

1-4 novembre 2012 - Gabicce

Aggiornamenti in ambito genetico

Cristina Gervasini

Genetica Medica – Dip. Scienze della Salute

Università degli Studi di Milano



Il laboratorio di Genetica



**Lidia Larizza
Cristina Gervasini
Jacopo Azzollini e Ilaria Parenti**

**Genetica Medica
Università degli Studi di Milano
polo ospedale S. Paolo**



**Silvia Russo e Maura Masciadri
Palma Finelli e Chiara Picinelli**

**Biologia Molecolare e Citogenetica Molecolare
Istituto Auxologico Italiano Milano**



Aggiornamenti in ambito genetico

- ➡ La genetica della CdLS: breve cenno su storia e studi pregressi
- ➡ Lo studio della genetica della CdLS: le NOVITA' (nuovi geni, nuove tecniche di studio) e la nostra esperienza

La Sindrome di Cornelia de Lange è:

→ una malattia genetica e congenita

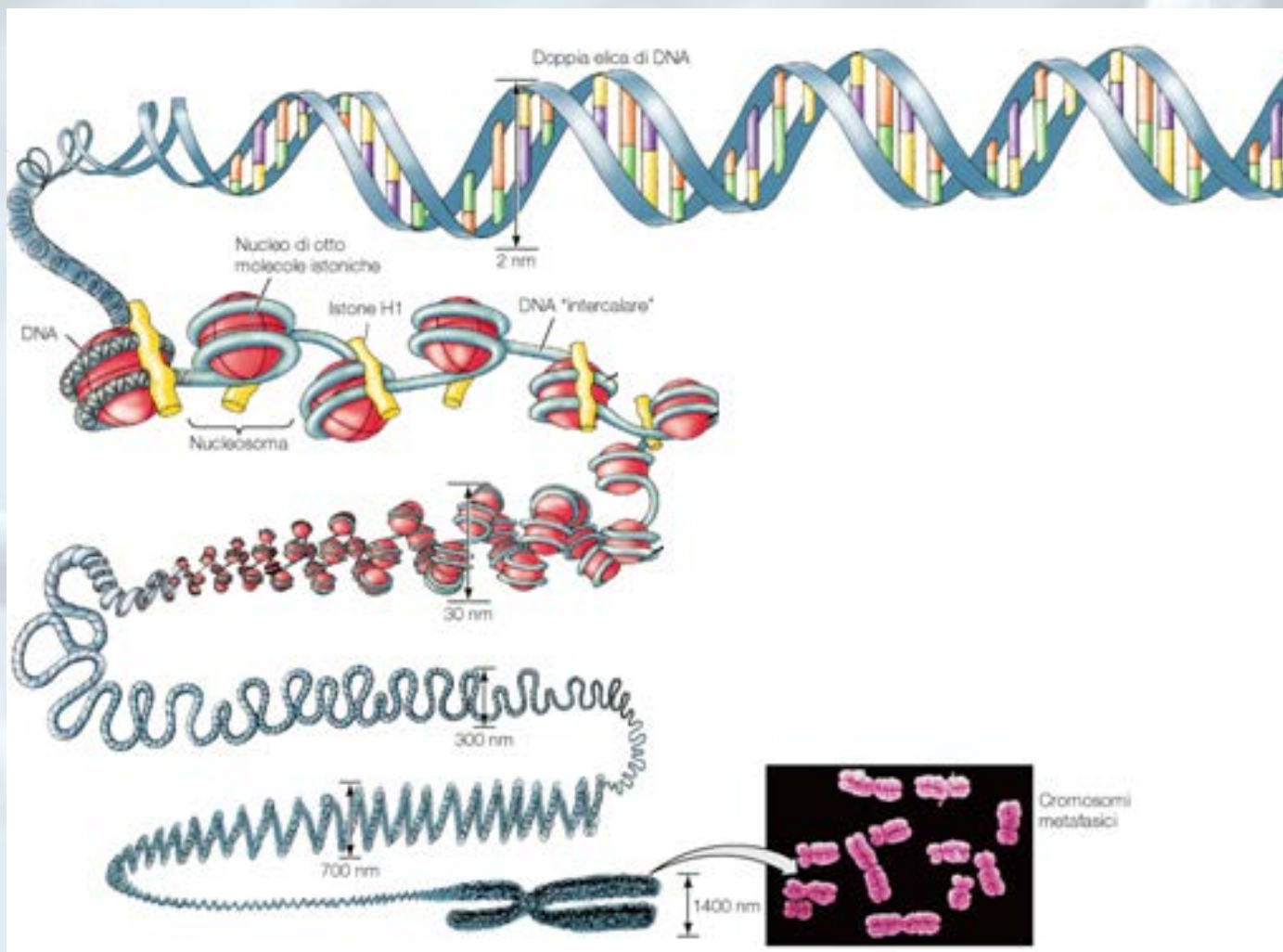
Congenito = presente alla nascita

Genetico = riconducibile ad alterazioni del patrimonio genetico



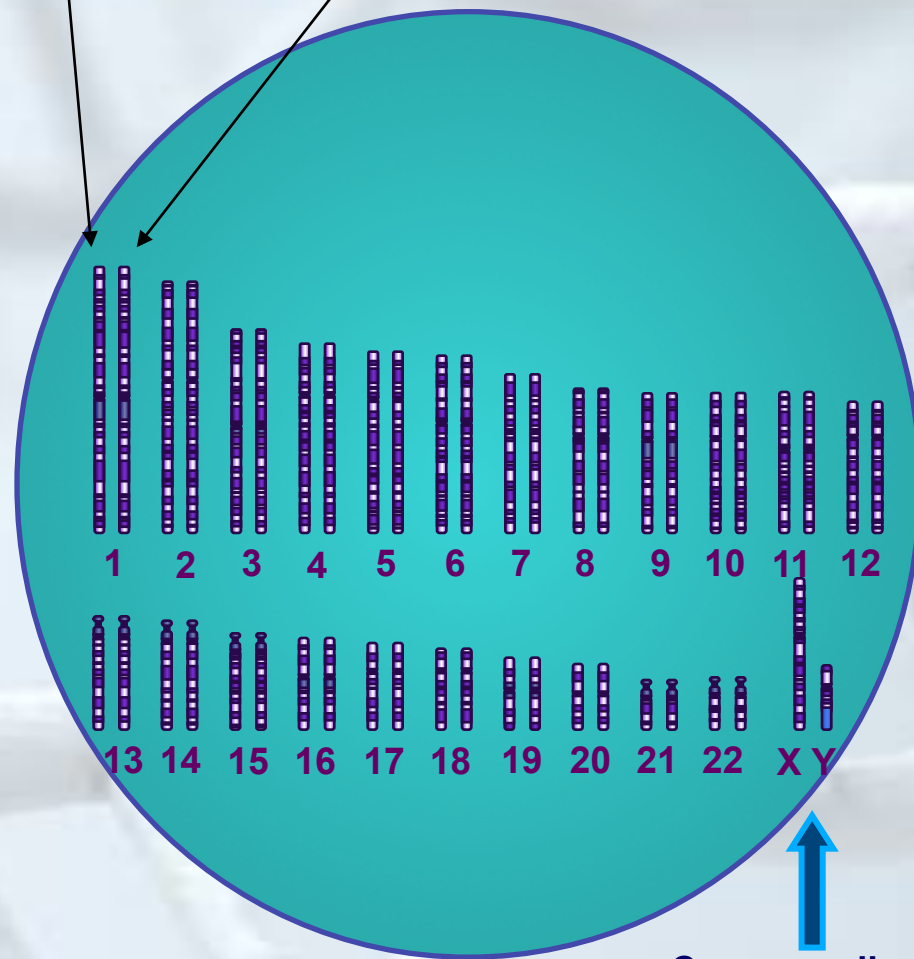
una malattia genetica

Dovuta ad alterazioni del materiale genetico (DNA)



