

MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX, CLASS I, G (HLA-G)

Variante 5'URR -725 (C/ G o T)

AMPLI Set HLA G -725

Cat. n.1.506

HLA-G (complesso maggiore di istocompatibilità di classe I, G) è un gene codificante proteine.

Il gene HLA-G si trova sul cromosoma 6 (6p21.3) e le regioni più polimorfiche del gene sono nella regione di regolazione 5' (5'UTR) e la regione 3' non tradotta (3'UTR) che possono contribuire alla regolazione dell'espressione di HLA-G

Le malattie associate con HLA-G includono cancro vaginale, grave pre-eclampsia e infertilità di coppia. Poiché il genotipo dell'embrione dipende sia dal padre che dalla madre, per stimare le potenzialità dell'embrione a produrre la proteina sHLA-G l'analisi delle varianti sul gene *HLA-G* viene eseguita su entrambi i partners.

Le molecole HLA-G, sia di membrana (HLA-G1, G2, G3 e G4) che solubili (sHLA-G1 da taglio proteolitico, sHLA-G5 da splicing alternativo, sHLA-G6 e G7), hanno evidenziato funzioni tolerogeniche nei confronti della risposta cellulare innata ed adattativa. A livello dell'interfaccia materno-fetale, infatti, la molecola HLA-G è tra i fattori responsabili dell'instaurarsi della tolleranza immunologica, promuovendo l'impianto dell'embrione.

La maggioranza degli embrioni trasferiti non s'impianta (> 70%) e solo una minoranza (circa 14%) darà luogo ad una gravidanza a termine. Oggi la selezione dell'embrione da trasferire si basa per la maggior parte su criteri morfologici e di divisione cellulare. Recenti articoli scientifici hanno riportato l'importanza di alcune molecole nella regolazione dello sviluppo dell'embrione prima dell'impianto e sull'impianto stesso. Un possibile marker sembra essere la proteina sHLA-G (HLA-G solubile). sHLA-G è stata trovata nel supernatante di colture di embrioni umani ottenuti tramite IVF; un recente studio dimostra che la presenza di questa proteina secreta dall'embrione è un prerequisito obbligatorio, benché non da solo sufficiente, per l'istaurarsi e il procedere della gravidanza. Infatti, una gravidanza clinica è stata ottenuta solo se sHLA-G era presente nel supernatante dell'embrione in coltura al giorno del transfer. Inoltre, una scarsa espressione di sHLA-G da parte della madre, è stata associata con pre-eclampsia, aborti spontanei ricorrenti e fallimenti delle terapie IVF. HLA-G sembra svolgere un ruolo protettivo anche nel trapianto d'organo (impedendo il rigetto di un trapianto allogenico) e nelle malattie autoimmuni (inibendo la risposta immune contro antigeni self). Recentemente, è stata documentata l'espressione della molecola HLA-G in alcuni tumori, dove si è ipotizzato possa avere un ruolo importante nel fenomeno di "immune-editing" ed "immune-escape". La mutazione nel 5'Upstream Regulatory Region (URR) alla posizione -725 (C→G/T) è stato correlato alla stabilità dell'mRNA e alla quantità della proteina HLA-G; la presenza della mutazione rende l'mRNA più instabile, con conseguente ridotta produzione di HLA-G e bassi livelli di sHLA-G.

Il kit permette l'identificazione della mutazione (C→G/T) in 5'Upstream Regulatory Region (URR) del gene HLA-G mediante digestione enzimatica dell'amplificato di 196 bp e rivelazione su gel d'agarosio al 3% o elettroforesi capillare. Dopo digestione se vi è presenza di due alleli mutati (G o T) si hanno due frammenti (143 e 53 bp). L'eterozigote, composto da un allele Wt (C) e uno mutato (G o T), darà quattro frammenti (143, 112, 53 e 31 bp); il wt produce tre frammenti di 112, 53 e 31 bp.

Principio del metodo: A) estrazione del DNA genomico B) amplificazione C) rivelazione sul gel di agarosio/elettroforesi capillare.

Applicabilità: Su DNA genomico da sangue periferico o tampone boccale.

Numero di Test: 25

CONTENUTO DEL KIT E SUA CONSERVAZIONE

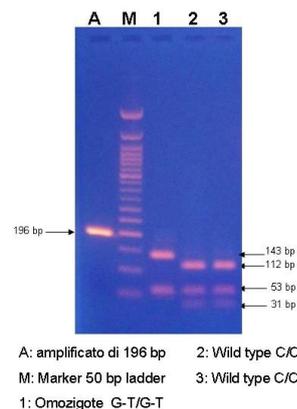
AMPLIFICAZIONE	
PCR mix HLA G -725	-20°C
H ₂ O sterile	
Taq Polymerase (5U/μl)	-20°C
Enzima BstNI	-20°C
Buffer 10X BstNI	-20°C
Controllo Wild Type C/C	-20°C

Stabilità: superiore a 12 mesi se correttamente conservato.

Bibliografia:

Picard C et al. *Hum Immunol.* 2013; 74: 468-72
Ober C et al. *Am. J. Hum. Genet.* 2003; 72: 1425-1435
Roussev RG et al. *J Assist Reprod Genet.* 2007; 24: 288-95

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



Eterozigote C/G-T	Omozigote mutato G-T/G-T	WT C/C
143 bp	143 bp	
112 bp		112 bp
53 bp	53 bp	53 bp
31 bp		31 bp