

*Alma Mater Studiorum – Università di Bologna*

SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in **BIOTECNOLOGIE MEDICHE**

***NEXT GENERATION SEQUENCING: VALUTAZIONE DI NUOVI GENI  
MALATTIA NELLA PATOLOGIA  
DELLE ESOSTOSI MULTIPLE EREDITARIE***

**Presentata da:  
Laura Di Sarno  
Matricola: 0000737945**

**Relatore:  
Prof.ssa Kerry Jane Rhoden**

**Correlatore: Dott. Luca Sangiorgi  
Dott.ssa Elena Pedrini**

**Anno Accademico 2015/2016**



**Il 10% dei pazienti affetti da Esostosi Multiple Ereditarie non  
presenta mutazioni a carico di  
EXT1 e EXT2**

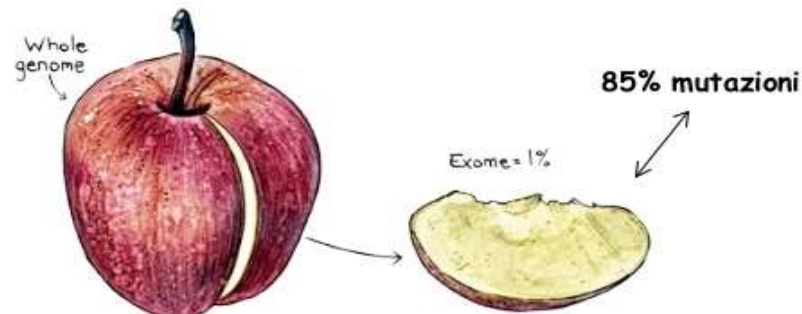
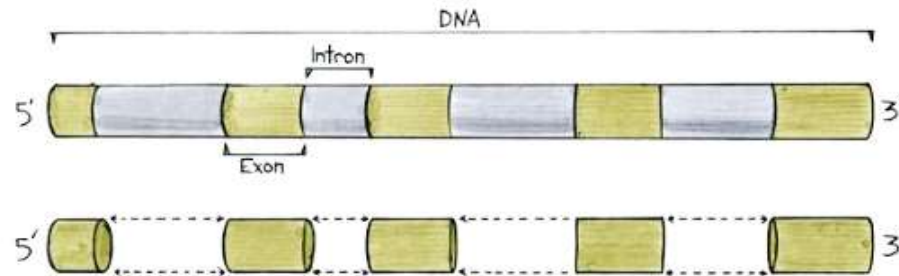
## **Scopo della tesi**

**Individuare nuovi geni coinvolti nell'insorgenza dell'EME  
attraverso uno studio di Whole Exome Sequencing (WES)**

# Cos'è l'ESOMA?



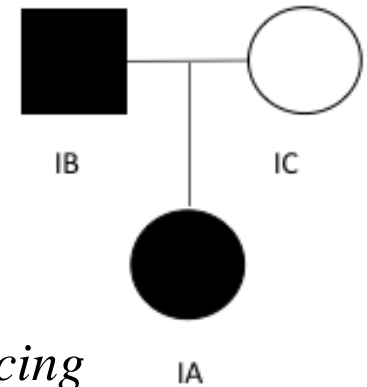
- L'Esoma è la porzione delle sequenze genetiche che contiene le informazioni per fabbricare le proteine.
- Rappresenta solo 1% del genoma, ma è all'interno di queste sequenze che avvengono circa 85% delle mutazioni
- L'analisi dell'esoma si esegue attraverso piattaforme **NGS**



# Descrizione dello studio



E' stato reclutato un TRIO familiare (1A, 1B, 1C) in cui gli individui affetti sono risultati negativi allo screening genetico di EXT1 e EXT2



