

Caccia al gene

Lo scopo di questa attività pratica è di capire come attraverso l'uso di banche dati bioinformatiche sia possibile, partendo da una sequenza parziale di DNA umano, identificare il gene a cui appartiene la sonda nucleotidica, identificare le differenze tra la sequenza data e quella normale, ottenere informazioni dettagliate sulla proteina codificata dal gene e sul suo pattern di espressione (per esempio in che tessuti il gene si esprime), mettere in relazione le alterazioni del gene con malattie.

Ti verrà data una sequenza parziale di DNA (sonda) e con quella dovrai “pescare” il gene corrispondente. Sarà come trovare un ago in un pagliaio!!

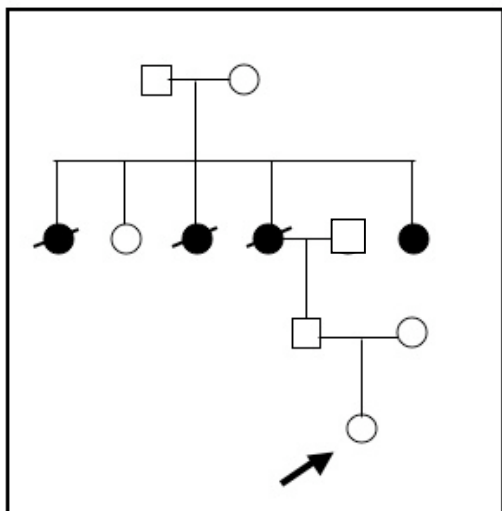
Obiettivi dell'attività:

1. identificare un gene a partire da una sequenza (sonda) sconosciuta;
2. identificare la regione del cromosoma dove si trova il gene;
3. definire la struttura esone-introne del gene ed ottenere la sequenza completa del cDNA;
4. identificare le caratteristiche principali del cDNA ed elaborare uno schema con la posizione del codone di inizio, di stop e del segnale di poliadenilazione;
5. tradurre la molecola di cDNA nella corrispondente proteina;
6. ottenere informazioni sulla struttura in 3D della proteina;
7. capire come correlare la mutazione in un gene ad una malattia.

Scenario

I test predittivi vengono proposti a individui asintomatici che hanno, nella loro famiglia, casi di malattie genetiche. Nella storia che viene proposta per l'attività di bioinformatica, una donna con casi di cancro al seno in famiglia (vedi l'albero genealogico della famiglia del probando) chiede di sottoporsi ad un test per evidenziare se è portatrice di geni di predisposizione alla malattia (in questo caso il tumore al seno).

Anne, una giovane donna di 23 anni, si reca al suo primo appuntamento con il suo nuovo ginecologo; il dottore nota dal racconto di Anne che nella sua famiglia ci sono stati numerosi casi di cancro. La sua nonna paterna morì a 40 anni di cancro al seno; due delle quattro zie paterne sono morte prima dei 50 anni per cancro alle ovaie e ad una terza zia paterna all'età di 39 anni è stato



recentemente diagnosticato il cancro al seno. Il ginecologo pensa che nella famiglia di Anne possa essere presente una mutazione in uno dei due geni che controllano la predisposizione allo sviluppo del cancro al seno e/o all'ovaio (BRCA1 or BRCA2). Durante la visita il ginecologo individua un nodulo sospetto nel seno destro di Anne e ne predispone una biopsia. Inoltre il ginecologo suggerisce ad Anne il test del DNA ma la informa che i risultati potranno essere informativi solo se si può fare il test anche sui famigliari, per individuare esattamente la mutazione tipica della sua famiglia.

Anne contatta subito sua zia malata scoprendo che si è già sottoposta al test genetico da cui è risultata portatrice di una rara mutazione nel gene BRCA2.

Per fare diagnosi di malattie genetiche viene utilizzata dai laboratori una tecnica particolare: la RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*). L'RT-PCR è una tecnica che amplifica un frammento di acido ribonucleico (RNA). La molecola di RNA è dapprima trascritta nel DNA complementare (o cDNA) attraverso l'uso dell'enzima trascrittasi inversa (RT), e in seguito amplificata utilizzando la reazione a catena della polimerasi. L'RT-PCR usa come stampo una molecola di RNA ed è quindi molto utile per l'analisi dell'espressione genica in un tessuto.

Sul campione della biopsia di Anne viene eseguita la RT-PCR e il prodotto della reazione viene sequenziato: si scopre che la mutazione nel gene di Anne è la stessa riscontrata nelle analisi della zia.

Userai una sequenza parziale di cDNA di Anne come sonda per identificare la mutazione presente in questa famiglia e per dimostrare la presenza della mutazione nel DNA di Anne.