

Progetto di Ricerca

Approcci molecolari per lo studio della trisomia 21

Tutor: Maria Caracausi

Il progetto di ricerca "Approcci molecolari per lo studio della trisomia 21" supportato da una donazione della Signora Franca Trofèi in memoria di Massimo Marchini sui fondi di ricerca "Trisomia 21", sarà proposto ad un giovane laureato per un periodo di 6 mesi.

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; Gardiner et al., 2010; Hickey et al., 2012; Letourneau and Antonarakis, 2012; Megarbane et al., 2009; Roizen and Patterson, 2003). I vari sintomi sono attribuiti all'espressione alterata dei geni localizzati sul cromosoma 21 (Gardiner and Costa, 2006; Korenberg, 2009; Patterson, 2009; Pritchard et al., 2008; Roper and Reeves, 2006; Sinet et al., 1975). 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 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. 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 (Antonaros et al., 2021a; Vione et al., 2022; Vitale et al., 2019), 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.

Il ciclo dei monocarboni sarà studiato anche nel sangue dei bambini con sindrome di Down e nei soggetti normali di controllo nell'ambito del progetto di ricerca clinico-sperimentale già in corso (Comitato Etico AVEC n° 39/2013/U/Tess) in collaborazione con la Dott.ssa Chiara Locatelli, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Ospedale Policlinico Sant'Orsola, ed eventualmente nei campioni biologici di bambini con sindrome di Down inseriti nella sperimentazione clinica interventistica con metilfolato la cui domanda di autorizzazione è in preparazione.

2. Obiettivi

- 2.1 Caratterizzazione funzionale di nuovi geni del cromosoma 21 umano.
- 2.2 Studio del metabolismo dei monocarboni nella sindrome di Down.
- 2.3. Costruzione di una banca dati che raccolga in maniera sistematica e categorizzata tutti i dati clinici e molecolari dei bambini coinvolti nel progetto (n° 39/2013/U/Tess). I dati potranno essere analizzati per cercare correlazioni significative attraverso metodi di statistica classica e approcci di intelligenza artificiale.

3. Durata della ricerca

Si prevede di svolgere lo studio complessivo nell'arco di 6 mesi.

4. Piano di formazione

Nel corso dei 6 mesi di svolgimento del progetto, il borsista collaborerà alle indagini di biologia e genetica molecolare mirate a caratterizzare il ruolo della HR-DSCR nella trisomia 21 e in particolare nel ciclo dei mono-carboni. Inoltre, collaborerà alla raccolta e al trattamento di campioni di sangue previsti dal progetto clinico-sperimentale in corso, ed eventualmente dal trial mirato allo studio dell'effetto dei folati nei bambini con sindrome di Down attualmente in corso di stesura. I dati clinici e molecolari verranno raccolti in una banca dati strutturata che potrà essere utilizzata per analisi di correlazione.

5. Descrizione del lavoro sperimentale

5.1 Colture cellulari

Mantenimento di cellule umane in coltura (fibroblasti umani e cellule staminali pluripotenti indotte (iPSc) con trisomia 21) per la messa a punto della delezione della HR-DSCR mediante CRISPR-Cas9.

5.2 Analisi ELISA

Sugli estratti cellulari delle colture sopra descritte sarà eseguito uno studio ELISA o LC-MS/MS dei principali metaboliti dell'acido folico. In particolare, il dosaggio riguarderà i metaboliti del ciclo dei monocarboni come acido tetraidrofolico (THF), 5-metil-THF, 5-formil-THF, S-adenosil-metionina ed S-adenosil-omocisteina.

5.3 Raccolta e trattamento di campioni biologici

È prevista la raccolta ed il trattamento di campioni di sangue provenienti da bambini con sindrome di Down nell'ambito del progetto clinico-sperimentale in corso, ed eventualmente ai fini del trial mirato allo studio dell'effetto dei folati nei bambini con sindrome di Down attualmente in corso di stesura.

5.4 Analisi ELISA

Il plasma ricavato dai campioni di sangue raccolti sarà utilizzato per eseguire lo studio ELISA dei principali metaboliti dell'acido folico.

5.5. Costruzione di una banca dati per la raccolta dei dati clinici e molecolari

I dati clinici e molecolari dei bambini coinvolti nello studio verranno raccolti in una banca dati che potrà essere utilizzata per effettuare analisi di correlazione attraverso metodi di statistica classica (pacchetto SPSS Statistics, IBM, Version 25 for Mac OS X) e approcci di intelligenza artificiale (soluzioni di *Machine learning e metodi ibridi di Informed Machine Learning*).

