

# MUTAZIONE Tipo I (DEL 52bp) e Tipo II (INS 5bp) ESONE 9 GENE CALR (chaperone calreticulin)

## CATALOGO

REF: *ONC-014-25 Codice RDM: 1761183/R*

Test: *25 Reazioni: 31 x 2*

REF: *ONC-014-50 Codice RDM: 2256763/R*

Test: *50 Reazioni: 62 x 2*

Codice *CND: W01060299*

Produttore: *BioMol Laboratories s.r.l.*

## CONTENUTO DEL KIT

*Il kit è composto da reagenti per la amplificazione in Real-Time PCR*

*\*non forniti nel kit i reagenti per la estrazione di DNA genomico*

## INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

Dispositivo appartenente alla famiglia di dispositivi medici in vitro **REAL-TIME PCR QUALITATIVA-MUTAZIONI SOMATICHE**. Determinazione qualitativa della mutazione INS 5bp/DEL 52bp dell'esone 9 del gene CALR (chaperone calreticulin) mediante tecnica Real-Time PCR. Kit ottimizzato per strumentazione Real-Time PCR Biorad CFX96 Dx, Biorad Opus Dx, Agilent AriaDx, Hyris bCUBE e Hyris bCUBE3 con Hyris bAPP.

## BASI SCIENTIFICHE

Le neoplasie mieloproliferative (MPN) sono neoplasie ematologiche caratterizzate dalla proliferazione di uno o più linee mieloidi: granulocitica, eritroide, megacariocitica e/o mastocitaria. Secondo i criteri dell'Organizzazione Mondiale della Sanità 2016, la classificazione delle MPN comprende sette sottocategorie: leucemia mieloide cronica (LMC), leucemia neutrofila cronica, policitemia vera (PV), mielofibrosi primaria (PMF), trombocitemia essenziale (ET), leucemia eosinofila cronica - non altrimenti specificata e MPN, non classificabile (MPN-U). La policitemia vera (PV), la mielofibrosi idiopatica (PMF) e la trombocitemia essenziale (ET) mostrano caratteristiche fenotipiche condivise (MPN BCR/ABL neg) che sono la conseguenza dell'attivazione costitutiva diretta o indiretta di JAK2, la tirosin-chinasi affine ai recettori del fattore di crescita ematopoietico per l'eritropoietina (EPOR) e la trombopoietina (MPL) ed al recettore G-CSF (Granulocyte Colony-Stimulating Factor). L'attivazione diretta di JAK2 è causata da una mutazione puntiforme (V617F nell'esone 14 JAK2) o, meno comunemente, da inserzioni o delezioni nell'esone 12 del gene JAK2. L'attivazione indiretta di JAK2 è causata da mutazioni puntiformi nel recettore della trombopoietina, MPL o da mutazioni nel gene CAL chaperone calreticulin (CALR) che consentono di legare MPL e attivare JAK2 indirettamente. CALR è una proteina multi-funzionale (Ca<sup>2+</sup>-binding protein) con attività di chaperone, localizzata principalmente nel reticolo endoplasmatico (ER).

## SIGNIFICATO CLINICO

Mutazioni somatiche di CALR sono spesso rappresentate da delezioni/inserzioni nell'esone 9 e generano una mutazione "frameshift" sulla cornice di lettura risultante in una nuova sequenza amminoacidica al dominio carbossi-terminale della proteina. La proteina mutata, inoltre, perde il segnale KDEL, necessario per la localizzazione della proteina nel reticolo endoplasmatico. Le due mutazioni più frequenti corrispondono a una delezione di 52 bp (p. L367fs\*46), chiamata anche tipo 1 e una inserzione di 5 bp (p. K385fs\*47), chiamata anche tipo 2. Le mutazioni CALR si presentano solitamente allo stato eterozigote anche se sono stati osservati pochi casi di mutazioni allo stato omozigote, più spesso per le mutazioni di tipo 2.

