 19, Mutazioni n.2 L858R esone 21, Mutazione L861Q esone 21, Mutazione T790M esone 20, Mutazione S768I esone 20 e inserzione E20ins. Esone 20.** Utilizzando tecnologia Real-Time PCR Discriminazione Allelica. La ricerca viene eseguita mediante amplificazione con primer e probe specifici, in uso in una PCR preconstituita ed aliquotata in una strips da 8 tubi per singolo campione in modo che ogni tubo corrisponde ad una mutazione. In ogni tubo delle singole mutazioni è inserito un controllo di amplificazione del DNA che verrà rivelato sul canale HEX/VIC, mentre le mutazioni vengono rivelate sul canale FAM.

Principio del metodo: A) estrazione del DNA, B) Real-Time PCR.

Applicabilità: Su DNA genomico estratto e purificato da campioni di tessuto fresco/incluso in paraffina. fcDNA (DNA libero circolante)

Numero di test: 12x8

Stabilità: superiore a 12 mesi se correttamente conservato

COMPONENTI DEL REAGENTE 1 PER TUBO E MUTAZIONI DEL GENE EGFR

CONTENUTO DEL KIT E SUA CONSERVAZIONE

CONTENUTO	QUANT.	COMPONENTI
EGFR mix PCR Reagente 1	12 strips x 8 tubi da 17 µl	Il tubo A contiene primers, probe e dNTPmix per referenza interna alla PCR (IR) i tubi da B ad H contengono primers e probe specifici per ogni mutazione da analizzare e dNTPmix
Taq DNA Polimerase	1 tubo 40 µl	Polimerase
EGFR Controllo Positivo	1 tubo 60 µl	Mutazioni del gene EGFR (IR) e frammento di controllo interno (IC)

TUBO	MUTAZIONE	SITO DI RIVELAZIONE	SEGNALE DEL CANALE
A	IR	Gene	FAM
B	G719X	EGFR esone 18 G719X	FAM e HEX/VIC
C	E19del	EGFR esone 19- 31 delezioni	FAM e HEX/VIC
D	L858R	EGFR esone 21 L858R- 2 delezioni	FAM e HEX/VIC
E	L861Q	EGFR esone 21 L861Q	FAM e HEX/VIC
F	T790M	EGFR esone 20 T790M	FAM e HEX/VIC
G	S768I	EGFR esone 20 S768I	FAM e HEX/VIC
H	E20ins	EGFR esone 20 E20ins.- 6 mutazioni	FAM e HEX/VIC

Bibliografia:

Karapetis et al., *N Engl J Med.* 2008 Oct 23;359(17):1757-65. \$2.
D. Lambrechts, W. De Roock, et al. (2009) *Journal of Clinical Oncology, ASCO Annual Meeting Proceedings.* vol 27, n. 15S: 4020§3.
De Roock W, et al., *L 12) Int J Cancer:* 102, 623-628 (2002).