origine paterna

origine materna

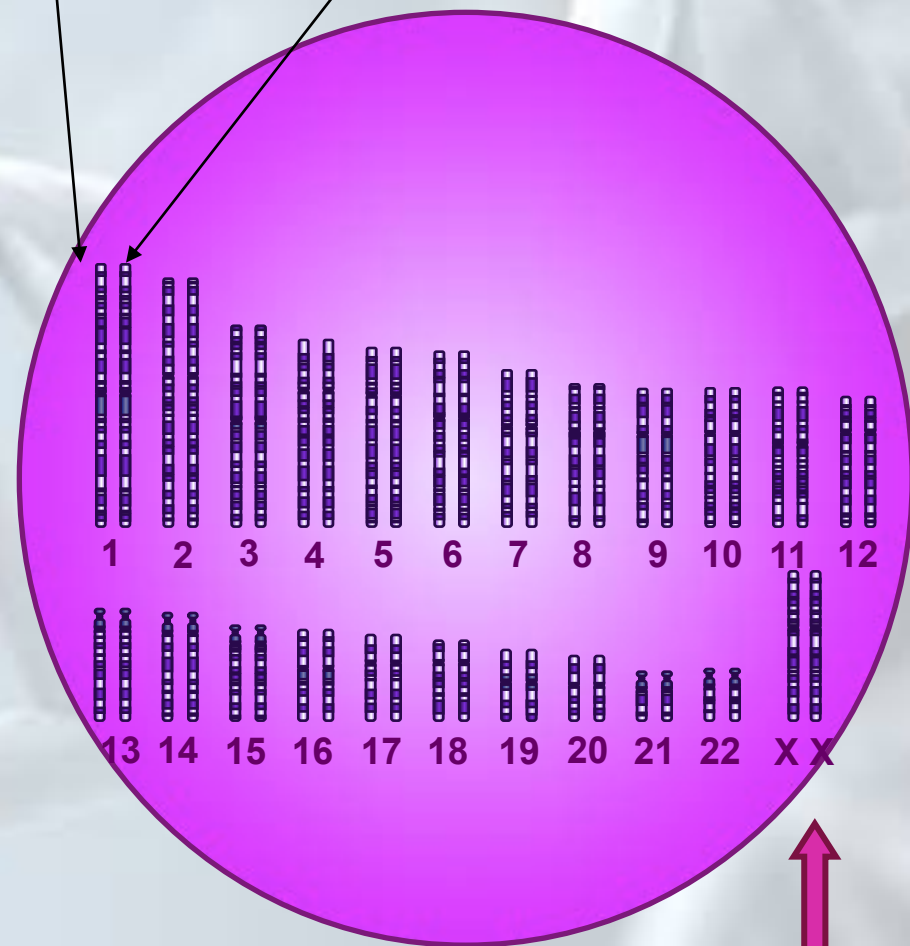


Cr. sessuali

nucleo di cellula maschile

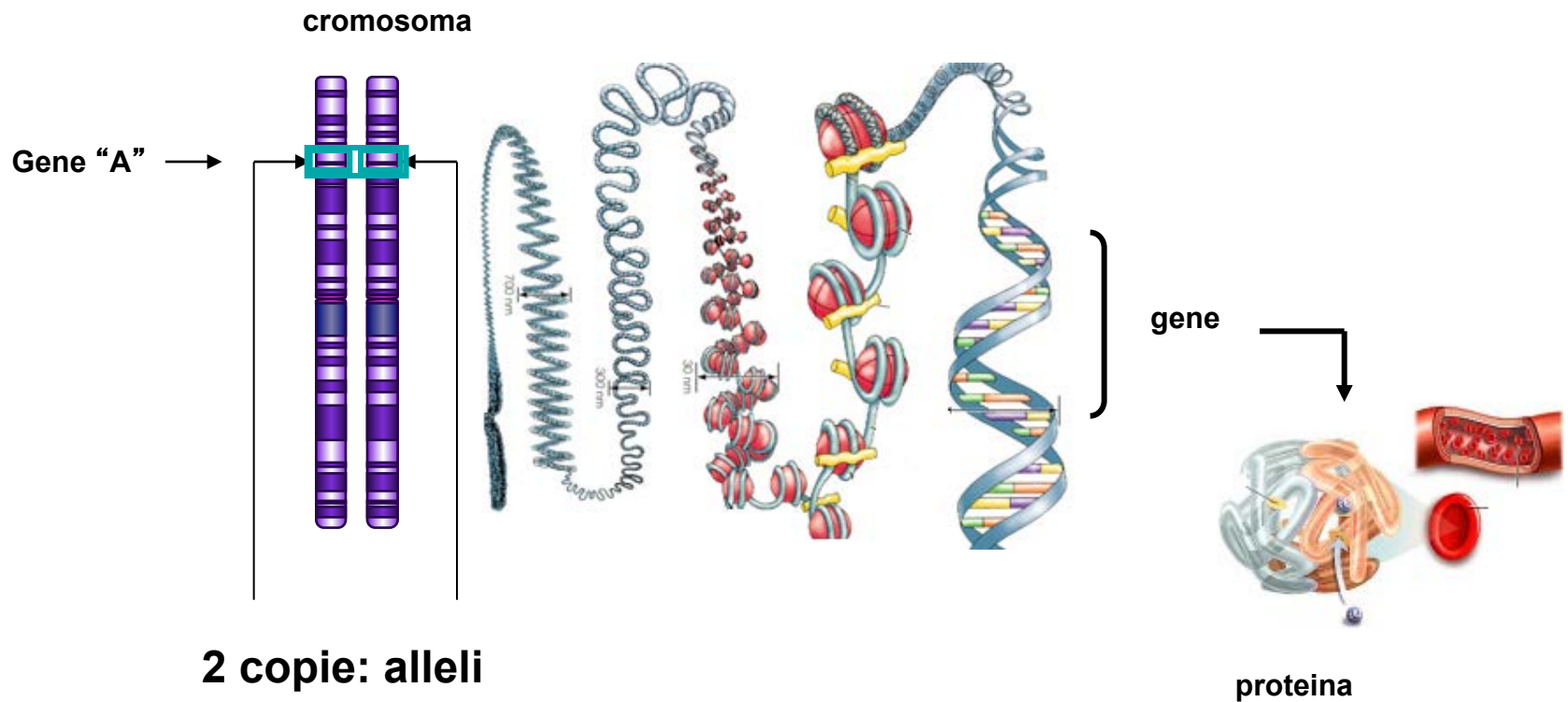
origine paterna

origine materna



Cr. sessuali

nucleo di cellula femminile

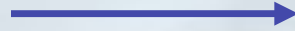


Cromosoma: molecola in cui è distribuito il nostro DNA

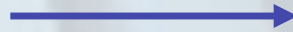
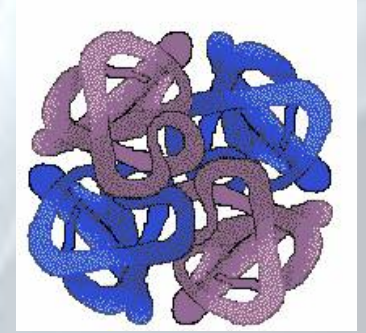
Gene: porzione di DNA con specifica funzione (geni sono parti dei cromosomi)

