

# Lezioni di genetica medica

Specializzazioni

**2014**

# Programma, parte 1

## genetica umana generale

- Il genoma umano: geni ed organizzazione
- Next generation sequencing (NGS), l'exoma
- Eterogeneità clinica ed eterogeneità genetica
- Penetranza ed espressività, anticipazione
- Omozigosità ed eterozigosità composta
- Aploinsufficienza
- Meccanismo dello splicing e sue alterazioni
- Classi di mutazioni puntiformi, transizione e trasversione, conservative, missenso, nonsenso, nonstop
- Inserzioni, delezioni con frame-shift e non, duplicazioni, conversione genica
- Significato patologico delle varie classi di variazioni del DNA: alleli equivalente, amorfico, ipomorfico, ipermorfico, neomorfico e antimorfico
- Nomenclatura delle variazioni genetiche e refertazione

# Programma, parte 2: la consulenza e le cromosopatie

- La consulenza genetica: rischio riproduttivo dipendente ed indipendente dal partner
- Diagnostica prenatale e presintomatica
- L'analisi del cariotipo e i bandeggi, la FISH
- Cariotipo molecolare mediante arrayCGH
- Aneuploidie negli aborti e rischio di ricorrenza
- Triploidia da doppio corredo paterno o materno, tetraploidia
- Il cromosoma X e la sua inattivazione, regioni PAR
- Trisomie autosomiche e dei cromosomi sessuali
- Le monosomie, la sindrome di Turner
- Delezioni cromosomiche, inversioni paracentriche e pericentriche
- Traslocazioni sbilanciate e bilanciate, robertsoniane, markers cromosomici
- Delezioni e duplicazioni submicroscopiche (s. di Williams, s. di DiGeorge, s. Cri du Chat)

# Programma, parte 3

## genetica medica mendeliana

- Malattie mendeliane monoalleliche con mutazioni *de novo* (craniosonostosi, acondroplasia)
- Malattie mendeliane monoalleliche a trasmissione autosomica dominante (neurofibromatosi, s. di Marfan, rene policistico, osteogenesi imperfetta)
- Malattie mendeliane monoalleliche legate al cromosoma X (distrofia muscolare di Duchenne e Becker, emofilia, ritardi mentali legati all'X)
- Malattie mendeliane bialleliche a trasmissione autosomica recessiva (fibrosi cistica, alfa e beta talassemia, amiotrofia spinale, emocromatosi, glicogenosi)

# Programma, parte 4, eccezioni all'eredità mendeliana

- Mutazioni dinamiche in regioni non codificanti (X-fragile, distrofia miotonica) e codificanti (corea di Huntington, atassie spino-cerebellari)
- Mutazioni in regioni cromosomiche con imprinting (Prader-Willi, sindrome di Angelman, Beckwith-Wiedemann, Silver-Russel) disomia uniparentale
- Mutazioni del DNA mitocondriale (MERFF, MELAS, LHON, KS, s. di Leigh)
- Predisposizione genetica
- Caratteri multifattoriali
- studi GWAs

# Testi consigliati

- Neri-Genuardi  
**Genetica umana e medica**  
Editore Elsevier Masson
- Moncharmont-Leonardi  
**Patologia Generale**  
Editore Idelson Gnocchi
- Strachan-Read  
**Genetica Molecolare Umana**  
Editore Zanichelli
- Lewis  
**Genetica Umana**  
Editore Piccin
- Sito web <http://www.vincenzonigro.it> (glossario)

distinguiamo due grandi categorie di patologie genetiche:

- 1) monoalleliche, dovute alla mutazione di una sola copia del DNA**
- 2) bialleliche, dovute a mutazioni di entrambe le copie del DNA**

- patologie a penetranza completa (in genere disordini mendeliani)
- a penetranza incompleta, o addirittura “circoscritta”.

La consulenza genetica cerca di stabilire quali membri della famiglia sono interessati ed eventualmente quali possono essere portatori, e quindi calcolare la probabilità di ogni altra persona nella famiglia (anche non ancora nata) di essere un portatore o di ereditare la malattia

# malattie genetiche da mutazione in 1 allele

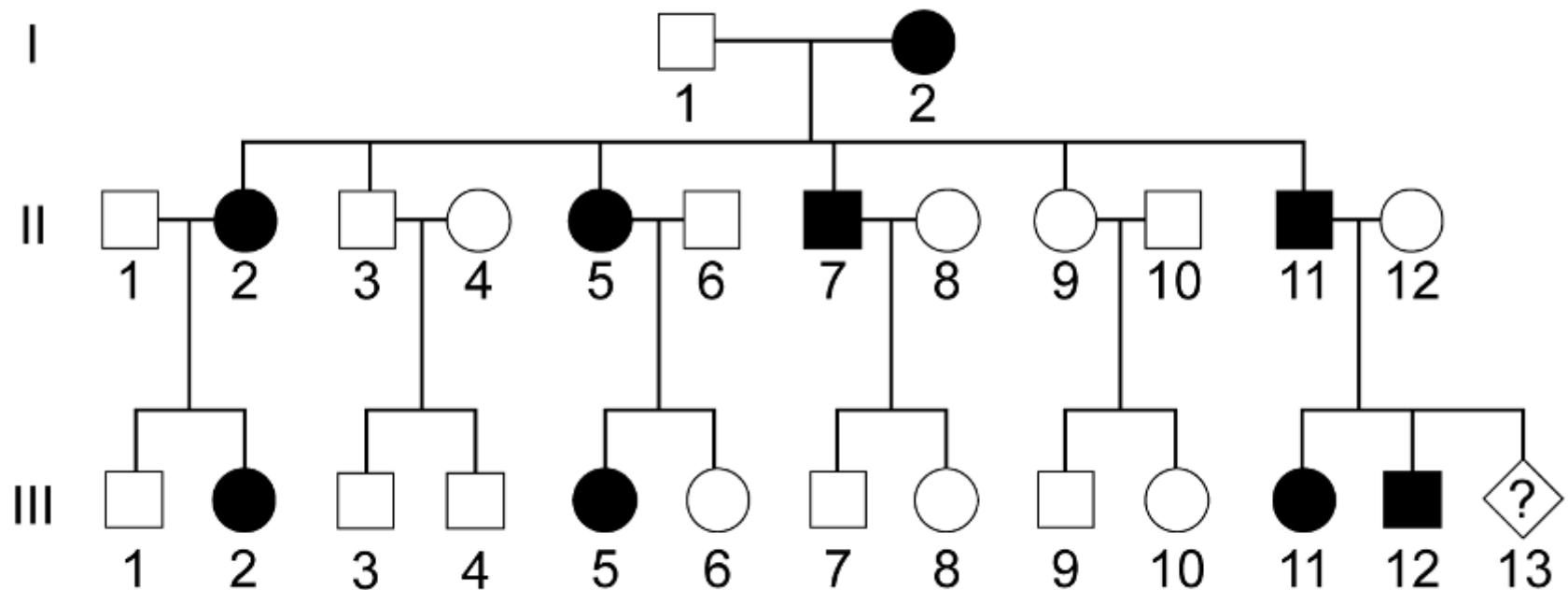
---

Le mutazioni monoalleliche possono causare disordini a trasmissione dominante o recessiva legata all'X negli uomini

- Se la malattia a trasmissione dominante è **grave** in età fertile e pertanto limita o annulla la capacità riproduttiva (bassa fitness), le mutazioni monoalleliche sono nuove e spesso distribuite in modo casuale
- Se la malattia dominante **non è grave** in età fertile e non limita in alcun modo la capacità riproduttiva (normale fitness), le mutazioni monoalleliche sono ereditate da un genitore e spesso si tramandano da molte generazioni
- Se la malattia è **recessiva legata all'X ed è letale** ha una vita media di tre generazioni, perché le donne trasmettono gli alleli mutati in eterozigosi e gli uomini li eliminano

## eredità autosomica dominante a penetranza completa (malattia che non modifica la fitness riproduttiva)

---



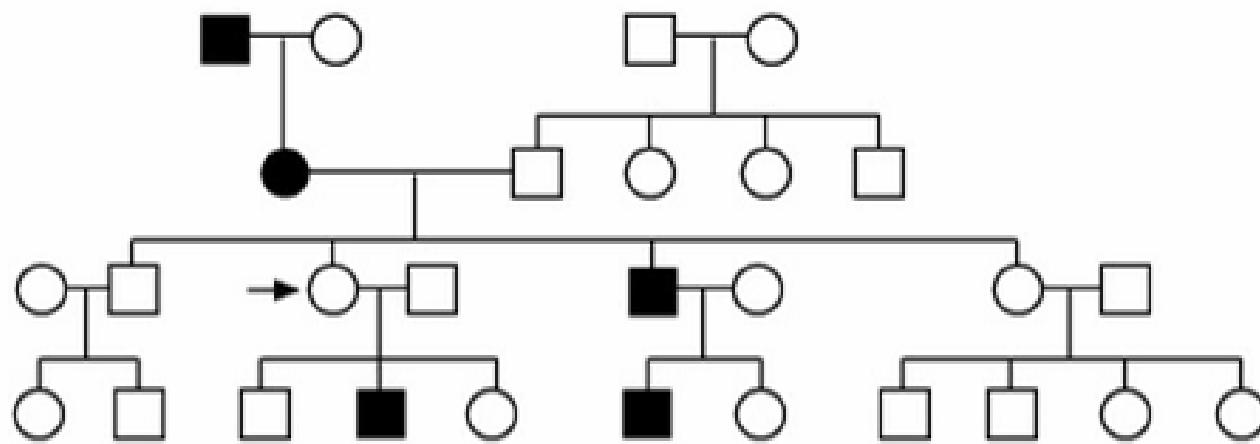
# Cos'è una mutazione causativa?

