

3.3.3. ANÀLISI DE MUTACIONS PER SSCP I POSTERIOR SEQÜENCIACIÓ

3.3.3.1 Anàlisi de l'exó 2

Dels 60 individus afectes dels que es va obtenir mostra per a l'estudi molecular (taula 2, pàg 30) van ser analitzats un total de 43, a partir de mostres de SP (taula 12 pàg 66), corresponents a:

- 24 individus sense antecedents familiars de la malaltia, dels quals 13 presentaven Rb BL, i 11 Rb UL
- 17 pacients procedents de famílies amb al menys dos membres afectes, dels quals 14 presentaven afectació BL, i 3 afectació UL
- 2 individus normals (74P i 77P), pares de nens amb Rb

També es van analitzar 9 mostres procedents de biòpsies tumorals.

En dos casos es va detectar un patró electroforètic alterat en gels de SSCP (fig 29). Les dues mostres van ser obtingudes de SP i biòpsia tumoral d'una mateixa pacient (82Rb, 82T), afecta de Rb BL, sense antecedents familiars de la malaltia. Mitjançant seqüenciació es va detectar la inserció d'una A en posició 148, que donava lloc a un *stop* prematur al codó 109, a l'exó 3. La mutació es troba en heterozigosi a la mostra de SP, i en homozigosi a la tumoral. Es va seqüenciar també la mostra 33Rb, amb patró electroforètic normal (fig 30 a 35).

Fig 29: gel de SSCP de l'exó 2. Dues mostres, que s'indiquen amb una fletxa, presenten patró de migració alterat

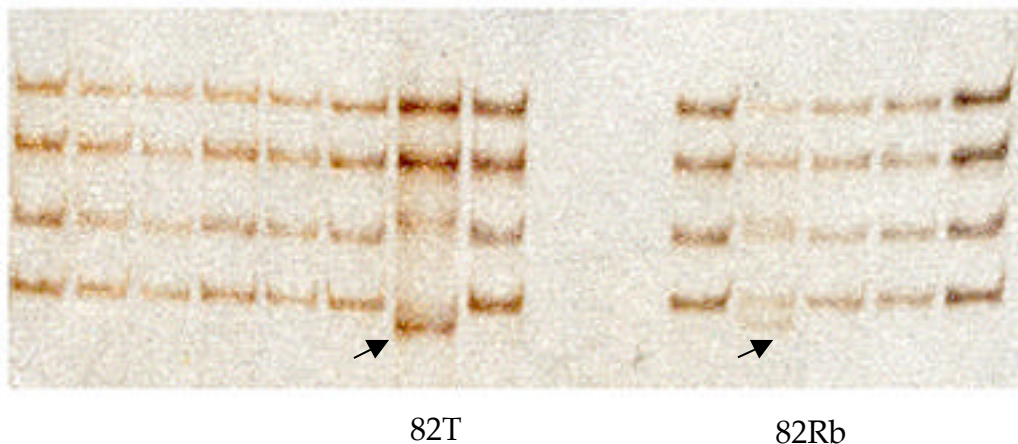
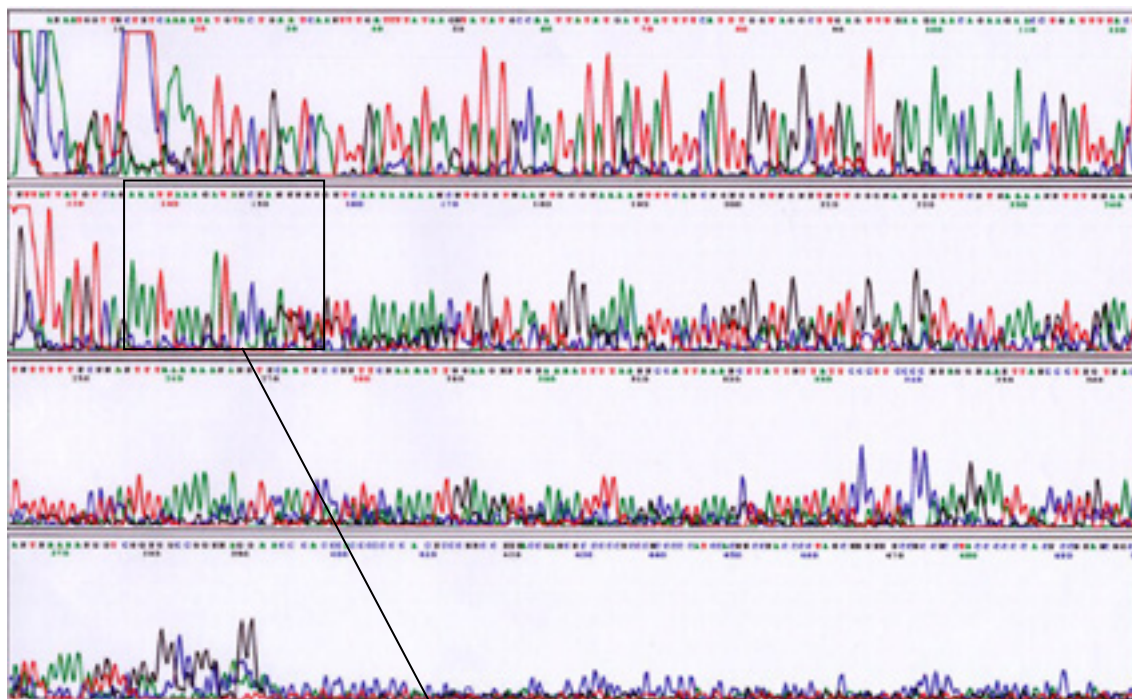