Allele: una delle due copie di un gene

GENE

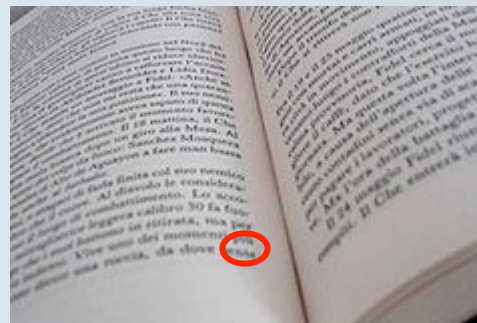
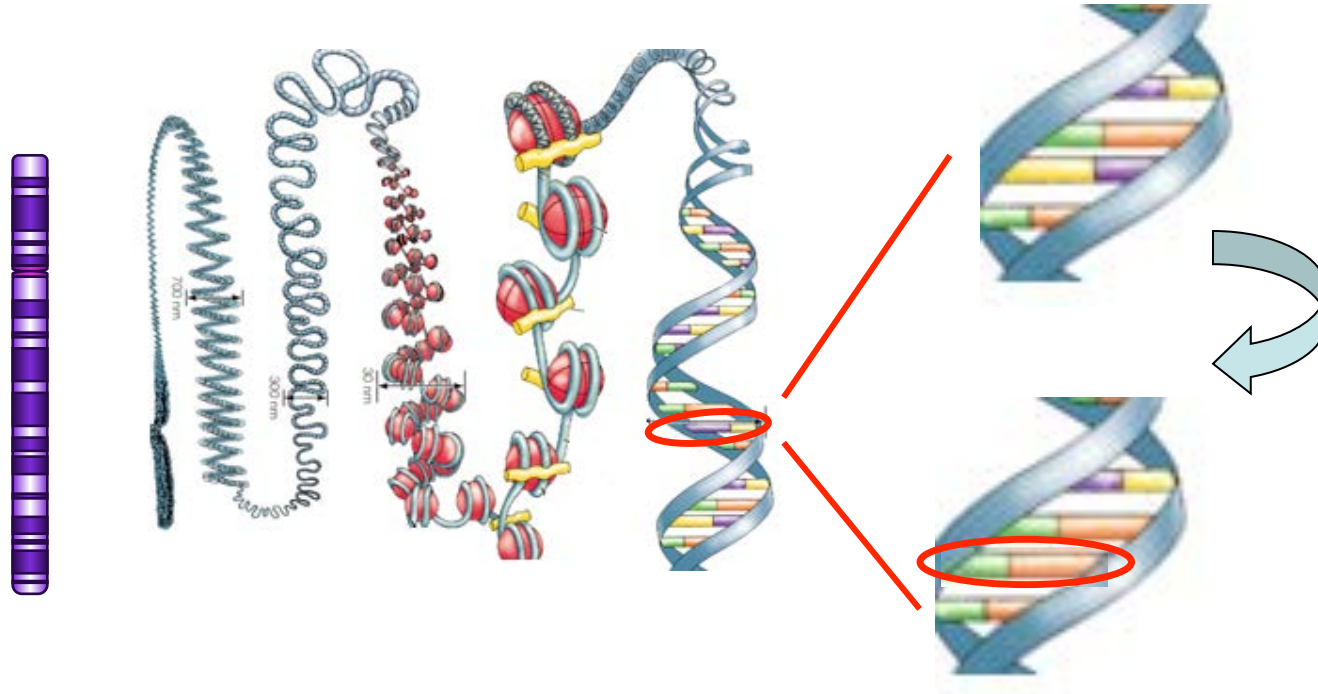


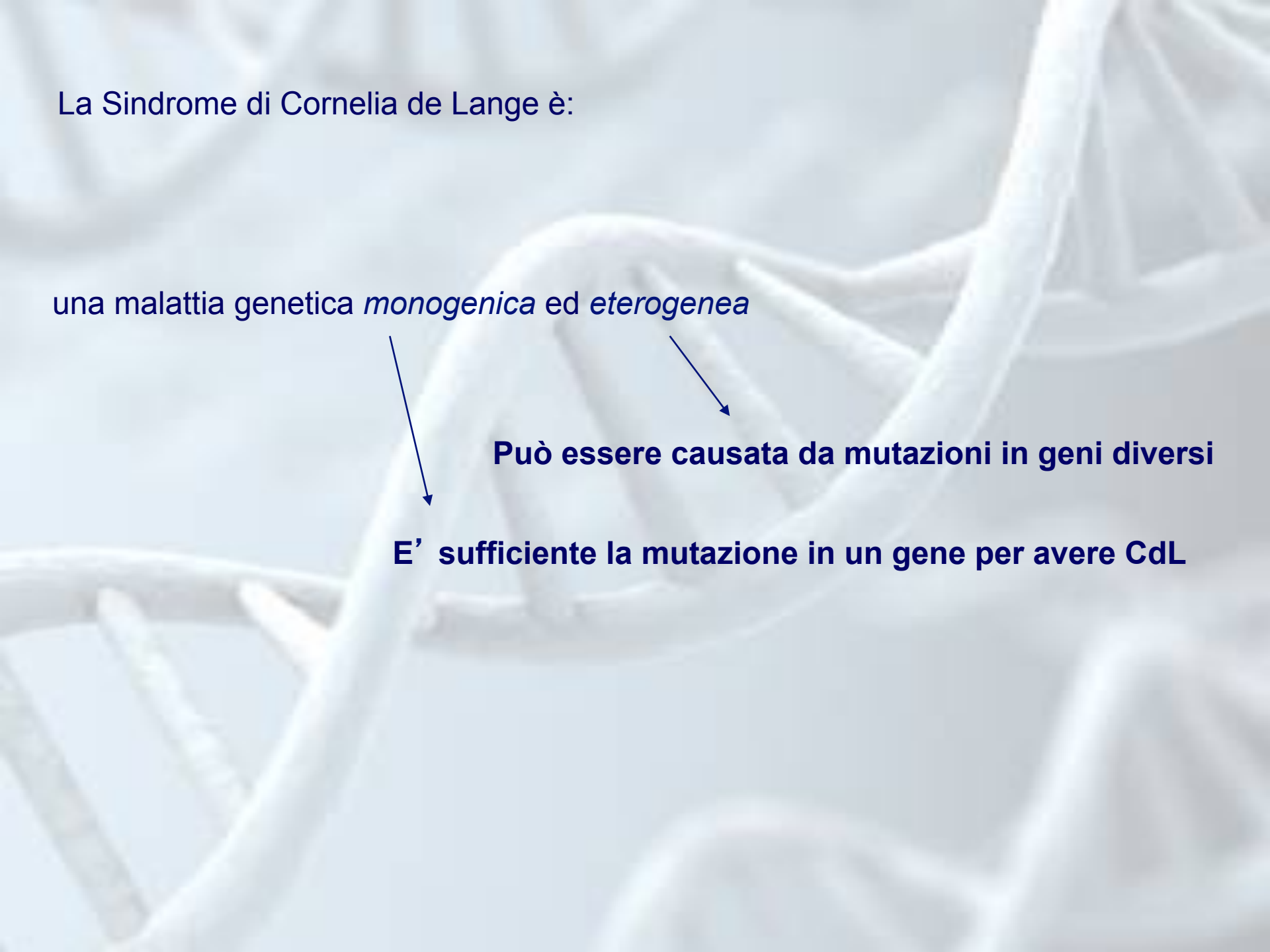
PROTEINA



mutazioni geniche

Variazioni irreversibili del materiale genetico (DNA)





La Sindrome di Cornelia de Lange è:

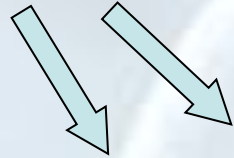
una malattia genetica *monogenica* ed *eterogenea*

Può essere causata da mutazioni in geni diversi

E' sufficiente la mutazione in un gene per avere CdL

Malattia genetica **ETEROGENEA**, mutazioni in:

Gene A



Gene B



Gene C



I geni CdLS

2004

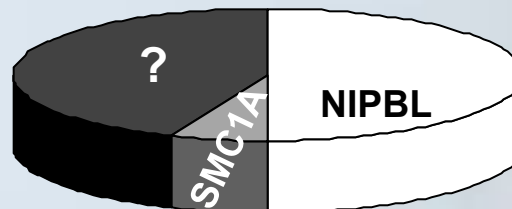
NIPBL (5p13.2): mutazioni in questo gene sono presenti in circa il 50% dei pazienti CdLS

2006

SMC1A (Xp11.22): mutazioni in questo gene sono presenti in circa il 6% dei pazienti CdLS

2007

SMC3 (10q25.2): una mutazione in questo gene è stata riportata in un solo paziente CdLS



