

1) Nella famiglia la seconda figlia ha la fibrosi cistica. Dati i genotipi di quattro loci sul cromosoma 7 dove è localizzato il gene CFTR,

1a) disegnare gli aplotipi.

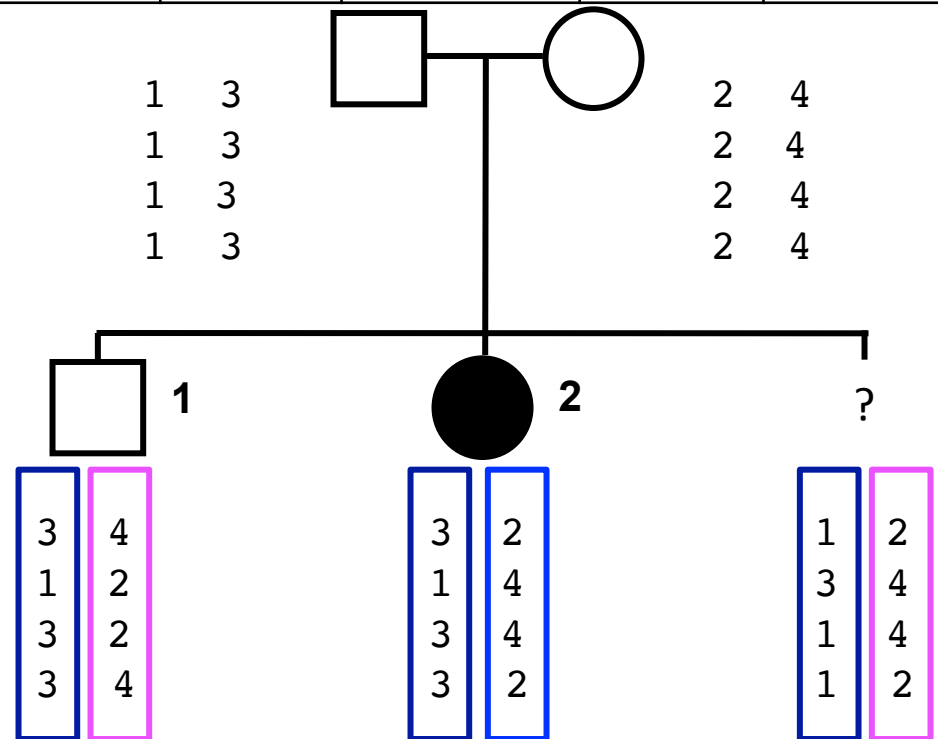
1b) Dall'analisi dei genotipi qual è il genotipo e il fenotipo del feto?

**Aa – portatore sano**

1c) Quali indagini consentono di confermare l'ipotesi?

**Ricerca delle mutazioni**

Membro	Locus A	Locus B	Locus C	Locus D
Padre	1, 3	1, 3	1, 3	1, 3
Madre	2, 4	2, 4	2, 4	2, 4
Figlio 1	3, 4	1, 2	2, 3	3, 4
Figlia 2	2, 3	1, 4	3, 4	2, 3
feto	1, 2	3, 4	1, 4	1, 2



2) Definizione di:

7a) Eterogeneità genetica:

