



EGFR

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ EGFR
МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ
РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ.

№ РЗН 2021/14281

ГЕНЕТИКА

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Рецептор эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) – трансмембранный гликопротеин, активация которого приводит к запуску сигнального пути EGFR-RAS-RAF-MEK-MAPK, вовлеченного в процессы пролиферации, апоптоза и ангиогенеза. В норме рецептор EGFR под воздействием стимула передает в клетку сигнал, активирующий аутофосфорилирование (присоединение фосфорного остатка) рецепторной тирозинкиназы, запускающей каскад реакций, которые регулируют клеточную пролиферацию и дифференцировку.



Рис. 1 - Активация рецептора EGFR

С наличием врожденных или приобретенных мутаций в гене EGFR связаны нарушения регуляции клеточного цикла, процессов деления и дифференцировки. Как результат - нарастает хромосомная нестабильность, неконтролируемое деление и выживание трансформированных клеток, что может приводить к развитию рака.

Рак легких занимает второе место в структуре онкологических заболеваний. 5-летняя выживаемость при всех формах рака легкого составляет 20-25% [1].

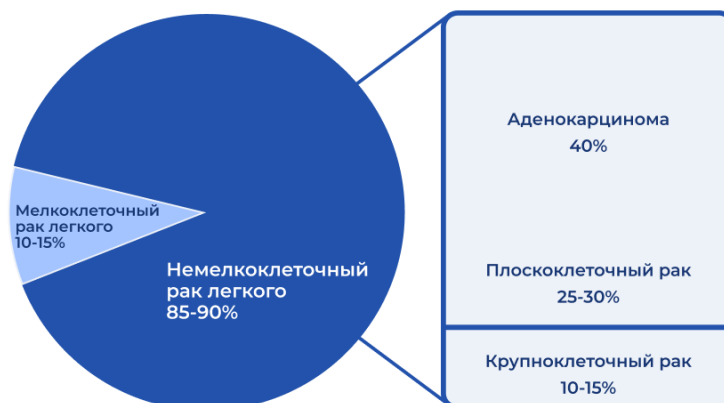


Рис. 2 - Процентное распределение встречаемости гистологических типов рака легкого [2].

Наличие активирующих мутаций является показанием для назначения молекулярно-направленной таргетной противоопухолевой ингибиторами EGFR-тирозинкиназы 1 поколения (гефитиниб, эрлотиниб), 2 поколения (афатиниб) или 3 поколения (осимертиниб) [5].

Приблизительно 85-90% активирующих мутаций составляют делеции в 19 экзоне и замена тимина на гуанин в 21 экзоне (L858R), это так называемые «классические» мутации EGFR [3].

Мутация T790M редко обнаруживается в первичных опухолях (1–3%) и чаще (41–62% случаев) возникает, резистентности к гефитинибу [6]. Ее появление диктует необходимость перехода на ингибиторы EGFR-тирозинкиназы следующего, третьего, поколения, например, осимертиниб. Частота встречаемости других мутаций в гене EGFR, ниже и составляет от 1% до 5% для мутаций L861Q, S768I, G719X, инсерций в 20 экзоне, менее 1% для инсерций в 19 экзоне [4].

Цель молекулярно-генетического тестирования: определение типа активирующих мутаций в гене EGFR для выбора таргетного ингибитора тирозинкиназы (ИТК).

В настоящее время тестирование мутаций в гене EGFR, наряду с определением транслокаций ALK, ROS1 включено в стандарты минимального «обязательного объема» молекулярно-генетического исследования и определения биомаркеров в опухоли при НМКРЛ.

Скрининг мутаций, ассоциированных с немелкоклеточным раком легкого, позволяет увеличить клиническую эффективность применяемого лечения, снизить его стоимость за счёт отказа от заведомо неэффективных препаратов.