**Una variazione della sequenza del DNA ....**

- ..che è trovata solo negli individui affetti
- ..che non è mai ritrovata in quelli non affetti
- ..che spiega il processo patologico
- ..che, quando corretta per tempo, fa recuperare un fenotipo normale

....che è trovata solo negli individui affetti  
..che non è mai ritrovata in quelli non affetti

penetranza incompleta



che è ritrovata **più frequentemente** negli individui  
affetti rispetto ai non affetti...

## Malattie da mutazioni in 1-allele

Le mutazioni monoalleliche sono alla base di malattie ad eredità autosomica dominante o X-linked

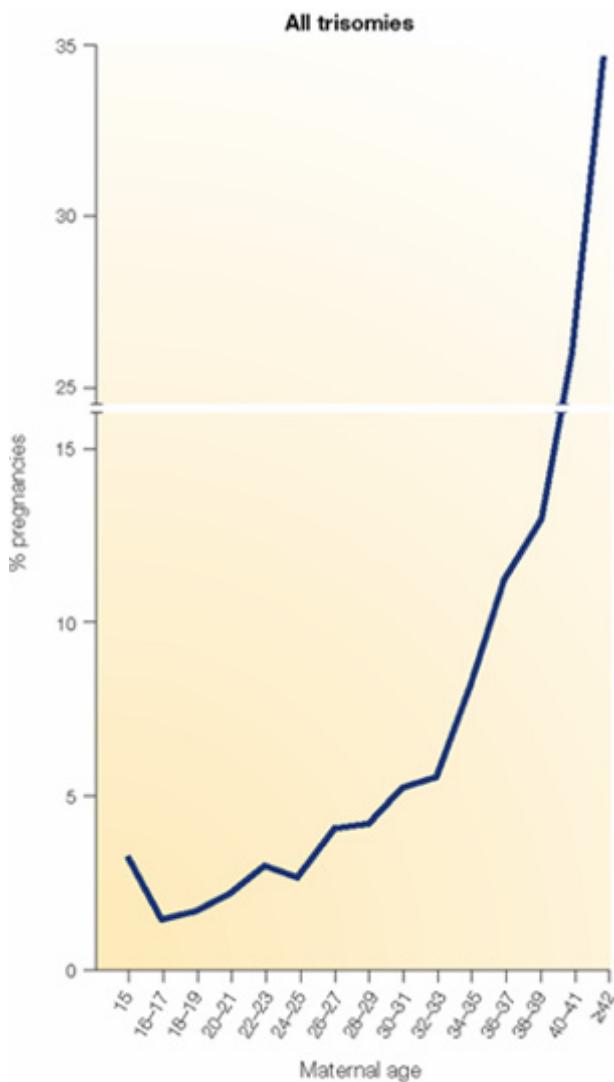
le mutazioni **random** sono la regola con un pattern di distribuzione non legato all'etnia

***denovo*** sono assenti in entrambi i genitori

devono essere assenti o molto rare nella popolazione generale

(i.e. con il 50% penetranza e 1/20.000 frequenza della malattia, gli alleli causativi in totale dovrebbero essere <0.0001)

Le alterazioni cromosomiche e in particolare le **trisomie** sono più frequenti al crescere dell'età materna



Le mutazioni ***denovo*** (sostituzioni, indels, delezioni submicroscopiche) sono più frequenti nelle linea germinale maschile

Aumentano con l'età paterna in base al numero di divisioni cellulari che avvengono ogni 15 gg nella linea germinale maschile

Age	Chromosome replications
15	35
20	150
30	380
40	610
50	840

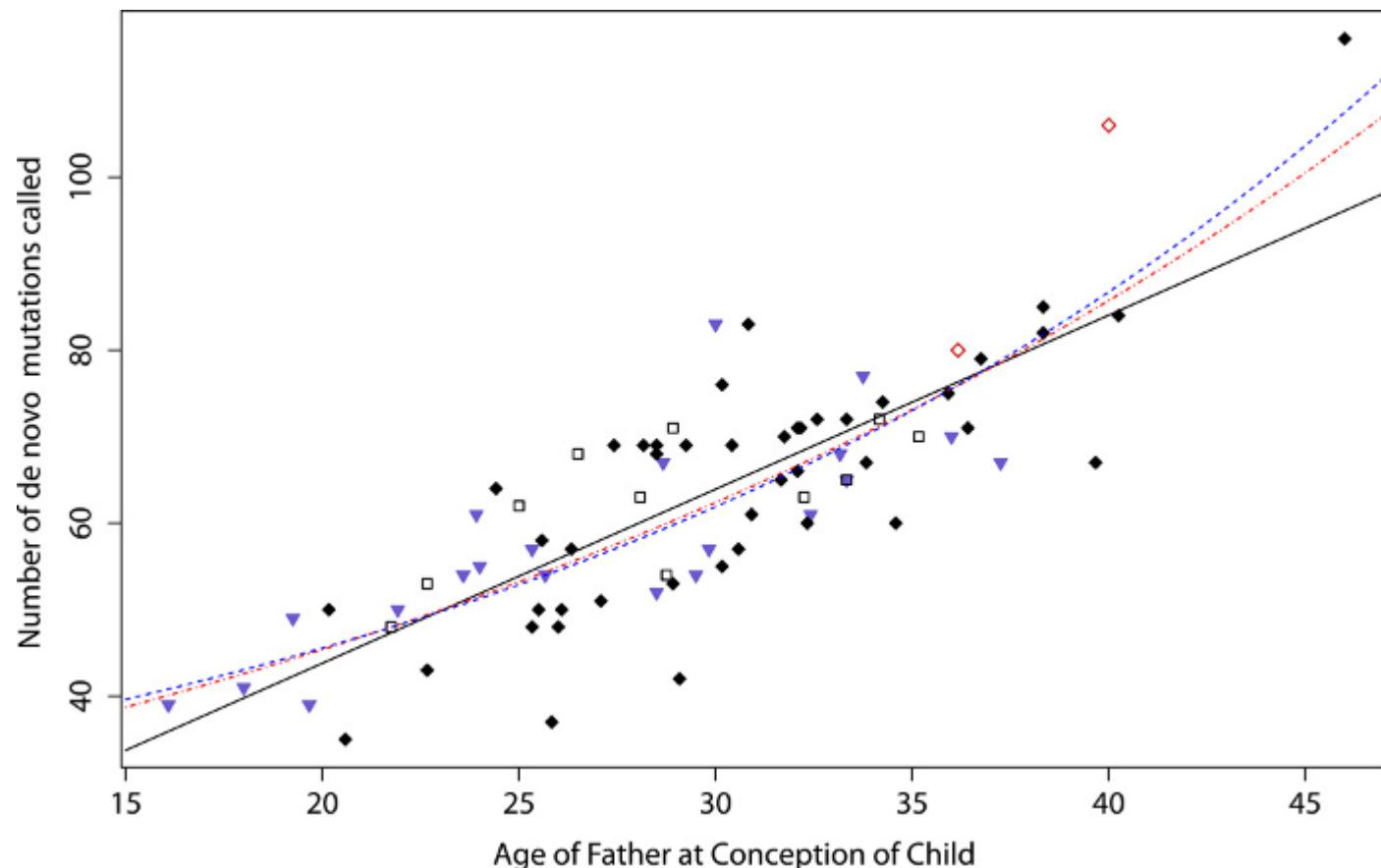
## **mutazioni *de novo***

---

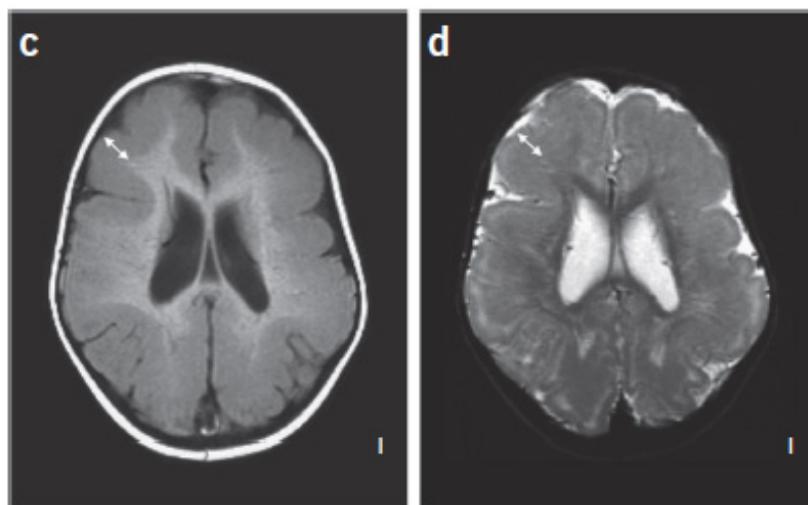
- hanno una frequenza di  $1.2 \times 10^{-8}$ , ovvero 1 ogni 80.000.000 di basi, se il padre ha 29.7 anni
- L'età paterna è il fattore di rischio
- possono associarsi a malattie genetiche in eterozigosi (un solo allele mutato)
- entrambi i genitori dell'affetto sono non affetti
- possono causare malattie genetiche anche gravi o letali o che condizionano lo sviluppo fetale
- si trasmettono alla prole solo le mutazioni che non compromettono la riproduzione