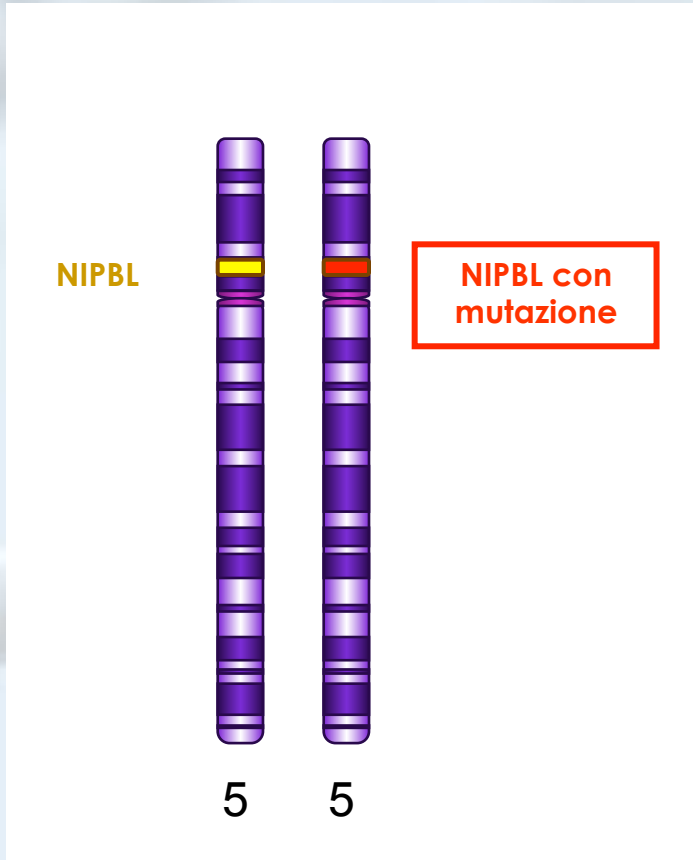


nucleo di cellula maschile



a trasmissione autosomica dominante

Il gene NIPBL



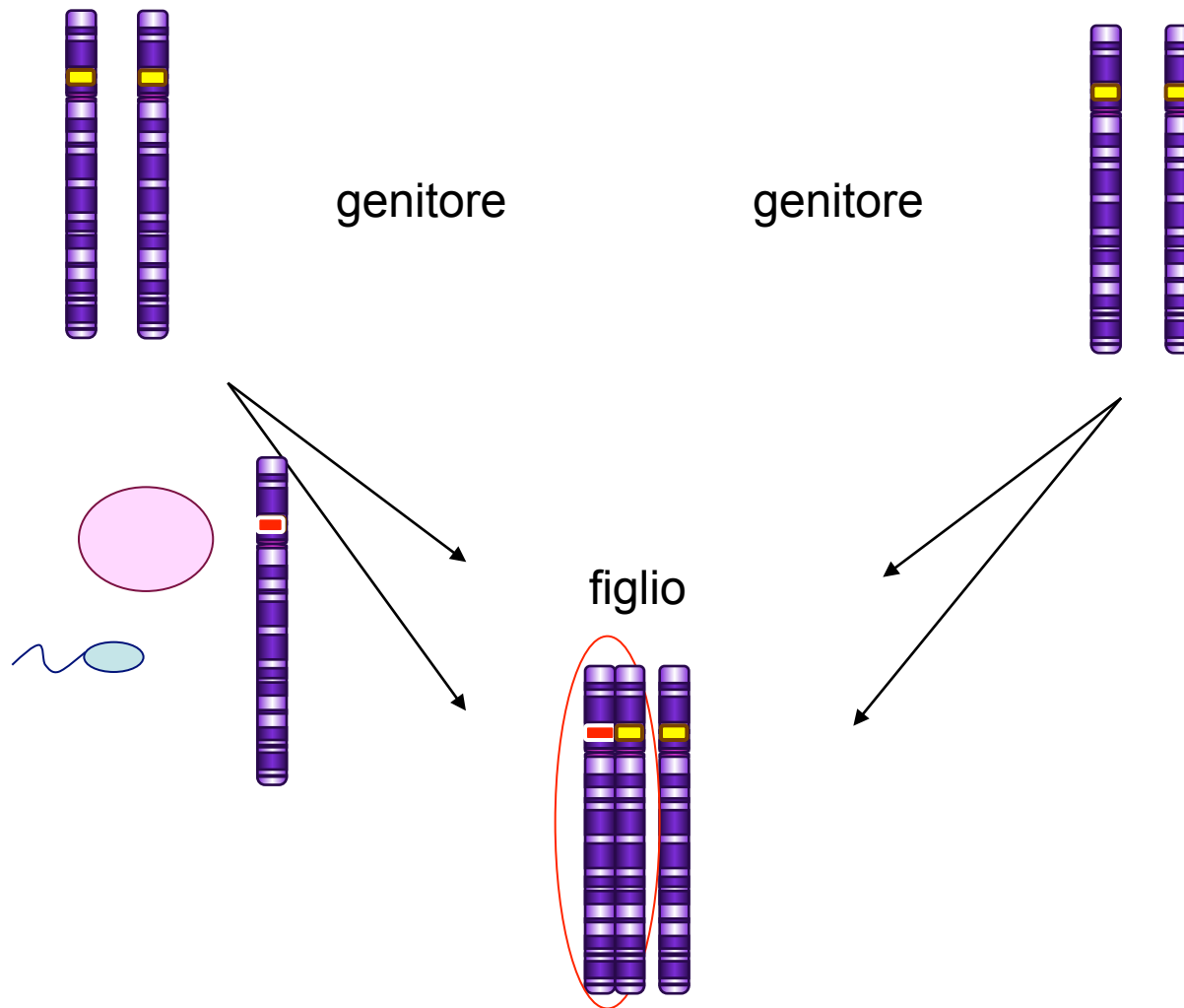
E' sufficiente che la mutazione sia presente solo in una copia (allele) del gene affinché si abbia la malattia

Nella maggior parte dei pazienti CdLS in una delle due copie (alleli) del gene c'è una mutazione



a trasmissione autosomica dominante

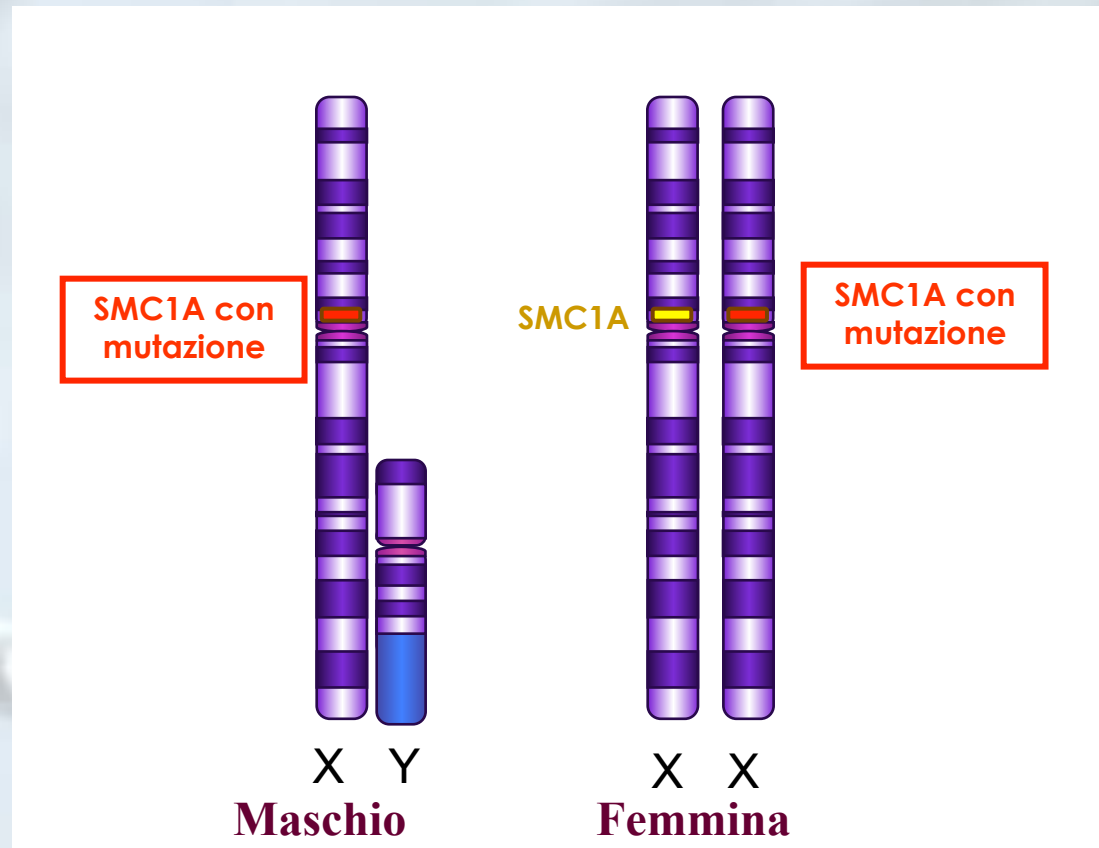
Il gene NIPBL





a trasmissione X-linked

Il gene SMC1A



Nei pazienti CdLS con mutazione in SMC1A:

