

Dosaggio dei geni SMN1 e SMN2 associati ad Atrofia Muscolo Spinale (SMA) mediante PCR-multiplex quantitativa non competitiva in fluorescenza

Grati FR¹, Ruggeri AM¹, Dulcetti F¹

¹ Unità di Citogenetica e Biologia Molecolare, Laboratorio TOMA, Busto Arsizio, Varese, Italia.

La SMA è una delle più diffuse malattie autosomiche recessive (1/10.000 nati vivi e 1/50 portatori). Essa è caratterizzata dalla degenerazione delle cellule nervose delle corna anteriori del midollo spinale. Le condizioni cliniche dei pazienti risultano eterogenee e per questo la malattia viene suddivisa in tre tipi (SMAI-III) in base ad età d'esordio e alla severità clinica. Il locus *Survival Motor Neuron* (SMN) associato alla SMA (5q13) possiede una struttura complessa costituita da una ripetizione invertita di 500 Kb. La ripetizione telomerica SMN1 (600354) e quella centromerica SMN2 (601627) hanno una sequenza che differisce solo per 5 nucleotidi. Il nucleotide C840T dell'esone 7 viene solitamente analizzato per confermare la delezione di SMN1 che è presente in omozigosi in circa 95% dei pazienti. Nel passato l'individuazione degli eterozigoti si basava su studi di linkage e PCR multiplex quantitative competitive utilizzando standard plasmidici. Queste metodiche hanno dimostrato una specificità e sensibilità inferiore al 100% a causa della variabilità delle copie di SMN1/2 e della formazione di eteroduplici SMN1-SMN2. Allo scopo di sovvenire a tali inconvenienti Saugier-Weber e coll. (2001) hanno messo a punto una QF-PCR multiplex non competitiva che amplifica i geni SMN, MLH1 (esone18) e BRCA1 (esone11). I geni SMN vengono amplificati utilizzando un *Mismatch Primer*.

Lo scopo di questo studio è stato quello di mettere a punto e validare questa tecnica in una casistica comprendente 100 campioni di individui sani, affetti e portatori obbligati della delezione precedentemente caratterizzati. I risultati indicano che questa metodica ha una sensibilità e una specificità del 100%. Inoltre, mediante il dosaggio genico di SMN2, è possibile riconoscere il meccanismo alla base della aploinsufficienza/assenza del gene SMN1 (gene conversion di SMN1 in SMN2 o delezione di SMN1), fornendo una ulteriore informazione utile nell'ambito del counselling genetico.