

Resumen #1821

Del análisis in silico a la validación experimental. Estudio de dos mutaciones causantes de la enfermedad poco frecuente CLN7

¹Venier AC, ²Grondona E, ³Carro G, ³Savy S, ⁴Guelbert G, ³Nicola JP, ⁵Pesaola F, ⁶De Paul AL

¹Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA- CONICET), UNC.; ²Centro de Microscopia Electrónica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.; ³Centro de investigación en bioquímica clínica e inmunología. Cibici-Conicet. Fc. de Cs Químicas. UNC; ⁴Sección de Enfermedades Metabólicas, Hospital de Niños de la Santísima Trinidad; ⁵Department of Pediatrics, Washington University in Saint Louis School of Medicine, Saint Louis, Missouri, United States; ⁶Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA- CONICET), UNC. Centro de Microscopía Electrónica, FCM, UNC

Persona que presenta: Venier AC, anaclaravenier@mi.unc.edu.ar **Área:** Básica **Disciplina:** Otra **Resumen:**



La enfermedad poco frecuente CLN7 (OMIM #610951) es una forma de Lipofuscinosis Ceroida Neuronal, neurodegenerativa, de almacenamiento lisosomal, que afecta principalmente a niños. CLN7 es causada por alteraciones en el gen MFSD8/CLN7, encargado de codificar la proteína de membrana lisosomal MFSD8/CLN7, caracterizada por un fenotipo infantil tardío donde los primeros síntomas (convulsiones, deterioro psicomotor, ocasional pérdida de visión) aparecen entre los 1,5 y 6 años. Hasta el momento, la única herramienta diagnóstica es el análisis genético acompañado del estudio predictivo de las variantes detectadas con análisis bioinformático. Esto suele considerarse suficiente para el diagnóstico, sin realizar análisis experimentales que confirmen lo predicho.

En el Programa de Investigación Traslacional NCL de Córdoba se registraron cinco casos CLN7 y sus respectivas variantes genéticas: dos de ellas exónicas (E3 c.103C>T, p.Arg35*, E13 c.1394G>A, p.Arg465Gln), ya registradas en otros casos y corroboradas experimentalmente; mientras que las otras dos variantes son intrónicas (I9 c.863+1G>A, p.?.; I9 c.863+4A>G, p.?), registradas también en otros pacientes pero aún sin validación experimental. El presente trabajo propone dar a conocer las características clínicas de cinco casos CLN7 y estudiar de manera experimental las dos mutaciones intrónicas no validadas.

Se realizó un análisis in silico acompañado de un estudio in vitro, que consistió en un análisis de expresión utilizando un reportero de splicing (pSPL3). Las variantes ubicadas a nivel de exón se clasificaron como "patogénicas" y las variantes intrónicas (posibles causantes de pérdida del dador de splicing), una se clasificó como "patogénica" y la otra de "significado incierto". A través del ensayo con pSPL3 se corroboró que ambas variantes afectan al splicing produciendo la pérdida el exón 9, lo que impactaría en MFSD8/CLN7 al modificarse el marco de lectura y la consecuente aparición de un codón de stop temprano.

Se destaca la relevancia del presente trabajo ya que permite ampliar lo que se conoce hasta el momento de la enfermedad poco frecuente CLN7 tanto a nivel clínico como genético, confirmando de manera experimental el efecto de dos mutaciones causantes de esta enfermedad.

*Los adultos responsables firmaron un consentimiento informado aprobado por el CIEIS-Polo Hospitalario de la Provincia de Córdoba.

Palabras Clave: lipofuscinosis ceroides neuronales, casos, mutación del sistema de lectura, estudio de validación  [Versión para impresión](#) |  [PDF version](#)

Abstract #1821

From In Silico Analysis to Experimental Validation: Study of Two Mutations Causing the Rare Disease CLN7

¹Venier AC, ²Grondona E, ³Carro G, ³Savy S, ⁴Guelbert G, ³Nicola JP, ⁵Pesaola F, ⁶De Paul AL

¹Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA- CONICET), UNC.; ²Centro de Microscopia Electrónica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.; ³Centro de investigación en bioquímica clínica e inmunología. Cibici-Conicet. Fc. de Cs Químicas. UNC; ⁴Sección de Enfermedades Metabólicas, Hospital de Niños de la Santísima Trinidad; ⁵Department of Pediatrics, Washington University in Saint Louis School of Medicine, Saint Louis, Missouri, United States; ⁶Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA- CONICET), UNC. Centro de Microscopía Electrónica, FCM, UNC

Persona que presenta: Venier AC, anaclaravenier@mi.unc.edu.ar **Abstract:**

The rare disease CLN7 (OMIM #610951) is a form of Neuronal Ceroid Lipofuscinosis, a neurodegenerative lysosomal storage disorder that primarily affects children. CLN7 is caused by alterations in the MFSD8/CLN7 gene, which encodes the lysosomal membrane protein MFSD8/CLN7. It is characterized by a late-infantile phenotype, with the first symptoms (seizures, psychomotor deterioration, occasional vision loss) appearing between 1.5 and 6 years of age. So far, the only diagnostic tool is genetic analysis, accompanied by predictive studies of the detected variants using bioinformatic analysis. This is generally considered sufficient for diagnosis without the need for experimental analysis to confirm predictions.

At NCL Translational Research Program in Cordoba (Argentina), five CLN7 cases and their respective genetic variants were recorded: two exonic mutations (E3 c.103C>T, p.Arg35* and E13 c.1394G>A, p.Arg465Gln), which have been reported in other cases and experimentally corroborated; and two intronic variants (I9 c.863+1G>A, p.?. and I9 c.863+4A>G, p.?), also reported in other patients but not yet experimentally validated. This study aims to present the clinical characteristics of five CLN7 cases and experimentally investigate the two unvalidated intronic mutations.

An in silico analysis was performed, accompanied by an in vitro study involving an expression analysis using a splicing reporter (pSPL3). The variants located at the exon level were classified as "pathogenic" and the intronic variants (potentially causing loss of the splice donor site) were classified as "pathogenic" and "of uncertain significance". The pSPL3 assay confirmed that both variants affect splicing, causing the loss of exon 9, which would impact MFSD8/CLN7 by altering the reading frame and leading to the appearance of an early stop codon.

This work is relevant because it contributes to expanding current knowledge of the rare CLN7 disease, both clinically and genetically, by experimentally confirming the pathogenic effects of two mutations associated with this disease.

*The patients' parents and/or guardians signed an informed consent approved by the CIEIS-Polo Hospitalario of the Province of Córdoba.

Keywords: neuronal ceroid-lipofuscinoses, case study, frameshift mutation, validation study