Fig 30: cromatograma obtingut de la seqüenciació *forward* de l'exó 2 de la mostra de SP 82Rb. En detall s'observa la inserció en heterozigosi



AAATTAAGATAA/C.....

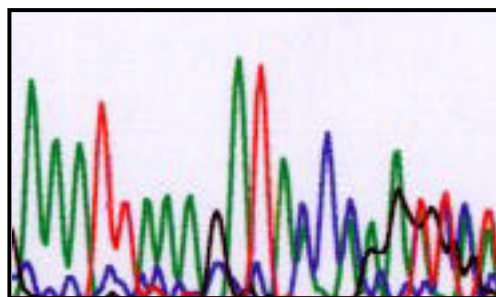
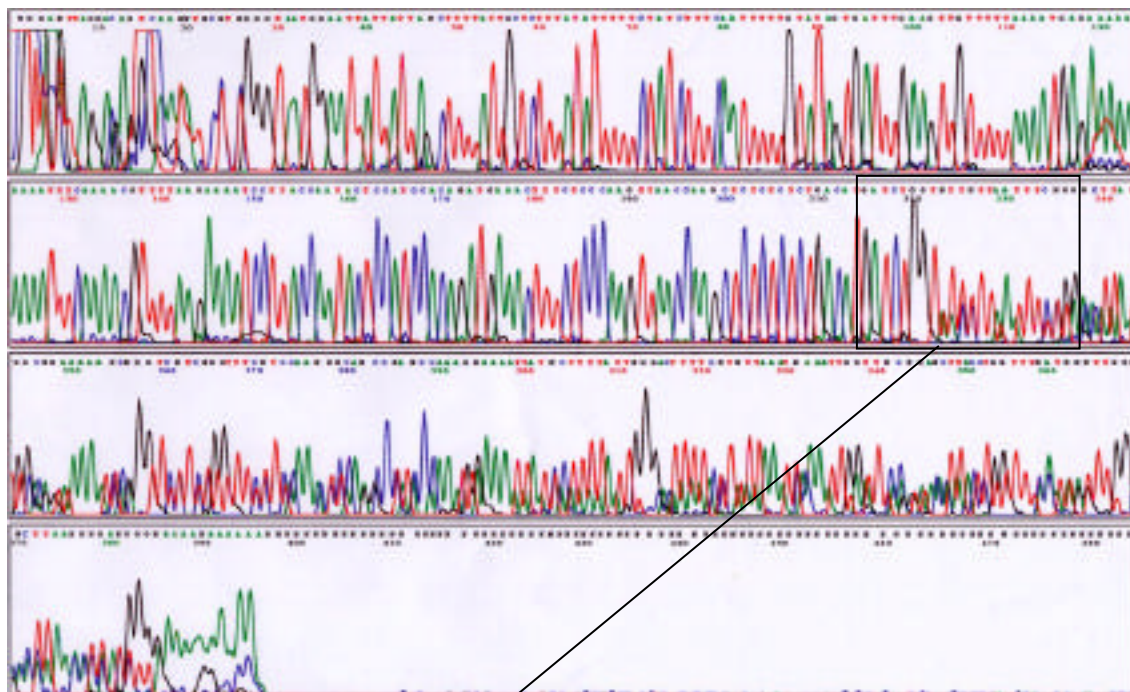


Fig 31: cromatograma obtingut de la seqüenciació *reverse* de l'exó 2 de la mostra de SP 82Rb. En detall s'observa la inserció en heterozigosi



GATCAGGAA/T.....

