

# Deteksi mutasi gen Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) menggunakan metode PNA-LNA PCR Clamp pada Cell Line PC9, PC3, H1975 dan H1299 = Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) gene mutation detection using PNA-LNA PCR Clamp on PC9, PC3, H1975, H1299, Cell Lines / Ferry Dwi Kurniawan

Ferry Dwi Kurniawan, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20330063&lokasi=lokal>

---

## Abstrak

### <b>ABSTRAK</b><br>

Pendahuluan: Jalur gen Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) berperan dalam regulasi proliferasi sel, ketahanan hidup, diferensiasi, dan progresi tumor. Gen EGFR dengan domain tirosin kinase dalam ekson 18-21 yang mengalami mutasi berkorelasi secara respons klinik dengan pemberian Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI). Hal tersebut menyebabkan status mutasi gen EGFR menjadi faktor prediktif dalam pemberian TKI pada Kanker Paru Karsinoma Bukan Sel Kecil (KPKBSK). Namun pemeriksaan baku emas dalam mendeteksi mutasi gen EGFR adalah menggunakan direct sequencing yang membutuhkan jumlah sampel dengan sel kanker yang banyak, dengan sensitifitas yang rendah dan teknik yang tidak seragam.

Metode penelitian: Metode PNA-LNA PCR Clamp mampu mendeteksi mutasi gen EGFR dengan rasio 1:1000 pada latar wild type. Metode ini menggunakan mekanisme imhibisi oleh Peptide Nucleic Acid (PNA) dan Locked Nucleic Acid (LNA) dalam urutan yang hampir sama ketika diamplifikasi menggunakan mesin real time PCR. Alel wild type akan dihambat oleh PNA sementara itu alel mutan akan berikatan dengan LNA dan ketika terjadi proses amplifikasi oleh DNA polimerase maka akan menyebabkan probe fluorogenik akan terpisah dan berpendar seiring dengan semakin meningkatnya siklus yang akan dideteksi oleh mesin SmartCycler. Hasil analisis dapat dijalankan selama 2 jam setelah dilakukan isolasi DNA. Sampel yang digunakan adalah PC9 (adenokarsinoma), PC3 (kanker prostate), H1975 (KPKBSK), dan H1299 H1975 (KPKBSK), Masing-masing sampel yang dibutuhkan adalah 15 µl dengan konsentrasi DNA 10 ng/µl.

Hasil Penelitian: Metode PNA-LNA PCR Clamp mampu mendeteksi jenis mutasi E746-A750del-1p (tipe 1) pada sampel PC9, delesi ekson 19 pada sampel PC3, T790M dan L858R pada sampel H1975, sementara itu tidak ditemukan mutasi pada sampel H1299.

Kesimpulan: Metode PNA-LNA PCR Clamp dapat digunakan sebagai pemeriksaan alternatif dalam mendeteksi mutasi gen EGFR.

<hr>

<b>ABSTRACT</b><br>

**Introduction:** Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) signaling pathway play a role in regulation of cell proliferation, survival, differentiation and tumor progression. Tyrosin kinase domain within exon 18-21 of EGFR gene had mutation significantly correlated with clinical response to Tyrosine Kinase Inhibitor (TKI). Thus, EGFR gene mutation become a biomarker predictor to Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC) treatment. However, the gold standar in detecting EGFR gene mutation is direct sequencing method which requires mostly cancer cells, low sensitivity and ununiformly technical handling..

**Methods:** A novel method which could allow detect EGFR gene mutation in 1:1000 wild type background has developed. It needs only a small amount of citology or histopatology samples in one day processing. It works based on inhibitory mechanism between Peptide Nucleic Acid (PNA) and Locked Nucleic Acid (LNA) in the nearly same sequences when it is amplified by PCR machine. PNA will attach to wild type allele so further amplification would be inhibited while LNA will attach to mutant allele then it would be flourecence when it is separated from sequencer during amplification by Taqman enzyme. Finally, Real time PCR machine will detect the signal from the mutant sequence thus mutant determination would be analyzed after 2 hours running. The samples are PC9 (adenocarcinoma), PC3 (prostate cancer), H1975 (non small cell lung cancer), and H1299 (non small cell lung cancer). Total amount of each sample is 15 µl with DNA concentration is 10 ng/µl.

**Results:** This method reveals the mutations which are E746-A750del-1p (type 1) in PC9, exon 19 deletion in PC3, T790M and L858R in H1975 while no mutation in H1299.

**Conclusion** The PNA-LNA PCR Clamp could be an alternative method in detecting EGFR gene mutation.