

Report sull'attività svolta dall' 1/11/08 al 31/01/09 presso il laboratorio di Genetica Molecolare dell' ASO O.I.R.M. S.Anna

Titolo della borsa di studio: Genetica della sclerosi laterale amiotrofica sporadica in rapporto al calcio.

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è la forma più frequente di malattia del motoneurone, caratterizzata da paralisi progressiva e da esito fatale entro tre anni dall'insorgenza dei sintomi. Circa il 7% è ereditaria, con pattern autosomico dominante; il 93% si presenta come forme sporadiche. La SLA familiare è geneticamente eterogenea: il 20% dei casi presenta mutazioni del gene SOD1, ma sono noti altri geni mutati in forme più rare di SLA. Le cause della SLA sporadica sono di più difficile inquadramento (cooperazione di fattori genetici e ambientali, esposizione a sostanze tossiche come gli organofosforici utilizzati in agricoltura). La malattia è stata correlata ad attività fisiche pesanti e all'attività sportiva agonistica.

Recentemente in letteratura sono stati pubblicati alcuni studi sul gene PGRN, che codifica per la Progranulina, un fattore di crescita coinvolto in molteplici processi fisiologici e patologici; mutazioni in questo gene possono essere implicate nella Demenza Fronto Temporale e ne è stata descritta una aumentata espressione in alcune patologie neurodegenerative, tra cui quelle del motoneurone.

Sono state descritte in letteratura alcune mutazioni del gene PGRN come causa di patologie neurodegenerative ed è stata descritta l'importanza di tale gene nella sopravvivenza neuronale.

Nel nostro lavoro di ricerca stiamo indagando questo gene, con l'obiettivo di chiarire il suo ruolo nella patogenesi della SLA.

Metodi. Il gene PGRN contiene 12 esoni: stiamo mettendo a punto la metodica per amplificare i 12 esoni e le regioni fiancheggianti, con primer specifici che amplificano le regioni esoniche e 200 paia di basi di regioni introniche codificanti.

I prodotti di PCR vengono purificati mediante il GenElute™ PCR Clean-Up Kit della ditta SIGMA e successivamente quantificati su gel di agarosio all'1,5%. I campioni vengono sequenziati direttamente utilizzando il Big Dyes Terminator e poi purificati con Illustra™ AutoSeq G-50 Dye Terminator Removal Kit della ditta GE Healthcare. Le sequenze vengono poi effettuate su sequenziatore ABI Prism 3100 Avant.

Inoltre abbiamo continuato l'analisi sugli esoni 4 e 6 del gene TARDBP, descritto nei precedenti report. Sono stati analizzati 20 casi e non sono state riscontrate mutazioni.

In questi ultimi giorni sono stati pubblicati 2 lavori sul gene fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS), localizzato sul cromosoma 16, che codifica una proteina (FUS/TLS) che lega l'RNA ed è implicata nella regolazione della trascrizione e nello splicing e nel trasporto dell'RNA ed è normalmente localizzata nel nucleo. Le forme mutanti invece si accumulano nel citoplasma dei motoneuroni, causandone la degenerazione con meccanismi simili alla TDP-43, anch'essa causa della SLA. Sono state trovate 13 mutazioni nel gene FUS/TLS specifiche per la SLA di tipo familiare. Anche per questo gene stiamo mettendo a punto la metodica per amplificare i 15 esoni e le regioni fiancheggianti, con primer specifici che amplificano le regioni esoniche e 200 paia di basi di regioni introniche codificanti.