# rapporto tra numero di mutazioni *denovo* ed età paterna al momento del concepimento

2 mutazioni in più per ogni anno di età del padre

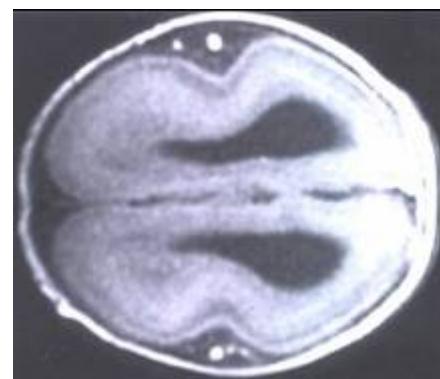
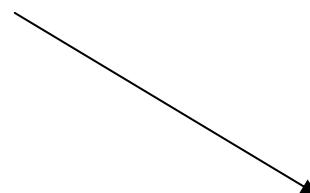
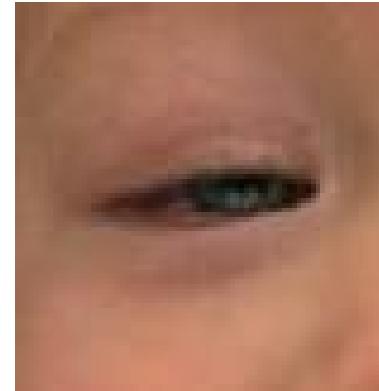


# Sindrome di Baraitser-Winter



# Sindrome di Baraitser-Winter clinica

- Ipertelorismo
- Ptosi congenita
- Bassa statura
- Coloboma
- Malformazioni cerebrali (lissencefalia)
- Sordità
- Epilessia
- Ritardo mentale

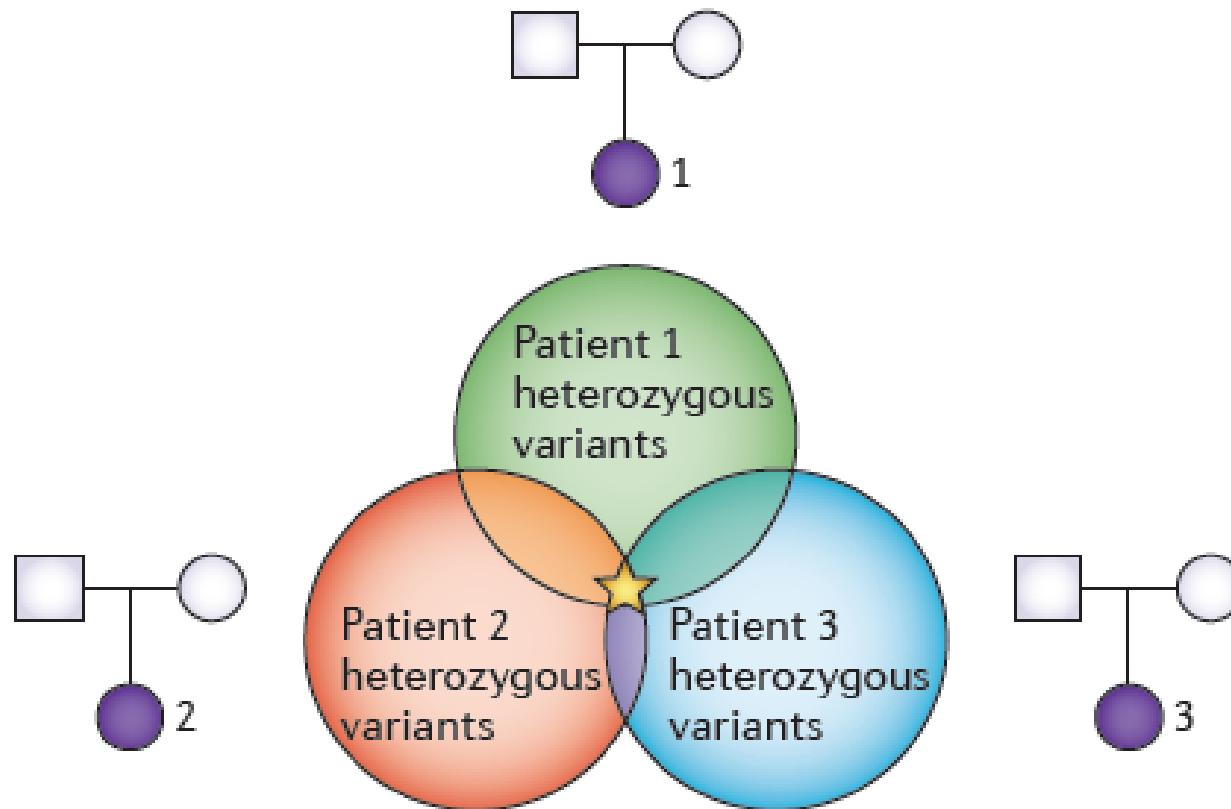


# Sindrome di Baraitser-Winter eredità?

---

- Nessuna ricorrenza familiare
- Nessuna consanguinità
- Nessuna alterazione cromosomica
- Nessuna alterazione di CNV all'analisi CGH array
- E' su base genetica?
- Mutazioni *de novo*??

# Come scoprire un'eventuale nuova malattia genetica da mutazioni *denovo* usando l'NGS?



# Sequenziamento di tutti i geni (esoma)

---

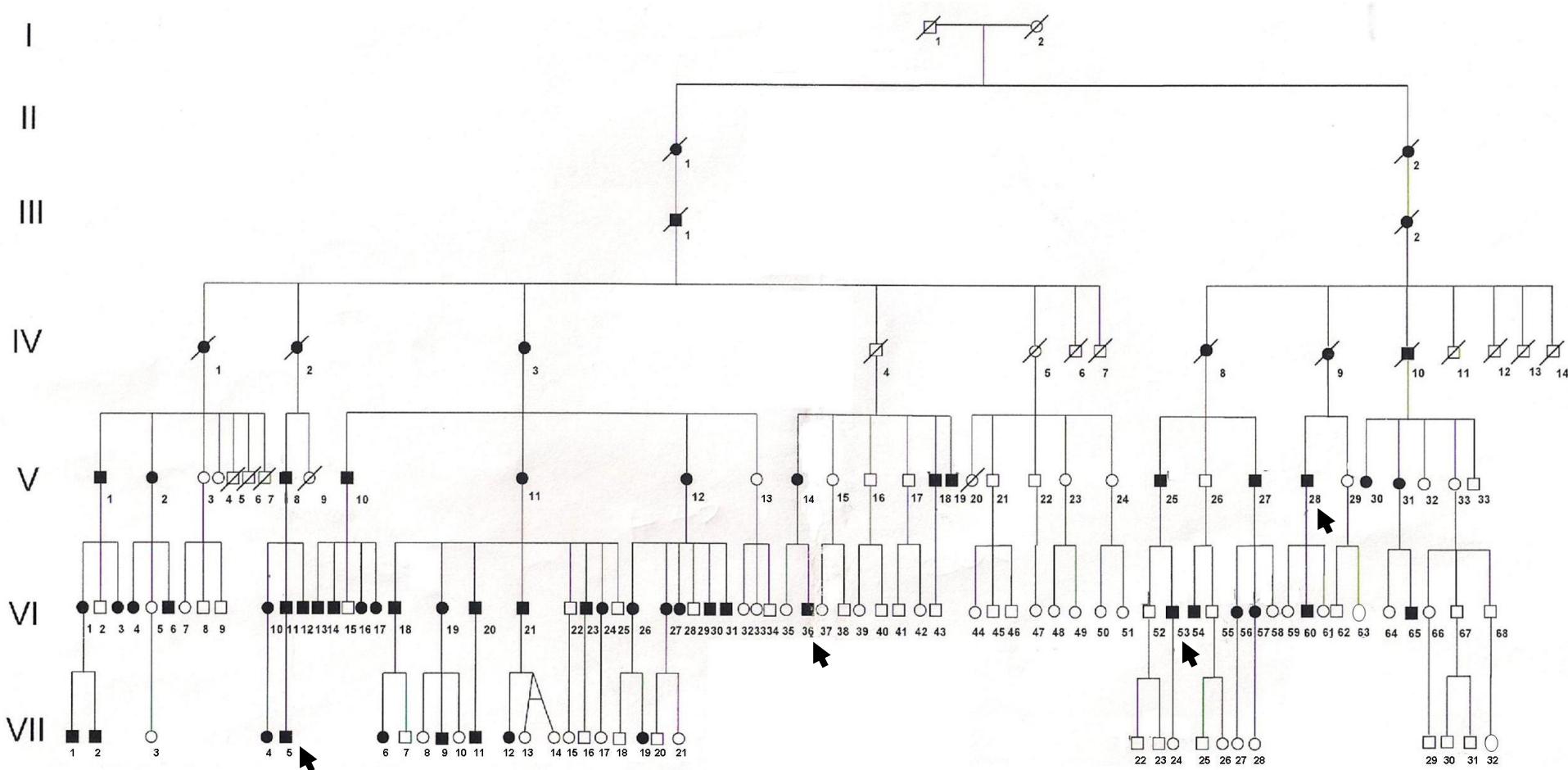
- Padre-madre-figlio affetto (trio), cercando solo le mutazioni esclusive del figlio
- 22.591 a 29.685 variazioni a testa
- da 2 a 6 variazioni *de novo*
- Variazione p.Arg196His Actina Beta (ACTB)
- Variazione p.Ser155Phe Actina Gamma (ACTG)

