

Programma di Ricerca

Analisi genomiche e metaboliche nella sindrome di Down

Tutor: Prof.ssa Maria Caracausi

1. Premessa

La sindrome di Down (SD) è la più frequente anomalia cromosomica dell'uomo, con frequenza di 1 su 400 concepiti e 1 su 1000 nati vivi (Lukowski et al., 2019). Nel 1959 il Prof. Jérôme Lejeune ha dimostrato che la causa della sindrome è la trisomia 21, ossia una mutazione genetica che comporta la presenza di un cromosoma 21 in tre copie nelle cellule degli individui con SD (Lejeune et al., 1959). I sintomi comprendono: una "facies" caratteristica (rima palpebrale obliqua dall'alto verso il basso dall'esterno all'interno, radice appiattita del naso, lingua grande in proporzione alla bocca, pieghe delle palme delle mani - dermatoglifi - caratteristiche, ampio spazio tra il I e il II dito del piede); disabilità intellettiva, di grado molto variabile, che interessa il pensiero simbolico, con affettività e socialità conservate; malformazioni cardiache nel 30-40% dei casi; ipotonia muscolare; aumentato rischio di leucemia, in particolare megacarioblastica (proliferazione anomala di cellule di tipo megacariocitario); disturbi immunitari ed endocrini; invecchiamento biologico precoce, per alcuni aspetti simile a quello osservato nel morbo di Alzheimer (Epstein, 1989; Roizen and Patterson, 2003; Megarbane et al., 2009; Gardiner et al., 2010; Hickey et al., 2012; Letourneau and Antonarakis, 2012). I vari sintomi sono attribuiti all'espressione alterata dei geni localizzati sul cromosoma 21 (Sinet et al., 1975; Gardiner and Costa, 2006; Roper and Reeves, 2006; Pritchard et al., 2008; Korenberg, 2009; Patterson, 2009). Sebbene la trisomia 21 sia la prima alterazione genetica dimostrata nell'uomo, e la forma più frequente di disabilità intellettiva causata da una anomalia cromosomica dimostrabile al microscopio, i meccanismi molecolari della sindrome sono ancora ampiamente sconosciuti e difficile è individuare gli specifici geni del cromosoma 21 responsabili dei diversi sintomi.

Il maggiore problema nella comprensione della patogenesi della SD rimane la possibilità di correlare un fenotipo complesso con caratteristiche genetiche complesse: non solo, infatti, occorre identificare e caratterizzare geni correlabili al fenotipo della SD e alla sua variabilità, ma anche individuare meccanismi di interazione e di regolazione genica che potrebbero coinvolgere sia il cromosoma 21, sia l'intero genoma. Questo approccio di studio integrato è necessario per capire la patogenesi della sindrome di Down ed è un passaggio fondamentale per identificare nuove strategie terapeutiche (Gardiner et al., 2010).

A questo proposito, abbiamo identificato sul cromosoma 21 umano una "regione critica altamente ristretta per la sindrome di Down" (HR-DSCR, Highly restricted Down Syndrome Critical Region), costituita da un segmento cromosomico sempre presente in tre copie nei bambini con trisomia 21 parziale che manifestano la sindrome e mai presente in tre copie nei bambini con trisomia 21 parziale che non manifestano la sindrome di Down (Pelleri et al., 2016; Pelleri et al., 2019).

Recentemente, abbiamo anche identificato un profilo metabolomico caratteristico delle persone con SD (Caracausi et al., 2018). Inoltre, seguendo l'ipotesi del Prof. J. Lejeune riguardo un ruolo importante del ciclo dell'acido folico per la funzione intellettiva e di una sua compromissione nelle patologie con disabilità intellettiva, abbiamo testato *in vitro* l'effetto della somministrazione di alcuni intermedi metabolici di tale ciclo su fibroblasti del derma con trisomia 21 ed euploidi. Questo studio ha evidenziando la presenza di profili analoghi di risposta fra cellule trisomiche e normali, anche se le prime mostrano una ridotta attività proliferativa (Vitale et al., 2019).

