

Premessa

Le analisi genetiche comprendono le analisi di specifici geni, del loro prodotto o della loro funzione e ogni altro tipo di analisi del DNA, dell' RNA o dei cromosomi, al fine di identificare mutazioni nel patrimonio genetico che causano o predispongono allo sviluppo di malattie. Tutti i risultati delle analisi genetiche sono strettamente riservati e sottoposti al vincolo del segreto professionale e d'ufficio. Ogni tipo di materiale biologico prelevato viene conservato in modo anonimo ai sensi della legge sulla privacy (D.lgs. 30 giugno 2003, n196) e la possibilità di risalire ai dati identificativi del campione è riservata solo al personale autorizzato.

Analisi genetica

Il sequenziamento del DNA consiste in una reazione di PCR modificata in cui viene inserito un reagente in più, cioè una miscela di 4 terminatori marcati con quattro diversi fluorocromi e il cui template è rappresentato dal prodotto di PCR purificato.

Finalità del test

La ricerca delle mutazioni nelle regioni da sequenziare è diventata un'indagine routinaria in molti laboratori di genetica ed esistono nel nostro paese anche delle linee guida a questo proposito.

Descrizione del test

Un terminatore è un dideossinucleotide (ddNTP), cioè un nucleotide con un atomo di ossigeno in meno in posizione 3'. La sintesi del nuovo filamento di DNA si blocca quando viene inserito un ddNTP. Al termine della reazione si ottiene una miscela di frammenti di DNA di lunghezze diverse che differiscono per un singolo nucleotide e che terminano con un ddNTP marcato. All'interno del sequenziatore i frammenti della miscela vengono separati e ordinati secondo la loro lunghezza; colpiti da un raggio di luce laser che eccita i fluorocromi coniugati ai terminatori; viene rilevata una emissione di fluorescenza di colore diverso per ognuno dei quattro terminatori; un software ricostruisce automaticamente la sequenza del frammento iniziale di DNA abbinando a ciascuna emissione luminosa il corrispondente ddNTP.

Il risultato (ferogramma) può essere visualizzato e analizzato con appositi software disponibili in rete.

Ad ogni base corrisponde un picco, la cui altezza è direttamente proporzionale all'intensità della fluorescenza emessa (il basso "rumore di fondo", cioè i picchi presenti più in basso è indice di purezza del campione di partenza).

Benefici del trattamento

Il sequenziamento rappresenta un ulteriore strumento per l'identificazione dei parassiti e per gli studi di sistematica. In letteratura sono riportati dati derivanti dal sequenziamento di amplificati relativi alla distinzione di specie/ceppo ed alla definizione di markers specifici, all'identificazione di specie criptiche, a ricostruzioni filogenetiche.

Limiti/Complicanze eventuali

È possibile che il risultato richieda, per una sua più corretta interpretazione, l'estensione dell'esame genetico ai familiari o l'applicazione di ulteriori indagini molecolari.

Eventuali alternative

Eventuali alternative al test possono essere proposte solo in casi specifici.