

BASI SCIENTIFICHE

Il riarrangiamento funzionale del gene IgH, prima DH a JH e successivamente V a DH-JH, è seguito dall'espressione dell'anticorpo, la caratteristica delle cellule B mature. Tali riarrangiamenti sono sfruttati come marker clonali nelle malattie linfoproliferative.

Il kit Ampli lymphoma B permette di identificare, mediante l'uso della Polymerase Chain Reaction (PCR), i riarrangiamenti della catena pesante (IgH). Il gene IgH è localizzato sul cromosoma 14q32.3 in un'area di circa 1250 Kb. In tutto, sono stati identificati 46-52 segmenti VH funzionali che possono essere raggruppati in base alla loro omologia in sei o sette sottogruppi VH.

Tutti i primers funzionano con alta efficienza e sensibilità (almeno 1×10^{-2}) e permettono una detection rate del 99%. L'uso combinato di primers standardizzati e marcati con fluorocromi in tre differenti FRs aiuta a diminuire significativamente la percentuale di risultati falsi negativi dovuti a ipermutazioni nei siti di legame dei primers dei segmenti VH coinvolti.

SIGNIFICATO CLINICO

I segmenti contengono tre regioni "framework - (FRI-II-III)" e due regioni "complementarity-determining - (CDRs)". Le FRs sono caratterizzate dalla loro somiglianza tra i vari segmenti VH, mentre le CDRs differiscono anche all'interno della stessa famiglia VH. Inoltre, le CDRs rappresentano le sequenze bersaglio preferite per le ipermutazioni somatiche nel corso della reazione germinale centrale, che aumenta la variabilità all'interno di quelle regioni. Sostituzioni nucleotidiche possono avvenire dentro le FRs, specialmente in cellule B in corso di un forte processo mutazionale. Ogni set di primers consiste di sei o sette oligonucleotidi capaci di riconoscere i corrispondenti segmenti VH (VH1-VH7) con nessun mismatch per la maggior parte dei segmenti VH e uno o al massimo due mismatches per alcuni rari segmenti VH. I primers sono utilizzati in associazione con un singolo primer consenso per JH, disegnato per appaiarsi ai sei segmenti JH.

L'elettroforesi capillare è in grado di distinguere i prodotti di amplificazione anche per la differenza di un singolo nucleotide. I prodotti dell'analisi del frammento di amplificazione appaiono come picchi di altezza ed area diversa in relazione alla quantità e alla dimensione (bp) del prodotto in riferimento allo standard utilizzato.

INFORMAZIONI E PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

Il kit Ampli lymphoma B fam permette di identificare, mediante l'uso della Polymerase Chain Reaction (PCR), i riarrangiamenti della catena pesante (IgH). I primers utilizzati sono: Fr2A e Fr3A, omologhi alle sequenze conservate delle regioni "framework II-III", e LJH e VLJH della regione "joining" (JH). La monoclonalità in una popolazione di cellule B è indicata dalla presenza di un singolo distinto frammento di amplificazione dopo elettroforesi su gel di agarosio. Nel caso di una popolazione policlonale il prodotto di amplificazione sarà generato da un numero elevato di geni riarrangiati Ig che daranno origine a frammenti di lunghezza variabile, e la policlonalità sarà quindi evidenziata su gel di agarosio dalla presenza di una banda diffusa (smear).

Il kit è aggiornato alle direttive europee stabilite dallo studio cooperativo BIOMED-2.

CARATTERISTICHE TECNICHE

- **Principio del metodo:** A) Estrazione del DNA
B) Amplificazione
C) Rivelazione su gel di agarosio
- **Applicabilità:** su DNA genomico estratto e purificato.
- **Numero di test:** 45.
- **Stabilità:** fino alla data di scadenza indicata sul prodotto.
- **Specificità Analitica:** Assenza di appaiamenti aspecifici di oligonucleotidi; Assenza di cross-reattività.
- **Sensibilità Analitica:** **LOD:** $\geq 2,5$ ng di DNA
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.