

Labgscan Fraxa Kit

cod. Fx9202

Sistema per l'analisi delle "premutazioni" e delle "full mutations" nella sindrome dell'X fragile mediante TP-PCR ed analisi della lunghezza dei frammenti con elettroforesi capillare

IL GENE FMR1 E I DISORDINI AD ESSO CORRELATI

Il gene FMR1, che codifica una proteina RNA-binding chiamata FMRP (*Fragile X Mental Retardation Protein*), è localizzato in Xq27.3 ed ha 17 esoni che si estendono su 39 kb di DNA genomico. Tale gene presenta una ripetizione polimorfica CGG nella regione 5'UTR.

Mutazioni all'interno di questa sequenza ripetuta sono la causa della maggior parte dei casi di:

- **syndrome dell'X fragile (FXS)**
- **syndrome dell'X fragile con tremore/atassia (FXTAS)**
- **insufficienza ovarica prematura (POI)**

LE MUTAZIONI CHE CAUSANO MALATTIA SONO:

- **premutazioni ossia alleli contenenti da 55 a circa 200 CGG repeats con anormale metilazione delle isole CpG circostanti e del promotore.**
- **full mutations ossia alleli caratterizzati da un numero di ripetizioni CGG superiore a 200 e associati a metilazione anormale della ripetizione, delle isole CpG circostanti e della regione promotore.**

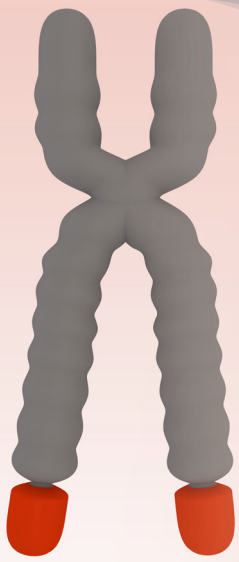
Si considerano invece:

- **alleli normali quelli che contengono fino a 44 CGG ed**
- **intermedi quelli che contengono dalle 45 alle 54 ripetizioni CGG.**
Tali alleli intermedi possono mostrare instabilità, compresa l'espansione a **full mutation** in due generazioni.

Labgscan Fraxa Kit

cod. Fx9202

Sistema per l'analisi delle "premutazioni" e delle "full mutations" nella sindrome dell'X fragile mediante TP-PCR ed analisi della lunghezza dei frammenti con elettroforesi capillare



Fragile X

IL LABGSCAN FRAXA KIT

si basa sull'amplificazione della sequenza ripetuta CGG contenuta nel gene FMR1 mediante la tecnica della TP-PCR (*triple primed-PCR*) e della separazione dei prodotti amplificati tramite elettroforesi capillare. L'interpretazione dei risultati si basa sulla determinazione della lunghezza delle sequenze amplificate.

SAMPLE TO RESULT IN ONE-DAY

DNA
Preparation

TP-PCR

CE
Analysis

▶ DIAGNOSIS

5.5 hrs

1 hrs

▶ Up to 7 hrs

CARATTERISTICHE PRINCIPALI:

- risolve il problema delle femmine omozigoti
- amplifica le espansioni > 200 repeats
- mostra serie di picchi "stutter" ripetuti in presenza di full mutations
- più veloce e semplice del Southern blotting

Campioni di partenza: sangue periferico

Metodo estrazione DNA: QIAamp DNA mini kit, QIAcube, QIAasymphony (Qiagen), High Pure PCR template preparation kit (Roche).

DNA Sequencer: 3100, 3130/xl, 3730/xl, 3500/xl Genetic Analyzers (Applied Biosystems)

Fluorofori utilizzati: 6FAM, ROX (LIZ)