-se maschi hanno una mutazione nell' unico allele di SMC1A

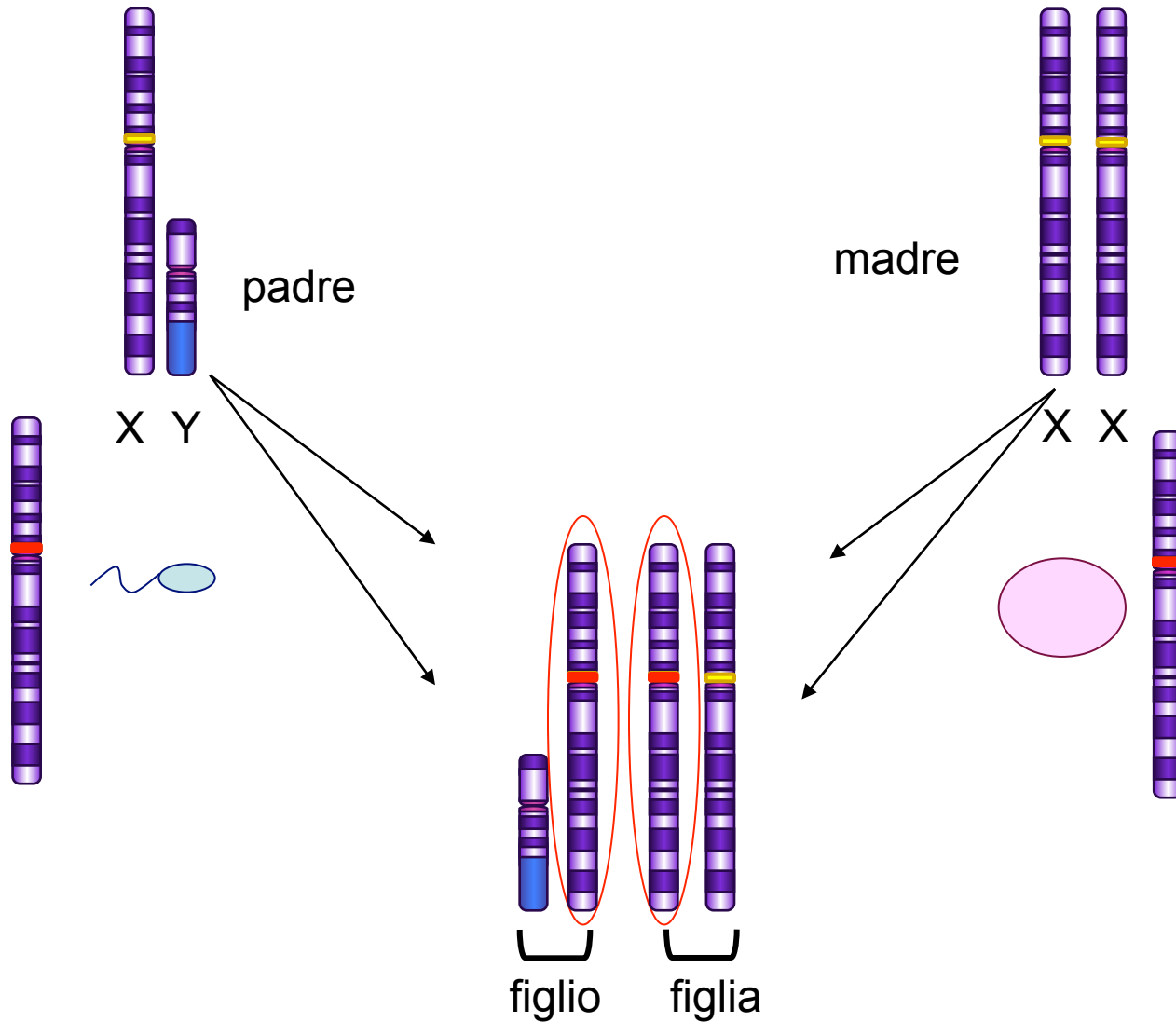
-se femmine hanno una mutazione in uno dei due alleli SMC1A