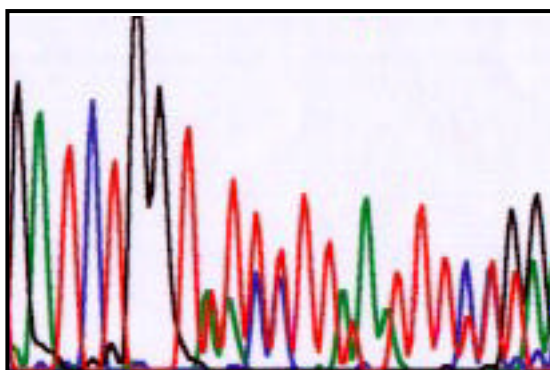
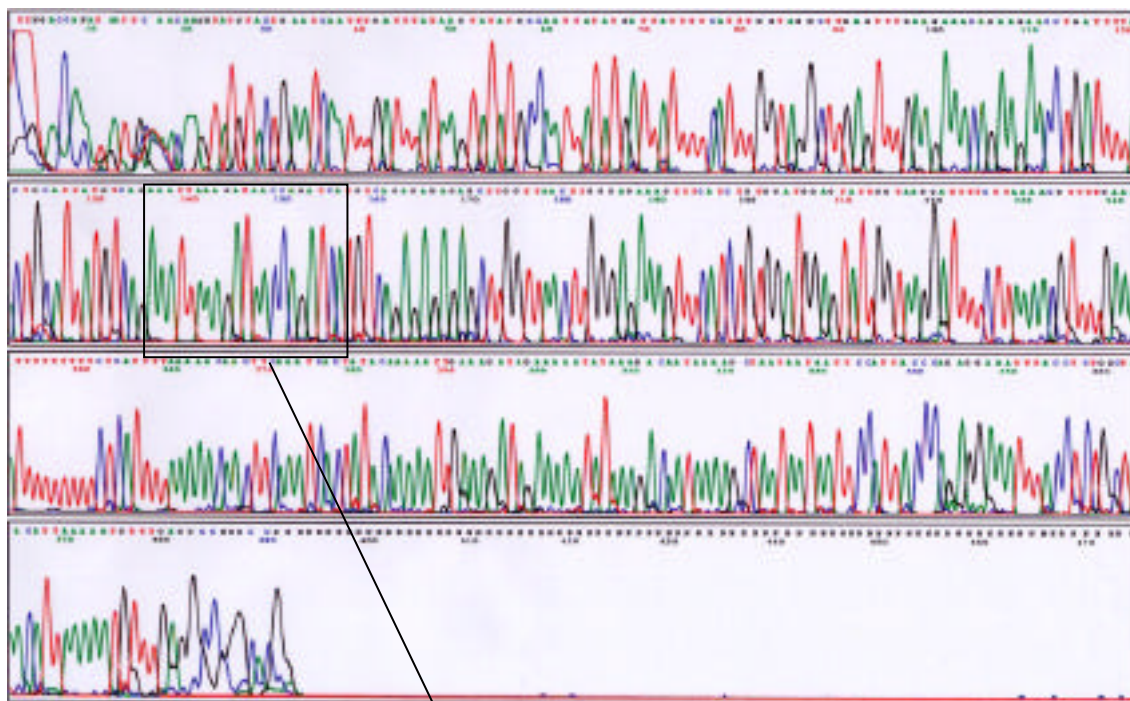


Fig 32: cromatograma obtingut de la seqüenciació *forward* de l'exó 2 de la mostra de tumor 82Rb. En detall s'observa la inserció en homozigosi