In considerazione dell'importanza dello studio del metabolismo dei folati e del ciclo dei monocarboni nella SD (Vitale et al., 2019; Antonaros et al., 2021a; Vione et al., 2022), sarà eseguito uno studio di un modello di rete metabolica che tenga conto di tutti i dati pubblicati su folati e

sindrome di Down per evidenziare alterazioni specifiche del ciclo dei monocarboni. Inoltre, si cercheranno correlazioni tra la HR-DSCR e ciclo dei monocarboni.

L'effetto dei folati sarà studiato anche nell'ambito di una sperimentazione clinica sui bambini con sindrome di Down, che è in corso di stesura in collaborazione con la Dott.ssa Chiara Locatelli, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Ospedale Policlinico Sant'Orsola.

2. Obiettivi

Con questo progetto proponiamo uno studio sistematico della sindrome di Down che si articola nei seguenti filoni di ricerca:

2.1. Caratterizzazione della regione altamente ristretta critica per la sindrome di Down (Highly Restricted Down Syndrome Critical Region, HR-DSCR) che si estende per 34 kb sul cromosoma 21 umano (Pelleri et al. 2016) mediante tecniche di *editing* genomico.

2.2. Ampliamento della banca biologica già in essere presso il Laboratorio di Genomica (DIBINEM) raccogliendo campioni di plasma e sangue intero di soggetti trisomici e di controllo per l'esecuzione di analisi metaboliche sul ciclo dei monocarboni e genomiche.

2.3. Studio dell'effetto metabolico dei folati nei bambini con sindrome di Down (trial clinico in corso di stesura).

3. Durata della ricerca

Si prevede di svolgere lo studio complessivo nell'arco di 3 anni.

Il primo anno verrà dedicato all'obiettivo 2.1, all'obiettivo 2.2, relativamente alla casistica disponibile nel corso dell'anno, e all'avvio dell'obiettivo 2.3.

4. Descrizione del lavoro sperimentale

4.1 Caratterizzazione della regione altamente ristretta critica per la sindrome di Down (Highly Restricted Down Syndrome Critical Region, HR-DSCR).

In questa parte del progetto si propone di analizzare l'effetto della delezione della HR-DSCR in cellule con trisomia 21. In particolare saranno eseguite colture primarie di fibroblasti umani e cellule staminali pluripotenti indotte (iPSc) con trisomia 21 che saranno sottoposte a delezione selettiva della HR-DSCR mediante il sistema di *editing* genomico CRISPR-Cas9. L'effetto della delezione sarà analizzato mediante l'analisi del trascrittoma delle cellule sottoposte ad *editing*, delle stesse cellule non modificate, e di cellule euploidi (non trisomiche). I lisati provenienti da queste tre condizioni saranno utilizzati per valutare come cambia la concentrazione dei metaboliti del ciclo dei monocarboni. L'indagine metabolica sarà eseguita mediante saggi immunoenzimatici (ELISA) e/o cromatografia liquida e spettrometria di massa (LC-MS/MS).

4.2. Ampliamento della banca biologica già in essere presso il Laboratorio di Genomica (DIBINEM) raccogliendo campioni di plasma e sangue intero di soggetti trisomici e di controllo. Questa parte dello studio verrà condotta in collaborazione con la Dott.ssa Chiara Locatelli dell'Unità Operativa di Neonatologia del Policlinico S.Orsola-Malpighi, Bologna. Il plasma sarà usato per l'analisi della concentrazione dei metaboliti del ciclo dei monocarboni mediante saggi immunoenzimatici (ELISA) e/o cromatografia liquida e spettrometria di massa (LC-MS/MS); dal sangue intero saranno estratti gli acidi nucleici per le analisi genomiche.

4.3. Studio dell'effetto metabolico dei folati nei bambini con sindrome di Down. È prevista la raccolta ed il trattamento di campioni di sangue provenienti da bambini con sindrome di Down ai fini del *trial* clinico mirato allo studio dell'effetto dei folati nei bambini con sindrome di Down attualmente in corso di stesura. Il plasma ricavato dai campioni di sangue raccolti nell'ambito del *trial* descritto sopra sarà utilizzato per eseguire lo studio della concentrazione dei principali metaboliti dell'acido folico mediante saggi immunoenzimatici (ELISA) e/o cromatografia liquida e spettrometria di massa (LC-MS/MS).

