

Con il patrocinio di A.S.S.I. Gulliver Associazione Sindrome di Sotos Italia

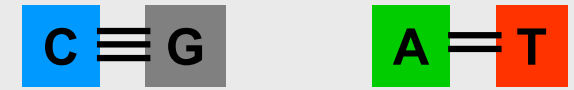
II[^] Giornata informativa sulla Sindrome di Sotos

14 Ottobre 2017

Marina Grasso

S.C. Laboratorio di Genetica Umana
E.O.Ospedali Galliera
Genova

L'informazione contenuta nel DNA è rappresentata dalla sequenza di 4 basi



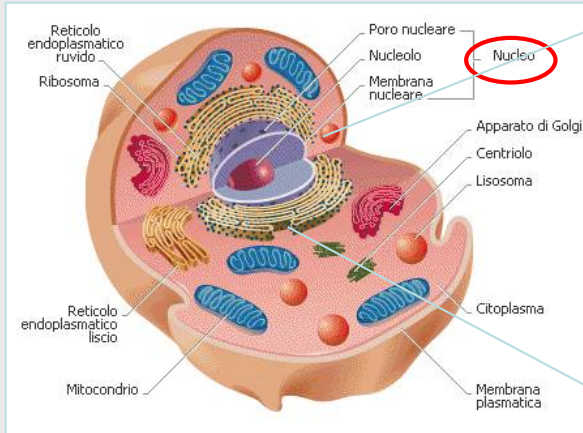
...A T C T G A A T T C G A T A T C A ...
 ...T A G A C T T A A G C T A T A G T ...



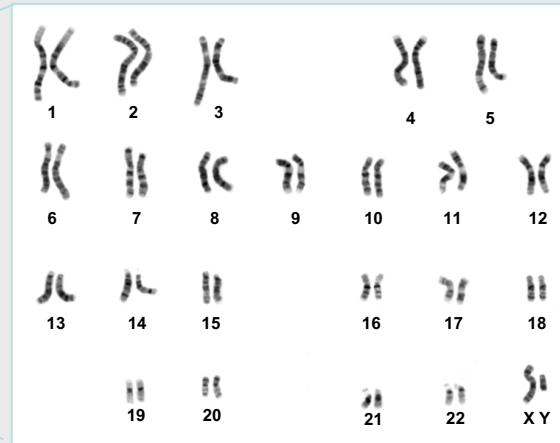
Doppia elica

Basi azotate

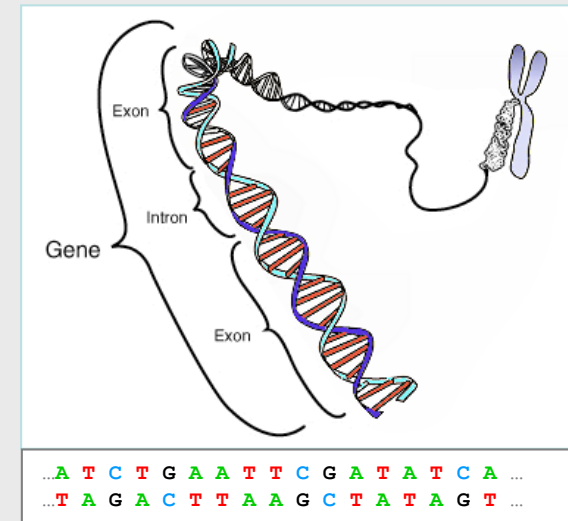
Cellula / Nucleo



Cromosomi



Gene



Le cellule umane, ad eccezione dei gameti, contengono 23 coppie di cromosomi,

I cromosomi sono costituiti da DNA, la molecola che contiene le informazioni genetiche necessarie alla vita della cellula.

Il gene corrisponde a una porzione di DNA e contiene le informazioni necessarie per la produzione di una proteina.

Nucleo > Biblioteca



Cromosomi > Libri



Gene > Testo-Istruzioni



Il Dogma centrale: il flusso dell'informazione genetica è monodirezionale: parte dal DNA per arrivare alle Proteine

