

BASI SCIENTIFICHE

La metilazione dei residui di citosina nel contesto delle "CpG islands" ha un importante effetto di regolazione sull'espressione genica. In particolare l'ipermetilazione delle "CpG islands" nella regione promotore di un gene reprime la trascrizione del gene stesso. In molti tumori è stata dimostrata l'ipermetilazione del promotore di geni oncosoppressori, quali p16, p15, E-caderina e di altri geni quali "DAP-kinase", gene inibitore della progressione metastatica, O6-metilguanina DNA metiltransferasi (MGMT), gene coinvolto nel riparo del DNA, l'enzima glutatione-S-transferasi (GSPT1) etc.

L'analisi dello stato di ipermetilazione può essere effettuata su DNA genomico estratto da tessuti o presente nel siero. E' noto, infatti, che il plasma ed il siero di pazienti portatori di neoplasie maligne contengono una quantità di DNA genomico circolante fino a 4 volte maggiore rispetto ai soggetti di controllo.

Il metodo prevede l'estrazione del DNA genomico da siero, sangue intero o tessuto, il trattamento del DNA con sodio bisulfito in modo da trasformare i residui di citosina non-metilati in uracile, l'amplificazione mediante Syber-Green Mix PCR con oligonucleotidi specifici per le sequenze metilate e non-metilate (MSP:methylation specific PCR). Questo colorante è in grado di legarsi al DNA a doppio filamento. Una volta che il legame ha avuto luogo la fluorescenza emessa (520nm) è proporzionale alla quantità di DNA legata. L'analisi viene eseguita da Real-Time PCR.

SIGNIFICATO CLINICO

La valutazione dello stato di ipermetilazione di un gene costituisce potenzialmente un sensibile marker molecolare per definire lo stato di rischio, ottenere una precoce diagnosi e tracciare una prognosi nelle malattie neoplastiche.

INFORMAZIONI E PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

Il kit permette l'identificazione dello stato di metilazione del promotore della proteina CDKN2A.

CARATTERISTICHE TECNICHE

- **Principio del metodo:** A) Estrazione del DNA genomico
B) Modificazione con sodio bisulfito
C) Amplificazione e Rivelazione con un sistema di Real-Time PCR.
- **Applicabilità:** su DNA genomico estratto e purificato da campioni di siero/plasma raccolto in EDTA.
- **Numero di test:** 25
- **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:** $\geq 2,5$ ng di DNA modificato con sodio bisulfito. **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.