

Report sull'attività svolta dal 2/05/08 al 31/07/08 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 TARDBP, 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 questo gene, con l'obiettivo di chiarire il suo ruolo nella patogenesi della SLA.

Metodi. Il gene TARDBP contiene 6 esoni di cui 5 codificanti: abbiamo messo a punto la metodica per amplificare i 6 esoni e le regioni fiancheggianti con primer specifici che amplificano le regioni esoniche e 200 paia di basi di regioni introniche codificanti. Le condizioni di PCR utilizzate sono le seguenti: 95°C, 10^I; 95°C, 30^{II}, 60°C, 30^{II}, 72°C, 1^I per 14 cicli; 95°C, 30^{II}, 53°C, 30^{II}, 72°C, 1^I per 18 cicli e 72°C, 7.^I

I prodotti di PCR vengono purificati mediante il GenEluteTM 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 purificate con IllustraTM AutoSeq G-50 Dye Terminator Removal Kit della ditta GE Healthcare. Le sequenze vengono poi effettuate su sequenziatore ABI Prism 3100 Avant.

TO, 30/09/08

Maura Brunetti