

Progetto di Ricerca

Raccolta e analisi di dati clinici e di laboratorio nella trisomia 21

Tutor: Maria Chiara Pelleri

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 700 nati vivi (Morris et al. 1999, Parker et al. 2010). 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 (invece delle normali due) 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, in realtà 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 e Patterson 2003, Mégarbané et al. 2009, Gardiner et al. 2010, Letourneau e Antonarakis 2012, Hickey et al. 2012). I vari sintomi sono attribuiti all'espressione alterata dei geni localizzati sul cromosoma 21 (Sinet et al. 1975; Gardiner e Costa 2006; Roper e Reeves 2006; Pritchard et al. 2008; Korenberg 2009; Patterson 2009). Sebbene la trisomia 21 sia la prima alterazione genetica dimostrata nell'uomo, e sia causa della forma più frequente di disabilità intellettiva dovuta ad 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 filone di ricerca sulla trisomia 21 è stato portato all'Università di Bologna dalla Prof.ssa Maria Zannotti, ora in pensione, che alla fine degli anni '60 fu allieva a Parigi del Prof. Lejeune. Le ricerche sono ora proseguite dal gruppo da lei creato con i nuovi strumenti messi a disposizione dal completamento del "Progetto Genoma Umano".

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 2010). A questo proposito, abbiamo recentemente identificato un profilo metabolomico caratteristico delle persone con SD (Caracausi et al. 2018).

Lo scopo di questo progetto è quello di correlare dati provenienti da indagini di tipo clinico (esame obiettivo, esami clinici) con dati sperimentali ottenuti da analisi molecolari, bioinformatiche, di metabolomica. I dati così ottenuti potranno fornire una rappresentazione di insieme dei meccanismi patogenetici della SD, in particolare al fine di individuare marcatori specifici che possano diventare bersagli di terapie innovative.

2. Obiettivi

2.1 Raccolta, registrazione accurata e tabulazione di tutti i dati clinici (anamnestici, laboratoristici), sperimentali e di valutazione cognitiva (collaborazione con la Prof.ssa Lanfranchi dell'Università di Padova) relativi ai bambini con SD arruolati durante il periodo di durata di questo progetto.

2.2 Analisi di tutti i dati raccolti ed individuazione di correlazioni statisticamente significative tra tipologie diverse di dati (clinici, laboratoristici, metabolomici, di valutazione dello sviluppo neuromotorio e cognitivo) che possano aiutare a comprendere le relazioni fra genotipo e fenotipo nella SD utili alla scoperta di nuove terapie basate sul meccanismo patogenetico della sindrome.

3. Durata della ricerca

Si prevede di svolgere lo studio complessivo nell'arco di 12 mesi.

4. Piano di formazione

Nel corso dei 12 mesi di svolgimento del progetto, il borsista, grazie alla collaborazione con il Day Hospital di Neonatologia - Corvaglia dell'Ospedale S. Orsola-Malpighi (Dott.ssa Chiara Locatelli), tabulerà i dati clinici e sperimentali (da analisi dei campioni biologici) e ricercherà correlazioni fra dati clinici, dosaggi di metaboliti, profilo cognitivo e profilo genetico (punti 2.1. e 2.2. degli Obiettivi).

È previsto anche il dosaggio di specifici metaboliti nel caso la ricerca suggerisca un coinvolgimento importante di particolari cicli metabolici nello sviluppo di caratteristiche fenotipiche peculiari della sindrome di Down, con riferimento particolare alla disabilità intellettiva.

5. Descrizione del lavoro sperimentale

5.1 Raccolta, organizzazione e analisi dei dati.

Tutti i dati clinici (anamnestici e laboratoristici) e sperimentali (ottenuti nel nostro Laboratorio di Genomica del DIBINEM) di ogni soggetto arruolato nel Progetto "Correlazione fra genotipo e fenotipo nella trisomia 21 (sindrome di Down)" durante il periodo di durata del progetto di questa borsa di studio, saranno registrati e accuratamente tabulati. Per i soggetti in età fra i 3 e i 16 anni, sarà possibile, inoltre, raccogliere anche dati relativi ai profili di valutazione cognitiva grazie alla collaborazione con la Prof.ssa Lanfranchi del Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione dell'Università di Padova e metterli in relazione con i rispettivi dati clinici e sperimentali.