a trasmissione X-linked dominante

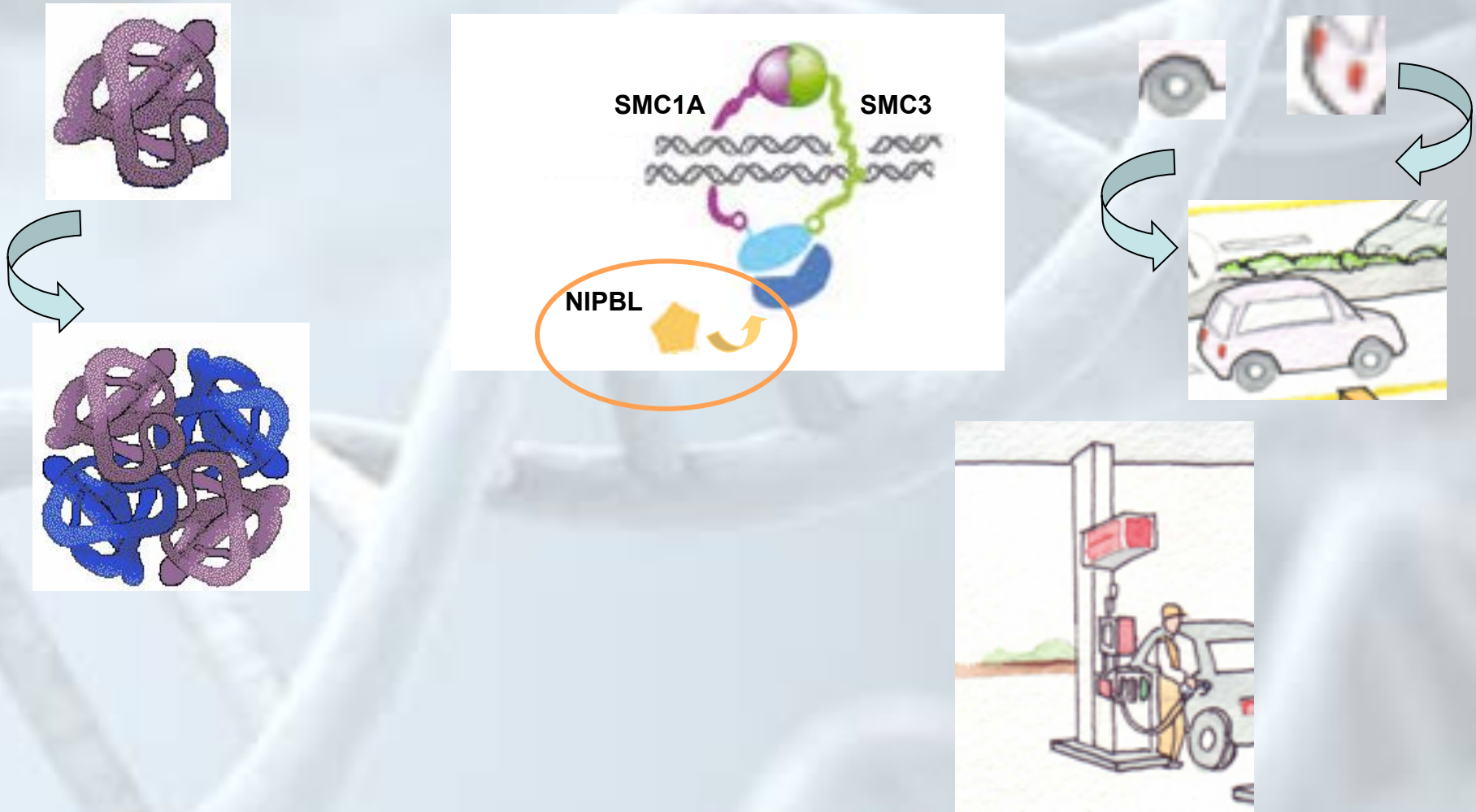


Il gene SMC1A



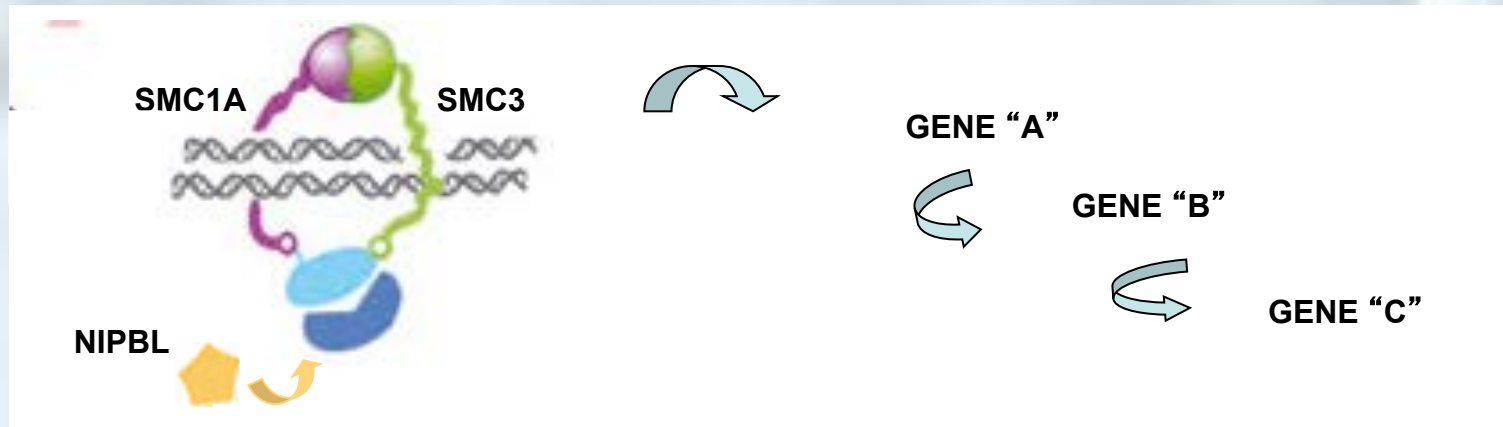
La funzione dei geni CdLS

Le coesine (SMC1A/SMC3) formano un complesso che “abbraccia” e tiene unite le due parti del cromosoma; la delangina (NIPBL) “carica” il complesso sul cromosoma



La funzione dei geni CdLS

Le coesine e la delangina regolano l'espressione di altri geni (tra cui quelli deputati allo sviluppo scheletrico e allo sviluppo del sistema nervoso centrale)



Aggiornamenti in ambito genetico

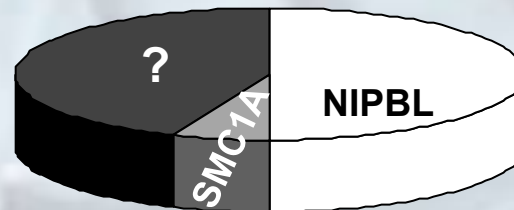
→ La genetica della CdLS: breve cenno su studi pregressi

→ Lo studio della genetica della CdLS: le novità: **NUOVI
GENI e NUOVE METODICHE DI STUDIO**

NIPBL (5p13.2): 50% dei pazienti CdL hanno una mutazione nel gene NIPBL

SMC1A (Xp11.22): 6% dei pazienti CdL hanno una mutazione nel gene SMC1A

SMC3 (10q25.2): Pochi (?) pazienti CdL hanno una mutazione nel gene SMC3



E il restante **44%** ??? → RICERCA DI NUOVI GENI???

Altri 2 geni...

Ad oggi 6 CdLS descritti

The American Journal of Human Genetics 90, 1014–1027, June 8, 2012

ARTICLE

RAD21 Mutations Cause a Human Cohesinopathy

Matthew A. Deardorff,^{1,2,*} Jonathan J. Wilde,¹ Melanie Albrecht,³ Emma Dickinson,⁴ Stephanie Tennstedt,⁵ Diana Braunholz,³ Maren Mönnich,⁴ Yuqian Yan,⁶ Weizhen Xu,^{3,7} María Concepcion Gil-Rodriguez,^{3,8} Dinah Clark,¹ Hakon Hakonarson,^{1,2,9} Sara Halbach,¹⁰

**0,5-1% dei negativi
a NIPBL e SMC1A:**

<0,3-0,5%

**ANALISI DI 101 CdLS e 189 CdLS-like: 1 con
ALTERAZIONE su RAD21 (altri 3 ripresi da
letteratura) poi ANALISI di ALTRI 258 CdLS:
2 con MUTAZIONE IN RAD21**



LETTER

13 SEPTEMBER 2012 | VOL 489 | NATURE | 313

doi:10.1038/nature11316

HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle

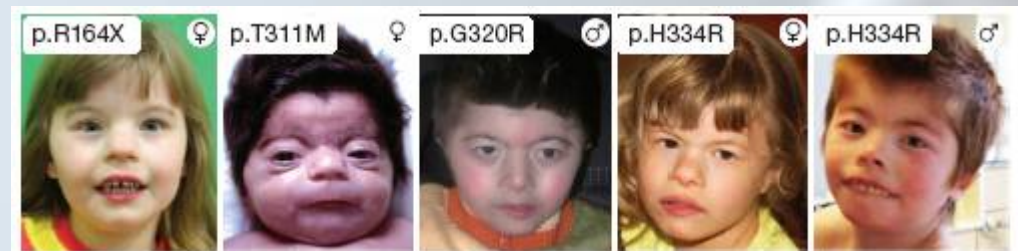
Matthew A. Deardorff^{1,2,*}, Masashige Bando^{3,*}, Ryuichiro Nakato^{3,*}, Erwan Watrin^{4,*}, Takehiko Itoh⁵, Masashi Minamino³, Katsuya Saitoh³, Makiko Komata³, Yuki Katou³, Dinah Clark¹, Kathryn E. Cole⁶, Elfride De Baere⁷, Christophe Decroos⁶, Natalia Di Donato⁸, Sarah Ernst¹, Lauren L. Francey¹, Yolanda Guffodimou⁹, Kyotaro Hirashima¹⁰, Melanie Hüllings¹

Ad oggi 6 CdLS descritti

**<4% dei negativi a
NIPBL e SMC1A:**

<2%

**ANALISI DI 154 CdLS:
6 con MUTAZIONE IN HDAC8**





una malattia genetica *eterogenea*



nucleo di cellula maschile

Mutazioni in 5 geni diversi causano la Cornelia de Lange



All DatabasesPubMedNucleotideProteinGenomeStructurePMCOMIM

Search OMIM for cornelia de lange syndrome Go Clear Save Search

☐ 1: [#122470. CORNELIA DE LANGE SYNDROME 1; CDLS1](#)
Gene map locus [5p13.1](#)

☐ 2: [#300590. CORNELIA DE LANGE SYNDROME 2; CDLS2](#)
Gene map locus [Xp11.22-p11.21](#)

☐ 3: [#300882. CORNELIA DE LANGE SYNDROME 5; CDLS5](#)

☐ 4: [#614701. CORNELIA DE LANGE SYNDROME 4; CDLS4](#)

☐ 5: [#610759. CORNELIA DE LANGE SYNDROME 3; CDLS3](#)
Gene map locus [10q25](#)