AAATTAAAGATAACCAGTCA

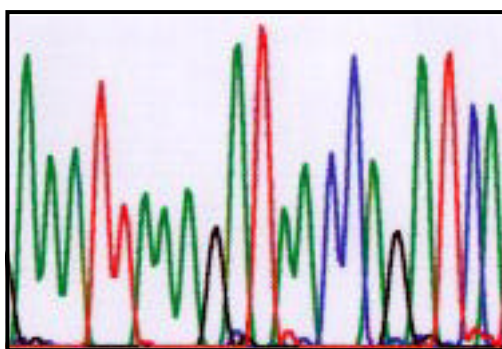
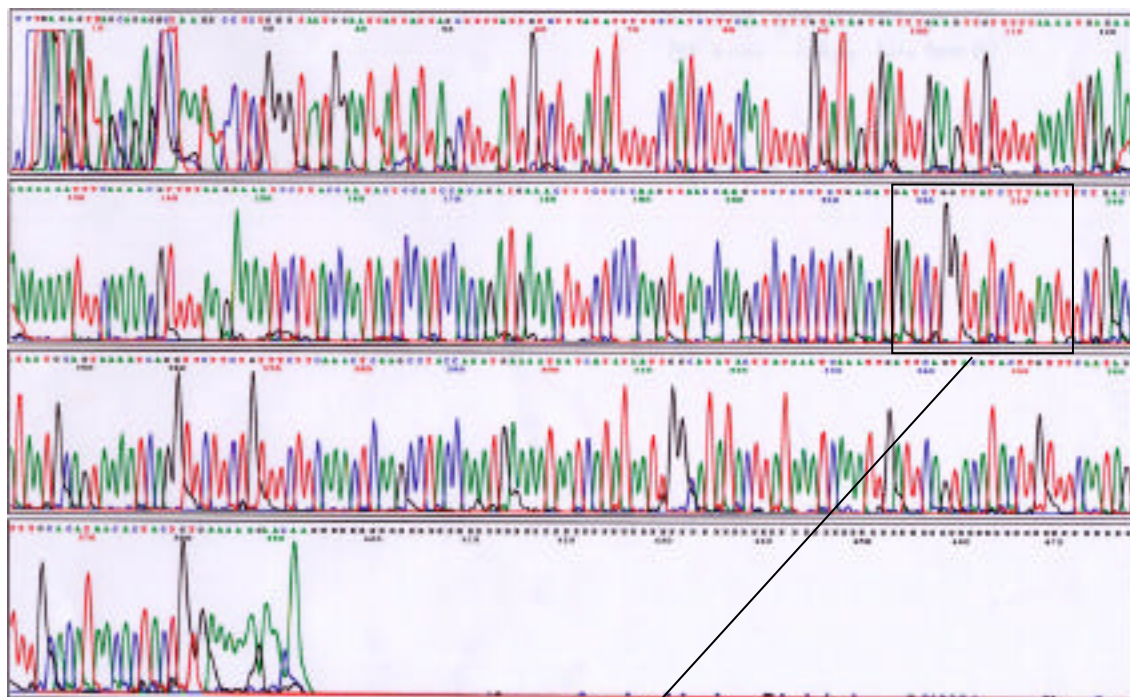


Fig 33: cromatograma obtingut de la seqüenciació *reverse* de l'exó 2 de la mostra de tumor 82Rb. En detall s'observa la inserció en homozigosi



GATCTGGTTATCTTTAAT

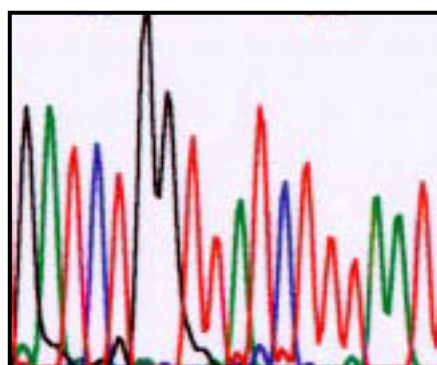
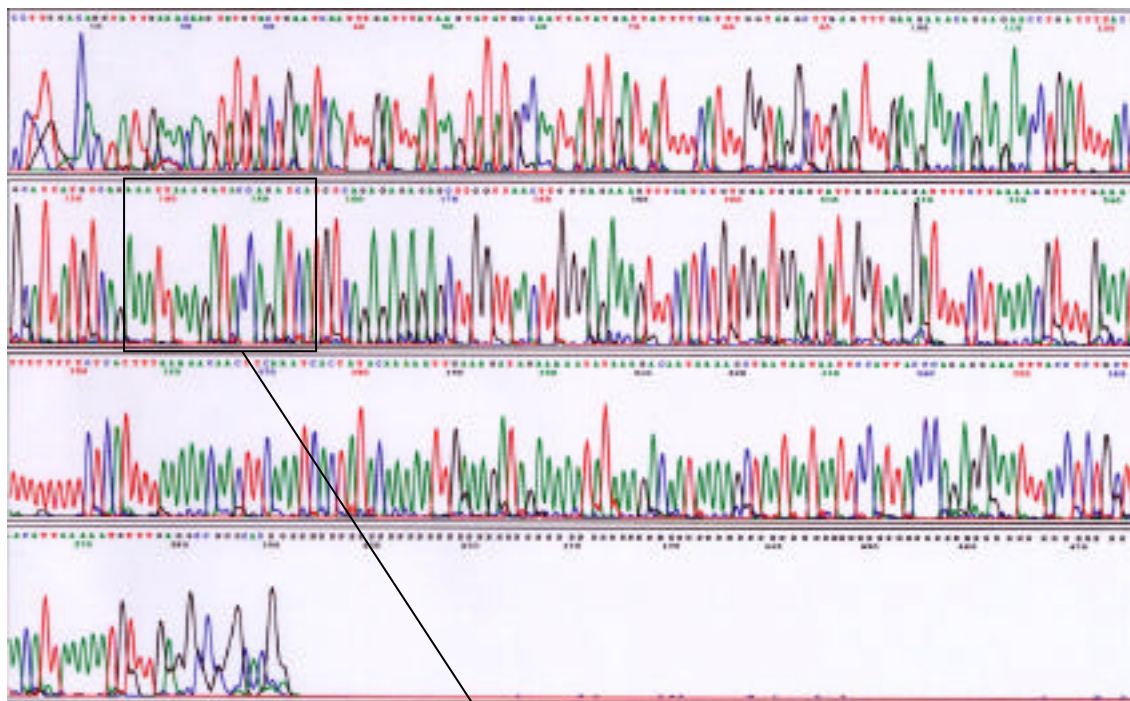