6. Curriculum vitae del responsabile scientifico - Prof.ssa Maria Caracausi

Il Responsabile scientifico del progetto è Maria Caracausi, Professore Associato 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 (Ottobre 2023 - ad oggi) 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. Il

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>

6.1 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	Biotechnologie Mediche	Professore associato
Lorenza Vitale	Medicina e Chirurgia	Professore associato
Maria Caracausi	Biotechnologie Mol. e Ind.	Professore associato
Allison Piovesan	Biotechnologie Mol. e Ind.	Professore associato
Francesca Antonaros	Biotechnologie Mediche	RTD-a
Beatrice Vione	Biotechnologie Mediche	Assegnista di ricerca
Giuseppe Ramacieri	Medicina e Chirurgia	Specializzando
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., 2015; Piovesan et al., 2013), con la possibilità di generare mappe di trascrizione tessuto-specifiche (Antonaros et al., 2021b; Caracausi et al., 2017; Caracausi et al., 2016; Caracausi et al., 2014; Pelleri et al., 2014; Vitale et al., 2017). 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 (Antonaros et al., 2020; Antonaros et al., 2021a; Antonaros et al., 2024; Caracausi et al., 2018; Caracausi et al., 2017; Caracausi et al., 2024; Pelleri et al., 2018; Pelleri et al., 2016; Ramacieri et al., 2024; Vione et al., 2022; Vitale et al., 2019).

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).

6.2 Collaborazioni al Progetto

Dott.ssa Chiara Locatelli
Unità Operativa di Neonatologia, Policlinico S.Orsola-Malpighi, 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

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 MC, Vitale L, Strippoli

- P, Luchinat C, Turano P, Piovesan A, Caracausi M. 2020. Plasma metabolome and cognitive skills in Down syndrome. *Sci Rep* 10(1):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 MC, Strippoli P, Cocchi G, Pulina F, Piovesan A, Caracausi M. 2021a. One-carbon pathway and cognitive skills in children with Down syndrome. *Sci Rep* 11(1):4225.
- Antonaros F, Obermayer-Pietsch B, Ramacieri G, Vione B, Locatelli C, Goessler W, Caracausi M, 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 MC, Ramacieri G, Cocchi G, Strippoli P, Caracausi M, Piovesan A. 2021b. The transcriptome profile of human trisomy 21 blood cells. *Human genomics* 15(1):25.
- 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. 2018. Plasma and urinary metabolomic profiles of Down syndrome correlate with alteration of mitochondrial metabolism. *Sci Rep* 8(1):2977.
- Caracausi M, Piovesan A, Vitale L, Pelleri MC. 2017. Integrated Transcriptome Map Highlights Structural and Functional Aspects of the Normal Human Heart. *J Cell Physiol* 232(4):759-770.
- Caracausi M, Ramacieri G, Catapano F, Cicilloni M, Lajin B, Pelleri MC, Piovesan A, Vitale L, Locatelli C, Pirazzoli GL, Strippoli P, Antonaros F, 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, Pelleri MC. 2016. A quantitative transcriptome reference map of the normal human hippocampus. *Hippocampus* 26(1):13-26.
- Caracausi M, Vitale L, Pelleri MC, Piovesan A, Bruno S, Strippoli P. 2014. A quantitative transcriptome reference map of the normal human brain. *Neurogenetics* 15(4):267-287.
- Epstein CJ. 1989. Down syndrome, trisomy 21. *Metabolic Basis of Inherited Disease* New York, NY: McGraw-Hill. p 291-326.
- Gardiner K, Costa AC. 2006. The proteins of human chromosome 21. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 142c(3):196-205.
- Gardiner K, Herault Y, Lott IT, Antonarakis SE, Reeves RH, Dierssen M. 2010. Down syndrome: from understanding the neurobiology to therapy. *J Neurosci* 30(45):14943-14945.
- Hickey F, Hickey E, Summar KL. 2012. Medical update for children with Down syndrome for the pediatrician and family practitioner. *Adv Pediatr* 59(1):137-157.
- Korenberg JR. 2009. Down syndrome: the crucible for treating genomic imbalance. *Genet Med* 11(9):617-619.
- Lejeune J, Turpin R, Gautier M. 1959. [Mongolism; a chromosomal disease (trisomy)]. *Bull Acad Natl Med* 143(11-12):256-265.
- Lenzi L, Facchin F, Piva F, Giuliotti M, Pelleri MC, Frabetti F, Vitale L, Casadei R, Canaider S, Bortoluzzi S, Coppe A, Danieli GA, Principato G, Ferrari S, Strippoli P. 2011. TRAM (Transcriptome Mapper): database-driven creation and analysis of transcriptome maps from multiple sources. *BMC Genomics* 12:121.
- Letourneau A, Antonarakis SE. 2012. Genomic determinants in the phenotypic variability of Down syndrome. *Prog Brain Res* 197:15-28.
- Megarbane A, Ravel A, Mircher C, Sturtz F, Grattau Y, Rethore MO, Delabar JM, Mobley WC. 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(9):611-616.

