

Report sull'attività svolta dall' 1/02/09 al 30/04/09 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, dopo aver messo a punto la metodica per amplificare i 15 esoni e le regioni fiancheggianti del gene fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS), con primer specifici che amplificano le regioni esoniche e 200 paia di basi di regioni introniche codificanti, abbiamo iniziato l'analisi di tale gene, 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.

Metodi e risultati. Sono stati estratti i DNA dai campioni di sangue periferico di pazienti affetti da SLA e successivamente sono stati amplificati gli esoni 5, 14 e 15, del gene FUS, che sono quelli più soggetti a variazioni: sono stati analizzati 66 casi familiari .

Sono state trovate due mutazioni puntiformi sull'esone 15: una già nota su un caso familiare e una nuova su un codone in cui era già stata descritta un'altra mutazione, su un altro caso familiare.

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. Inoltre abbiamo continuato l'analisi sul gene TARDBP e del gene PGRN, descritti nei precedenti report. Per quanto riguarda il gene TARDBP è stata riscontrata una mutazione nota in letteratura su 3 casi familiari.

To, 07/05/09

Maura Brunetti