

BASI SCIENTIFICHE

Il proto-oncogene 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). Mutazioni del gene KRAS sono associate a resistenza ad anticorpi anti-EGFR, i pazienti con carcinoma colon-rettale metastatico vengono oggi analizzati per specifiche mutazioni di KRAS prima di ricevere Cetuximab o Panitumumab; tuttavia la maggior parte dei pazienti con tumori KRAS wild-type (gene non-mutato) non-rispondono alla terapia. È possibile che in questi casi siano presenti altre mutazioni che attivino, in modo costitutivo, le due principali vie di trasduzione del segnale dell'EGFR, NRAS/BRAF/MAPK e PI3K-AKT.

SIGNIFICATO CLINICO

Da studi scientifici è emerso che pazienti con CRC metastatico, NRAS mutato e KRAS wild-type sono caratterizzati da un tasso di risposta alla terapia con anti-EGFR MoAb significativamente più basso e ridotta overall survival (OS) rispetto ai pazienti con CRC metastatico e NRAS/KRAS wild-type. Da ciò si evince il valore predittivo di un nuovo marker: lo status di NRAS, la cui analisi mutazionale, unita a quella dei geni KRAS, 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 NRAS 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 probe 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 (G12S, G12D, G12C, G12V, G12A), 13 (G13R, G13D, G13V), 59 (A59D), 61 (Q61K, Q61L, Q61R, Q61H), 117 (K117N) e 146 (A146T). Il saggio utilizza anche un controllo interno (C.I.) marcato con il fluoroforo VIC/HEX (contenuto all'interno delle Reaction Mix), usato come controllo di amplificazione per verificare che l'esperimento sia eseguito correttamente.

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:** $\geq 0,016$ 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.