§ *Cancers (Basel). 2024 Apr 26;16(9):1679. doi: 10.3390/cancers16091679. Advances in Molecular Understanding of Polycythemia Vera, Essential Thrombocythemia, and Primary Myelofibrosis: Towards Precision Medicine*

§ *Front. Cell Dev. Biol., 26 March 2024 Sec. Cancer Cell Biology Volume 12 – 2024*

§ *Essential thrombocythemia: a review of the clinical features, diagnostic challenges, and treatment modalities in the era of molecular discovery. Leuk Lymphoma. 2017 Dec; 58 (12):2786-2798. doi:10.1080/10428194.2017.1312371. Epub 2017 May 15. Review*

§ *Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. Blood. 2017 Feb 9; 129 (6):667-679. Review.*

§ *Mutations in MPNs: prognostic implications, window to biology, and impact on treatment decision. Hematology Am Soc Hematol Educ Program.2016 Dec 2; 2016 (1):552-560.*

§ *The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. Blood Cancer J. 2018 Feb 9; 8 (2):15. doi: 10.1038/s41408-018-0054-y. Review.*

# MUTAZIONE Tipo I (DEL 52bp) e Tipo II (I 5bp) ESONE 9 GENE CALR (chaperone calreticulin)

## CATALOGO

REF: *ONC-014-25* Codice RDM: 1761183/R  
Test: 25 Reazioni: 31 x 2  
REF: *ONC-014-50* Codice RDM: 2256763/R  
Test: 50 Reazioni: 62 x 2  
Codice CND: W01060299  
Produttore: *BioMol Laboratories s.r.l.*

## CONTENUTO DEL KIT

*Il kit è composto da reagenti per la  
amplificazione in Real-Time PCR  
\*non forniti nel kit i reagenti per la  
estrazione di DNA genomico*

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO



## CONTENUTO DEL KIT

DESCRIZIONE	ETICHETTA	VOLUME		CONSERVAZIONE
		ONC-014-25	ONC-014-50	
Mix oligonucleotidi e sonde	Mix INS 5bp CALR 10X	1 x 77,5 µl	2 x 77,5 µl	- 20 °C
Mix oligonucleotidi e sonde	Mix DEL 52bp CALR 10X	1 x 77,5 µl	2 x 77,5 µl	- 20 °C
Mix buffer e Taq polymerase	Mix Real-Time PCR 5X	1 x 310 µl	2 x 310 µl	- 20 °C
H <sub>2</sub> O deionizzata	Deionized H <sub>2</sub> O	1 x 1 ml	2 x 1 ml	- 20 °C
DNA ricombinante o genomico Controllo positivo	Positive control INS 5bp CALR DEL 52bp CALR	1 x 30 µl	2 x 30 µl	- 20 °C
DNA ricombinante o genomico Controllo negativo	Negative control	1 x 30 µl	2 x 30 µl	- 20 °C

## CARATTERISTICHE TECNICHE

COD. ONC-014-25 / COD. ONC-014-50

STABILITÀ	18 mesi
STATO DEI REAGENTI	Pronti all'uso
MATRICE BIOLOGICA	DNA genomico estratto da sangue intero, da tessuto, da cellule
CONTROLLO POSITIVO	DNA ricombinante per almeno 3 sedute analitiche (ONC-014-25) DNA ricombinante per almeno 6 sedute analitiche (ONC-014-50)
CONTROLLO NEGATIVO	DNA ricombinante per almeno 3 sedute analitiche (ONC-014-25) DNA ricombinante per almeno 6 sedute analitiche (ONC-014-50)
TECNOLOGIA	PCR in Real-time; oligonucleotidi e sonde specifiche per le mutazioni e per un controllo interno di amplificazione; 2 canali di fluorescenza FAM/HEX
STRUMENTI PCR REAL TIME VALIDATI	Biorad CFX96 Dx, Biorad Opus Dx, Agilent AriaDx, Hyris bCUBE e Hyris bCUBE3 con Hyris bAPP.
TEMPO DI ESECUZIONE	110 min
PROFILO TERMICO	1 ciclo a 95 °C (10 min); 50 cicli a 95 °C (15 sec) + 60 °C (1 min)
SPECIFICITÀ ANALITICA	Assenza di appaiamenti aspecifici di oligonucleotidi e sonde; assenza di cross-reattività
LIMIT OF DETECTION (LOD)	≥ 0,025 ng di DNA genomico, ≥ 1%
LIMIT OF BLANK (LOB)	0% NCN
RIPRODUCIBILITÀ	99,9%
SPECIFICITÀ DIAGNOSTICA/SENSIBILITÀ DIAGNOSTICA	100%/98%