5.2 Individuazione di correlazioni utili alla scoperta di nuovi approcci terapeutici per la sindrome di Down.

La complessità della sindrome di Down richiede un approccio di studio integrato in modo da identificare correlazioni genotipo-fenotipo utili alla scoperta di nuove terapie basate sul meccanismo patogenetico della sindrome. È già stato possibile identificare un profilo metabolomico caratteristico delle persone con SD (Caracausi et al. 2018, Antonaros et al., 2020, Vione et al. 2022).

Fondamentale sarà quindi l'analisi di tutti i dati ottenuti e la ricerca di correlazioni statisticamente significative, con l'impiego dei software JMP, PRISM, FileMakerPro, fra tipologie diverse di dati (clinici, laboratoristici, metabolomici, di valutazione dello sviluppo

neuromotorio e cognitivo) che possano aiutare a comprendere le relazioni fra genotipo e fenotipo nella sindrome di Down, utili alla scoperta di nuovi approcci terapeutici basati sul meccanismo patogenetico della sindrome.

6. Curriculum vitae del responsabile scientifico - Dott.ssa Lorenza Vitale

Il Responsabile scientifico del progetto è la Prof.ssa Maria Chiara Pelleri, Professore Associato di Biologia Applicata presso il Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie (DIBINEM) dell'Università di Bologna.

Carriera Accademica

- Dal 04/11/2021 ad oggi
Professore Associato di Biologia Applicata. Titolare dell'insegnamento "Cellular Biology and Genetics" presso il Corso di Studi in lingua inglese di Medicine and Surgery, Università di Bologna
- Dal 05/06/2018 al 03/11/2021
RTD-B, Progetto: "Aspetti genetici e biologici della disabilità intellettiva nell'età evolutiva"
- Dal 01/06/2017 al 04/06/2018
RTD-A, Progetto: "Correlazione genotipo-fenotipo nella sindrome di Down"
- Dal 14/07/2015 al 31/05/2017
Assegnista di ricerca.
Progetto: "Un percorso integrato per la identificazione di nuovi approcci terapeutici per la trisomia 21 (sindrome di Down) basati sulla patogenesi", presso DIMES, Università di Bologna. Tutor: Prof. Pierluigi Strippoli.
- Dal 01/09/2011 al 13/07/2015
Assegnista di ricerca.
Progetto: "Il sistema multi-trascritto CYYR1 come modello genico nello studio della variabilità di espressione dei geni del cromosoma 21 umano", presso DIMES, Università di Bologna. Tutor: Prof.ssa Flavia Frabetti.
- Abilitazione scientifica nazionale
alle funzioni di professore di I fascia, settore concorsuale 05/F1, Biologia Applicata BIO/13. Validità dal 06/06/2022 al 06/06/2033.

Formazione

- 2008-2010
Dottorato di ricerca in Scienze dello Sviluppo e del Movimento Umano, XXIII Ciclo, Università di Bologna
Dal 01/10/2008 al 01/04/2009
Formazione all'estero presso Laboratorio del Prof. Elgar, Queen Mary University of London
- 15/10/2007 Laurea Specialistica in Biotecnologie Mediche (110/110 e Lode)
- 20/09/2005 Laurea in Biotecnologie (110/110)

6.1 Gruppo di ricerca

L'Unità Operativa che coordina la ricerca opera nel Laboratorio di Genomica del Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, DIBINEM (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 |
| Lorenza Vitale | Medicina e Chirurgia | Professore associato |
| Maria Chiara Pelleri | Biotecnologie Mediche | Professore associato |
| Allison Piovesan | Biotecnologie Mol. e Ind. | RTD-B |
| Maria Caracausi | Biotecnologie Mol. e Ind. | RTD-B |
| Francesca Antonaros | Biotecnologie Mediche | Assegnista di ricerca |
| Beatrice Vione | Biotecnologie Mediche | Dottorando |
| Michela Cicilloni | Biologia della salute | Dottorando |