Gene > ricetta pizza

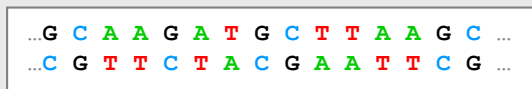


Proteina > Pizza



TRASCRIZIONE

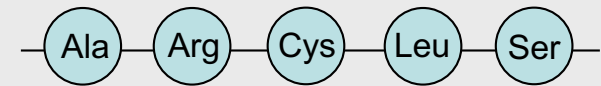
TRADUZIONE



DNA

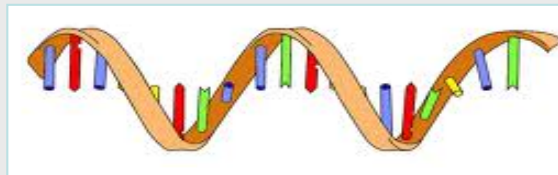


mRNA
RNA messaggero



amminoacidi

Proteina



amminoacidi

DNA Trascritto in mRNA

mRNA Tradotto in Proteina

TRASCRIZIONE

TRADUZIONE

GENOTIPO

Corredo genetico

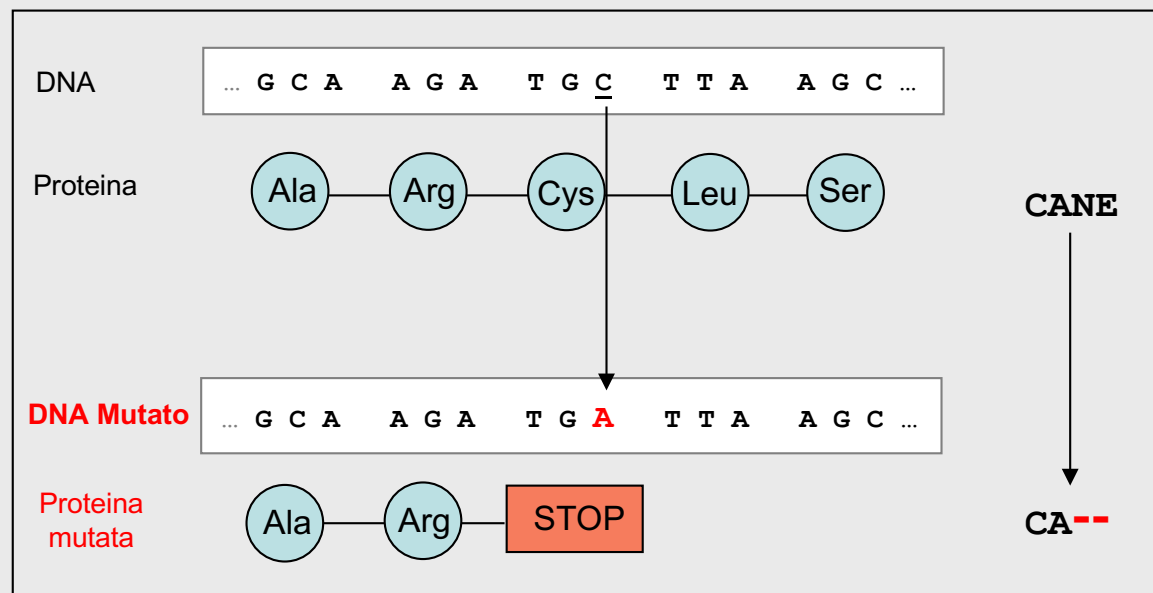
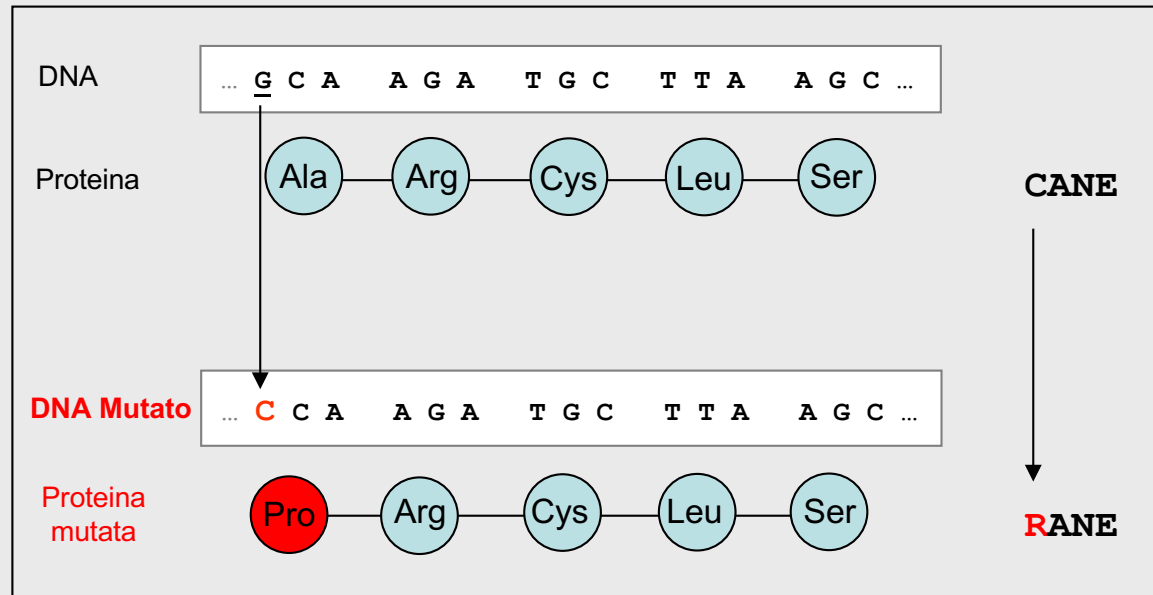
FENOTIPO

Caratteri fisici

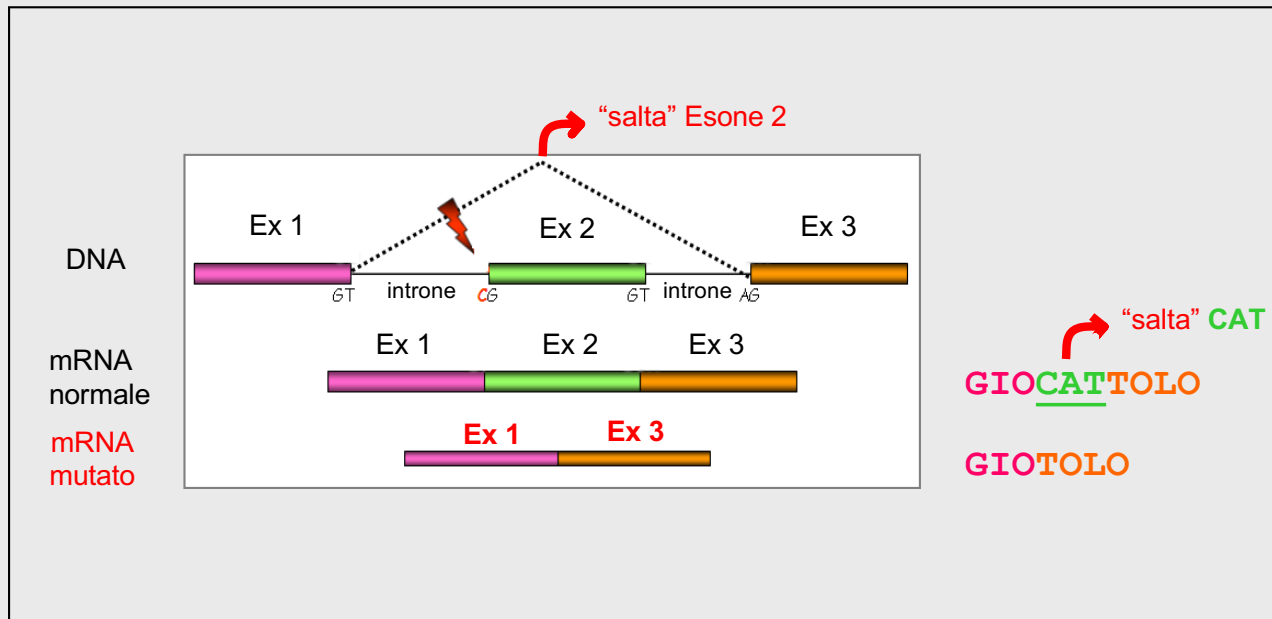
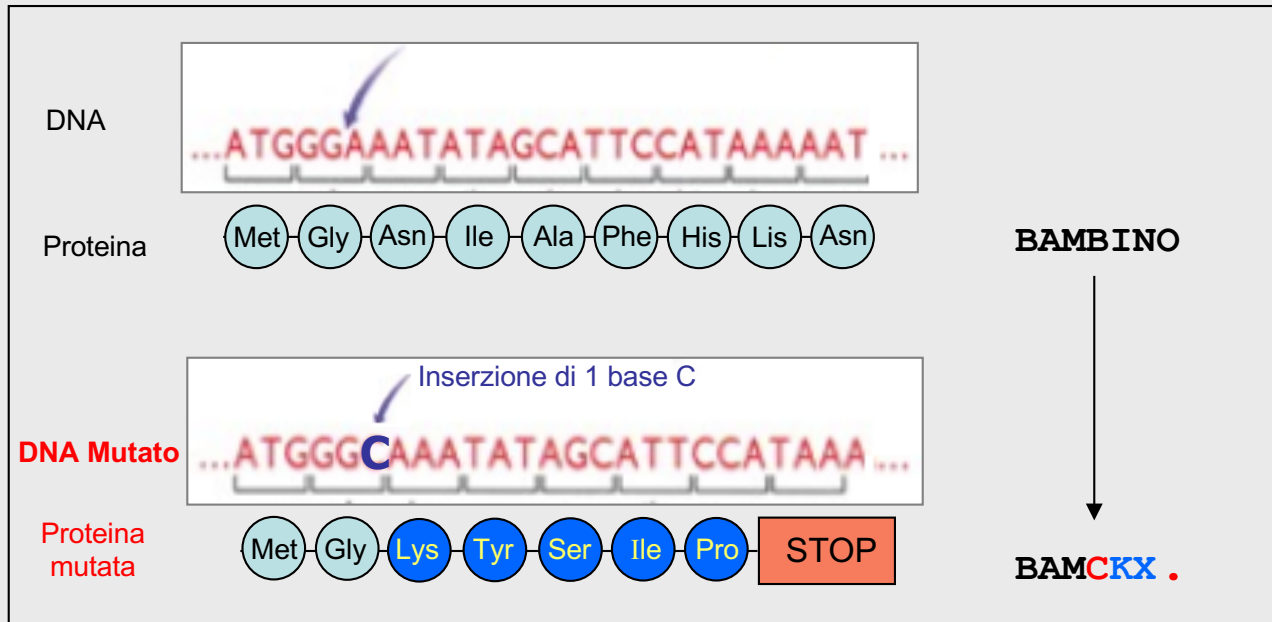


