

## IDENTIFICAZIONE DELLE MUTAZIONI PIÙ FREQUENTI NEL GENE NRAS CODONE 12 G12S, G12D, CODONE 13 G13R, G13D E CODONE 61 Q61K, Q61L, Q61R

**AMPLI-set NRAS RT**

**Cat. n. 1.433RT**

In seguito alla scoperta che il gene KRAS mutato è associato a resistenza ad anticorpi anti-EGFR ( recettore del fattore di crescita dell'epidermide), i tumori dei pazienti con carcinoma coloretale metastatico vengono oggi analizzati per 7 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. E' 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. 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.

**Il kit permette** l'individuazione delle mutazioni a carico del codone 12 e del codone 13 e 61 mediante PCR discriminazione allele-specifica e rivelazione in REAL-TIME PCR, grazie alla presenza di probe marcato con il fluorocromo FAM. Il presente kit, utilizza la tecnica PCR discriminazione allelica, che consente una rilevazione sensibile dell'allele wild-type (normale) e mutato con rivelazione in Real Time PCR. La PCR Real-Time discriminazione allele, 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 del codone 12 G12S, G12D, codone 13 G13R, G13D e nei codone 61 Q61K, Q61L, Q61R.

Il saggio utilizza anche IR (controllo interno di amplificazione per verificare la qualità e la quantità di DNA genomico di ciascun campione).

**Principio del metodo:** A) estrazione del DNA, B) Real-Time PCR.

**Applicabilità:** Su DNA genomico estratto e purificato da campioni di tessuto fresco/incluso in paraffina. fcDNA (DNA libero circolante)

**Numero di test:** 12x8

**Stabilità:** superiore a 12 mesi se correttamente conservato

### COMPONENTI DEL REAGENTE 1 DEL GENE NRAS DISCRIMINAZIONE ALLELICA

TUBO	Nome Codice	Sito di Rivelazione	Canale di Fluorescenza
A	IR	gene	FAM
B	Nras mutaz. 1	G12S	FAM e VIC/HEX
C	Nras mutaz. 2	G12D	FAM e VIC/HEX
D	Nras mutaz. 3	G13R	FAM e VIC/HEX
E	Nras mutaz. 4	G13D	FAM e VIC/HEX
F	Nras mutaz 5	Q61K	FAM e VIC/HEX
G	Nras mutaz 6	Q61L	FAM e VIC/HEX
H	Nras mutaz. 7	Q61R	FAM e VIC/HEX

### CONTENUTO DEL KIT E SUA CONSERVAZIONE

CONTENUTO	QUANT.	COMPONENTI
Reagente 1 NRAS Codone 12 ,13 e 61	12 strips x 8 tubi da 17 µl	Il tubo A di ogni strips contiene specifici primers probe e dNTPmix Per Referenza Interna, i tubi B-H contengono specifici primers, probe dNTPmix per le mutazioni NRAS gene specifico e controllo interno
Taq DNA Polimerase	1 tubo 40 µl	Polimerase
NRAS Controllo Positivo	1 tubo 60 µl	NRAS gene mutato, allele per RI e frammento di Controllo Interno

#### Bibliografia:

Karapetis et al., *N Engl J Med.* 2008 Oct 23;359(17):1757-65.\$2.  
D. Lambrechts, W. De Roock, et al.(2009) *Journal of Clinical Oncology, ASCO Annual Meeting Proceedings.* vol 27, n. 15S: 4020§3.  
De Roock W, et al., *L 12) Int J Cancer:* 102, 623-628 (2002).