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: una nuova famiglia di geni ("Down Syndrome Candidate/Critical Region-1 like") con un membro localizzato sul cromosoma 21 umano (Strippoli et al. 2000; Strippoli et al. 2000b; Canaider et al. 2006; Davies et al. 2007), un nuovo grande gene codificante per proteina (*CYYR1*) non identificato nel rapporto originale sulla sequenza completa del cromosoma 21 (Vitale et al. 2002), i risultati di analisi su larga scala della struttura e dell'espressione del cromosoma 21 (Strippoli et al. 2002; Giannone et al. 2004), la revisione fine di sequenze codificanti di RNA umani e dei loro siti di splicing (Amore et al. 2004; Casadei et al. 2003; Vitale et al. 2006; Vitale et al. 2007; Frabetti et al. 2007; Facchin et al. 2008; Facchin et al. 2011; Casadei et al. 2011; Casadei et al. 2012), 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 (D'Addabbo et al. 2004; Lenzi et al. 2006; Lenzi et al. 2011; Piovesan et al. 2013; Piovesan et al. 2015), con la possibilità di generare mappe di trascrizione tessuto-specifiche (Pelleri et al. 2014; Caracausi et al. 2014; Caracausi et al. 2016; Caracausi et al. 2017; Vitale et al. 2017).

Da alcuni anni, il gruppo di ricerca ha avviato il presente 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; Antonaros et al., 2020; Pelleri et al. 2018, Vione et al. 2022).

6.2 Collaborazioni internazionali e nazionali recenti

Dott.ssa Chiara Locatelli

Unità Operativa di Neonatologia (Direttore Prof. Corvaglia), IRCCS Policlinico S.Orsola-Malpighi, Bologna

Prof.ssa Silvia Lanfranchi

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

Prof. Michele Lombardi

Dipartimento di Informatica - Scienza e Ingegneria (DISI), Università di Bologna

7. Bibliografia

Amore M, Strippoli P, Laterza C, Tagariello P, Vitale L, Casadei R, Frabetti F, Canaider S, Lenzi L, D'Addabbo P, Carinci P, Torroni A, Ferrari G, Zannotti M. Sequence analysis of ADARB1 gene in patients with familial bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*, 2004, 81:79-85. DOI:org/10.1016/j.jad.2003.08.006

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 MC, Vitale L, Strippoli P, Luchinat C, Turano P, Piovesan A, Caracausi M. Plasma metabolome and cognitive skills in Down syndrome. *Scientific Reports*, 2020, 26;10(1):10491. DOI: 10.1038/s41598-020-67195-z

Benson DA, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. GenBank. *Nucleic Acids Res* 38(Database issue):D46-51, 2010.

Bork P, Gibson TJ. Applying motif and profile searches. *Methods Enzymol* 266:162-184, 1996. DOI:org/10.1016/S0076-6879(96)66013-3

Bork P, Koonin EV. Predicting functions from protein sequences—Where are the bottlenecks? *Nat Genet* 18:313-318, 1998. DOI: 10.1038/ng0498-313

Caracausi M, Vitale L, Pelleri MC, Piovesan A, Bruno S, Strippoli P. A quantitative transcriptome reference map of the normal human brain. *Neurogenetics* 15:267-287, 2014. DOI:10.1007/s10048-014-0419-8

Caracausi M, Rigon V, Piovesan A, Strippoli P, Vitale L, Pelleri MC. A quantitative transcriptome reference map of the normal human hippocampus. *Hippocampus* 26:13-26, 2016. DOI: 10.1002/hipo.22483

Caracausi M, Piovesan A, Antonaros F, Strippoli P, Vitale L, Pelleri MC. Systematic identification of human housekeeping genes possibly useful as references in gene expression studies. *Mol Med Rep*, 16:2397-2410, 2017

Caracausi M, Piovesan A, Vitale L, Pelleri MC. Integrated Transcriptome Map Highlights Structural and Functional Aspects of the Normal Human Heart. *J Cell Physiol*, 232:759-770, 2017

Caracausi M, Ghini V, Locatelli C, Mericio M, Piovesan A, Antonaros F, Pelleri MC, Vitale L, Vacca RA, Bedetti F, Mimmi MC, Luchinat C, Turano P, Strippoli P, Cocchi G. Plasma and urinary metabolomic profiles of Down syndrome correlate with alteration of mitochondrial metabolism. *Sci Rep*, 8:2977, 2018