# Sequenziamento di altri casi

**Table 2 Summary of *ACTB* and *ACTG1* mutations in 18 individuals with Baraitser-Winter syndrome**

Sample ID	Chr.	Position (hg19)	Ref./alt. alleles	Gene	cDNA change	Amino-acid change	GERP score	Grantham score
LP98-085	7	5569255	T/C	<i>ACTB</i>	c.34A>G	p.Asn12Asp	4.45	23
LP90-050	7	5568962	G/C	<i>ACTB</i>	c.193C>G	p.Leu65Val	4.33	32
61456	7	5568128	G/A	<i>ACTB</i>	c.586C>T	p.Arg196Cys	0.50	180
58248 <sup>a</sup>	7	5568127	C/T	<i>ACTB</i>	c.587G>A	p.Arg196His	4.22	29
59169	7	5568127	C/T	<i>ACTB</i>	c.587G>A	p.Arg196His	4.22	29
LR04-173	7	5568127	C/T	<i>ACTB</i>	c.587G>A	p.Arg196His	4.22	29
LR09-079	7	5568127	C/T	<i>ACTB</i>	c.587G>A	p.Arg196His	4.22	29
LR06-298	7	5568127	C/T	<i>ACTB</i>	c.587G>A	p.Arg196His	4.22	29
11-11287 <sup>b</sup>	7	5568127	C/T	<i>ACTB</i>	c.587G>A	p.Arg196His	4.22	29
11-10211	7	5568127	C/T	<i>ACTB</i>	c.587G>A	p.Arg196His	4.22	29
61458	17	79478933	G/A	<i>ACTG1</i>	c.359C>T	p.Thr120Ile	4.16	89
LR06-241	17	79478612	G/A <sup>c</sup>	<i>ACTG1</i>	c.404C>T	p.Ala135Val	2.95	64
LR04-298	17	79478552	G/A	<i>ACTG1</i>	c.464C>T	p.Ser155Phe	4.25	155
LP98-096	17	79478552	G/A	<i>ACTG1</i>	c.464C>T	p.Ser155Phe	4.25	155
11-10857	17	79478552	G/A	<i>ACTG1</i>	c.464C>T	p.Ser155Phe	4.25	155
58431 <sup>a</sup>	17	79478408	G/T	<i>ACTG1</i>	c.608C>A	p.Thr203Lys	3.11	78
LR03-033	17	79478256	G/A	<i>ACTG1</i>	c.760C>T	p.Arg254Trp	0.08	101
LP92-083 <sup>a</sup>	17	79478250	G/A	<i>ACTG1</i>	c.766C>T	p.Arg256Trp	1.60	101

# kindred with autosomal dominant LGMD



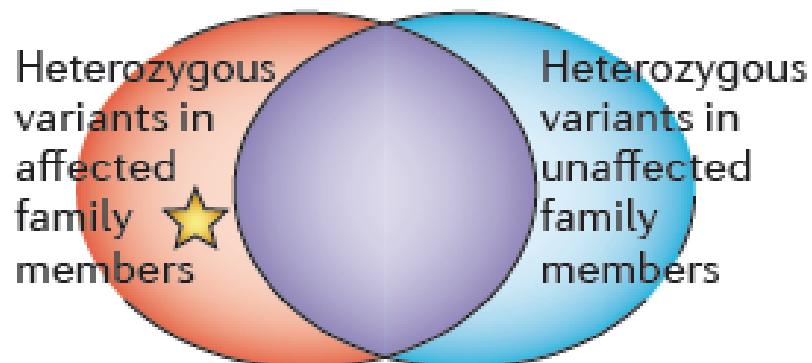
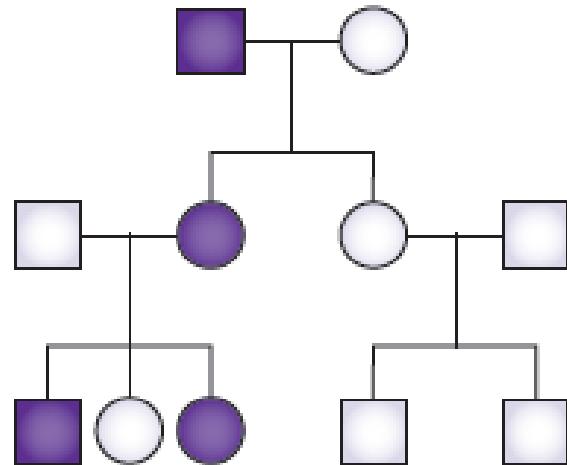
**15 DNA samples of affected members**

**9 DNA samples of non affected members**

**2 muscle biopsies of affected members**

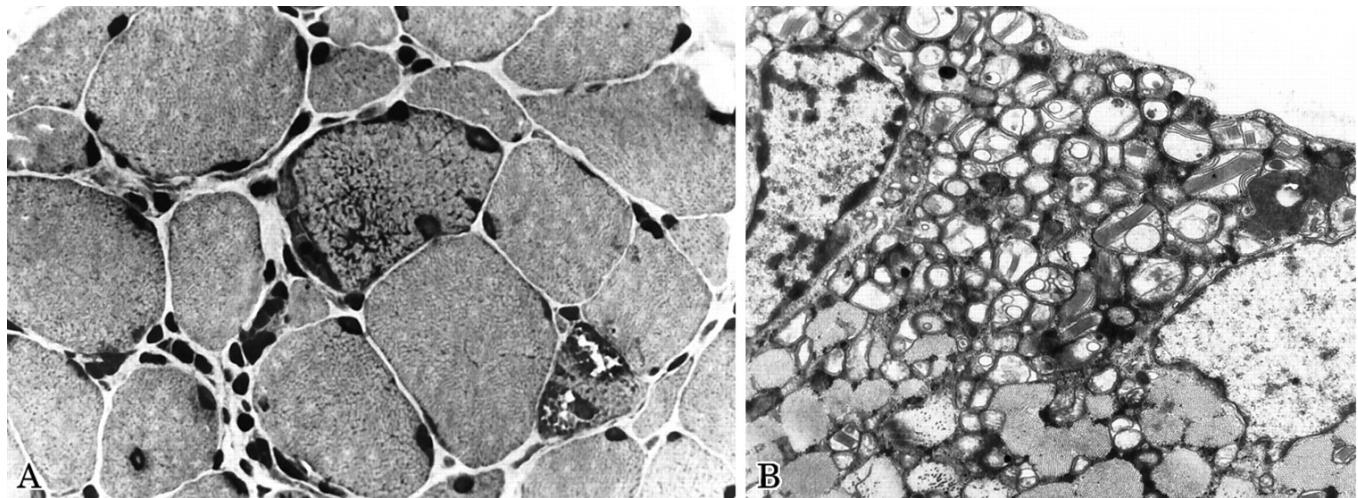
# Come scoprire una nuova malattia genetica a trasmissione autosomica dominante usando l'NGS?

Autosomal dominant





**Patients show lordosis, scapular winging, proximal wasting affecting the pelvic and shoulder muscles, and a sparing of the facial muscles**



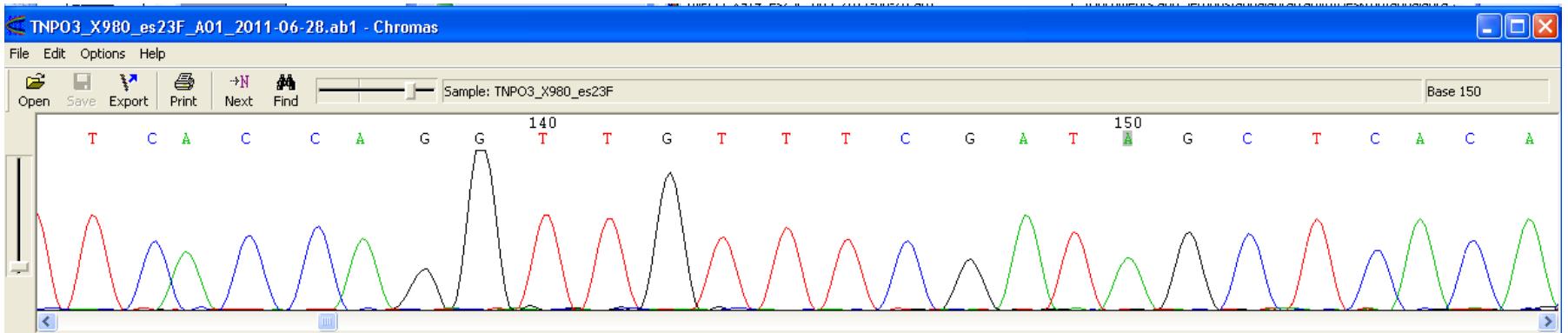
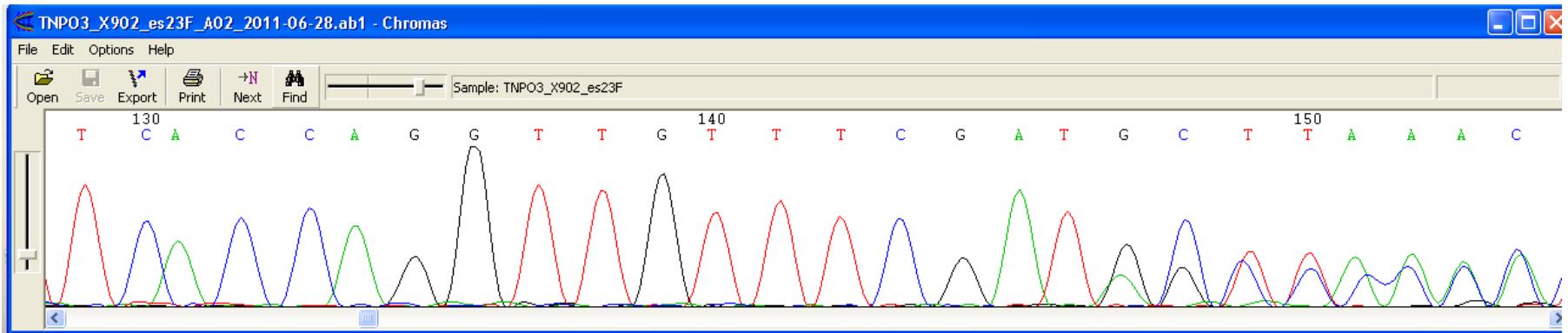
A) Muscle cryostat section.