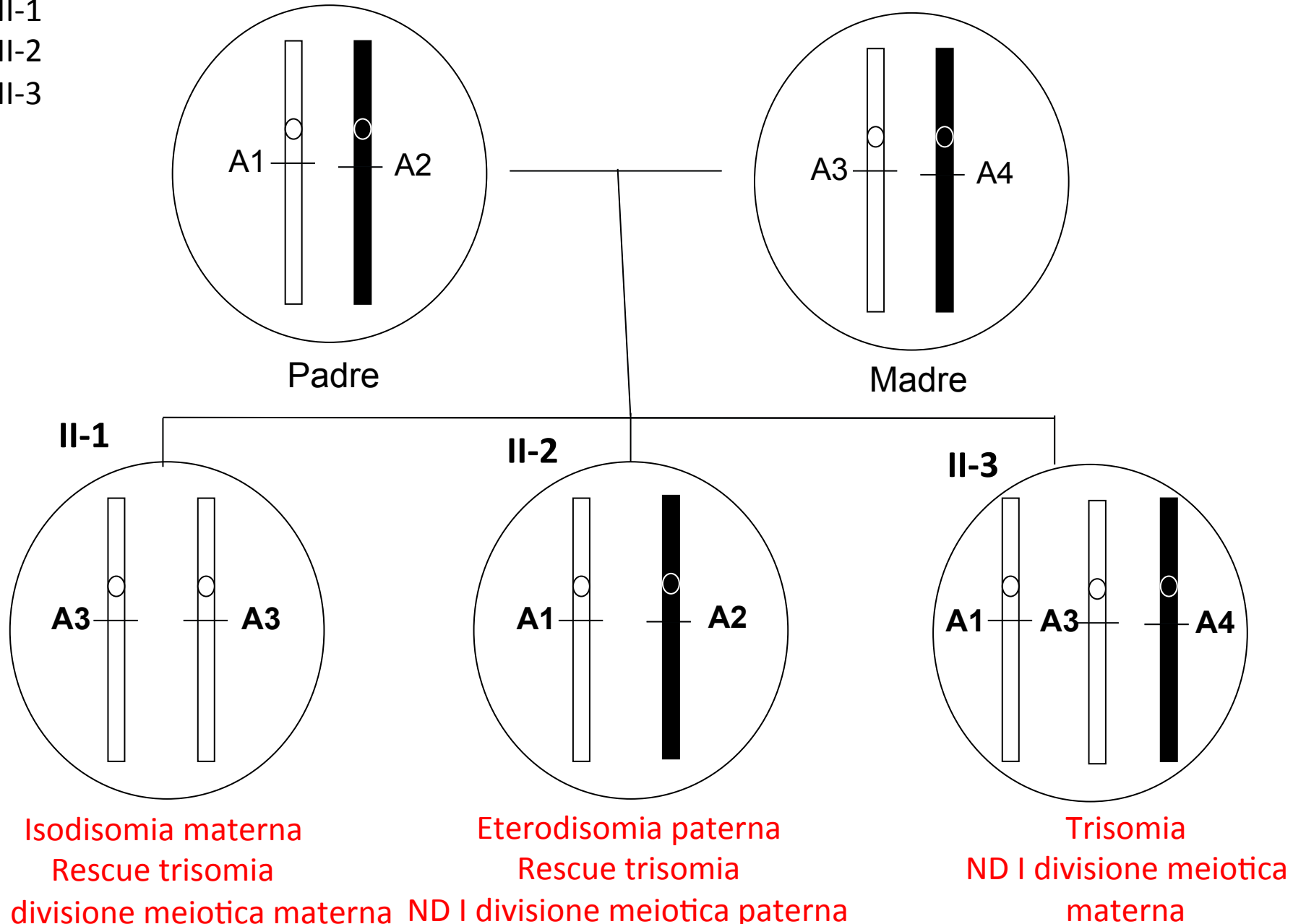
**Presenza di almeno due geni implicati in una patologia (il singolo paziente ha mutato un solo gene).**

2b) Eterozigote composto: **Presenza di mutazioni diverse (in trans – mutazioni bialleliche) allo stesso locus.**

2c) Perdita di eterozigosità (LOH): **Perdita di un allele in un determinato locus nel DNA di un tessuto (es. tumore solido) rispetto al genotipo del DNA costituzionale (sangue).**

3) Indicare le alterazioni cromosomiche (e le relative cause) identificate negli individui