5. Curriculum vitae del responsabile scientifico – Prof.ssa Maria Caracausi

Il Responsabile scientifico del progetto è la Prof.ssa Maria Caracausi, Professoressa associata presso il Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie (DIBINEM) dell'Università di Bologna.

Istruzione e Formazione

Abilitazione Scientifica Nazionale, Ministero dell'Istruzione, Università e Ricerca (MIUR) al ruolo di **Professore Associato**, settore BIO/13 (Biologia Applicata) (**12 Settembre 2019 - 12 Settembre 2028**).

Dottorato di ricerca (Gennaio 2013 - Dicembre 2015) in Scienze Farmacologiche, Tossicologiche, dello Sviluppo e Movimento Umano, Università di Bologna.

Abilitazione alla professione di Biologo Senior (Sezione A) presso l'Università di Modena e Reggio Emilia (**Luglio 2015**), e **Biologo Junior (Sezione B)** presso l'Università di Palermo (**Luglio 2009**).

Laurea Magistrale in Biotecnologie Molecolari e Industriali (Novembre 2009 - Marzo 2012) presso l'Università di Bologna, con voto finale 110/110 e Lode.

Laurea in Biotecnologie (Settembre 2004 - Marzo 2009) presso l'Università di Palermo, con voto finale 110/110 e Lode.

Diploma di maturità (Settembre 1999 - Luglio 2004) presso il Liceo Scientifico “G. P. Ballatore” in Mazara del Vallo (TP), con voto finale 100/100.

Esperienza professionale

Professore Associato (da Ottobre 2023) presso il Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie (DIBINEM).

Ricercatore a tempo determinato di tipo b) (Ottobre 2020- Ottobre 2023) presso il Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie (DIBINEM).

Assegno di ricerca (Agosto 2019 - Settembre 2020) in " Genomica, trascrittomica e metabolomica della sindrome di Down”.

EMBO visiting fellow at the University College of Cork, Ireland (Settembre 2017 - Dicembre 2017) per lo svolgimento del progetto "Highly restricted Down syndrome critical region (HR-DSCR) editing by CRISPR/Cas9 system in trisomy 21 cell lines".

Assegno di ricerca (Marzo 2016 - Luglio 2019) in "Approcci integrati per l'identificazione di nuovi bersagli terapeutici per la trisomia 21 (sindrome di Down)".

Assegno di ricerca (Febbraio 2015 - Febbraio 2016) in "Meccanismi Patogenetici molecolari nella trisomia 21 (sindrome di Down)".

Dottorato di ricerca (Marzo 2013 - Dicembre 2015) in Scienze Farmacologiche, Tossicologiche, dello Sviluppo e Movimento Umano (tutor: Prof. Pierluigi Strippoli), Unità di Istologia, Embriologia e Biologia Applicata, Università di Bologna.

Tirocinio post-laurea magistrale (Maggio 2012 - Novembre 2012) presso il Laboratorio di Genomica (Responsabile: Prof. Pierluigi Strippoli) Unità di Istologia, Embriologia e Biologia Applicata, DIMES, Università di Bologna.

Tirocinio post-laurea triennale (Aprile 2009 - Settembre 2009) presso il Laboratorio di Citogenetica Prenatale, U.O. Complessa di Ostetricia e Ginecologia, A.O. "Ospedali Riuniti Villa Sofia-Cervello", Palermo (Responsabile Dott.ssa Salvatrice Lauricella).

