

# gb ONCO EGFR

## Klinické souvislosti

Diagnostická souprava gb ONCO EGFR slouží k identifikaci mutací v exonech 18, 19, 20 a 21 v genu EGFR u pacientů s onkologickým onemocněním.

Receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR) patří do rodiny tyrozin kinázových receptorů. Mutace v genu pro EGFR mohou být aktivační – nositelé tohoto typu mutací pozitivně reagují na léčbu tyrosin kinázovými inhibitory (TKI). Druhým typem jsou mutace rezistentní. Nositelé těchto mutací jsou rezistentní vůči TKI.

Receptor pro epidermální růstový faktor (Epidermal Growth Factor Receptor – EGFR) je exprimován na buněčném povrchu

a má tyrosin kinázovou aktivitu. EGFR se přes dráhy MAPK/ERK a PI3K/AKT/mTOR zapojuje do regulace buněčného cyklu. Aktivační mutace aktivují jeho kinázovou aktivitu, která pak vede k nekontrolované buněčné proliferaci. Toho se využívá při léčbě tzv. tyrosin kinázovými inhibitory (TKI), které se vážou na ATP vazebné místo receptoru a tím inhibují aktivitu EGFR. TKI proti EGFR se uplatňují především v léčbě plicních nádorů, zejména nemalobuněčného karcinomu plic. Avšak proti TKI se velmi rychle vyvíjí rezistence (medián 9–13 měsíců).

Identifikace typu mutace v EGFR genu tedy umožňuje přesnější a personalizovanější přístup k léčbě onkologických onemocnění.

## Princip detekce

Vyšetření je založeno na metodice real-time PCR s využitím fluorescenčně značených sond (FAM/HEX/ROX/Cy5), alelově specifických primerů a PCR blokátorů. Souprava obsahuje 3 specifické assaye a příslušný MasterMix pro detekci 7 mutačních skupin EGFR genu a pro celkem 40 jednotlivých mutací.

Validita analýzy je kontrolována pomocí MUT a WT standardu

a interní pozitivní kontroly (IPC), která je součástí každé assaye. Souprava obsahuje všechny potřebné komponenty pro provedení analýzy.

Mutační skupiny EGFR genu, které lze pomocí soupravy detekovat (podle fluorescenčních kanálů):

	ASSAY qPCR EGFR 1		ASSAY qPCR EGFR 2		ASSAY qPCR EGFR 3	
	Mutace	Exon	Mutace	Exon	Mutace	Exon
FAM	G719X	18	L858R	21	E19del	19
HEX	T790M	20	E20ins	20	S768I	20
ROX	IPC		IPC		IPC	
Cy5	L861Q/R	21	-		CTRL	

IPC - interní pozitivní kontrola pro kontrolu validity analýzy

CTRL - kontrolní signál pro vyhodnocení optimální vkladky DNA

## Produktové varianty

Katalogové číslo	Produkt	rxn
3282-024	gb ONCO EGFR	24

1 balení obsahuje reagencie pro 24 PCR reakcí o objemu 25 µl.

## Parametry produktu

- kit je určen pro klinickou *in vitro* diagnostiku
- certifikován CE IVD
- pracovní rozsah kitu je 8-20 ng/µl
- součástí kitu je pozitivní i negativní kontrola
- detekce probíhá ve fluorescenčních kanálech FAM, HEX, ROX, Cy5

## Obsah diagnostické soupravy

<sup>1)</sup>	Komponenta	Objem	Počet <sup>2)</sup>	Konc.
●	Assay qPCR EGFR1	0,1 ml <sup>2)</sup>	1	1,25× <sup>3)</sup>
○	Assay qPCR EGFR2	0,1 ml <sup>2)</sup>	1	1,25× <sup>3)</sup>
●	Assay qPCR EGFR3	0,1 ml <sup>2)</sup>	1	1,25× <sup>3)</sup>
●	Master Mix EGFR	1,2 ml <sup>2)</sup>	1	1,57×
●	Standard WT	0,2 ml	1	10 <sup>4</sup> kopii/μl
●	Standard MUT	0,2 ml	1	10 <sup>5</sup> kopii/μl
○	Calibration Assay	0,2 ml	1	1×
●	Deionized water	1,0 ml	1	

1) barva víčka na zkumavce odpovídá typu reagentie

2) objem odpovídá 24 PCR reakcím o objemu 25 μl

3) koncentrace po přidání Master Mix EGFR



## Validované cykléry

- CFX96/96Touch (Bio-Rad)
- CFX Opus 96 (Bio-Rad)
- Light Cycler 480/Cobas z480 (Roche Diagnostics)
- QuantStudio 5 (Applied Biosystems)
- RG 3000 (Corbett Research)