Notice increased fiber size variability, one small fiber with two prominent rimmed vacuoles (bottom right corner) and a fiber with subsarcolemmal basophilia and marked intermyofibrillary network, indicative of mitochondrial proliferation (center) (hematoxylin–eosin 360 before reduction).

B) Electron micrograph  
Skeletal muscle fiber cut transversally.

Notice increased number of paranuclear mitochondria with abnormal cristae and paracrystalline inclusions

chr	start	end	reference	observed	snp indel	func	gene	exonicFunction	aachange	Status	SampleWithMutations
19	56029616	56029616	-	CCA	in_del	exonic	SSC5D	nonframeshift insertion	NM_001144950:c.3973_3974insCCA;p.P1325delinsPT	Het	-A23-A24-A25
1	91403885	91403885	T	G	snv	exonic	ZNF644	nonsynonymous SNV	NM_201269:c.A3026C:p.K1009T	Het	-A23-A24-A25
1	150972421	150972421	G	A	snv	exonic	FAM63A	nonsynonymous SNV	NM_001040217:c.C329T:p.A110V	Het	-A23-A24-A25
10	102684428	102684428	C	A	snv	exonic	FAM178A	nonsynonymous SNV	NM_018121:c.C1670A:p.P557H	Het	-A23-A24-A25
11	2154249	2154249	C	G	snv	exonic	IGF2	nonsynonymous SNV	NM_001007139:c.G511C:p.A171P	Het	-A23-A24-A25
14	21796615	21796615	A	C	snv	exonic	RPGRIPI	nonsynonymous SNV	NM_020366:c.A2928C:p.E976D	Het	-A23-A24-A25
14	95557556	95557556	C	T	snv	exonic	DICER1	nonsynonymous SNV	NM_177438:c.G5511A:p.M1837I	Het	-A23-A24-A25
15	78295771	78295771	A	C	snv	exonic	TBC1D2B	nonsynonymous SNV	NM_144572:c.T2450G:p.F817C	Het	-A23-A24-A25
15	85400304	85400304	G	T	snv	exonic	ALPK3	nonsynonymous SNV	NM_020778:c.G2941T:p.V981L	Het	-A23-A24-A25
16	72137553	72137553	C	G	snv	exonic	DHX38	nonsynonymous SNV	NM_014003:c.C1690G:p.Q564E	Het	-A23-A24-A25
16	72828890	72828890	T	C	snv	exonic	ZFHX3	nonsynonymous SNV	NM_001164766:c.A4949G:p.Q1650R	Het	-A23-A24-A25
17	47295132	47295132	G	A	snv	exonic	ABI3	nonsynonymous SNV	NM_001135186:c.G299A:p.R100Q	Het	-A23-A24-A25
20	30898177	30898177	G	C	snv	exonic	KIF3B	nonsynonymous SNV	NM_004798:c.G597C:p.Q199H	Het	-A23-A24-A25
20	61537174	61537174	C	A	snv	exonic	DIDO1	nonsynonymous SNV	NM_080796:c.G1653T:p.W551C	Het	-A23-A24-A25
6	88346152	88346152	G	C	snv	exonic	ORC3	nonsynonymous SNV	NM_001197259:c.G901C:p.E301Q	Het	-A23-A24-A25
9	125673271	125673271	T	A	snv	exonic	ZBTB6	stopgain SNV	NM_000020:c.A1081T:p.K361Y	Het	-A23-A24-A25
7	128597310	128597310	T	-	in_del	exonic	TNPO3	stoploss SNV	NM_012470:c.2771delA:p.X924C		-A23-A24-A25



# eterogeneità genetica

Fenotipo clinico indistinguibile con pattern di trasmissione ereditaria differente: autosomico dominante, autosomico recessivo, X-linked, o mitocondriale

- Esempio:
  - le **atassie cerebellari** sono un gruppo di malattie neurodegenerative, in cui l'elemento dominante è la progressiva degenerazione cerebellare, con conseguente compromissione dell'equilibrio, dell'andatura, della coordinazione dei movimenti degli arti e della parola

# disordine genomico submicroscopico

un disordine genomico submicroscopico è una patologia causata da

- acquisizione
- perdita
- alterazione

di uno o più geni contigui le cui variazioni di dosaggio possono produrre effetti fenotipici

La base molecolare è rappresentata da riarrangiamenti genomici, quali **duplicazioni, delezioni, inversioni**, senza alterazioni apparenti del cariotipo (<5Mb)

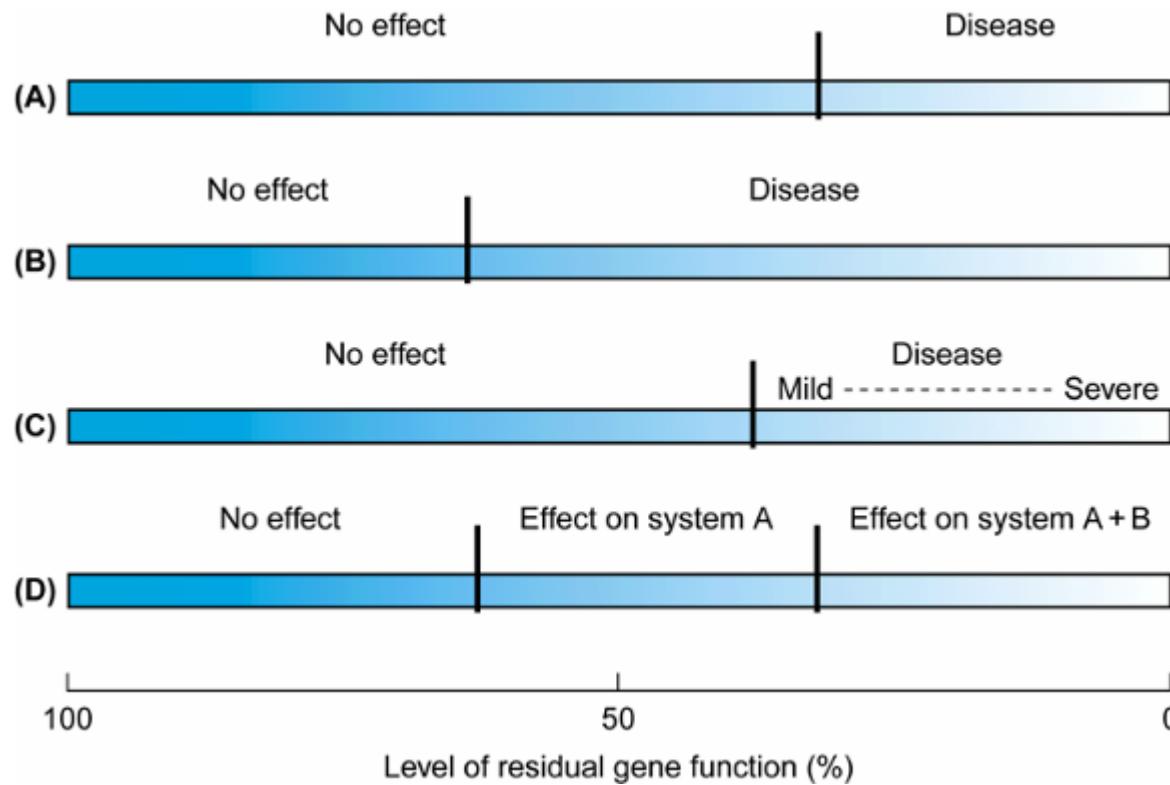
# dominanza e recessività

- in genetica, il carattere (o l'allele) è dominante se l'eterozigote è indistinguibile dall'omozigote
- in medicina la malattia è:
  - ***dominante***: fenotipo clinicamente manifesto con 1 allele mutato
  - ***recessiva***: fenotipo clinicamente manifesto con 2 alleli mutati (omozigote o eterozigote composto)