Modifica stabile ed ereditabile
nella sequenza nucleotidica

MUTAZIONI ed Effetto delle mutazioni



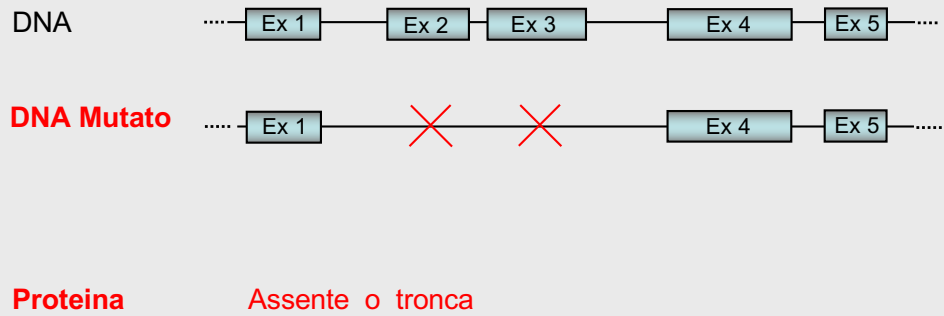
MUTAZIONI ed Effetto delle mutazioni



MUTAZIONI ed Effetto delle mutazioni

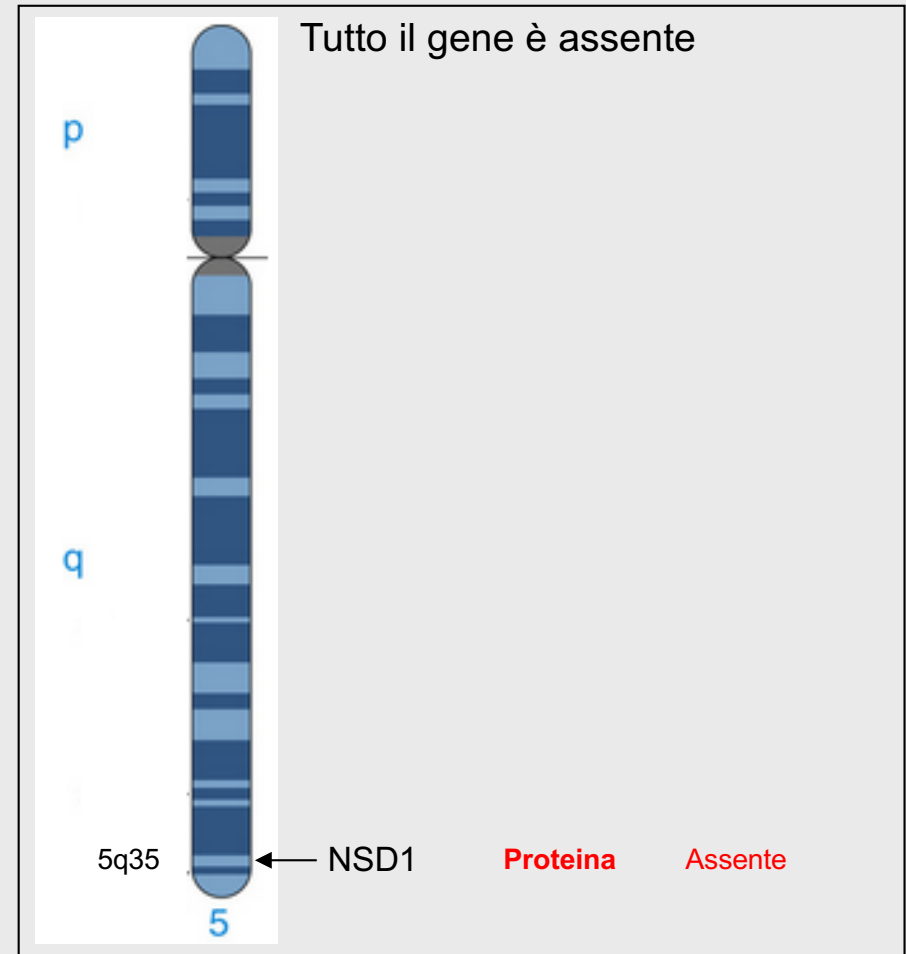
Delezioni esoniche *intrageniche*

Solo una porzione del gene è assente



Delezione 5q35

Tutto il gene è assente



Sindrome di Sotos

Trasmissione ereditaria

Malattia Autosomica Dominante

I geni sono ereditati in coppia: 1 dal padre 1 dalla madre

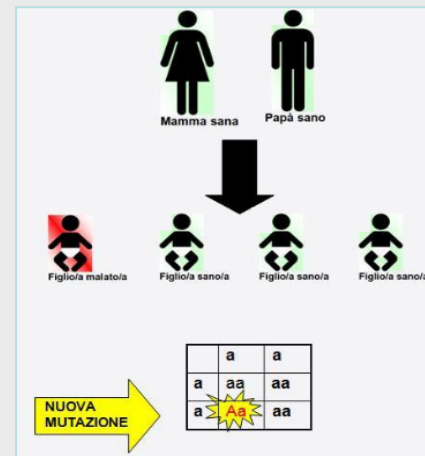
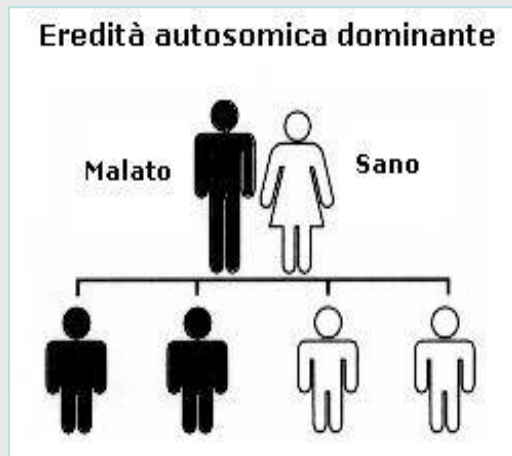
Ogni gene, quindi, è presente in 2 copie (allele materno e allele paterno)

Nelle malattie dominanti è sufficiente che venga ereditato un allele mutato perché la malattia si manifesti.

Esistono situazioni in cui non viene identificato alcun individuo malato nella famiglia, eppure può accadere che nasca un soggetto con la malattia genetica autosomica dominante.

In questi casi, si parla di *nuova mutazione* o *mutazione de novo*.

Potenzialmente ogni gene durante il processo di gametogenesi, può andare incontro a mutazione.



Sindrome di Sotos:

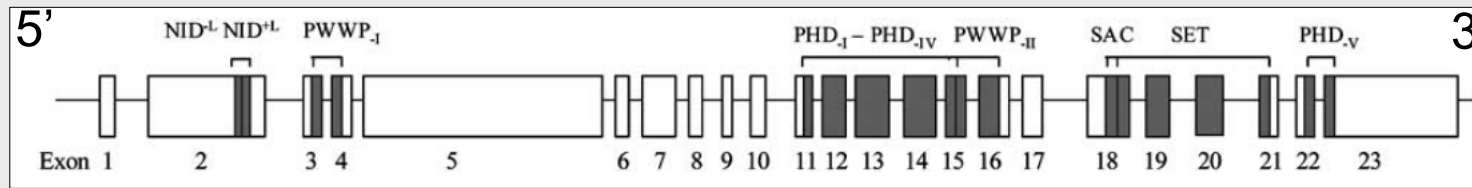
Casi Sporadici, (casi familiari rarissimi)

Mosaicismo germinale ad oggi mai descritto

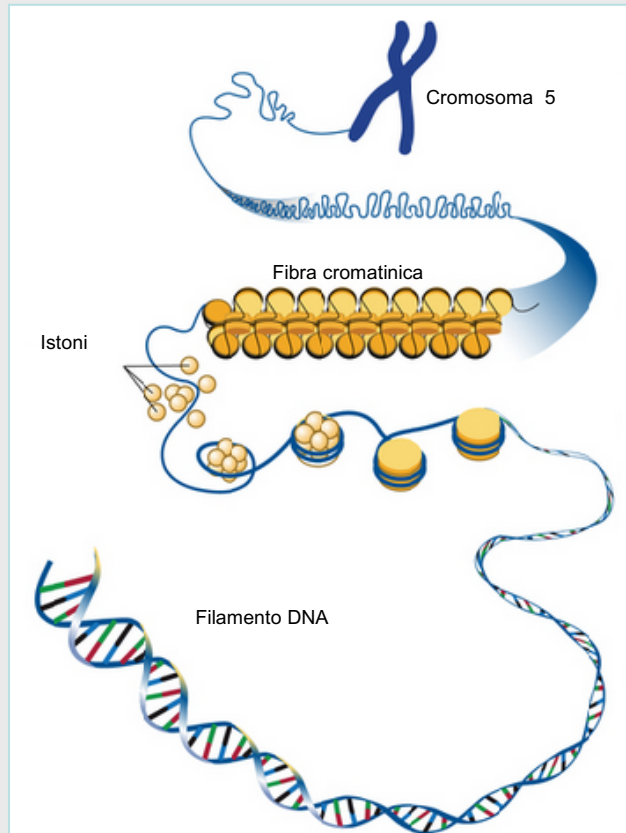
Rischio di ricorrenza < 1%

GENE NSD1

(recettore Nucleare che lega il Dominio SET della proteina 1)