Canaider S, Facchin F, Griffoni C, Casadei R, Vitale L, Lenzi L, Frabetti F, D'Addabbo P, Carinci P, Zannotti M, Strippoli P. Proteins encoded by human Down syndrome critical region gene 1-like 2 (*DSCR1L2*) mRNA and by a novel *DSCR1L2* mRNA isoform interact with cardiac troponin I (TNNI3). *Gene* 372:128-136, 2006. DOI: org/10.1016/j.gene.2005.12.029

Casadei R, Strippoli P, D'Addabbo, Canaider S, Lenzi L, Vitale L, Giannone S, Frabetti F, Facchin F, Carinci P, Zannotti M. mRNA 5' region sequence incompleteness: a potential source of systematic errors in translation initiation codon assignment in human mRNAs. *Gene* 21:185-193, 2003. DOI: org/10.1016/S0378-1119(03)00835-7

Casadei R, Pelleri MC, Vitale L, Facchin F, Lenzi L, Canaider S, Strippoli P, Frabetti F. Identification of housekeeping genes suitable for gene expression analysis in the zebrafish. *Gene Expr Patterns* 11:271-276, 2011. DOI: 10.1016/j.gep.2011.01.003

Casadei R, Piovesan A, Vitale L, Facchin F, Pelleri MC, Canaider S, Bianconi E, Frabetti F, Strippoli P. Genome-scale analysis of human mRNA 5' coding sequences based on expressed sequence tag (EST) database. *Genomics* 100:125-130, 2012. DOI: 10.1016/j.ygeno.2012.05.012.

Cochrane GR, Galperin MY. The 2010 Nucleic Acids Research Database Issue and online Database Collection: a community of data resources. *Nucl Acids Res* 38:D1-D4, 2010. DOI:10.1093/nar/gkp1077

D'Addabbo P, Lenzi L, Facchin F, Casadei R, Canaider S, Vitale L, Frabetti F, Carinci P, Zannotti M, Strippoli P. GeneRecords: a relational database for GenBank flat file parsing and data manipulation in personal computers. *Bioinformatics* 20:2883-2885, 2004. DOI:10.1093/bioinformatics/bth321

Davies KJ, Ermak G, Rothermel BA, Pritchard M, Heitman J, Ahnn J, Henrique-Silva F, Crawford D, Canaider S, Strippoli P, Carinci P, Min KT, Fox DS, Cunningham KW, Bassel-Duby R, Olson EN, Zhang Z, R. Sanders Williams R, Gerber HP, Perez-Riba M, Seo H, Cao X, Klee CB, Redondo JM, Maltais LJ, Bruford EA, Povey S, Molkentin JD, McKeon FD, Duh EJ, Crabtree GR, Cyert MS, de la Luna S, Estivill X. Renaming the DSCR1 /Adapt78 Gene Family as RCAN – Regulators of Calcineurin. *FASEB J* 21:3023-3028, 2007. DOI:10.1096/fj.06-7246com

Epstein CJ. Down syndrome, trisomy 21. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. *Metabolic Basis of Inherited Disease*. McGraw-Hill, New York, NY, 1989. Pp. 291-326.

Facchin F, Canaider S, Vitale L, Frabetti F, Griffoni C, Lenzi L, Casadei R, Strippoli P. Identification and analysis of human *RCAN3* (*DSCR1L2*) mRNA and protein isoforms. *Gene* 407:159-168, 2008. DOI: 10.1016/j.gene.2007.10.006

Facchin F, Vitale L, Bianconi E, Piva F, Frabetti F, Strippoli P, Casadei R, Pelleri MC, Piovesan A, Canaider S. Complexity of bidirectional transcription and alternative splicing at human *RCAN3* locus. *PLOS ONE* 6:e24508, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0024508

Frabetti F, Casadei R, Lenzi L, Canaider S, Vitale L, Facchin F, Carinci P, Zannotti M, Strippoli P. Systematic analysis of mRNA 5' coding sequence incompleteness in Danio rerio: an automated EST-based approach. *Biol Direct* 2:34, 2007. DOI:10.1186/1745-6150-2-34

Gardiner K, Costa AC. The proteins of human chromosome 21. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2006 Aug 15;142C(3):196-205. DOI: 10.1002/ajmg.c.30098

Gardiner KJ. Molecular basis of pharmacotherapies for cognition in Down syndrome. *Trends Pharmacol Sci* 31:66-73, 2010. DOI: 10.1016/j.tips.2009.10.010