# aploinsufficienza

---

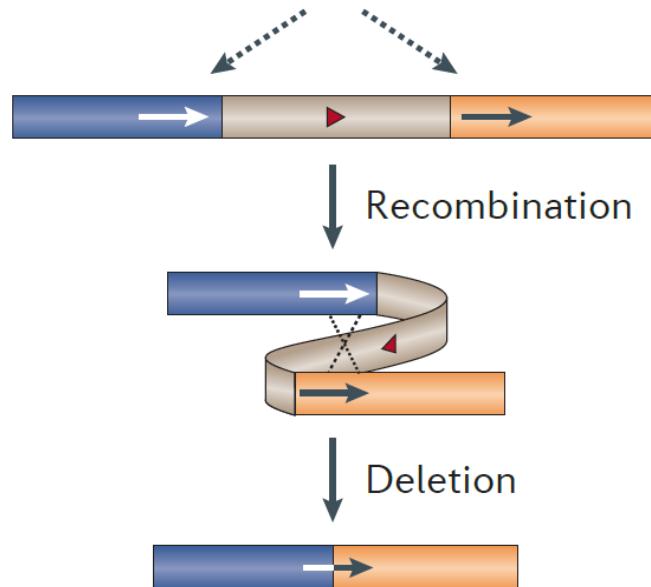
- insufficiente quantità di prodotto genico causata da una mutazione in eterozigosi
- la mutazione classica è di tipo **delezione (allele amorfico in eterozigosi)**
- colpisce geni per i quali il **50%** di prodotto genico non è abbastanza per garantirne la funzione
- spesso un dosaggio preciso è richiesto ai fattori di trascrizione e alle molecole di segnale espressi nel corso delle prime fasi dello sviluppo embrionale
- il quadro clinico è per questo motivo **sindromico, dismorfico** e con il coinvolgimento del SNC



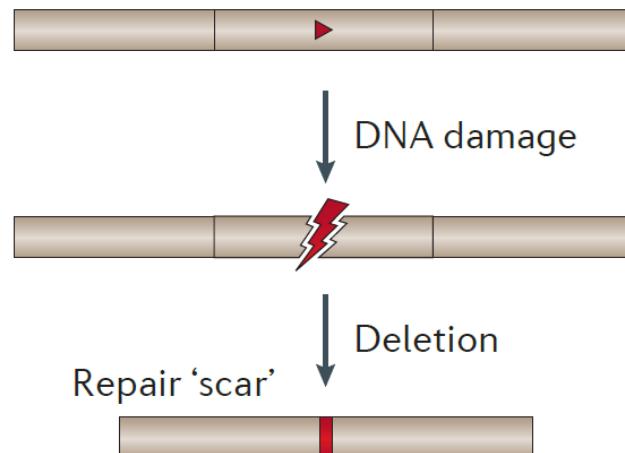
La maggior parte dei geni autosomici si trova nella condizione A o C: il dosaggio genico critico è <50%. In tal caso, si osserva un fenotipo patologico solo se entrambi gli alleli sono colpiti

I geni autosomici responsabili della patogenesi dei **disordini genomici** si trovano nella condizione B o D: si osserva un fenotipo già in eterozigosi per **aploinsufficienza**. Spesso anche un dosaggio genico aumentato >>100% può determinare una patologia

## Non-allelic homologous recombination (NAHR)

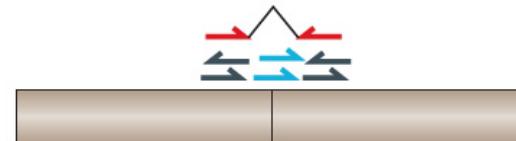


## d Non-homologous end joining (NHEJ)



Sample genome

Deletion



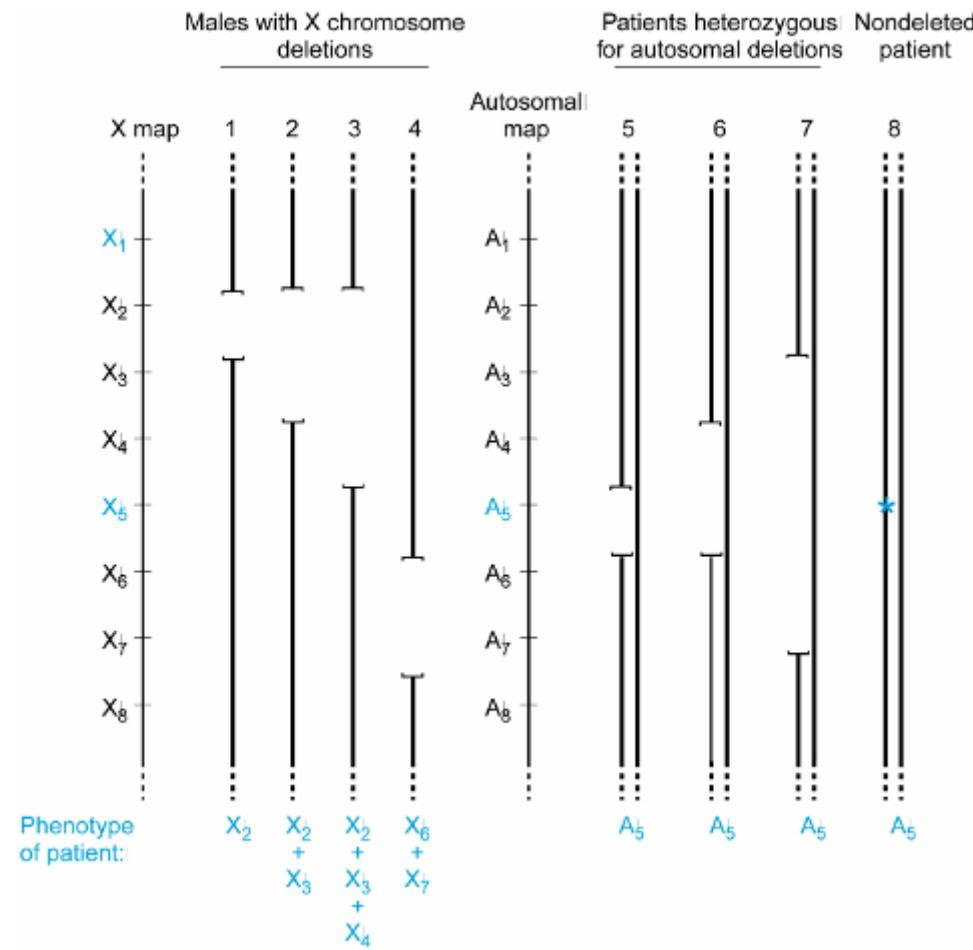
Reference genome

Duplication

Sample genome

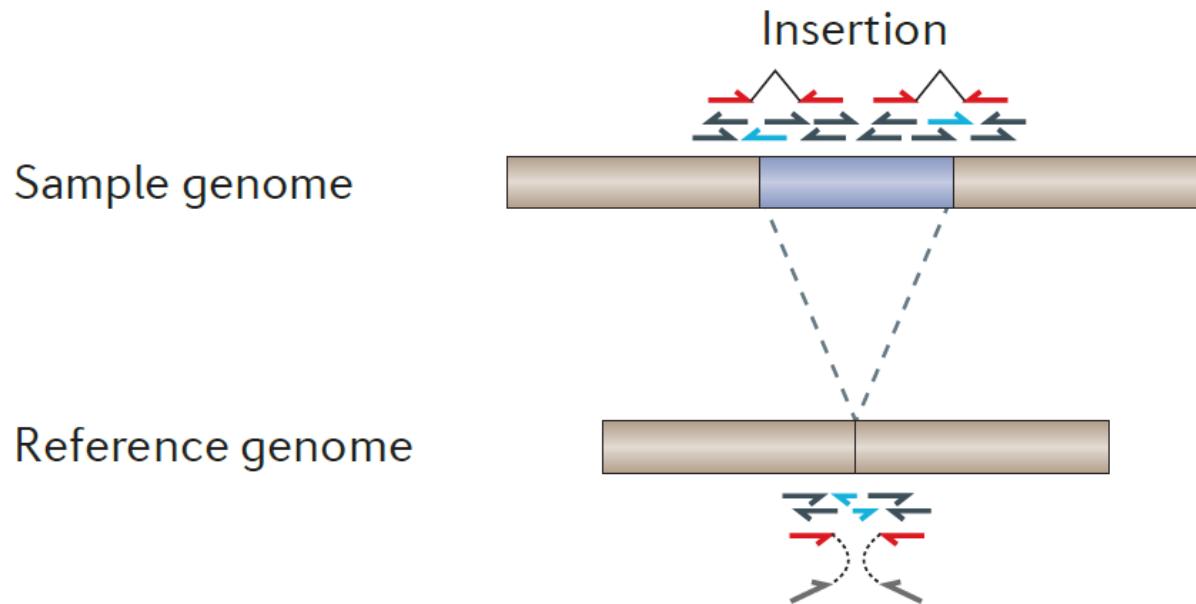


Reference genome

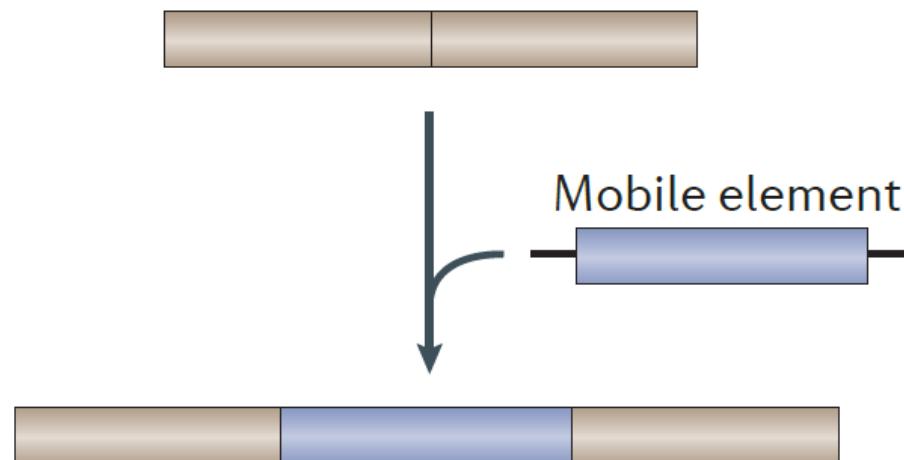


In caso di **delezioni del cromosoma X** nei maschi si osserva direttamente in fenotipo come sindrome da geni contigui

