

Report sull'attività svolta dall' 1/08/09 al 31/10/09 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.

In questi ultimi mesi nel nostro laboratorio, abbiamo continuato l'analisi del gene 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.

Inoltre abbiamo continuato l'analisi sugli esoni 4 e 6 del gene TARDBP, descritto nei precedenti report., che codifica per la TAR-DNA binding protein (TDP-43), una delle principali componenti degli aggregati neuronali nei pazienti con SLA; si ipotizza che mutazioni sul gene TDBP generando variazioni aminoacidiche siano causa di formazione di una proteina TDP-43 anomala che si accumula a livello neuronale. Pertanto nel nostro lavoro di ricerca stiamo indagando questi geni, con l'obiettivo di chiarire il loro ruolo nella patogenesi della SLA.

Metodi e risultati. È stato estratto il DNA da campioni di sangue periferico di nuovi pazienti affetti da SLA.

Successivamente sono stati amplificati gli esoni 4 e 6 del gene TDBP su 28 casi familiari e 83 casi sporadici.

Inoltre sono stati amplificati gli esoni 5, 14 e 15, del gene FUS, che sono quelli più soggetti a variazioni, su 37 casi familiari e 20 casi sporadici. L'analisi del gene FUS è stata estesa anche all'esone 6.

I prodotti di PCR sono stati purificati mediante il GenElute™ PCR Clean-Up Kit della ditta SIGMA e successivamente quantificati su gel di agarosio all'1,5%. I campioni sono poi stati 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 sono state effettuate su sequenziatore ABIPrism 3100Avant. Per quanto riguarda l'esone 4 del gene TARDBP non sono state riscontrate mutazioni; nell'esone 6 sono state trovate 4 mutazioni nei casi familiari (in un caso la mutazione non è descritta in letteratura) e 12 mutazioni nei casi sporadici.

Per quanto riguarda l'esone 15 del gene FUS è stata trovata una mutazione descritta in letteratura in un caso familiare mentre non sono state riscontrate mutazioni nell'esone 6.

To, 15/12/09

Maura Brunetti

