

### BASI SCIENTIFICHE

Il protooncogene RAS (HRAS, KRAS e NRAS) codifica per una famiglia di proteine GDP/GTP coinvolte nella trasmissione del segnale all'interno della cellula per la crescita e la sopravvivenza cellulare. Il segnale è trasmesso e regolato a valle dalla via di segnalazione di EGFR (recettore del fattore di crescita dell'epidermide), di cui KRAS è una molecola chiave.

### SIGNIFICATO CLINICO

Mutazioni del gene KRAS portano a sviluppare resistenza ad anticorpi anti-EGFR, e i tumori dei pazienti con carcinoma colon-rettale metastatico vengono oggi analizzati per specifiche mutazioni di KRAS prima di ricevere Cetuximab o Panitumumab. Da ciò si evince il valore predittivo di un nuovo marker: lo status di KRAS, la cui analisi mutazionale, unita a quella dei geni NRAS, BRAF e PIK3CA, fornisce un quadro più completo delle varianti genetiche del CRC resistenti al cetuximab e permette una selezione più accurata dei pazienti idonei alla terapia.

### INFORMAZIONI E PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

Il kit Ampli KRAS Real-Time permette l'individuazione delle mutazioni a carico dei codoni 12, 13, 59, 61, 117 e 146 mediante Real Time PCR con l'uso di primers specifici e probes fluorescenti per rilevare le mutazioni del gene. Durante l'amplificazione, l'amplicone mutato è rilevato mediante un probe fluorescente marcato con FAM, mentre il DNA wild-type non emetterà fluorescenza nel canale FAM. La Real-Time PCR, rispetto ad altri metodi (sequenziamento, RFLP, etc), consente di individuare la mutazione anche quando è presente in una piccola percentuale di cellule (sensibilità 1-2% di cellule mutate; specificità 99%) e di identificare specificamente le mutazioni a carico dei codoni 12 (G12D, G12A, G12V, G12S, G12R, G12C), 13 (G13D, G13C), 59 (A59T), 61 (Q61K, Q61L, Q61R, Q61H), 117 (K117N) e 146 (A146T e A146P). Il saggio utilizza anche IC (controllo interno di amplificazione per verificare che l'esperimento sia eseguito correttamente) marcato con fluoroforo VIC/JOE.

### CARATTERISTICHE TECNICHE

- **Principio del metodo:** A) Estrazione del DNA genomico  
B) Amplificazione e Rivelazione con un sistema di Real-Time PCR.
- **Applicabilità:** su DNA genomico estratto e purificato da campioni di tessuto fresco/ incluso in paraffina, cfDNA (DNA libero circolante).
- **Numero di test:** 12
- **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:**  $\geq 0,025$  ng di DNA,  $< 1\%$   
**LOB:** 0% CN.
- **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.