Giannone S, Strippoli P, Vitale L, Casadei R, Canaider S, Lenzi L, D'Addabbo P, Frabetti F, Facchin A, Farina A, Carinci P, Zannotti M. Gene expression profile analysis in human T lymphocytes from patients with Down syndrome. *Annals of Human Genetics* 68:546-554, 2004. DOI: 10.1046/j.1529-8817.2003.00123.x

Harrow J, Nagy A, Reymond A, Alioto T, Patthy L, Antonarakis SE, Guigó R. Identifying protein-coding genes in genomic sequences. *Genome Biol* 10:201, 2009. DOI: 10.1186/gb-2009-10-1-201

Hickey F, Hickey E, Summar KL. Medical update for children with Down syndrome for the pediatrician and family practitioner. *Adv Pediatr* 59:137-517, 2012. DOI: 10.1016/j.yapd.2012.04.006

Korenberg JR. Down syndrome: the crucible for treating genomic imbalance. *Genet Med* 11:617-619, 2009. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181b765e7

Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *C R Hebd Seances Acad Sci* 248:1721-1722, 1959.

Lenzi L, Frabetti F, Facchin F, Casadei R, Vitale L, Canaider S, Carinci P, Zannotti M, Strippoli P. UniGene Tabulator: a full parser for the UniGene format. *Bioinformatics* 22:2570-2571, 2006. DOI: 10.1093/bioinformatics/btl425

Lenzi L, Facchin F, Piva F, Giulietti M, Pelleri MC, Frabetti F, Vitale L, Casadei R, Canaider S, Bortoluzzi S, Coppe A, Danieli GA, Principato G, Ferrari S, Strippoli P. TRAM (Transcriptome Mapper): database-driven creation and analysis of transcriptome maps from multiple sources. *BMC Genomics* 12:121, 2011. DOI: 10.1186/1471-2164-12-121

Letourneau A, Antonarakis SE. Genomic determinants in the phenotypic variability of Down syndrome. *Prog Brain Res* 197:15-28, 2012. DOI: 10.1016/B978-0-444-54299-1.00002-9

Mégarbané A, Ravel A, Mircher C, Sturtz F, Grattau Y, Rethoré MO, Delabar JM, Mobley WC. 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, 2009. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181b2e34c

Morris JK, Wald NJ, Watt HC. Fetal loss in Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 19:142-145, 1999. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0223(199902)19:2<142::AID-PD486>3.0.CO;2-7