23 esoni – ORF 8088 bp – 6 domini funzionali



PROTEINA NSD1:
Metil-Transferasi istonica
2696 aa

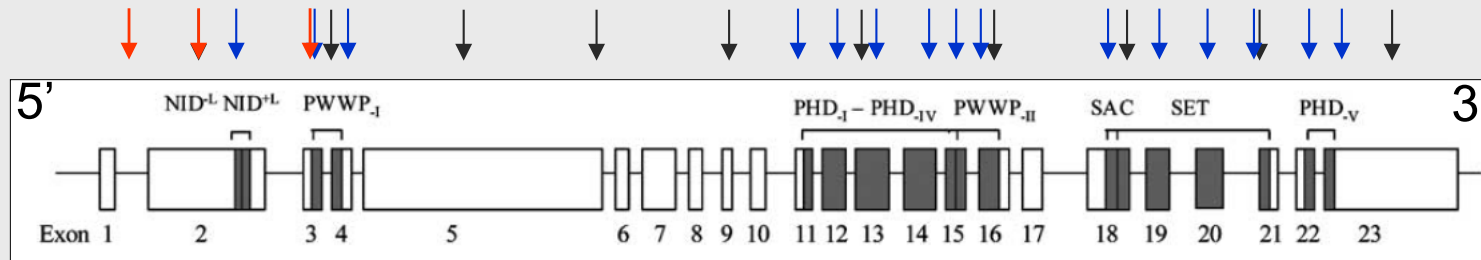
Funzione Regolatrice dell'espressione genica

La Proteina NSD1 regola l'attività di altri geni coinvolti nella crescita e sviluppo, attivando o inibendo la loro espressione.



La Proteina NSD1 è un enzima che modifica proteine strutturali chiamate istoni, che si legano al DNA e danno ai cromosomi la loro forma.

GENE NSD1 e Mutazioni



Database HGMD Totale 468 varianti

Aggiorn.31-08-2017

- 455** DM Patogenetiche
- 11** DM? Probabilmente Patogenetiche
- 2** DP Polimorfimo associato alla malattia

Tipo di Mutazione:

Mutazioni Troncanti : Nonsense - Ins/Del - mutazioni siti di Splicing

Mutazioni Missenso: Sostituzione di singole basi

Delezioni esoniche:

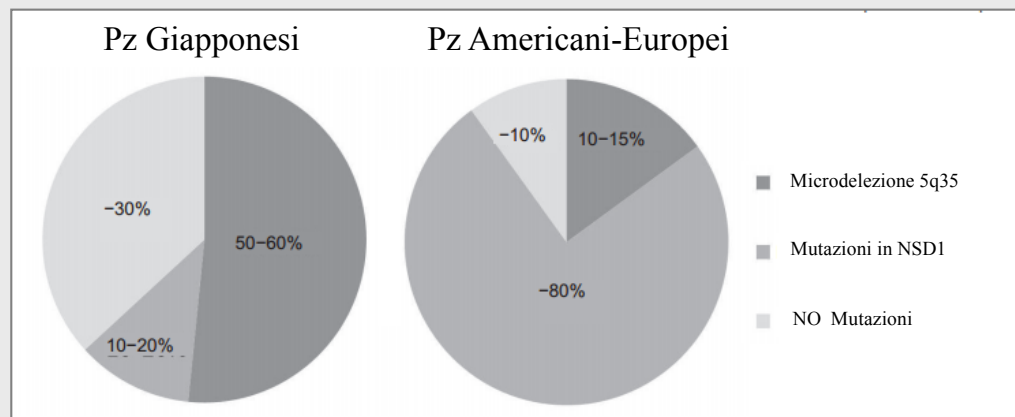
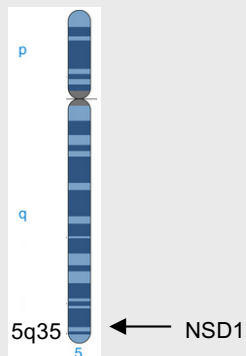
Microdelezioni 5q35 >>> assenza dell'intero gene NSD1 (talvolta la delezione è più ampia e si estende alle regioni adiacenti il gene NSD1)

localizzazione nel gene

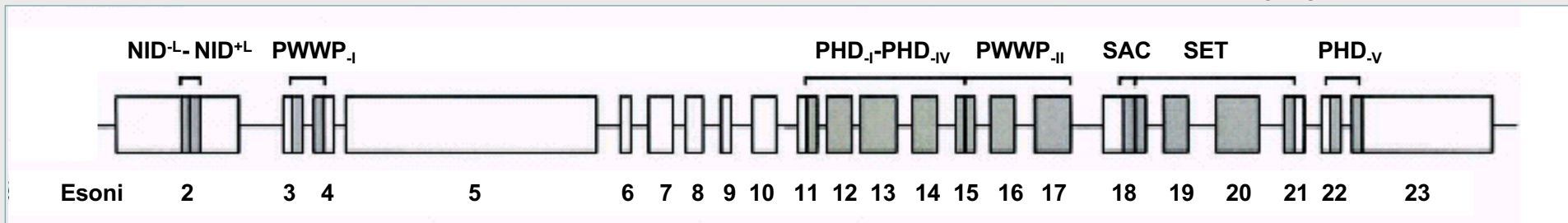
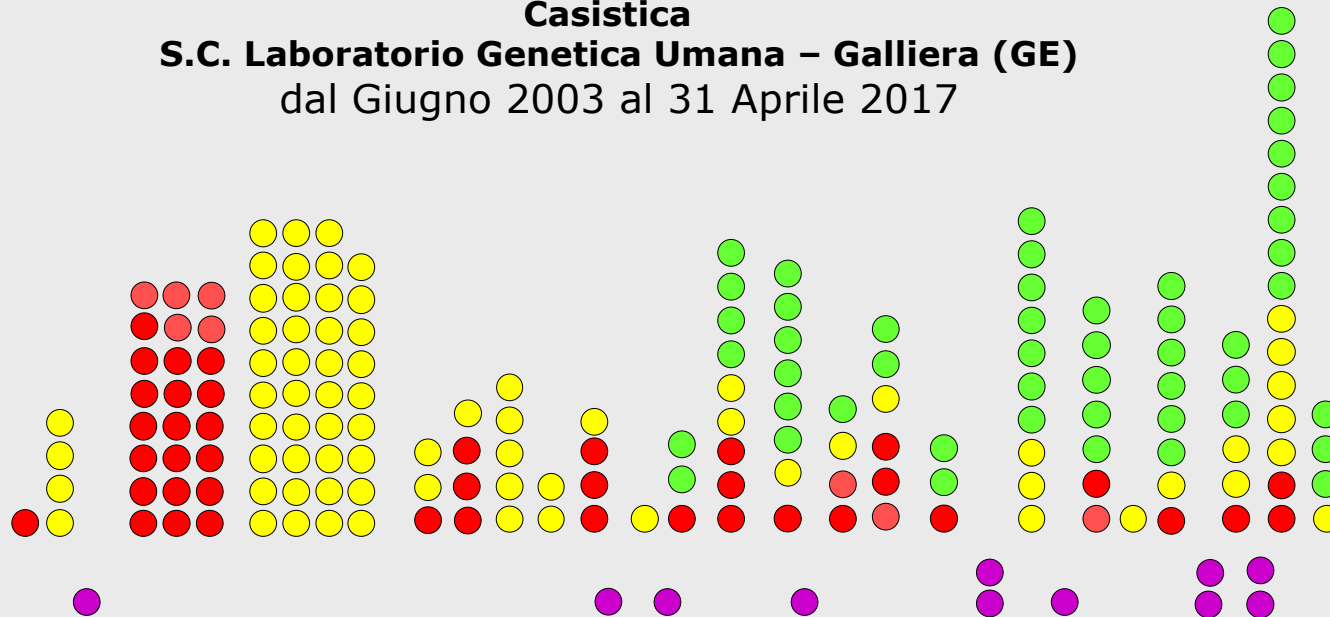
Lungo tutto il gene