II-1  
II-2  
II-3



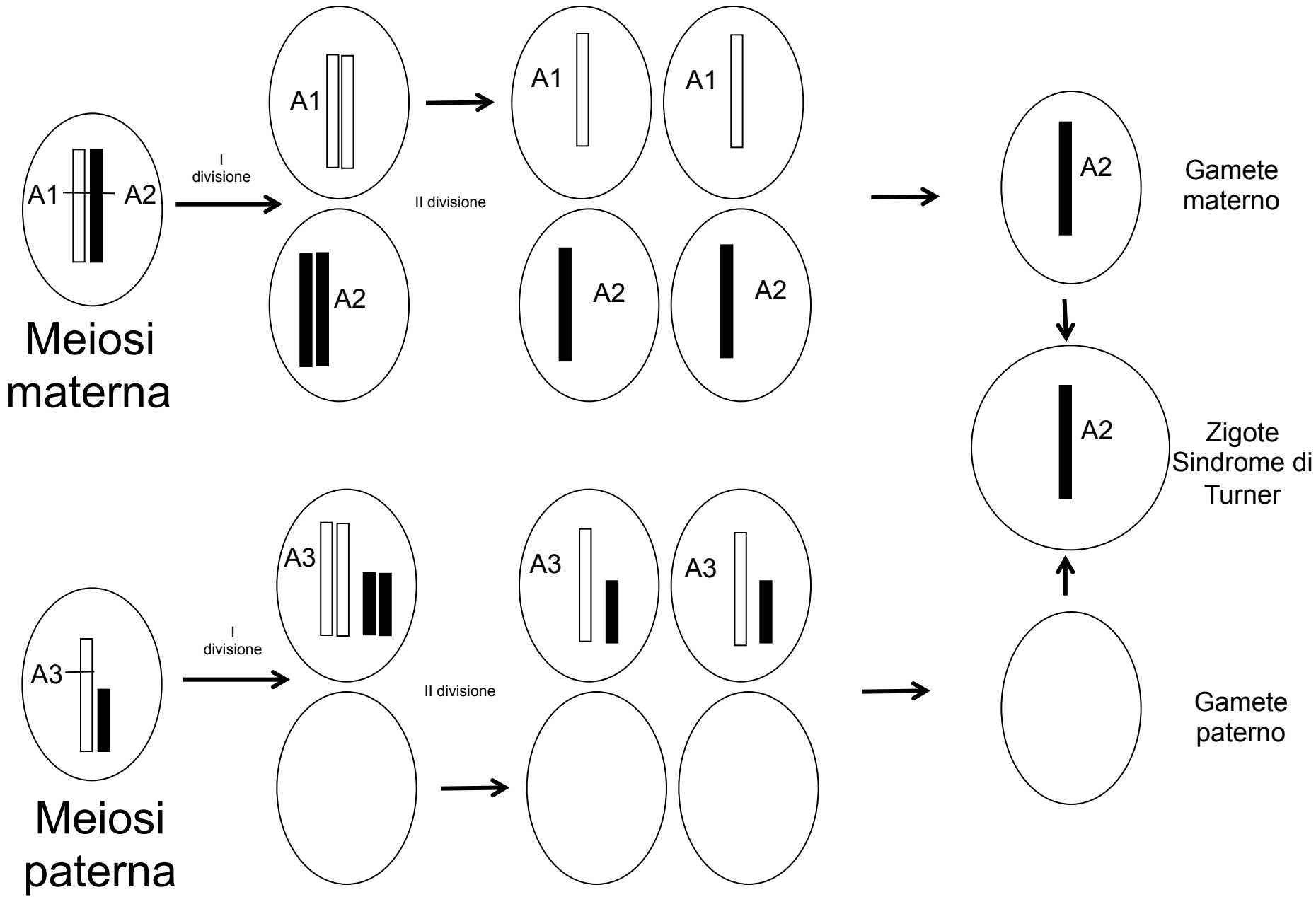
**4a)** Indicare le meiosi dei genitori con una figlia affetta dalla sindrome di Turner. I genotipi del locus A, localizzato sul cromosoma di interesse, sono A1A2 nella madre, A3 nel padre e A2 nella figlia **(vedi diapositiva successiva)**.