- Parker SE, Mai CT, Canfield MA, Rickard R, Wang Y, Meyer RE, Anderson P, Mason CA, Collins JS, Kirby RS, Correa A, National Birth Defects Prevention Network. Updated National Birth Prevalence estimates for selected birth defects in the United States, 2004–2006. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 88:1008–1016, 2010. DOI: 10.1002/bdra.20735
- Patterson D. Molecular genetic analysis of Down syndrome. *Hum Genet* 126:195–214, 2009. DOI: 10.1007/s00439-009-0696-8
- Pelleri MC, Piovesan A, Caracausi M, Berardi AC, Vitale L, Strippoli P. Integrated differential transcriptome maps of Acute Megakaryoblastic Leukemia (AMKL) in children with or without Down Syndrome (DS). *BMC Medical Genomics* 7:63, 2014. DOI:10.1186/s12920-014-0063-z
- Pelleri MC, Cicchini E, Locatelli C, Vitale L, Caracausi M, Piovesan A, Rocca A, Poletti G, Seri M, Strippoli P, Cocchi G. Systematic reanalysis of partial trisomy 21 cases with or without Down syndrome suggests a small region on 21q22.13 as critical to the phenotype. *Human Molecular Genetics* 25:2525–2538, 2016. DOI: 10.1093/hmg/ddw116
- Pelleri MC, Gennari E, Locatelli C, Piovesan A, Caracausi M, Antonaros F, Rocca A, Donati CM, Conti L, Strippoli P, Seri M, Vitale L, Cocchi G. Genotype-phenotype correlation for congenital heart disease in Down syndrome through analysis of partial trisomy 21 cases. *Genomics*, 109:391–400, 2017
- Pelleri MC, Cattani C, Vitale L, Antonaros F, Strippoli P, Locatelli C, Cocchi G, Piovesan A, Caracausi M. Integrated quantitative transcriptome maps of human trisomy 21 tissues and cells. *Front. Genet*, 9:125, 2018. doi.org/10.3389/fgene.2018.00125
- Piovesan A, Vitale L, Pelleri MC, Strippoli P. 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, 2013. DOI: 10.1016/j.ygeno.2013.02.009
- Piovesan A, Caracausi M, Ricci M, Strippoli P, Vitale L, Pelleri MC. Identification of minimal eukaryotic introns through GeneBase, a user-friendly tool for parsing the NCBI Gene databank. *DNA Research* 22:495–503, 2015. DOI: 10.1093/dnares/dsv028
- Pritchard M, Reeves RH, Dierssen M, Patterson D, Gardiner KJ. 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, 2008. DOI: 10.1159/000124384
- Roizen NJ, Patterson D. Down's syndrome. *Lancet* 361:1281–1289, 2003. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)12987-X
- Roper RJ, Reeves RH. Understanding the basis for Down syndrome phenotypes. *PLOS Genet* 2:e50, 2006. DOI: 10.1371/journal.pgen.0020050
- Sinet PM, Allard D, Lejeune J, Jerome H. Letter: Gene dosage effect in trisomy 21. *Lancet* 1:276, 1975.
- Strippoli P, Lenzi L, Petrini M, Carinci P, Zannotti M. A new gene family including DSCR1 (Down Syndrome Candidate Region 1) and ZAKI-4: characterization from yeast to humans and identification of DSCR1-like 2, a novel human member (DSCR1L2). *Genomics* 64:252–263, 2000. DOI: 10.1006/geno.2000.6127
- Strippoli P, Petrini M, Lenzi L, Carinci P, Zannotti M. The murine DSCR1-like (Down Syndrome Candidate Region 1) gene family: conserved synteny with the human orthologous genes. *Gene* 257:223–232, 2000b. DOI: 10.1016/S0378-1119(00)00407-8
- Strippoli P, D'Addabbo P, Lenzi L, Giannone S, Canaider S, Casadei R, Vitale L, Carinci P, Zannotti M. Segmental paralogy in the human genome: a large-scale triplication on 1p, 6p and 21q. *Mammalian Genome* 13:456–462, 2002. DOI: 10.1007/s00335-001-2157-0
- Trends Guide to Bioinformatics, Elsevier, 1998.
- Vitale L, Casadei R, Canaider S, Lenzi L, Strippoli P, D'Addabbo P, Giannone S, Carinci P, Zannotti M. Cysteine and tyrosine-rich 1 (CYR1), a novel unpredicted gene on human chromosome 21 (21q21.2), encodes a cysteine and

tyrosine-rich protein and defines a new family of highly conserved vertebrate-specific genes. *Gene* 290:141-151, 2002. DOI: 10.1016/S0378-1119(02)00550-4

Vitale L, Lenzi L, Huntsman SA, Canaider S, Frabetti F, Casadei R, Facchin F, Carinci P, Zannotti M, Coppola D, Strippoli P. Differential expression of alternatively spliced mRNA forms of the insulin-like growth factor 1 receptor in human neuroendocrine tumors. *Oncol Rep* 15:1249-1256, 2006.

Vitale L, Frabetti F, Huntsman SA, Canaider S, Casadei R, Lenzi L, Facchin F, Carinci P, Zannotti M, Coppola D, Strippoli P. Sequence, "subtle" alternative splicing and expression of the CYR1 (cysteine/tyrosine-rich 1) mRNA in human neuroendocrine tumors. *BMC Cancer* 7:66, 2007. DOI: 10.1186/1471-2407-7-66

Vitale L, Piovesan A, Antonaros F, Strippoli P, Pelleri MC, Caracausi M. A molecular view of the normal human thyroid structure and function reconstructed from its reference transcriptome map. *BMC Genomics*, 18:739, 2017.

Vitale L, Serpieri V, Lauriola M, Piovesan A, Antonaros F, Cicchini E, Locatelli C, Cocchi G, Strippoli P, Caracausi M. Human trisomy 21 fibroblasts rescue methotrexate toxic effect after treatment with 5-methyl-tetrahydrofolate and 5-formyl-tetrahydrofolate. *J Cell Physiol*. 2019 Jan 22. doi: 10.1002/jcp.28140.