

CARACTERIZACIÓN EXHAUSTIVA DE LA PRIMERA GRAN INSERCIÓN DESCRITA EN EL GEN DEL FACTOR XI DE LA COAGULACIÓN

L. Ramírez, I. Corrales, L. Martorell, F. Vidal

Unitat de Diagnòstic i Teràpia Molecular. Banc de Sang i Teixits. Barcelona

Introducción: El déficit de FXI (DFXI) es una coagulopatía congénita poco frecuente cuya caracterización molecular mediante secuenciación nucleotídica puede verse comprometida debido a la presencia de inserciones, deleciones u otros reordenamientos no detectables con esta tecnología. Esto se pone de manifiesto en la base de datos de mutaciones para DFXI (www.factorxi.org), donde tan solo se recogen 2 grandes deleciones.

Objetivos: Con el objetivo de poder detectar estos reordenamientos, hemos desarrollado una técnica basada en 4 PCRs largas solapantes, con tamaños comprendidos entre 4.945 y 8.408 pb, para la amplificación completa del gen del FXI (F11). La electroforesis en gel de agarosa de los fragmentos amplificados permite visualizar anomalías en los patrones y/o tamaños de las bandas, asociadas a la presencia de este tipo de mutaciones. Cuando se detecta un patrón alterado, y mediante estudios de Gene Walking, es posible acotar la posición del reordenamiento para una caracterización molecular exhaustiva de la mutación.

Métodos: Mediante esta metodología hemos podido detectar y caracterizar la primera gran inserción (1.653 pb) descrita en el F11 en un paciente con DFXI grave. La caracterización exhaustiva de la mutación indica que a 616 pb del inicio del intrón 4 se ha insertado un fragmento de 1.653 pb. Además, el análisis de la secuencia insertada muestra que se trata de una región del F11 que abarca parte del intrón 7, exón e intrón 8 y 54 pb del exón 9. Muchos de estos reordenamientos suelen estar mediados por la presencia de elementos repetitivos, tales como secuencias Alu, LINE, SINE o LTR. El análisis in silico de la región mediante el software RepeatMasker indica que la inserción se podría explicar por la presencia invertida y complementaria de dos secuencias Alu en las proximidades de los puntos de corte. Ambas secuencias, Alu J en el intrón 4 y Alu Sx en el intrón 7, presentan una homología del 77,5% y podrían haber facilitado la recombinación homóloga en cis o trans entre ambas regiones del F11. Finalmente, señalar que en el cromosoma homólogo de este paciente ya habíamos identificado la mutación c.1336delA en el exón 12, que da lugar a un codón de parada después de 3 aminoácidos aberrantes a partir del codón 428. Es la presencia de ambas mutaciones la que explicaría la gravedad del fenotipo.

Conclusiones: Cabe destacar que el estudio exhaustivo de las secuencias implicadas en los reordenamientos genómicos, aporta una valiosa información para profundizar en el conocimiento de los mecanismos moleculares implicados. Del mismo modo, permite diseñar pruebas moleculares a medida útiles para ofrecer un consejo genético y diagnóstico molecular rápido y fiable.