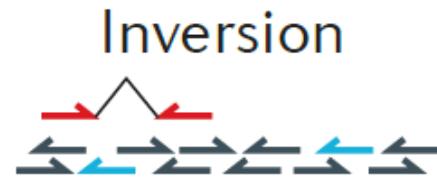
In caso di **delezioni autosomiche in eterozigosi**, molto spesso il dosaggio dimezzato non è causa di malattia. Quando si osserva una sindrome da delezione, è risolutivo trovare la stessa sindrome causata da una mutazione puntiforme in uno solo dei geni. Se questa non si trova, la sindrome esiste solo come somma di più difetti.



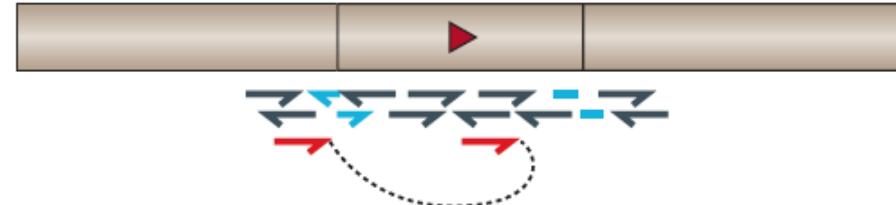
## Mobile element insertion (MEI)



Sample genome



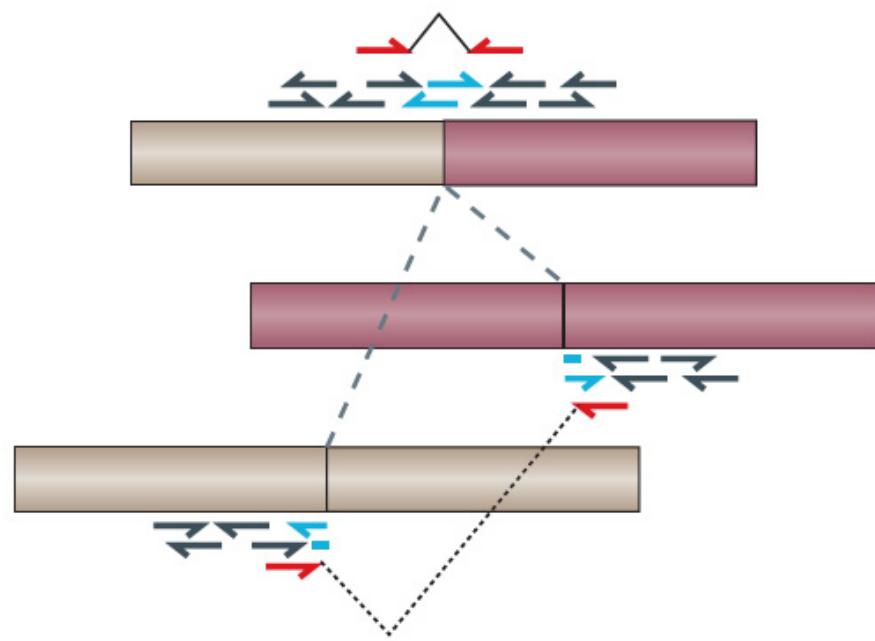
Reference genome



Sample genome

Reference genome

### Translocation



# malattie genetiche da mutazione in 2 alleli

---

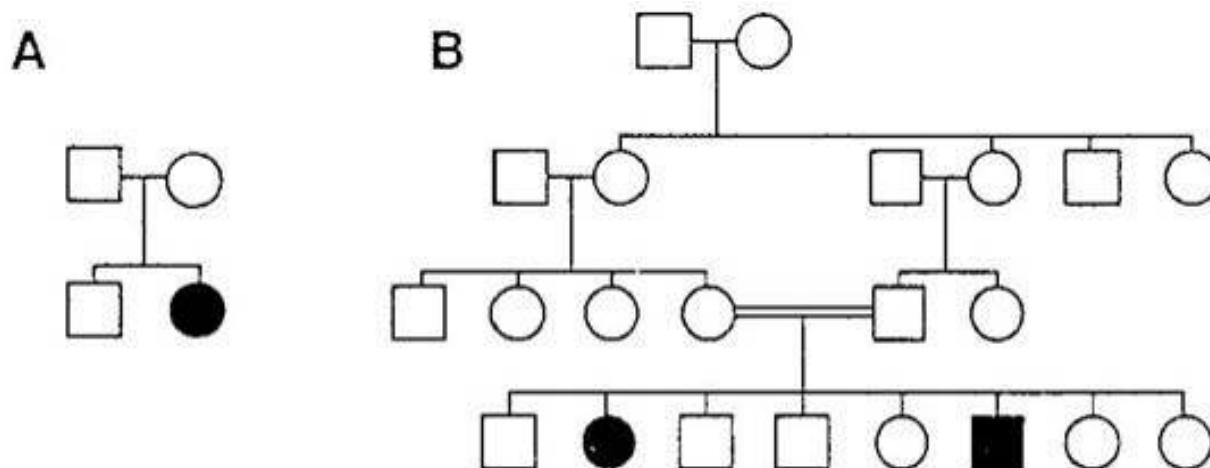
**Le mutazioni bialleliche possono causare disordini a trasmissione autosomica recessiva**

- Se la malattia a trasmissione recessiva è **grave** in età fertile e limita o annulla la capacità riproduttiva (bassa fitness), le mutazioni **non si estinguono comunque** perché i portatori sani sono 10-10.000 volte più numerosi degli affetti
- Le mutazioni in genere si trasmettono da 100-1000 generazioni, mentre le nuove mutazioni sono rare
- Solo se la malattia è biallelica le mutazioni hanno una **firma etnica** che caratterizza una località di origine e un **fondatore comune** eterozigote sano

# Malattie genetiche da 2 alleli

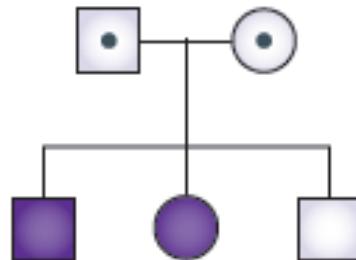
---

- L'alto numero di portatori è un fattore di rischio per l'**eterozigosi composta** (due mutazioni differenti nei due alleli). Questo potrebbe essere causato da una fitness migliore degli eterozigoti nei confronti di un fattore negativo **vedi A**
- La consanguineità è un fattore di rischio per l'**omozigosità** (due alleli identici) anche se la mutazione è rarissima **vedi B**

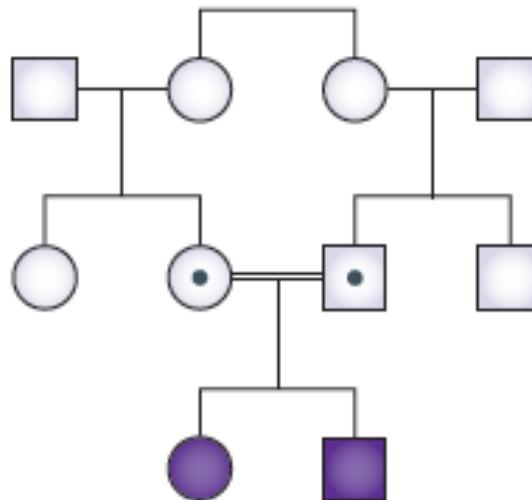


# Come scoprire una nuova malattia genetica a trasmissione autosomica recessiva usando l'NGS?

Autosomal recessive



Consanguineous autosomal recessive



Compound heterozygous variants in affected siblings

Heterozygous variants in unaffected parents

Homozygous variants in affected siblings

Heterozygous variants in unaffected parents

# Malattie da mutazioni in 2 alleli

patologie a trasmissione autosomica recessiva

in genere «loss-of-function»

le mutazioni nuove sono rare, di solito hanno una lunga storia (100-1000 generazioni) con un fondatore

hanno una «**ethical signature**» con un pattern di distribuzione geografica riconoscibile

la consanguineità è pertanto il fattore principale di rischio

è più facile distinguere i polimorfismi, ma molti portatori

con la penetranza al 50% e la frequenza di 1/20.000, gli alleli causativi possono avere nella popolazione generale una frequenza fino a 0.02

