

BASI SCIENTIFICHE

La traslocazione t (15;17) (q22;q21) è associata alla leucemia promielocitica acuta (APL), una distinta leucemia mieloide acuta (AML) con citomorfologia M3, che rappresenta circa il 10-15% delle AML. I due geni coinvolti nella t(15;17) sono PML, codificante per un nuovo fattore di trascrizione, sul cromosoma 15 ed il gene del recettore- α dell'acido retinoico (RARA) sul cromosoma 17. La proteina chimerica PML-RARA prodotta da questa traslocazione è un repressore trascrizionale.

I breakpoint del cromosoma 17 sono localizzati entro un frammento di DNA di 15 kb nell'introne 2 di RARA. In contrasto, tre regioni del locus PML sono coinvolte nei breakpoint di traslocazione: introne 6 (bcr1; 55% dei casi), esone 6 (bcr2; 5% dei casi) e introne 3 (bcr3; 40% dei casi). Di conseguenza, ci sono tre possibili isoforme PML-RARA, tipo bcr1 o L (per long), tipo bcr2 o V (per variant) e tipo bcr3 o S (per small).

SIGNIFICATO CLINICO

Nell'ultimo decennio, l'acido all-trans-retinoico (ATRA) è usato per il trattamento della maggior parte dei pazienti APL. ATRA è un agente non tossico che attiva il recettore dell'acido retinico (RAR), inibisce la proliferazione e promuove la differenziazione dei promielociti leucemici. La quantificazione dei trascritti PML-RARA è rilevante per il monitoraggio e l'adattamento del trattamento. C'è un generale consenso sul fatto che una PCR positiva per PML-RARA dopo la terapia sia un forte elemento predittivo di una seguente ricaduta ematologica, mentre ripetuti risultati negativi sono associati ad una sopravvivenza a lungo termine. Il monitoraggio dei livelli di trascritti di fusione può essere utile per prevenire ricadute mentre il paziente è ancora in remissione ematologia e citogenetica.

INFORMAZIONI E PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

Nel kit QUANT PML-RARA bcr1 la Real-Time PCR è usata nel secondo step di un protocollo in due step: reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Il template cDNA prodotto da una reazione di trascrizione inversa, è amplificato dalla PCR usando una coppia di primers specifici e un probe interno marcato con due dyes (FAM-TAMRA). Durante la reazione, il taglio del probe, dovuto all'attività 5' nucleasica della Taq DNA Polymerase, separa il reporter dye (FAM) dal quencher dye (TAMRA), dando luogo ad un aumento di fluorescenza del reporter dye. L'accumulo di prodotti di amplificazione è rilevato direttamente monitorando l'aumento di fluorescenza del reporter dye. Nel kit QUANT-PML-RARA bcr1 un controllo endogeno (trascritto ABL) è amplificato nel campione così come il trascritto di fusione di interesse. Inoltre, curve standard di quantità note sia del controllo endogeno ABL che del cDNA di fusione permettono il calcolo della ratio tra il segnale dello specifico trascritto di fusione ed il segnale di ABL endogeno in ogni campione. Il kit QUANT PML-RARA bcr1 permette la quantizzazione dei trascritti PML-RARA bcr1 nel sangue periferico o in campioni di midollo osseo di pazienti AML in accordo con Europe Against Cancer studies (J. Gabert et al. Leukemia 2003).

CARATTERISTICHE TECNICHE

- **Principio del metodo:** A) estrazione RNA, B) sintesi cDNA da RNA totale C) Rivelazione con un sistema Real-Time PCR.
- **Applicabilità:** su RNA estratto e purificato da sangue periferico o cellule del midollo osseo.
- **Numero di test:** 24.
- **Stabilità:** fino alla data di scadenza indicata sul prodotto.
- **Specificità Analitica:** Assenza di appaiamenti aspecifici di oligonucleotidi e sonde; Assenza di cross-reattività.
- **Sensibilità Analitica:** **LOD** ~10 copie **LOB** 0% NCN.
- **Riproducibilità:** 99,9%.
- **Specificità e Sensibilità Diagnostica:** 100%/98%



UNI EN ISO 9001
UNI CEI EN ISO 13485

Il kit IVD è marcato CE.
Conforme alla direttiva 98/79