Список литературы

1. Лактионов К.К., Артамонова Е. В., Бредер В. В. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению немелкоклеточного рака легкого. Злокачественные опухоли. Российское общество клинической онкологии RUSSCO. 2020; 10 №3s: 39-58.
2. Ferlay J., Ervik M., Lam F., et al. Global cancer observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer 2018 Available from: <https://gco.iarc.fr/today>. Accessed 20th November 2018
3. Harrison P.T., Vyse S., Huang P.H. Rare epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in non-small cell lung cancer. Semin Cancer Biol. 2020 Apr; 61: 167-179.
4. Kobayashi Y., Mitsudomi T. Not all epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer are created equal: Perspectives for individualized treatment strategy. Review. Cancer Sci. 2016 Sep; 107(9): 1179-86.
5. Marks J.L., Broderick S., Zhou Q., Chitale D., et al. Prognostic and therapeutic implications of EGFR and KRAS mutations in resected lung adenocarcinoma. J Thorac Oncol. 2008 Feb; 3(2):111-6.
6. Russo A., Franchina T., Ricciardi G.R.R., et al. Third generation EGFR TKIs in EGFR-mutated NSCLC: Where are we now and where are we going. Crit Rev Oncol Hematol. 2017 Sep; 117:38-47

Набор реагентов EGFR

Набор реагентов предназначен для определения соматических мутаций в гене EGFR (делеций и инсерций в 19 экзоне, инсерций в 20 экзоне, мутаций L858R, T790M, L861Q, S768I и G719X) методом ПЦР в режиме реального времени.

EGFR 4

Полуколичественная оценка 45 соматических мутаций:

- 37 делеции в 19 экзоне (без дифференцировки)
- 5 инсерций в 19 экзоне (без дифференцировки)

Мутации:

- L858R (без дифференцировки)
- T790M

EGFR 8

Полуколичественная оценка 53 соматических мутаций:

- 37 делеции в 19 экзоне (без дифференцировки)
- 5 инсерций в 19 экзоне (без дифференцировки)
- 3 инсерции в 20 экзоне (без дифференцировки)

Мутации:

- L858R (без дифференцировки)
- G719X (A/S/C (без дифференцировки))
- T790M
- L861Q
- S768I

Показания к проведению исследования:

- наличие гистологически верифицированного немелкоклеточного рака легкого;
- впервые выявленные, рецидивирующие и метастатические опухоли.

Исследуемый материал:

· препараты ДНК из фиксированных в формалине парафинизированных образцов опухолей больных немелкоклеточным раком легкого.

КОНКУРЕНТНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Клинические:

- Дифференциальная диагностика мутаций в гене EGFR, в том числе инсерций и делеций в 19 экзоне;
- Полуколичественная оценка в одном из диапазонов: <1%, 1-10%, 5-20%, 10-100%.

Технологические:

- Высокая чувствительность;
- Мультиплексный анализ - сокращает количество материала и себестоимость исследования;
- Скорость выполнения анализа: от 2-х часов;
- Визуальная интерпретация результатов – автоматическая обработка, интерпретация данных исследования в удобной и наглядной форме;
- Контроль взятия материала – оценка качества взятия биоматериала;
- Положительный контрольный образец – дополнительный контроль качества исследования и достоверности результата.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

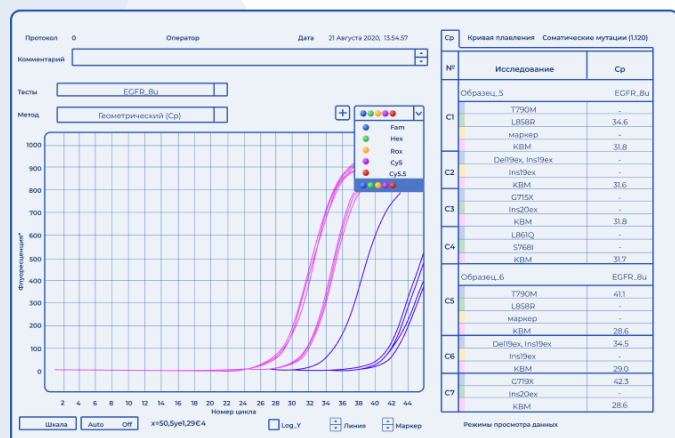
Чувствительность	Значение Cp для KBM		
	$Cp \leq 28$	$28 < Cp \leq 31,5$	$31,5 < Cp \leq 34$
Предел обнаружения доли мутантного аллеля в образце	0,1% 0,3%*	1%	5%

