

## IDENTIFICAZIONE DEL POLIMORFISMO G-174C DELLA INTERLEUCHINA-6 E C-511T DELL'INTERLEUCHINA 1β AMPLI-set-IL6 e IL1β RT Cat. n. 1.800-3RT

Il gene dell' **interleuchina-6 (IL-6)** è situato sul cromosoma 7 e codifica per l'omonima proteina. L'IL-6 è una citochina pleiotropica, in grado di svolgere molte funzioni; generalmente ha azione pro-infiammatoria, quindi induce le risposte infiammatorie sia acute che croniche. E' ormai noto che l'infiammazione ha un ruolo principale nella patogenesi dell'aterosclerosi poiché le placche aterosclerotiche e le lesioni associate presentano un infiltrato di cellule immunitarie attivate e un' aumentata sintesi di molecole infiammatorie. Il gene dell'IL-6 contiene vari polimorfismi fra cui uno presente nel promotore in posizione **-174** che consiste nella sostituzione di una **G** (guanina) con una **C** (citosina). Da studi condotti su un gruppo di pazienti con infarto al miocardio e su un gruppo di soggetti sani senza patologie cardiovascolari è emerso che questi polimorfismi rappresentano un fattore di rischio per l'infarto. Ovvero i portatori dell'allele mutato C hanno una probabilità maggiore di essere colpiti da tale patologia rispetto ai non portatori. Il gene dell' **interleuchina-1 (IL-1)** è situato sul cromosoma 2 ed è una citochina pluripotente, cioè capace di svolgere e regolare molte funzioni immunitarie ed è soprattutto coinvolta nell'attivazione delle risposte infiammatorie esercitando anche azioni diffuse nell'organismo. Questa interleuchina è importante nella patogenesi dell'infarto del miocardio in quanto stimola macrofagi e cellule endoteliali a rilasciare il fattore tissutale (TF), potente induttore dei trombi. Il polimorfismo presente sul promotore dell'IL-1β in posizione **-511** consiste nella sostituzione di una **C** (citosina) con una **T** (timina). La presenza dell'allele T in concomitanza con determinati alleli di altri polimorfismi su altri geni aumenta il rischio di sviluppare la malattia. Nei soggetti con polimorfismo IL-1 beta protettivo la coagulazione del sangue viene indotta in misura molto minore, riducendo la probabilità di essere esposti al rischio di infarto o di ictus. Molti studi hanno mostrato come questi polimorfismi risultino un importante fattore di rischio nella progressione della patologia, di Parodontite specialmente in associazione con il fumo e la scarsa igiene orale. Hanno inoltre dimostrato un effetto sinergico fra la presenza degli alleli mutati nei geni IL-1B e IL-6 e il fumo che può comportare un significativo rischio di complicazioni post-impianto.

Il kit permette l'identificazione dei singoli polimorfismi, mediante la tecnica della Real-time PCR. La ricerca di tali polimorfismi viene eseguita previa amplificazione con primers specifici ed ibridazione con un probe che riconosce una sequenza interna.

Nel kit utilizzato per la rivelazione del polimorfismo **IL-6 G-174C**, il probe che riconosce la sequenza wt (allele G) è coniugata al reporter JOE, mentre quello che riconosce la sequenza polimorfica (allele C mutato) è coniugato al reporter FAM. Per il polimorfismo **IL-1β G -511A**, il probe che riconosce la sequenza wt (allele G) è coniugata al reporter FAM, mentre quello che riconosce la sequenza polimorfica (allele A mutato) è coniugato al reporter JOE.

**Principio del metodo:** A) estrazione del DNA genomico B) amplificazione C) rivelazione mediante l'utilizzo dell'apparecchio Real-Time PCR.

**Applicabilità:** Su DNA genomico estratto e purificato da sangue intero,

**Numero di reazioni:** 25x2.

### CONTENUTO DEL KIT E SUA CONSERVAZIONE

<u>AMPLIFICAZIONE</u>	
PCR mix 2X	-20°C
Primers -Probe mix 20X IL 1β	-20°C
Primers- Probe mix 20X IL 6	-20°C
H <sub>2</sub> O sterile	-20°C
Controllo WT	-20°C
Controllo Eterozigote	-20°C

**Stabilità:** superiore a 12 mesi se correttamente conservato

### Bibliografia:

*J Clin Invest* 1998, 1369-1376  
*J Med Genet* 2002, 400- 402  
*J Clin Periodontol* 2003,438-442  
*J Clin Periodontol* 2007,377-383  
*Clin Oral Implants Res* 2003,10-17  
*Clin Oral Implants Res* 2004,393-400

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'analisi dei risultati sarà effettuata dal programma specifico (ALLELIC DISCRIMINATION) dello strumento Real-time PCR precedentemente impostato. In ogni caso, comunque, risulta utile analizzare anche i grafici dell'AMPLIFICATION PLOT, per accertarsi che la reazione sia avvenuta in modo corretto.

#### Allelic discrimination IL-6 G-174C e IL-1β G-511A



Legenda:  
**Rosso:** Allele WT  
**Verde:** Alleli  
**Blu:** Allele MUT