**4b)** Quanti cromosomi sono presenti nelle cellule della figlia? **45, X**

**4c)** Quali consentono di identificare l'alterazione nella paziente?

**Analisi del cariotipo**

**SNP e CGH array**



Meiosi  
materna

Meiosi  
paterna

I  
divisione

II  
divisione

I  
divisione

II  
divisione

→

↓

→

↑

Gamete  
materno

Zigote  
Sindrome di  
Turner

Gamete  
paterno

5) I gameti di un individuo AaBb sono: AB=29, Ab=471, aB=469 e ab=31.

5a) Qual è la distanza genetica tra i loci A e B?

I gameti prodotti con frequenza maggiore sono i PARENTALI quindi si tratta di loci associati in trans.

$$\begin{array}{l|l} A & a \\ \hline b & B \end{array} \quad \begin{array}{l} \text{PARENTALI} \\ (471 + 469) / 1000 \\ \boxed{0,94} \end{array}$$

$$\begin{array}{l|l} A & a \\ \hline B & b \end{array} \quad \begin{array}{l} \text{RICOMBINANTI} \\ (29 + 31) / 1000 \\ \boxed{0,06} \end{array} \quad \text{6 cM}$$

Qual è la probabilità di osservare nella progenie di un incrocio AaBb x AaBb un individuo aabb

5b) se la distanza tra i due loci è quella calcolata nel punto "a"?

$$3/100 \times 3/100 = 9/10000 = 0,0009 = 0,09\%$$

5c) se i due loci sono indipendenti?

$$1/4 \times 1/4 = 1/16 = 0,0625 = 6,25\%$$

Ricombinanti 6 cM



	Ab (0.47)	AB (0.03)	ab (0.03)	aB (0.47)
Ab (0.47)				
AB (0.03)				
ab (0.03)			<b>aabb (0.0009)</b>	
aB (0.47)				

Indipendenza



	Ab (0.25)	AB (0.25)	ab (0.25)	aB (0.25)
Ab (0.25)				
AB (0.25)				
ab (0.25)			<b>aabb (0.0625)</b>	
aB (0.25)				

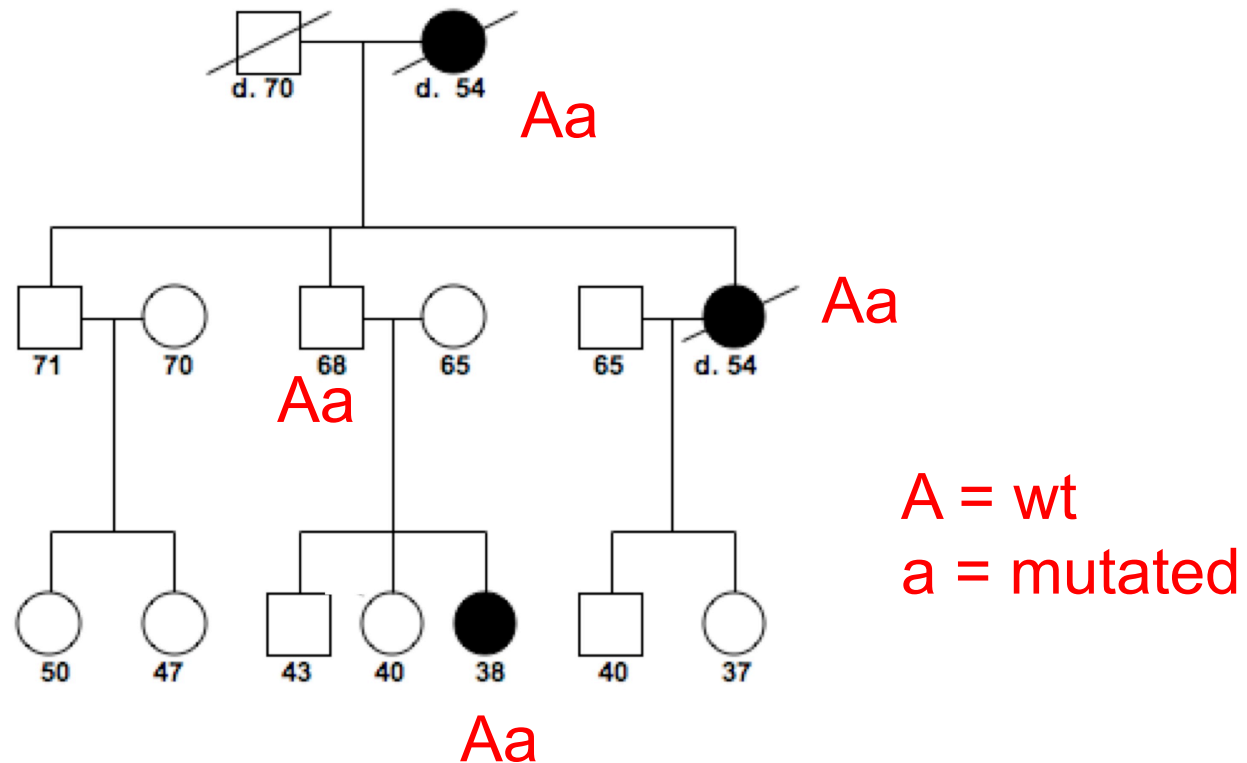
6a) Nell'individuo III-5 è stata identificata una mutazione (nonsense) del gene BRCA2.