Fig 34: cromatograma obtingut de la seqüenciació *forward* de l'exó 2 de la mostra de SP 33Rb. En detall s'observa la seqüència normal



AAATTAAAGATACCAGATCA

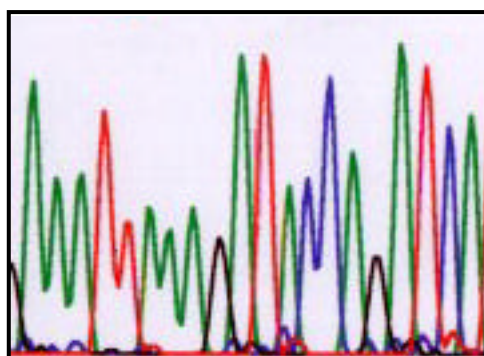
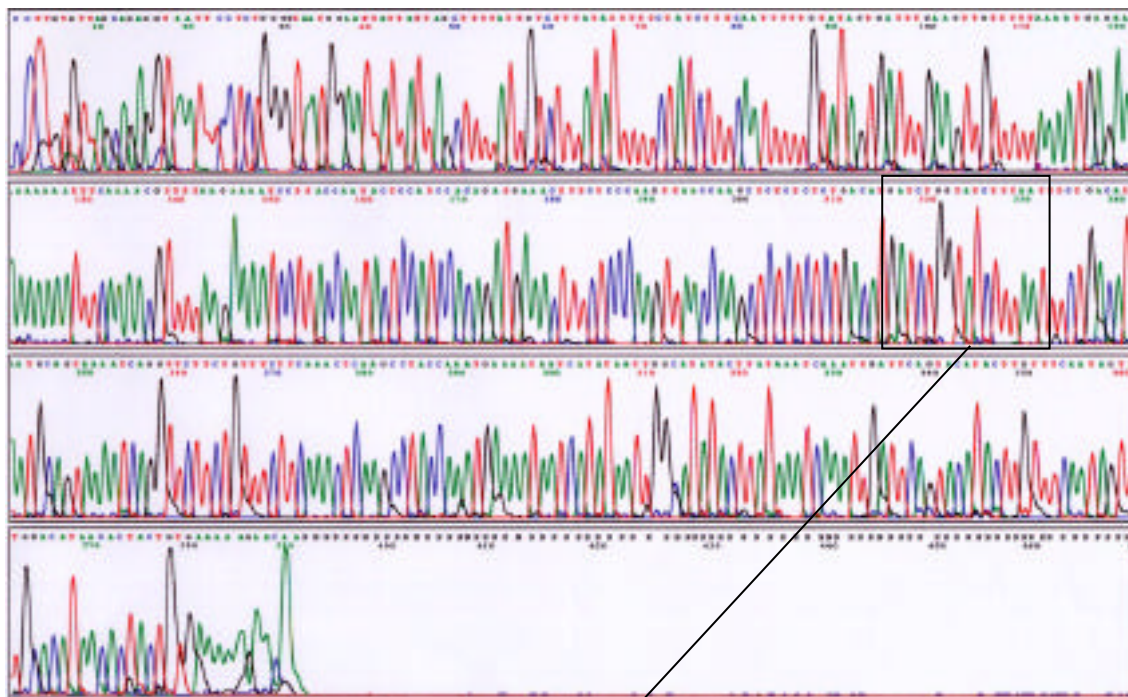


Fig 35: cromatograma obtingut de la seqüenciació *reverse* de l'exó 2 de la mostra de SP 33Rb. En detall s'observa la seqüència normal



GATCTGGTATCTTTAAT