Rivalutazione dei geni EXT1 e EXT2 tramite *targeted sequencing*

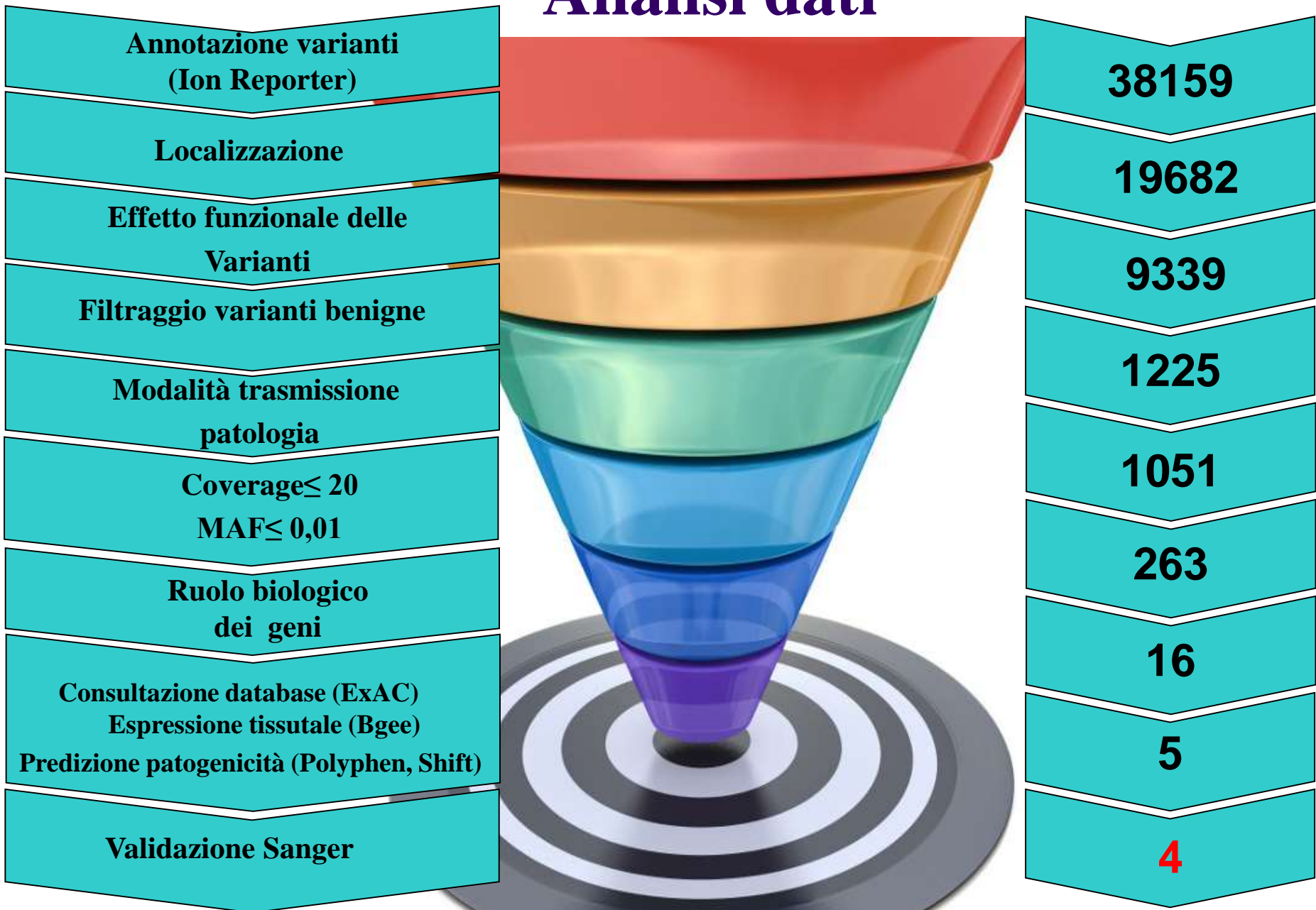


Per individuare nuovi geni malattia è stata effettuata l'analisi dell'esoma del trio selezionato

## Filtri applicati

## Analisi dati

## Numero varianti



Annotazione varianti  
(Ion Reporter)

Localizzazione

Effetto funzionale delle  
Varianti

Filtraggio varianti benigne

Modalit  trasmissione  
patologia

Coverage  $\leq 20$   
MAF  $\leq 0,01$

Ruolo biologico  
dei geni

Consultazione database (ExAC)  
Espressione tissutale (Bgee)  
Predizione patogenicit  (Polyphen, Shift)

Validazione Sanger

38159

19682

9339

1225

1051

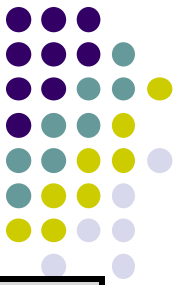
263

16

5

4

# Varianti ricavate dalla fase di analisi



Gene	Locus	Variante	MAF	ExAC	PolyPhen	Sift
CTNND1	chr11:57564425	c.917G>A (p.R306H)	0.0	0.0001279	0.998 Probably damaging	0.02 Damaging
AXIN2	chr17:63532594	c.1985T>C (p.L662P)	0.002	0.001054	1.0 Probably damaging	0.5 Probably damaging
CHSY1	chr15:101718557	c.1445T>C (p.F482S)	/	0.00004954	1.0 Probably damaging	0.15 Probably damaging
IFT57	chr3:107910432	c.713A>T (p.E238V)			0.999 Probably damaging	0.01 Damaging

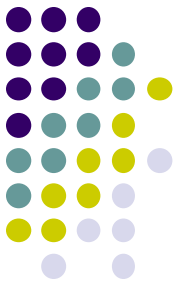


# Conclusioni

- Questo primo studio esplorativo ha permesso di selezionare 4 varianti potenzialmente correlati all'EME a carico di geni coinvolti in pathway implicati nel processo di ossificazione endocondrale:  
AXIN2, CHSY1 e IFT57 sono stati correlati a anomalie scheletriche

## Studi futuri

- Screening molecolare dei geni selezionati su una casistica più ampia
- Studi funzionali volti alla comprensione dell'impatto delle varianti individuate sulla funzione delle proteine
- Estendere l'analisi WES in altri nuclei familiari





grazie