GeneTests, Links

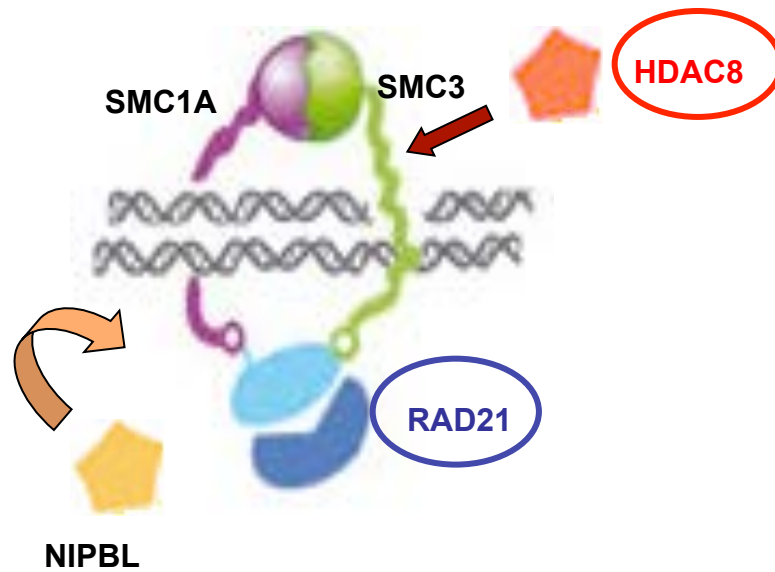
GeneTests, Links

Links

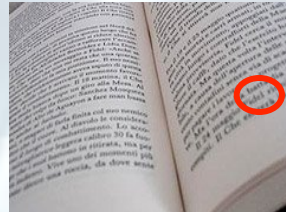
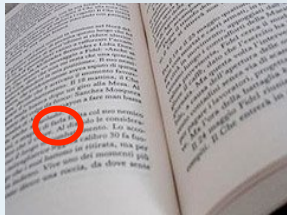
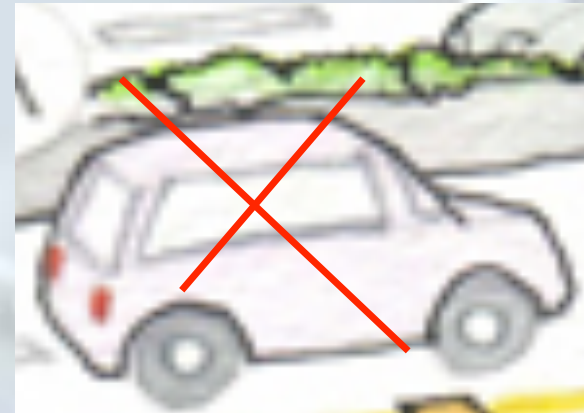
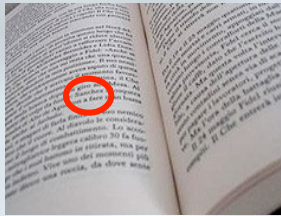
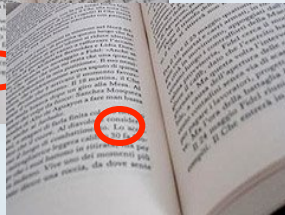
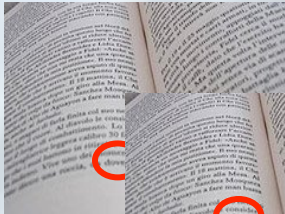
GeneTests, Links

GeneTests, Links

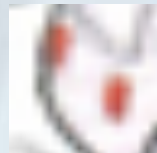
Mutazioni in 5 geni diversi causano la Cornelia de Lange



GENE



SMC1A



SMC3-RAD21



HDAC8

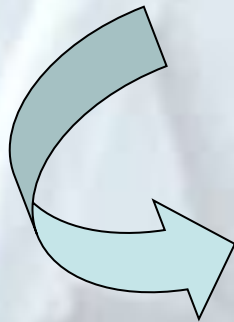


NIPBL

PROTEINE

Mutazioni in 5 geni diversi causano la Cornelia de Lange

**una mutazione in NIPBL o in
SMC1A o SMC3 o RAD21 o HDAC8
o ... ha conseguenze diverse ???**



...lo chiederemo ai clinici....

La nostra esperienza



DIAGNOSI CLINICA



ANALISI NIPBL
(DHPLC E SEQUENZIAMENTO)

+



Conferma molecolare diagnosi

-



ANALISI SMC1A
(DHPLC E SEQUENZIAMENTO)

+



Conferma molecolare diagnosi

-



...

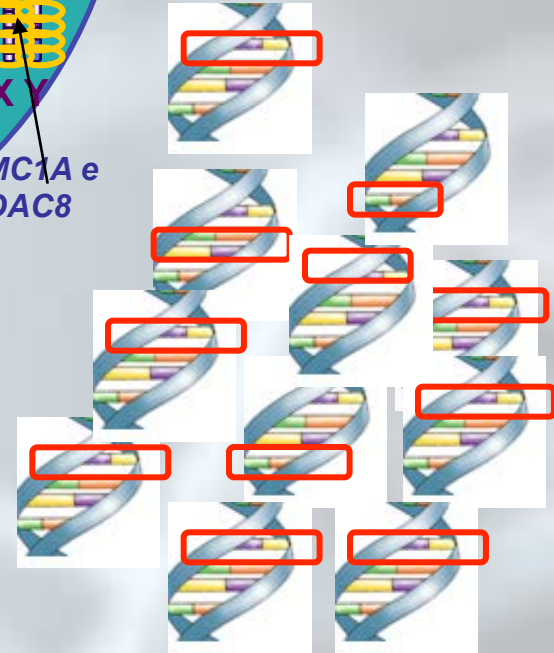
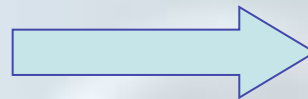
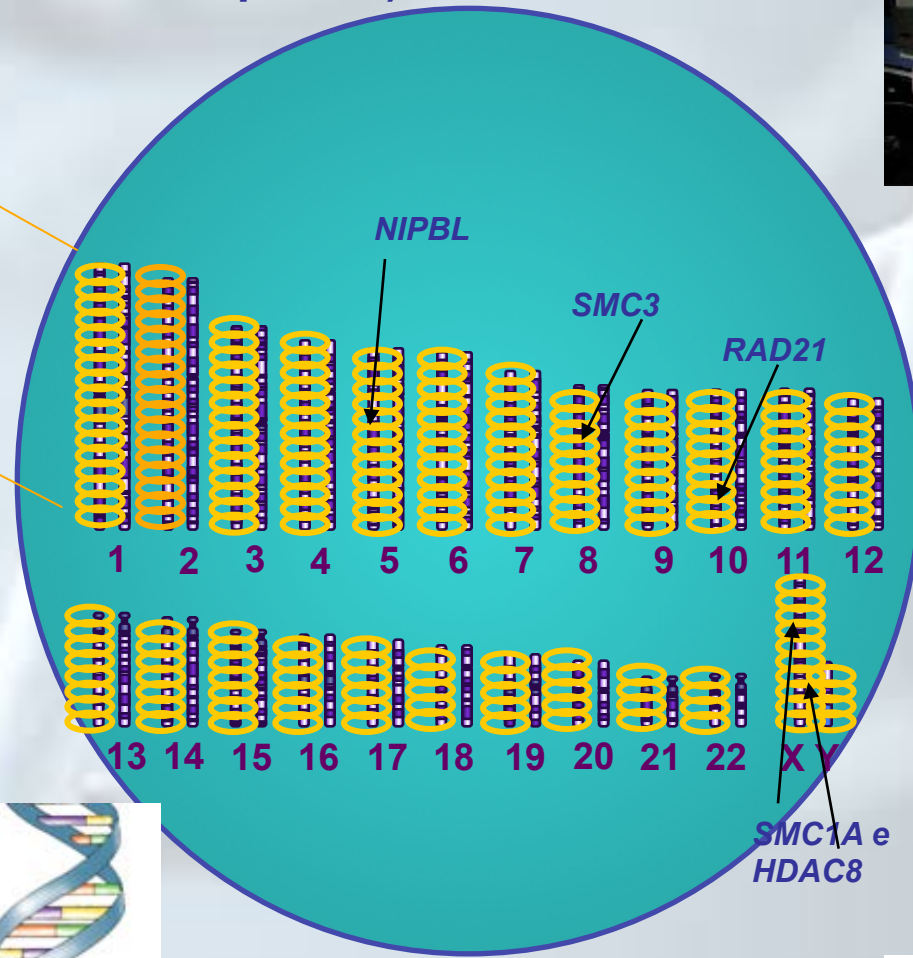
Analisi di sequenziamento tradizionale



Gene SMC1A
~5.000 sequenze

Gene NIPBL
~10.000 sequenze

Analisi NGS (next generation sequencing) ESOMA (~20.000 geni per ~ 50milioni di sequenze)



[illegible]

Analisi NGS (next generation sequencing)

VANTAGGI E SVANTAGGI

Rapidità risposta (?)