*0,1% для делеций и инсерций в 19 экзоне;
0,3% для мутаций T790M, L858R, C719X, S768I, L861Q, инсерций в 20 экзоне

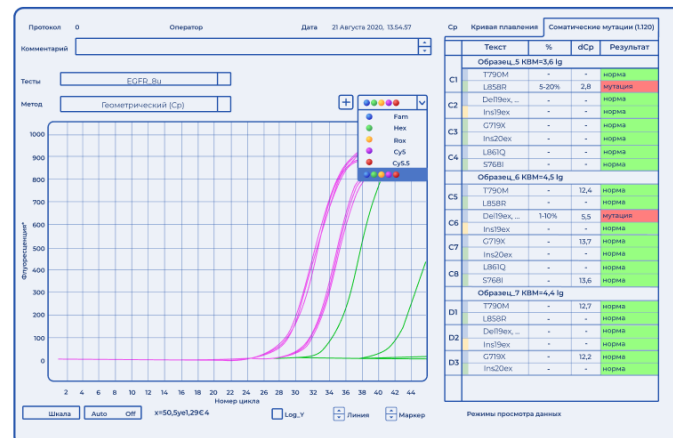
Время проведения анализа (без учета пробоподготовки) - от 2-х часов. Набор реагентов предназначен для одноразового применения и рассчитан на 48 определений, включая отрицательные и положительные контроли.

Пример результатов, полученных с использованием набора EGFR

Возможность просмотра результатов реакции в формате «сырых» данных со значениями пороговых циклов.



Возможность автоматического расчета и интерпретации результатов реакции.



Пример результатов, полученных с использованием набора EGFR

Скрининг соматических мутаций в гене EGFR методом ПЦР в режиме реального времени

Дата: 21 Август 2020, 135457
 Номер пробирки:
 ФИО пациента:
 Пол:
 Возраст:
 Врач:
 Примечание:
 Идентификатор образца: Образец_6

Информация о лаборатории

Логотип

№	Наименование исследования	Доля мутантного аллельгена	Результат
1	T790M	-	норма
2	L858R	-	норма
3	Del19ex, Ins19ex	1-10%	мутация
4	Ins19ex	-	норма
5	C719X	-	норма
6	Ins20ex	-	норма
7	L861Q	-	норма
8	S768I	-	норма

Заключение:

Проведен поиск делеций в 19 экзоне, в 20 экзоне, мутаций C719X, L858R, L861Q, S768I, T790M в гене EGFR. Выявлена делеция в 19 экзоне.

СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

REF R1-H806-S3/4, EGFR 4, фасовка S

Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Прозрачная бесцветная или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов		12 шт.	

REF R1-H806-UA/4, EGFR 4, фасовка U

Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации EGFR -- 4.1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	300 мкл
Смесь для амплификации EGFR -- 4.2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	300 мкл
ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	600 мкл
Полимераза ТехноTaq MAX	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	30 мкл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

REF R1-H807-S3/4, EGFR 8, фасовка S

Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Прозрачная бесцветная или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	24 стрипа по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	4 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	4 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов	24шт.		

REF R1-H807-S3/4, EGFR 8, фасовка S

Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации EGFR – 8.1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	300 мкл
Смесь для амплификации EGFR – 8.2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	300 мкл
Смесь для амплификации EGFR – 8.3	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	300 мкл
Смесь для амплификации EGFR – 8.4	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	300 мкл
ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 600 мкл
Полимераза ТехноTaq MAX	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	60 мкл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

Реагенты для выделения не включены в состав набора реагентов. Выделение проводят с использованием наборов, зарегистрированных в установленном порядке в Российской Федерации.

РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Комплекты для выделения	Приборы
<ul style="list-style-type: none">ПРОБА-ПКПРОБА-НК-ПЛЮС	<ul style="list-style-type: none">ДТпраймДТлайт
производство ООО «ДНК-Технология ТС»	производство ООО «НПО ДНК-Технология»

Учет и интерпретация результатов реакции осуществляются автоматически для приборов серии «ДТ» производства ООО «НПО ДНК-Технология».