6a) Indicare il genotipo costitutivo, solo quando è certo, degli individui della famiglia.

6b) Quali indagini consentono di stabilire il genotipo del locus BRCA2 in tutti i membri della famiglia. **Segregazione della mutazione nella famiglia mediante se**

6c) Per quali tumori sono a rischio gli individui portatori di mutazioni BRCA2?

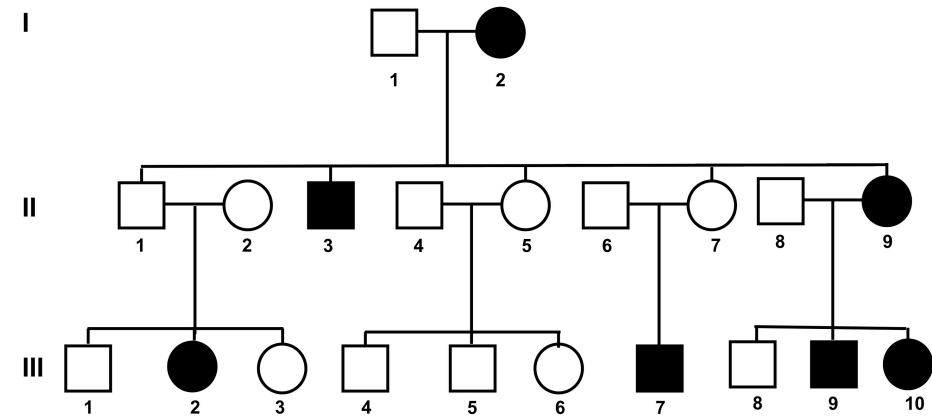
**Tumore della mammella, ovaio, pancreas, tumore mammella nei maschi, prostata**





**7a)** Qual è la modalità più probabile di trasmissione della malattia nell'albero genealogico (spiegare i motivi)?

**Autosomica dominante con penetranza incompleta: affetti in tutte le generazioni (trasmissione verticale); affetti sia maschi sia femmine; non tutti gli affetti hanno un genitore affetto**



**7b)** Qual è il rischio di essere portatori per II-5?

**II-5: 1/2 teorico, ma è sano -> applico Bayes:  $(1 - P)/(2 - P)$  (supponedo una penetranza del 75%): 1/5 da abbassare ulteriormente perché i figli sono tutti sani**

Probabilità	III-1 carrier	III-1 Non carrier
Priori	1/2	1/2
Condizionale	$(1 - 0.75) = 1/4$	1
Combinata	$1/2 \times 1/4 = 1/8$	1/2
Posteriori	$1/8 / (1/8 + 1/2) = 1/5$	$1/2 / (1/8 + 1/2) = 4/5$