NO Hotspots – Domini Funzionali proteina

più freq. ex 1, 2, 3



Casistica
S.C. Laboratorio Genetica Umana – Galliera (GE)
 dal Giugno 2003 al 31 Aprile 2017

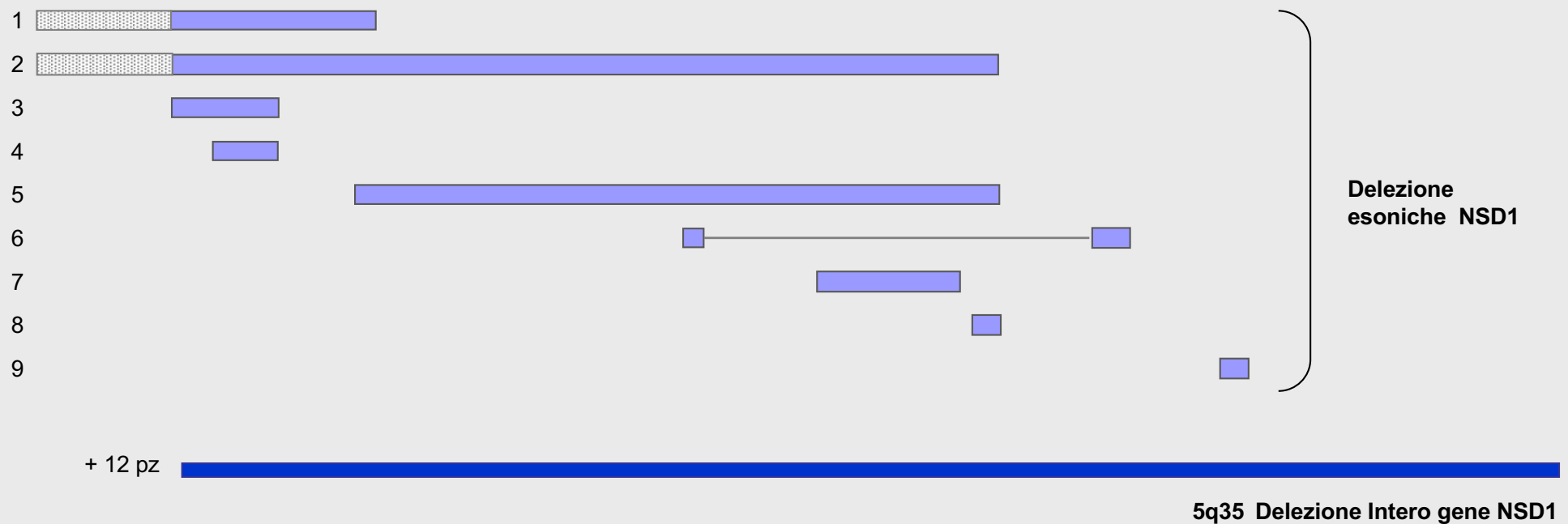
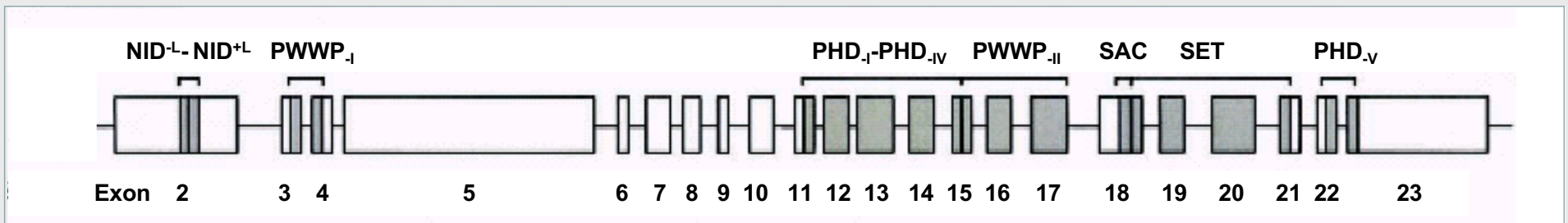


Varianti Patogenetiche
 (Mutazioni)

Tot. 182

- **49 Nonsense (11 ricorrenti)**
- **72 Del/ Ins - Indel (7 ricorrenti)**
- **51 Missense (1 ricorrente)**
- **10 Splice-site**

Casistica
S.C. Laboratorio Genetica Umana – Galliera (GE)
 dal Giugno 2003 al 31 Aprile 2017



Tot. 21 Delezioni

- 9 Delezioni esoniche
- 12 5q35 microdelezioni

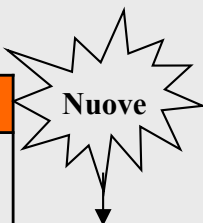
Casistica
S.C. Laboratorio Genetica Umana – Galliera (GE)
 dal Giugno 2003 al 31 Aprile 2017

