



Università degli Studi di Napoli Federico II

■ GIORNATE
SCIENTIFICHE
DEL POLO DELLE SCIENZE
E DELLE TECNOLOGIE
PER LA VITA - FACOLTÀ
DI MEDICINA E
CHIRURGIA
FARMACIA
MEDICINA
VETERINARIA
E AGRARIA
5/6 GIUGNO 2003

Aula Magna Facoltà di Farmacia
Via D. Montesano, 49

ANALISI DELLA REGIONE AL 5' DEL GENE DELLA CASEINA α SI DI
CAPRA

R. Illario¹, G. Cosenza¹, R. Riccio¹, F.P. Di Rosa², D. Gallo¹, A. Pauciullo¹,
L. Ramunno¹

¹Dipartimento di Scienze Zootecniche ed Ispezione degli Alimenti, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Portici, Napoli; ²Istituto di Chirurgia Generale e d'Urgenza, Seconda Università degli Studi di Napoli

Introduzione: Il locus della caseina α 1 (CSNIS1) di capra si caratterizza per almeno 15 alleli associati a diversi livelli di sintesi (da 3,5 a 0,0 g/l per allele). Attualmente sono noti gran parte degli eventi molecolari che li caratterizzano. In particolare la delezione di una C al 23° nt del 9° esone caratterizzerebbe l'allele CSNIS1N associato ad un contenuto apparentemente nullo di caseina α 1 (EMBL n° AJ504711) mentre l'associazione di tale mutazione con due inserzioni di 11 e 3 bp nel 9° introne è responsabile dell'allele F associato ad un contenuto ridotto (~0,45 g/l) (EMBL n° X56462). L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di evidenziare mutazioni nella regione al 5' degli alleli N e F eventualmente implicate nella regolazione del gene.

Materiali e metodi. Il DNA genomico è stato estratto dai leucociti ottenuti da campioni di sangue di tre capre con genotipo CSNIS1FF, NN e AA, quest'ultimo scelto quale riferimento positivo. Mediante PCR è stata amplificata e in seguito sequenziata la regione al 5' del gene, utilizzando primer disegnati sulla sequenza caprina (EMBL n° AJ504710) e bovina (EMBL n° X59856).

Risultati e discussione. La regione al 5' del gene CSNIS1 di capra (1976 nt a monte del 1° esone) contiene almeno una TATA Box correttamente posizionata, un sito Cap, un fattore di crescita GATA, una Milk Box (CTCCTCAGAATTTCTT, da -157 a -142), un sito per il recettore del progesterone (PR, da -132 a -126) e per un fattore specifico della ghiandola mammaria (MPBF, GAATTCCTAGAATT, da -101 a -88) che, a sua volta, contiene una sequenza consenso GAS (TTCNNNGAA, sito di attivazione dell'interferone γ). Tra i nt -64/-43 si localizza un'ampia sequenza (GAAACACARAATTAGCATNTT), in generale ben conservata nei geni delle caseine calcio sensibili, che rappresenta il sito di elementi regolatori in cis: Simian virus 40 (SV40)-type enhancer, Nuclear Factor Octamer-1 (NF Oct-1) e YY1 common factor, quest'ultimo elemento necessario per una corretta trascrizione. Sono altresì individuabili diversi altri siti di legame dei fattori YY1 e NF Oct-1, così come almeno due di pregnancy-specific mammary nuclear factor (PMF) (da +8 a +16 e da -1146 a -1135) e due dell'Activator Protein (AP-1) (da -855 a -849 e da -181 a -175). Il confronto della sequenze degli alleli CSNIS1A, F e N ha messo in evidenza un totale di 25 siti variabili (singole sostituzioni/delezioni nt) delle quali 21 sembrerebbero specifiche dell'allele F e una sola dell'allele N.

Conclusioni. I nostri risultati indicano che nessuna delle mutazioni che caratterizzano l'allele F sembrerebbero alterare i siti di regolazione genica, mentre ulteriori indagini si rendono necessarie per valutare il ruolo della mutazione specifica dell'allele N sull'apparente assenza di sintesi proteica ad esso associata.

Alfredo Pauciullo