Da Maggio 2012 a tutt'oggi collabora all'attività scientifica del Laboratorio di Genomica, Sede Operativa di Istologia, Embriologia e Biologia Applicata del DIBINEM, occupandosi in particolare dell'analisi genomica e post-genomica del cromosoma 21 umano (individuazione di nuovi geni e loro caratterizzazione tramite clonaggio e studio funzionale). Attualmente la sua attività di ricerca consiste nell'analisi degli aspetti genetici e biologici della disabilità intellettiva nell'età evolutiva, quale quella associata alla trisomia 21 (sindrome di Down), per far luce sui meccanismi biologici connessi e per individuare bersagli biologici suscettibili di possibili applicazioni in terapia.

Pubblicazioni

36 pubblicazioni su riviste internazionali con *peer-review* e *Impact Factor*, di cui 7 come Primo Autore (2 come Primo Autore Condiviso), 11 come Ultimo Autore ed 3 come Autore Corrispondente.

<https://www.unibo.it/sitoweb/maria.caracausi2/pubblicazioni>

5.1 Collaborazioni al Progetto

Dott.ssa Chiara Locatelli

Unità Operativa di Neonatologia, Policlinico S.Orsola-Malpighi, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche (DIMEC), Università di Bologna, Bologna, Italia

Dott. Bassam Lajin

Institute of Chemistry, University of Graz, Graz, Austria

Prof. Patrick Harrison

Physiology Department, University College Cork, Cork, Irlanda

Dott.ssa Silvia Lanfranchi

Prof. Renzo Vianello

Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione, Università di Padova, Padova, Italia

6. Gruppo di ricerca

L'Unità Operativa che coordina la ricerca opera nel Laboratorio di Genomica del Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie (Sede Operativa di Istologia, Embriologia e Biologia Applicata) dell'Università di Bologna.

In particolare si occupano attualmente di questo progetto:

Nome e cognome	Laurea	Ruolo
Pierluigi Strippoli	Medicina e Chirurgia	Professore associato
Maria Chiara Pelleri	Biotecnologie Mediche	Professore associato
Lorenza Vitale	Medicina e Chirurgia	Professore associato
Maria Caracausi	Biotecnologie Mol. e Ind.	Professore associato
Allison Piovesan	Biotecnologie Mol. e Ind.	Professore associato
Francesca Antonaros	Biotecnologie Mediche	RTD-a
Beatrice Vione	Biotecnologie Mediche	Dottoranda
Giuseppe Ramacieri	Medicina e Chirurgia	Dottorando
Francesca Catapano	<i>Genetic Counsellors</i>	Dottoranda
Michela Cicilloni	Biologia della Salute	Dottoranda

Il gruppo ha una documentata esperienza di ricerca in genetica molecolare, genomica e biologia computazionale/bioinformatica. Il suo lavoro è caratterizzato dalla convergenza di differenti concetti e metodi tipici di ciascuno di questi campi verso lo studio di uno specifico problema biomedico. Il gruppo ha pubblicato in questi anni studi di genomica su riviste internazionali descrivendo: l'ideazione e lo sviluppo di strumenti di bioinformatica originali capaci di processare informazioni relative alla struttura e all'espressione dei geni e dei genomi (Lenzi et al., 2011; Piovesan et al., 2013; Piovesan et al., 2015), con la possibilità di generare mappe di trascrizione tessuto-specifiche (Caracausi et al., 2014; Pelleri et al., 2014; Caracausi et al., 2016; Caracausi et al., 2017; Vitale et al., 2017; Antonaros et al., 2021b). Il gruppo di ricerca ha avviato uno studio sistematico sulla sindrome di Down, integrando dati clinici, biochimici, genetici e bioinformatici, al fine di identificare nuovi target terapeutici per la trisomia 21 (Pelleri et al., 2016; Caracausi et al., 2017; Caracausi et al., 2018; Pelleri et al., 2018; Vitale et al., 2019; Antonaros et al., 2020; Antonaros et al., 2021a; Vione et al., 2022; Antonaros et al., 2024; Caracausi et al., 2024; Ramacieri et al., 2024).

I Laboratori di Genomica e di Genetica cellulare e molecolare completamente attrezzati necessari allo svolgimento dello studio sono disponibili presso il Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie (Sede Operativa di Istologia, Embriologia e Biologia Applicata).