Esaminati 1333 pazienti con S. di Sotos/Iperaccrescimento

203 Varianti patogenetiche

26 Varianti con incerto valore patogenetico

<i>Varianti patogenetiche</i>		
Intrageniche:		
totale	191	
Nonsense	49	26
Missenso	50	21
Frameshift (ins-del-indel)	72	16
Splice site	11	3
Delezioni esoniche	9	2
microdelezioni 5q35	12	0
Totale	203	68 (33%)



<i>Varianti Incerto valore patogenetico</i>	
Intrageniche:	
totale	26
Missenso	19
Sinonime (sito splice)	2
Sostit. Intronica (+5)	1
Indel (del. 5aa ins 1aa in frame)	1
Delez (del. 2 aa in frame e del a -37 >skip ex14)	2
Indel Intronica (a + 1 da splice)	1

Casistica
S.C. Laboratorio Genetica Umana – Galliera (GE)
 dal Giugno 2003 al 31 Aprile 2017

Esaminati 1333 pazienti con S. di Sotos/Iperaccrescimento

Detect. Rate ~20%

229 pazienti con Variante patogenetica

31 pazienti con Variante incerto valore patogenetico

<i>Varianti patogenetiche</i>			Pazienti
Intrageniche: totale	Ricorrenti	191	↓
Nonsense	11	49	64
Missenso	1	50	53 5 fam.
Frameshift (ins-del-indel)	6	72	80
Splice site		11	11 2 fam.
Delezioni esoniche		9	9
microdelezioni 5q35		12	12
	Totale	203	229

<i>Varianti Incerto valore patogenetico</i>		Pazienti
Intrageniche: totale	26	↓
Missenso	19	24
Sinonime (sito splice)	2	2
Sostit. Intronica (+5)	1	80
Indel (del. 5aa ins 1aa in frame)	1	54
Delez (del. 2 aa in frame e del a -37 >skip ex14)	2	9
Indel Intronica (a + 1 da splice)	1	12
		31

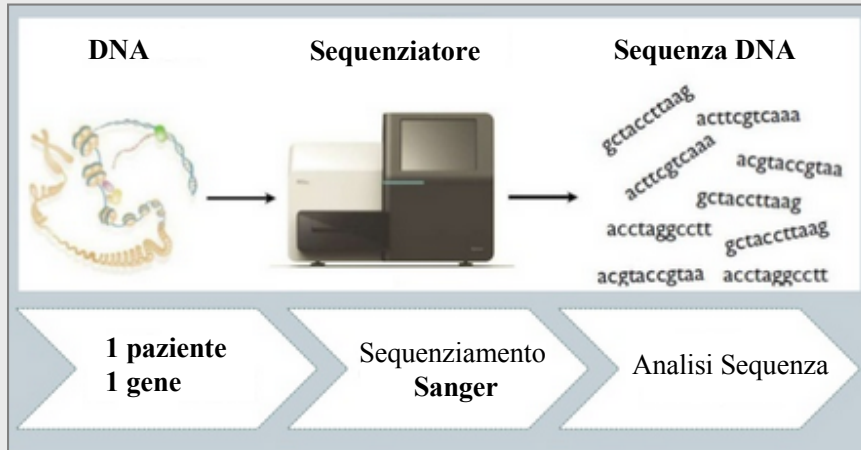
Sensibilità analitica dei metodi usati

Selezione clinica +/- rigorosa dei pazienti da sottoporre al test genetico

Eterogeneità genetica (altri geni sono coinvolti nell' Iperaccrescimento)

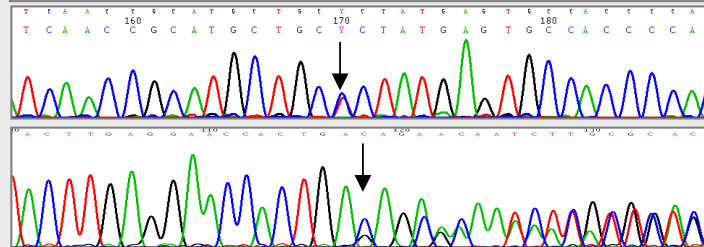
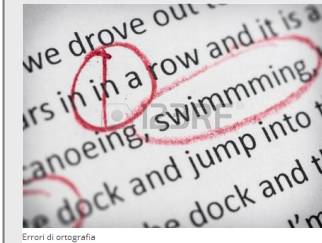
Metodi di Indagine molecolare : - Sequenziamento DNA - Ricerca Delezioni