Analisi contemporanea di tutti i geni noti

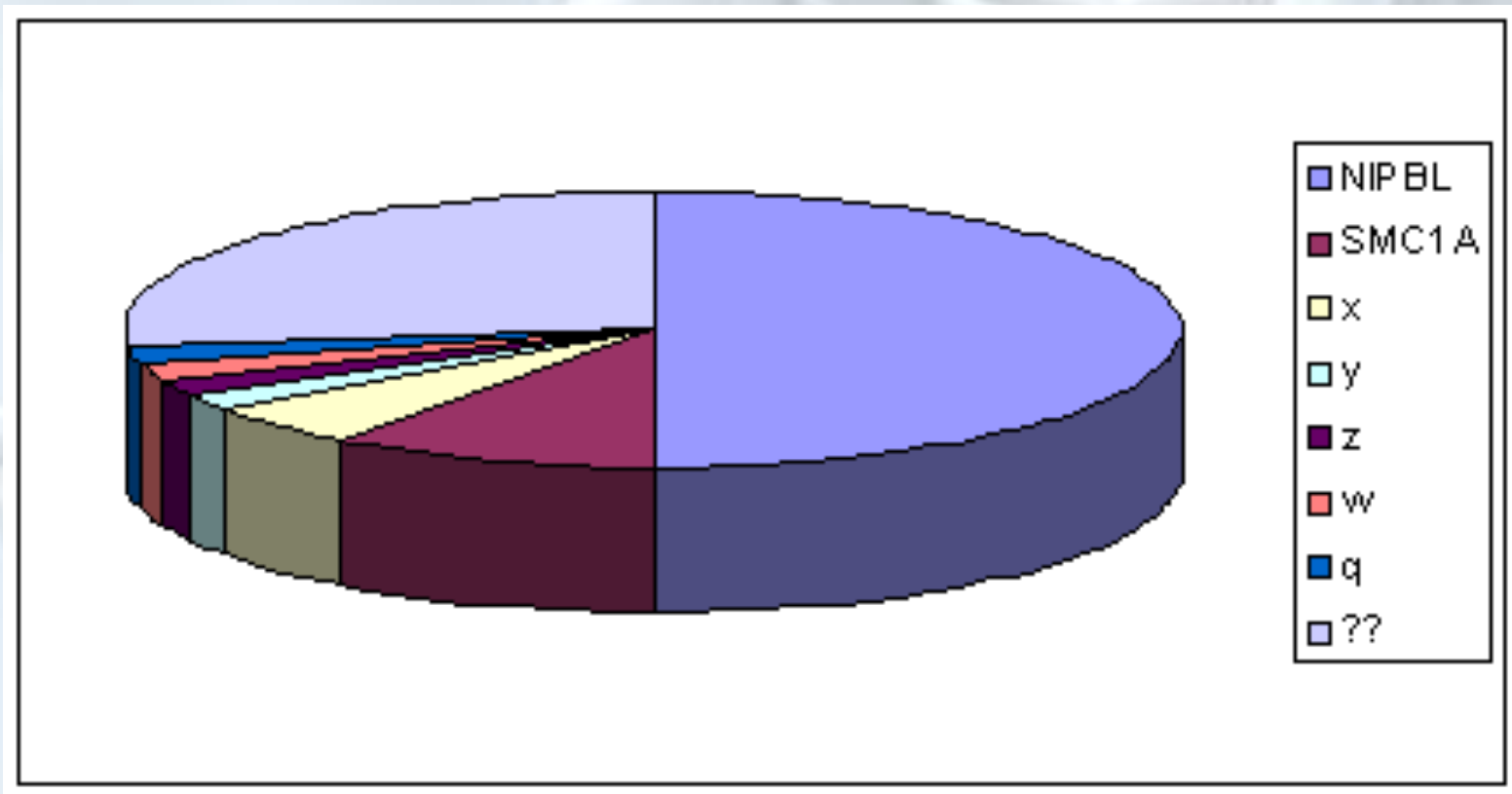
Costi elevati

Difficile interpretazione risultati (in ogni campione sono presenti circa 25.000 varianti di cui occorre capire il significato)

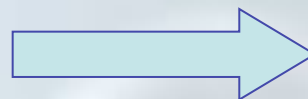
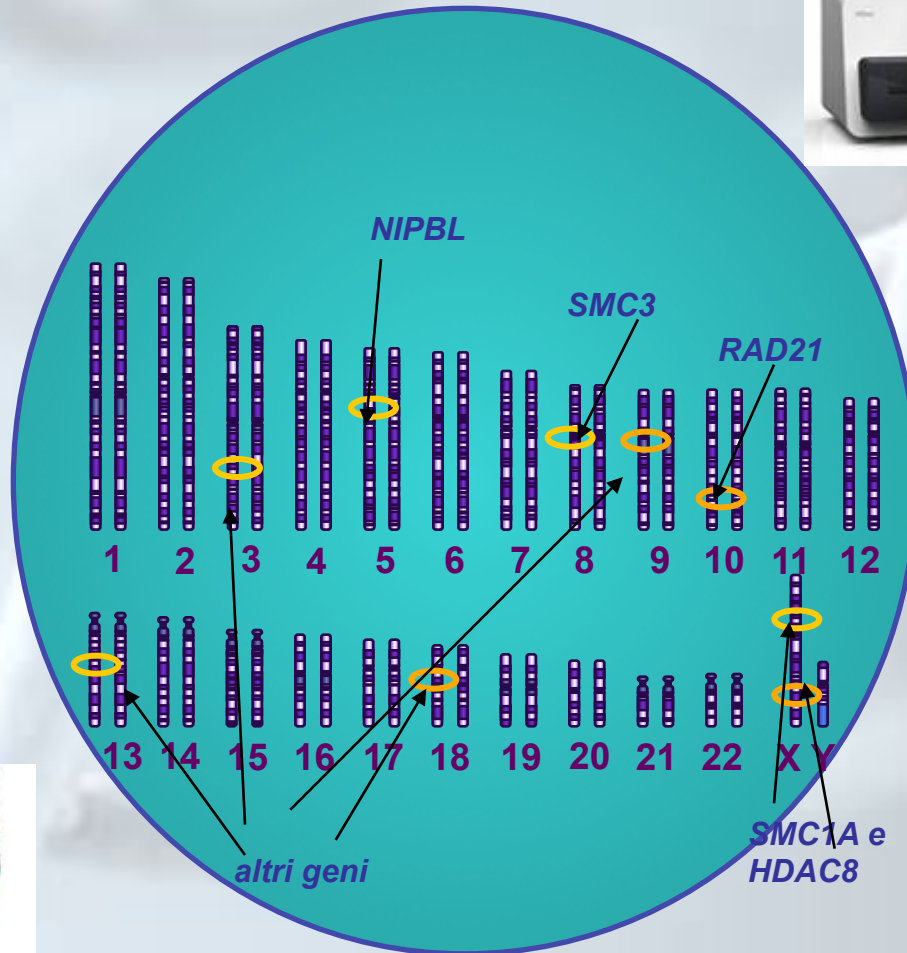
Molti falsi positivi, possibili falsi negativi

Analisi NGS (next generation sequencing)

COSA CI ASPETTIAMO



Analisi NGS (next generation sequencing) *prospettiva*



Le alterazioni dei geni delle coesine

NIPBL con mutazione

Che utilità ha l' analisi molecolare?

CONFERMA DELLA DIAGNOSI *

ESPANSIONE CONOSCENZA CAUSA-EFFETTO *

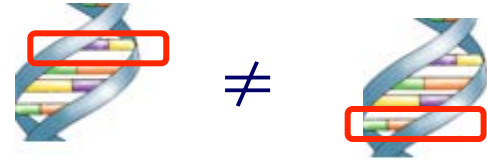
SUPPORTO CONSULENZA FAMILIARE



LE PROSPETTIVE DI RICERCA GENETICA per CdLS

La ricerca si propone di:

- studiare ogni tipo di mutazione



- capire se ci sono conseguenze diverse per una mutazione in NIPBL o in SMC1A o SMC3 o RAD21 o HDAC8 o...
- studiare qual è la funzione che viene persa
- stabilire se c'è un rischio di ricorrenza per future gravidanze
- capire quali altri geni possono causare la CdLS

Per qualsiasi domanda...



Cristina Gervasini

Genetica Medica (6° piano, blocco C)

Universita' di Milano Polo Ospedale San Paolo MILANO

tel. 02 50323028

fax 02 50323026

cristina.gervasini@unimi.it