7. Bibliografia

- Antonaros, F., Ghini, V., Pulina, F., Ramacieri, G., Cicchini, E., Mannini, E., Martelli, A., Feliciello, A., Lanfranchi, S., Onnivello, S., Vianello, R., Locatelli, C., Cocchi, G., Pelleri, M.C., Vitale, L., Strippoli, P., Luchinat, C., Turano, P., Piovesan, A., and Caracausi, M. (2020). Plasma metabolome and cognitive skills in Down syndrome. *Sci Rep* 10, 10491.
- Antonaros, F., Lanfranchi, S., Locatelli, C., Martelli, A., Olivucci, G., Cicchini, E., Carosi Diatricch, L., Mannini, E., Vione, B., Feliciello, A., Ramacieri, G., Onnivello, S., Vianello, R., Vitale, L., Pelleri, M.C., Strippoli, P., Cocchi, G., Pulina, F., Piovesan, A., and Caracausi, M. (2021a).

- One-carbon pathway and cognitive skills in children with Down syndrome. *Sci Rep* 11, 4225.
- Antonaros, F., Obermayer-Pietsch, B., Ramacieri, G., Vione, B., Locatelli, C., Goessler, W., Caracausi, M., and Lajin, B. (2024). First clinical evidence that trimethylsulfonium can serve as a biomarker for the production of the signaling molecule hydrogen sulfide. *Clin Chim Acta* 554, 117780.
- Antonaros, F., Zenatelli, R., Guerri, G., Bertelli, M., Locatelli, C., Vione, B., Catapano, F., Gori, A., Vitale, L., Pelleri, M.C., Ramacieri, G., Cocchi, G., Strippoli, P., Caracausi, M., and Piovesan, A. (2021b). The transcriptome profile of human trisomy 21 blood cells. *Hum Genomics* 15, 25.
- Caracausi, M., Ghini, V., Locatelli, C., Mericio, M., Piovesan, A., Antonaros, F., Pelleri, M.C., Vitale, L., Vacca, R.A., Bedetti, F., Mimmi, M.C., Luchinat, C., Turano, P., Strippoli, P., and Cocchi, G. (2018). Plasma and urinary metabolomic profiles of Down syndrome correlate with alteration of mitochondrial metabolism. *Sci Rep* 8, 2977.
- Caracausi, M., Piovesan, A., Vitale, L., and Pelleri, M.C. (2017). Integrated Transcriptome Map Highlights Structural and Functional Aspects of the Normal Human Heart. *J Cell Physiol* 232, 759-770.
- Caracausi, M., Ramacieri, G., Catapano, F., Cicilloni, M., Lajin, B., Pelleri, M.C., Piovesan, A., Vitale, L., Locatelli, C., Pirazzoli, G.L., Strippoli, P., Antonaros, F., and Vione, B. (2024). The functional roles of S-adenosyl-methionine and S-adenosyl-homocysteine and their involvement in trisomy 21. *Biofactors*.
- Caracausi, M., Rigon, V., Piovesan, A., Strippoli, P., Vitale, L., and Pelleri, M.C. (2016). A quantitative transcriptome reference map of the normal human hippocampus. *Hippocampus* 26, 13-26.
- Caracausi, M., Vitale, L., Pelleri, M.C., Piovesan, A., Bruno, S., and Strippoli, P. (2014). A quantitative transcriptome reference map of the normal human brain. *Neurogenetics* 15, 267-287.
- Epstein, C.J. (1989). "Down syndrome, trisomy 21.," in *Metabolic Basis of Inherited Disease*. . (New York, NY: McGraw-Hill), 291-326.
- Gardiner, K., and Costa, A.C. (2006). The proteins of human chromosome 21. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 142c, 196-205.
- Gardiner, K., Herault, Y., Lott, I.T., Antonarakis, S.E., Reeves, R.H., and Dierssen, M. (2010). Down syndrome: from understanding the neurobiology to therapy. *J Neurosci* 30, 14943-14945.
- Hickey, F., Hickey, E., and Summar, K.L. (2012). Medical update for children with Down syndrome for the pediatrician and family practitioner. *Adv Pediatr* 59, 137-157.
- Korenberg, J.R. (2009). Down syndrome: the crucible for treating genomic imbalance. *Genet Med* 11, 617-619.
- Lejeune, J., Gauthier, M., and Turpin, R. (1959). [Human chromosomes in tissue cultures]. *C R Hebd Seances Acad Sci* 248, 602-603.
- Lenzi, L., Facchin, F., Piva, F., Giulietti, M., Pelleri, M.C., Frabetti, F., Vitale, L., Casadei, R., Canaider, S., Bortoluzzi, S., Coppe, A., Danieli, G.A., Principato, G., Ferrari, S., and Strippoli, P. (2011). TRAM (Transcriptome Mapper): database-driven creation and analysis of transcriptome maps from multiple sources. *BMC Genomics* 12, 121.
- Letourneau, A., and Antonarakis, S.E. (2012). Genomic determinants in the phenotypic variability of Down syndrome. *Prog Brain Res* 197, 15-28.
- Lukowski, A.F., Milojevich, H.M., and Eales, L. (2019). Cognitive Functioning in Children with Down Syndrome: Current Knowledge and Future Directions. *Adv Child Dev Behav* 56, 257-289.
- Megarbane, A., Ravel, A., Mircher, C., Sturtz, F., Grattau, Y., Rethore, M.O., Delabar, J.M., and Mobley, W.C. (2009). The 50th anniversary of the discovery of trisomy 21: the past,

