

Studio di campioni prenatali mediante array-CGH

Simona De Toffol¹, Daniela Pecoraro¹, Hanna-Mari Raussi², Pia Ollikka², Beatrice Grimi¹, Silvia Milani¹, Elisabetta Bernardi¹, Federico Maggi¹, Giuseppe Simoni¹, Francesca Romana Grati¹

¹Ricerca e Sviluppo, Citogenetica e Biologia Molecolare, TOMA Advanced Biomedical Assays S.p.A., Busto Arsizio, Varese

²PerkinElmer LAS, Wallac, Turku, Finland.

L'applicazione in diagnosi prenatale (DP) della a-CGH è controversa. I vantaggi sono molteplici (i.e.: necessità di una quantità di campione bassa, migliore caratterizzazione degli sbilanciamenti presenti). Tuttavia, la sua applicazione in DP pone un grosso quesito riguardo al tipo di piattaforma da utilizzare in relazione al numero di Copy Number Variation (CNV) rilevate che aumenta proporzionalmente alla sua risoluzione. Dato che la caratterizzazione di tutte le CNV benigne è in evoluzione, il poter eseguire una consulenza prenatale a seguito di un risultato a cui non è possibile attribuire una interpretazione fenotipica determina ansia materna e la necessità di applicare approfondimenti diagnostici per i quali spesso non vi è tempo. Pertanto, molti autori concordano sul fatto che questa metodica debba essere applicata in casi selezionati con specifiche indicazioni (i.e.: feti con malformazioni multiple e cariotipo normale) ai quali si associa una maggiore probabilità di sbilanciamenti submicroscopici.

Per verificare la sensibilità del sistema nel rilevare le anomalie cromosomiche, il numero e il tipo di CNV, abbiamo eseguito un'analisi retrospettiva di campioni prenatali con cariotipo sbilanciato mediante piattaforma da 1Mb di risoluzione (SpectralChip 2600, PerkinElmer). Tale studio preliminare ha come scopo di verificare limiti e vantaggi, delineare gli ambiti di applicabilità e fare considerazioni riguardo all'utilizzo di questa potente metodica in ambito prenatale.

Scopo:

La tesi proposta ha due obiettivi principali:

1. la messa a punto della metodica dell'Array-CGH
2. applicazione di questa analisi in un gruppo di campioni prenatali con differenti tipi di difetti cardiaci allo scopo di riconoscere se vi siano riarrangiamenti genomici specifici non ancora evidenziati associati a queste anomalie. Questo tipo di studio potrebbe aprire nuove prospettive nella comprensione delle basi genetiche dei diversi difetti cardiaci ed, eventualmente, permettere di effettuare correlazioni fenotipo-genotipo.

Metodi:

La messa a punto dell'array-CGH su supporto da 1Mb di risoluzione (BAC Array) avverrà applicando il protocollo precedentemente pubblicato [9]. Nei casi prenatali con difetti cardiaci verrà estratto il DNA, quantificato ed analizzato applicando la stessa procedura. L'assegnazione dell'effetto patogenetico alle CNV identificate verrà eseguita anche mediante la consultazione delle banche dati delle CNV benigne attualmente disponibili.

Correlatore: Dott.ssa Francesca Romana GRATI

Bibliografia

1. Shaffer LG, Lupski JR (2000) Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annu Rev Genet* 34: 297–329.
2. Trask BJ (1991) Fluorescence in situ hybridization: applications in cytogenetics and gene mapping. *Trends Genet* 7: 149–154.
3. Rao PH, Houldsworth J, Dyomina K, Parsa NZ, Cigudosa JC, et al. (1998) Chromosomal and gene amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 92: 234–240.
4. Speicher MR, Gwyn BS, Ward DC (1996) Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nat Genet* 12: 368–375.
5. Lu XY, Harris CP, Cooley L, Margolin J, Steuber PC, et al. (2002) The utility of spectral karyotyping in the cytogenetic analysis of newly diagnosed pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 16: 2222–2227.
6. Vermeesch JR, Melotte C, Froyen G, Van VS, Dutta B, et al. (2005) Molecular karyotyping: array CGH quality criteria for constitutional genetic diagnosis. *J Histochem Cytochem* 53: 413–422.
7. Speicher MR, Carter NP (2005) The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet* 6: 782–792.
8. Pergament E (2007) Controversies and challenges of array comparative genomic hybridization in prenatal genetic diagnosis. *Genet Med* 9: 596–599.
9. Olav Lapaire, Xin-Yan Lu, Kirby L. Johnson, Zina Jarrah, Helene Stroh, Janet M. Cowan, Umadevi Tantravahi and Diana W. Bianchi (2007) Array-CGH analysis of cell-free fetal DNA in 10 mL of amniotic fluid supernatant. *Prenat Diagn* 27: 616–621.