- Morris JK, Wald NJ, Watt HC. 1999. Fetal loss in Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 19(2):142-145.
- Parker SE, Mai CT, Canfield MA, Rickard R, Wang Y, Meyer RE, Anderson P, Mason CA, Collins JS, Kirby RS, Correa A. 2010. Updated National Birth Prevalence estimates for selected birth defects in the United States, 2004-2006. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 88(12):1008-1016.
- Patterson D. 2009. Molecular genetic analysis of Down syndrome. *Hum Genet* 126(1):195-214.
- Pelleri MC, Cattani C, Vitale L, Antonaros F, Strippoli P, Locatelli C, Cocchi G, Piovesan A, Caracausi M. 2018. Integrated Quantitative Transcriptome Maps of Human Trisomy 21 Tissues and Cells. *Front Genet* 9:125.
- Pelleri MC, Cicchini E, Locatelli C, Vitale L, Caracausi M, Piovesan A, Rocca A, Poletti G, Seri M, Strippoli P, 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 MC, Cicchini E, Petersen MB, Tranebjaerg L, Mattina T, Magini P, Antonaros F, Caracausi M, Vitale L, Locatelli C, Seri M, Strippoli P, Piovesan A, 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 MC, Piovesan A, Caracausi M, Berardi AC, Vitale L, 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, Pelleri MC. 2015. Identification of minimal eukaryotic introns through GeneBase, a user-friendly tool for parsing the NCBI Gene databank. *DNA Res* 22(6):495-503.
- Piovesan A, Vitale L, Pelleri MC, 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(5):282-289.
- Pritchard M, Reeves RH, Dierssen M, Patterson D, Gardiner KJ. 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. *Cytogenetic and genome research* 121(1):67-77.
- Ramacieri G, Locatelli C, Semprini M, Pelleri MC, Caracausi M, Piovesan A, Cicilloni M, Vigna M, Vitale L, Sperti G, Corvaglia LT, Pirazzoli GL, Strippoli P, Catapano F, Vione B, Antonaros F. 2024. Zinc metabolism and its role in immunity status in subjects with trisomy 21: chromosomal dosage effect. *Front Immunol* 15:1362501.
- Roizen NJ, Patterson D. 2003. Down's syndrome. *Lancet* 361(9365):1281-1289.
- Roper RJ, Reeves RH. 2006. Understanding the basis for Down syndrome phenotypes. *PLoS genetics* 2(3):e50.
- Sinet PM, Allard D, Lejeune J, Jerome H. 1975. Letter: Gene dosage effect in trisomy 21. *Lancet* 1(7901):276.
- Vione B, Ramacieri G, Zavaroni G, Piano A, La Rocca G, Caracausi M, Vitale L, Piovesan A, Gori C, Pirazzoli GL, Strippoli P, Cocchi G, Corvaglia L, Locatelli C, Pelleri MC, 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 MC, Caracausi M. 2017. A molecular view of the normal human thyroid structure and function reconstructed from its reference transcriptome map. *BMC Genomics* 18(1):739.
- Vitale L, Serpieri V, Lauriola M, Piovesan A, Antonaros F, Cicchini E, Locatelli C, Cocchi G, Strippoli P, 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

Approcci molecolari per lo studio della trisomia 21

Nel corso del periodo di svolgimento del progetto, l'assegnatario della borsa di studio dovrà applicare metodi di biologia molecolare e cellulare, di genomica, di biologia computazionale per svolgere l'attività di ricerca descritta al punto 5 del "Progetto di Ricerca".

Il borsista dovrà collaborare alle indagini sperimentali sui campioni biologici e alla elaborazione dei dati.

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

- trattamento di campioni biologici (sangue, urine, colture cellulari umane, colture batteriche);
- estrazione ed analisi qualitativa e quantitativa di acidi nucleici;
- trascrizione inversa e reazione a catena della polimerasi (RT-PCR);
- progettazione avanzata dei primer di PCR;
- progettazione ed esecuzione di esperimenti di PCR;
- 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).