- present, and future of research and treatment of Down syndrome. *Genet Med* 11, 611-616.
- Patterson, D. (2009). Molecular genetic analysis of Down syndrome. *Hum Genet* 126, 195-214.
- Pelleri, M.C., Cattani, C., Vitale, L., Antonaros, F., Strippoli, P., Locatelli, C., Cocchi, G., Piovesan, A., and Caracausi, M. (2018). Integrated Quantitative Transcriptome Maps of Human Trisomy 21 Tissues and Cells. *Front Genet* 9, 125.
- Pelleri, M.C., Cicchini, E., Locatelli, C., Vitale, L., Caracausi, M., Piovesan, A., Rocca, A., Poletti, G., Seri, M., Strippoli, P., and Cocchi, G. (2016). Systematic reanalysis of partial trisomy 21 cases with or without Down syndrome suggests a small region on 21q22.13 as critical to the phenotype. *Hum Mol Genet* 25, 2525-2538.
- Pelleri, M.C., Cicchini, E., Petersen, M.B., Tranebjaerg, L., Mattina, T., Magini, P., Antonaros, F., Caracausi, M., Vitale, L., Locatelli, C., Seri, M., Strippoli, P., Piovesan, A., and Cocchi, G. (2019). Partial trisomy 21 map: Ten cases further supporting the highly restricted Down syndrome critical region (HR-DSCR) on human chromosome 21. *Mol Genet Genomic Med* 7, e797.
- Pelleri, M.C., Piovesan, A., Caracausi, M., Berardi, A.C., Vitale, L., and Strippoli, P. (2014). Integrated differential transcriptome maps of Acute Megakaryoblastic Leukemia (AMKL) in children with or without Down Syndrome (DS). *BMC Med Genomics* 7, 63.
- Piovesan, A., Caracausi, M., Ricci, M., Strippoli, P., Vitale, L., and Pelleri, M.C. (2015). Identification of minimal eukaryotic introns through GeneBase, a user-friendly tool for parsing the NCBI Gene databank. *DNA Res* 22, 495-503.
- Piovesan, A., Vitale, L., Pelleri, M.C., and Strippoli, P. (2013). Universal tight correlation of codon bias and pool of RNA codons (codonome): The genome is optimized to allow any distribution of gene expression values in the transcriptome from bacteria to humans. *Genomics* 101, 282-289.
- Pritchard, M., Reeves, R.H., Dierssen, M., Patterson, D., and Gardiner, K.J. (2008). Down syndrome and the genes of human chromosome 21: current knowledge and future potentials. Report on the Expert workshop on the biology of chromosome 21 genes: towards gene-phenotype correlations in Down syndrome. Washington D.C., September 28-October 1, 2007. *Cytogenet Genome Res* 121, 67-77.
- Ramacieri, G., Locatelli, C., Semprini, M., Pelleri, M.C., Caracausi, M., Piovesan, A., Cicilloni, M., Vigna, M., Vitale, L., Sperti, G., Corvaglia, L.T., Pirazzoli, G.L., Strippoli, P., Catapano, F., Vione, B., and Antonaros, F. (2024). Zinc metabolism and its role in immunity status in subjects with trisomy 21: chromosomal dosage effect. *Front Immunol* 15, 1362501.
- Roizen, N.J., and Patterson, D. (2003). Down's syndrome. *Lancet* 361, 1281-1289.
- Roper, R.J., and Reeves, R.H. (2006). Understanding the basis for Down syndrome phenotypes. *PLoS Genet* 2, e50.
- Sinet, P.M., Allard, D., Lejeune, J., and Jerome, H. (1975). Letter: Gene dosage effect in trisomy 21. *Lancet* 1, 276.
- Vione, B., Ramacieri, G., Zavaroni, G., Piano, A., La Rocca, G., Caracausi, M., Vitale, L., Piovesan, A., Gori, C., Pirazzoli, G.L., Strippoli, P., Cocchi, G., Corvaglia, L., Locatelli, C., Pelleri, M.C., and Antonaros, F. (2022). One-carbon pathway metabolites are altered in the plasma of subjects with Down syndrome: Relation to chromosomal dosage. *Front Med (Lausanne)* 9, 1006891.
- Vitale, L., Piovesan, A., Antonaros, F., Strippoli, P., Pelleri, M.C., and Caracausi, M. (2017). A molecular view of the normal human thyroid structure and function reconstructed from its reference transcriptome map. *BMC Genomics* 18, 739.
- Vitale, L., Serpieri, V., Lauriola, M., Piovesan, A., Antonaros, F., Cicchini, E., Locatelli, C., Cocchi, G., Strippoli, P., and Caracausi, M. (2019). Human trisomy 21 fibroblasts rescue methotrexate toxic effect after treatment with 5-methyl-tetrahydrofolate and 5-formyl-tetrahydrofolate. *J Cell Physiol*.