**7c)** Qual è il rischio per le coppie II-1/II-2 di avere un figlio affetto?

**1/2 x P**

**8a)** Qual è la finalità di un “genome wide association study”?

**Identificare fattori di rischio genetici nelle malattie complesse**

**8b)** Descrivere brevemente le fasi sperimentali, dal reclutamento dei campioni all’analisi genetica.

**Raccolta campioni casi (affetti) e controlli (sani), nei quali età, genere e origine geografica siano distribuiti in modo omogeneo.**

**Genotipizzazione di tutti gli individui casi e controllo mediante SNP array (migliaia di loci)**

**Valutazione delle frequenze alleliche nei due campioni per valutare differenze statisticamente significative.**

**8c)** Quando si riscontra associazione e qual è il suo significato?

**Si riscontra associazione quando la frequenza di un allele a un determinato locus è significativamente diversa nei casi rispetto ai controlli. L’allele potrebbe essere la causa “diretta” (fattore di rischio della malattia) o “indiretta” per essere in linkage disequilibrium con un allele a un altro locus vicino.**

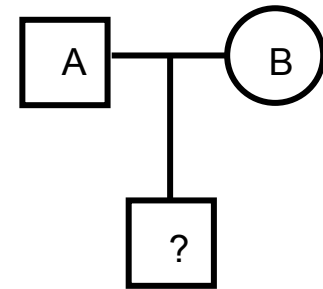
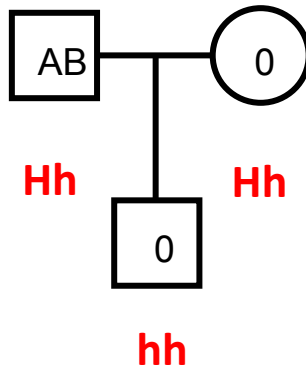
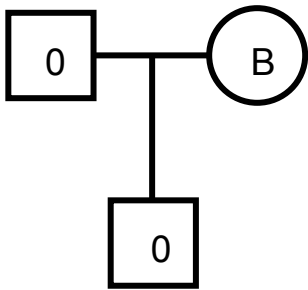
9) Caratteristiche delle seguenti mutazioni:

9a) missense: **sostituzione nucleotidica che determina a livello proteico la sostituzione di un ammino acido**

9b) nonsense: **sostituzione nucleotidica e generazione di un codone di STOP prematuro**

9c) frameshift: **delezione/inserzione/duplicazione di nucleotidi (un numero non multiplo di tre) con slittamento del codice di lettura**

10) Indicare i genotipi di tutti i membri delle tre famiglie.



	<b>I<sup>B</sup></b>	<b>i</b>
<b>i</b>	<b>I<sup>B</sup>i</b>	<b>ii</b>

	<b>I<sup>A</sup></b>	<b>I<sup>B</sup></b>
<b>i</b>	<b>I<sup>A</sup>i</b>	<b>I<sup>B</sup>i</b>

	<b>I<sup>A</sup></b>	<b>i</b>
<b>I<sup>B</sup></b>	<b>I<sup>A</sup>I<sup>B</sup></b>	<b>I<sup>B</sup>i</b>
<b>i</b>	<b>I<sup>A</sup>i</b>	<b>ii</b>

11) Identificare il(i) gene(i) di una malattia riscontrata in cinque famiglie (due consanguinee) in due generazioni, con genitori sani e uno o due figli (maschi o femmine) affetti.

11a) Modello di ereditarietà

**Autosomico recessivo**

11b) Quale strategia si propone di adottare?

- i) Alternativa 1: clonaggio funzionale se a disposizione test funzionale e linee cellulari pazienti**
- ii) Alternativa 2: exoma nei membri delle singole famiglie**

11c) Descrivere brevemente le fasi.

- i) Transfezione delle cellule di pazienti con una libreria di cDNA, selezione cellule per reversione del fenotipo, sequenziamento del plasmide/gene e screening di mutazioni nella famiglia**
- ii) Raccolti i dati dell'esoma:**
  - si eliminano le varianti frequenti e non patogenetiche.
  - si verifica se le varianti patogenetiche selezionate segregano correttamente con mutazione in omozigosi nelle famiglie consanguinee e se nelle altre famiglie ci sono mutazioni bialleliche