Sequenziamento Sanger

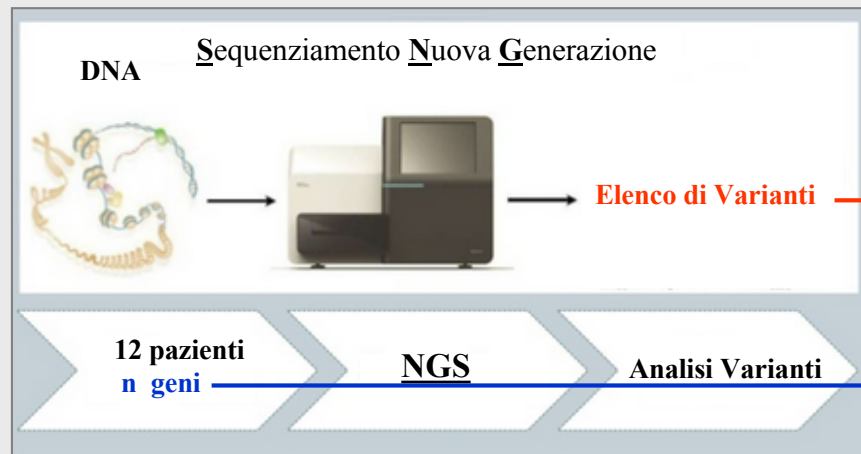


```

AGCAAACCTTTGCTTGCTGCTGAATATTGATGAGAGCGATCGGCTCGGCTGGGAGGTGCTG
CCGCGGCTGCGGGGAAGGAGCGCGGCCCGGGCAGGGCGCGCGCGCTCGGCAGCAGCCATG
TTTTTCGAGCTGTAGCAGCTGCTGCTACCCCTGACTGGGCTTCGCTGGCCGCTCGGTTTC
TCCTCTGCGCGGGTCCAGGGCTCTTCGGCCTGCGAGCTGCGGATCCAGCAGGGCCTGCATTC
AGGAAGGCGAGCTCTGGGGTGCACTGGGCTCGGCTGGGGCCTGCGCACCCG
CGCTGCAAGGCTCCGGCGCTGGGCGCAGGGTGCAGCGCTATTGTGACCGCTCGCG
CCTAGCGAGCCAGGAAGGGGGGGTACCTTTTGTGCGAGGTCAGGAGCCCGCTCGGA
CCCCGACGCTTTTGTGAGAGATCCAGCTGCTCGACCCCTGGCGAGGGAGGGGGAG
GACTAGTCTGTTTGGAGAATTTGGGAATTTTACGGGCGAGAGGGGTTTAAATTTAGTTCA
TCCCAAGTGTCCACCACTACAGAGGAGGAAAAAGAGACGGGCTTTTCTATGTAGCAG
GATCGGCCAGCTTCGGGAAAATGGAGTTTTCAGAGGCTCATCGAGGCCATTTTTCATC
GC CGAGGAGAGGGAGGGAGGGGTGGCCGGGCGGGGAAAGATGGTGGTGGCCGTAAGG
TGAGGGGCTCGGGGAGGGCCAGGCGCGATCGGGGTTGGTGGCCGGCGCGCTGCAGCC
GCGGGCTCCTCCCCCTCCCCCTCCTCCATCACTACCAGCCGGGCTCAGGCCTAGCTGGC
CGGGCTGAGGGCAGGTGCCCACTGGATGGGGAGCCTGGGCTGTAACTAAGATGGAGGCC
GGGACTGACCGGGCCGAGCAGGGCTGGCGGGACGATCGGACAGGCCCTCAGCCCGGCCA
GGTCCCGCTGGGTTGGGGTTCGAGACCGCTAGGGTGGCGGGAGCCGTGTGGCGCCGAGG
CCAGCCCGTGGCCCGAGGTAGGTGAGGGGATCGGAATGCCACCCACAGCCCGCAGCG
CCCGACTCAAGAGCGCGCGAGGCGCTGGGAGCCCGCTCAGGCCCGCCCGGG
CAGCCGGCGCGGGTAGGCGCCCGCGAGCGGGCGCGAGGGGAGGGGAGGGGGG
    
```



Innovazione tecnologica > NGS



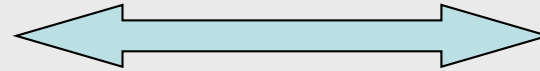
Chr	Gene	Region	Type	Ref	Allele	Zygosity	Count	Coverage	Frequenc	Probabilit	Coding region change	Amino acid change	Forward read count	Reverse read count
2	DNMT3A	25464451	SNV	G	A	Heteroz	34	65	52.30769		1 c.1393C>T	p.Arg465Cys	11	23
2	DIS3L2	233199380	SNV	A	G	Heteroz	22	93	23.65591	0.9996	2 c.2329A>G	p.Ile777Val	8	14
2	DIS3L2	233201328	SNV	A	G	Heteroz	16	31	51.6129		1 c.*361A>G		12	4
0	PTEN	89720634	Deletion	T	-	Heteroz	17	73	23.28767	0.9114	3 c.802-17delT		9	8
X	GPC3	132888208	Deletion	A	-	Heteroz	14	47	29.78723	0.9999	4 c.338-5delT		7	7
2	DIS3L2	232879671	SNV	C	T	Heteroz	94	208	45.19231		1 c.34C>T	p.Pro12Ser	53	41
2	DIS3L2	232879671	SNV	C	C	Heteroz	113	208	54.32692		1 c.338-5delT		52	61
2	DIS3L2	232952286	SNV	A	G	Heteroz	106	209	50.7177		1 c.456A>G		48	58
2	DIS3L2	232952286	SNV	A	A	Heteroz	103	209	49.2623		1		54	49
2	DIS3L2	233201328	SNV	A	G	Heteroz	24	37	64.86486		1 c.381+744A>G		15	9
2	DIS3L2	233201328	SNV	A	A	Heteroz	13	37	35.13514		1		10	3
5	NSD1	176637149	SNV	G	A	Heteroz	85	177	48.0226		1 c.1749G>A		48	37
5	NSD1	176637149	SNV	G	G	Heteroz	92	177	51.9774		1		55	37
9	PTCH1	98215857	SNV	C	A	Heteroz	47	85	55.29412		1 c.3352G>T	p.Ala118Ser	21	26
9	PTCH1	98215857	SNV	C	C	Heteroz	38	85	44.70588		1		23	15
0	PTEN	89720634	Deletion	T	-	Heteroz	28	98	28.57143		1 c.802-17delT		15	13
0	PTEN	89720634	Deletion	T	-	Heteroz	17	73	23.28767	0.9114	3 c.802-17delT		9	8
X	GPC3	132888208	Deletion	A	-	Heteroz	14	47	29.78723	0.9999	4 c.338-5delT		7	7
2	DIS3L2	232879671	SNV	C	T	Heteroz	94	208	45.19231		1 c.34C>T	p.Pro12Ser	53	41

GENOTIPO



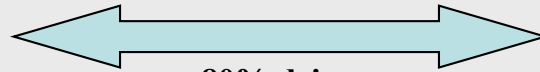
DNA

FENOTIPO



NSD1

sindrome di Sotos



80% dei pz

**Innovazione Tecnologica
NGS**

**Accurata valutazione clinica del paziente
con Iperaccrescimento**

NFIX

SETD2

EZH2

DNMT3A

PTEN

AKT3

BRWD3

CHD8

DNMT3A

DIS3L2

EED

GPC3

HERC1

HIST1H1E

IGF2

MTOR

PIK3CA

PPP2R5D

PTCH1

Pannello
NGS



Sotos-like – s. Marshal Smith

Sotos-like

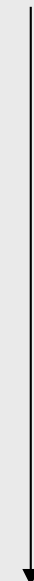
s. di Weaver

Sindromi da Iperaccrescimento



La descrizione clinica (FENOTIPO)

è il primo passo importante nel processo di diagnostica
e quindi della identificazione del GENOTIPO.



thank

grazie

danke

grazias

danke

thank