Piano di Attività

Analisi genomiche e metaboliche nella sindrome di Down

Nel corso dell'anno di svolgimento del progetto, l'assegnista dovrà applicare metodi di biologia molecolare e cellulare, di genomica, di biologia computazionale per svolgere l'attività di ricerca descritta ai punti 4.1, 4.2 e 4.3 del "Progetto di Ricerca".

L'assegnista dovrà essere in grado di collaborare sia alle indagini sperimentali sui campioni biologici ottenuti, sia alla elaborazione e pubblicazione dei dati.

In particolare, nel corso dell'attività saranno applicate competenze relative ai seguenti metodi di biologia molecolare e computazionale:

- metodiche di base impiegate nel laboratorio di ricerca biomedico (pianificazione degli esperimenti, preparazione di soluzioni, elettroforesi su gel);
- colture cellulari;
- trattamento di campioni sangue per isolamento del plasma e per l'estrazione degli acidi nucleici;
- estrazione ed analisi qualitativa e quantitativa di acidi nucleici da campioni biologici;
- trascrizione inversa e reazione a catena della polimerasi (RT-PCR);
- progettazione avanzata dei primer di PCR;
- progettazione ed esecuzione di esperimenti di "Real-Time" RT-PCR;
- progettazione ed esecuzione di esperimenti di "Digital droplet PCR";
- utilizzo del sistema CRISPR/Cas9 per esperimenti di "genome editing";
- esecuzione di saggi immunoenzimatici (saggi ELISA);
- utilizzo delle banche dati e dei software di comune impiego in Genomica umana ("browser" genomici, allineamento di sequenze, predizione di sequenze geniche);
- utilizzo di software per l'esecuzione di analisi statistiche (SPSS Statistics software, JMP Pro)
- costruzione ed analisi di mappe del trascrittoma.