## classificazione funzionale delle mutazioni

---

1. allele equivalente
2. allele ipomorfo
3. allele amorfo
4. allele ipermorfo
5. allele neomorfo
6. allele antimorfo

## 1. allele equivalente

---

- variazione che non modificano né la quantità, né la qualità biochimica e funzionale del prodotto genico
- il prodotto genico risulta invariato e normalmente localizzato
- esempi sono le circa 12,000 differenze della sequenza del DNA codificante che si osservano nella popolazione umana che non hanno alcuna conseguenza patologica

## 2. allele ipomorfo

---

- variazione della sequenza del DNA che riduce la quantità di prodotto genico e/o la sua qualità funzionale
- tali alleli sono silenti e recessivi e possono agire più come modificatori del fenotipo che come causa diretta di patologia
- alleli ipomorfi possono però essere causa di malattia se in emizigosi
- esempio: gli alleli ipomorfi del gene della distrofina localizzato sul cromosoma X che determinano quadri di distrofia muscolare di Becker nei maschi in quanto hanno una singola copia del gene

### 3. allele amorf

---

- variazione di sequenza del DNA più drastica: corrisponde classicamente alla delezione (cancellazione) della sequenza codificante del gene
- un allele amorf può essere prodotto da altri tipi di mutazione che abbiano la medesima conseguenza di una delezione totale del gene
- causa in emizigosi una malattia genetica quando colpisce una funzione genica essenziale (es emofilia, distrofia muscolare di Duchenne, ecc)
- l'allele amorf in eterozigosi in genere è presente in un portatore sano di una malattia autosomica recessiva
- può da solo essere causa di malattia se riguarda un gene in cui il 50% del dosaggio (prodotto dall'altro allele non mutato) è insufficiente a mantenere lo stato di salute (aploinsufficienza)

## 4. allele ipermorfo

---

- ipermorfo (iper= aumentato) è l'allele che determina l'aumentata quantità o funzione di un prodotto genico
- l'allele ipermorfo può essere semplice o avere una combinazione di altri effetti come ad esempio, quello di essere presente in una localizzazione impropria o in un tempo sbagliato
- è associato di regola ad un tratto genetico dominante, in quanto l'aumentata espressione/funzione non può essere limitata dall'allele non mutato
- un esempio è l'aumentata funzione del recettore per l'FGF3 che causa l'acondroplasia (nanismo dismorfico) che è appunto a trasmissione autosomica dominante

## 5. allele neomorfo

---

- neomorfo (neo=nuovo) definito come causato da una mutazione che porta ad un prodotto genico nuovo o una funzione nuova
- si distingue solo didatticamente dall'allele ipermorfo, in quanto è in pratica una variante che è difficile da distinguere nelle singole condizioni
- valgono le stesse considerazioni fatte per l'allele ipermorfo sulla natura dominante della mutazione
- in alcune forme di cancro l'allele neomorfo è una chimera di due geni, dovuta ad una traslocazione cromosomica, come il cromosoma di fusione Philadelphia con la comparsa di nuove proteine Bcr-abl in casi di leucemia mieloide cronica

## 6. allele antimorfo o dominante negativo

---

- antimorfo (anti=contro) definito come causato da una mutazione che porta ad un prodotto genico antagonistico
- è il risultato di una mutazione che colpisce un gene il cui prodotto proteico funziona in cooperazione con altre proteine
- particolari mutazioni rendono la proteina di disturbo a tutte le altre pur essendo queste ultime perfettamente normali
- un esempio è dato dal collageno in cui più geni (e due alleli per ogni gene) contribuiscono alla formazione delle proteine ciascuno producendo una parte delle catene di base: una mutazione in un solo allele produce un effetto negativo complessivo

# classificazione strutturale delle mutazioni

---

1. sostituzioni
2. piccole inserzioni, delezioni o inserzioni + delezioni contemporaneamente (indels)
3. riarrangiamenti genomici a due (delezioni, duplicazioni) o più punti di rottura (traslocazioni, inversioni ecc.)
4. copy number variations (CNV)

a queste quattro classi appartengono in modo indistinguibile tanto le variazioni innocue quanto le mutazioni causative di malattia

# mutazioni

---

I dati di sequenziamento totale del genoma provano che almeno 10-8 sostituzioni geniche per base si verificano nella prole de novo, cioè senza essere ereditate dai genitori

tutte le nuove sostituzioni sono in eterozigosi o in emizigosi se si verificano nei cromosomi sessuali maschili

le nuove sostituzioni possono produrre varianti private

meno dell'1% cadono negli esoni codificanti dei geni

- mutazioni silenti, quando l'aminoacido non cambia
- mutazioni missenso quando un aminoacido è sostituito da un altro aminoacido
- mutazioni nonsense quando un aminoacido è sostituito da un codone prematuro di terminazione
- mutazioni nonstop quando al contrario un codone di terminazione è sostituito da un codone di un aminoacido

## numerazione dei nucleotidi

---

- Il nucleotide +1 è la A dell' ATG-codone di inizio della traduzione
- Il nucleotide che precede al 5' l'ATG-codone di inizio della traduzione è denominato -1; non esiste una base 0
- Il nucleotide che segue al 3' il codone di terminazione è denominato \*1

## sostituzioni

---

- le sostituzioni sono indicate dal carattere “>”. Ad esempio, 76A>C indica che in posizione 76 un’adenina è sostituita da una citosina
- 88+1G>T (oppure IVS2+1G>T) indica che una guanina è sostituita da una timina in posizione +1 dell’introne 2, posizionato tra i nucleotidi 88 e 89 del cDNA
- 89-2A>C (oppure IVS2-2A>C) indica che un’adenina è sostituita da una citosina in posizione -2 dell’introne 2, posizionato tra i nucleotidi 88 e 89 del cDNA

# www.1000genomes.org

- il progetto “1000 Genomes” è una collaborazione internazionale per la produzione di un catalogo pubblico di variazioni genetiche umane, compresi SNP e le varianti strutturali, ed i loro aplotipo
- questa risorsa supporta studi “genome-wide” di associazione e di altri studi di ricerca medica
- i genomi di circa 2500 persone non identificate provenienti da 27 popolazioni di tutto il mondo è sequenziato usando NGS
- i risultati dello studio sono liberamente e pubblicamente accessibile ai ricercatori di tutto il mondo

# 1000 genomes

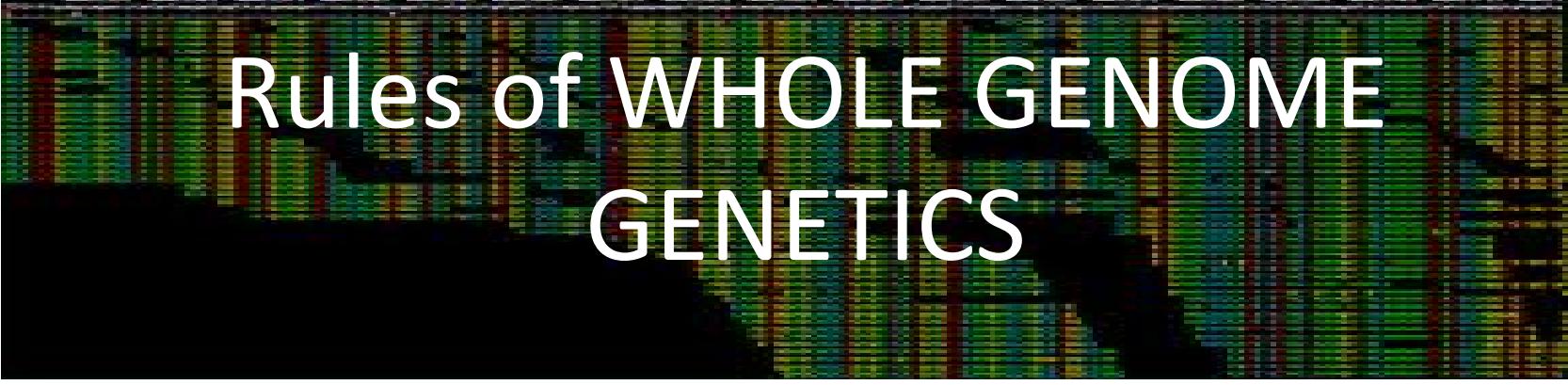
- Ciascun individuo ha
- 10.500-12.000 synonymous SNPs
- 10.000-10.800 SNPs non synonymous of which:
  - nonstop 4-14
  - New stop 67-100
  - Loss of splice-sites 28-45
  - Frame-shift 192-280
  - large deletions 33-49
- **Totale variazioni potenzialmente deleterie 240-345**

Come comunicare le varianti?

## Exome variant server (6,500 genotypes)

### Calpain 3 responsabile di distrofia muscolare AR

- 164 variations in European/Americans and 146 variations in African/Americans
- 5 nonsense/frameshift heterozygous changes in 27 individuals
- 69 missense variations
- 7 changes are common polymorphisms
- 35 are unique missense variants
- 29 are considered as pathogenic by the Leiden Open Variation Database ([www.lovd.nl](http://www.lovd.nl)) or Human Gene Mutation Database ([www.hgmd.org](http://www.hgmd.org))



# Rules of WHOLE GENOME GENETICS

- penetrance is usually incomplete
- hypomorphic/hypermorphic alleles may be more common than amorphic alleles
- the same variation may be considered as pathogenic or not at the same time
- each subject carries many certified pathogenic changes in different genes, but he can be considered as healthy