



III Convegno Nazionale SITLaB
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



Sequenziamento NGS per la Tipizzazione dell'HLA: Evoluzione, Vantaggi, Applicazioni e Prospettive Future

A. Marigliano, G. Caterino, G. Amato, A. Carusone, D. Cerbone
AOU Federico II Napoli – Laboratorio Immunogenetica dei Trapianti

Introduzione

Il sistema Human Leukocyte Antigen (HLA) è fondamentale per la regolazione del sistema immunitario e ha un ruolo critico in vari ambiti medici, tra cui trapianti d'organo, diagnosi di malattie autoimmuni e ricerca genetica.

La tipizzazione dell'HLA consente di identificare gli alleli di questi geni e migliorare la compatibilità tra donatori e riceventi, riducendo i rischi di rigetto. Negli ultimi anni, l'implementazione del Next-Generation Sequencing (NGS) ha rivoluzionato la tipizzazione dell'HLA, migliorando la precisione, riducendo le ambiguità e ottimizzando il tempo necessario per ottenere risultati affidabili.

Questo documento esplora le tecnologie precedenti, i miglioramenti introdotti dal NGS e le applicazioni attuali e future di questa tecnologia.

Tecnologie precedenti alla NGS per la tipizzazione dell'HLA

Prima dell'avvento del NGS, le tecniche di tipizzazione HLA si basavano principalmente su approcci molecolari come PCR-SSP, PCR-SSO. Ecco una panoramica delle principali tecnologie:

PCR-SSP (Sequence-Specific Primers)

Questa tecnica utilizza primer specifici per amplificare regioni del gene HLA. L'identificazione degli alleli si basa sulla presenza o assenza di prodotti di amplificazione. Tuttavia, presenta ambiguità nella distinzione degli alleli ed è soggetta a errori interpretativi.

PCR-SSO (Sequence-Specific Oligonucleotide Probes)

Simile alla PCR-SSP, ma utilizza sonde oligonucleotidiche per identificare varianti alleliche. Ha una precisione maggiore, ma richiede strumenti avanzati per l'interpretazione.



Next-Generation Sequencing (NGS) - Rivoluzione nella tipizzazione dell'HLA: OBIETTIVI

Il NGS ha migliorato significativamente la tipizzazione dell'HLA grazie alla sua **elevata risoluzione e profondità di lettura**. Il metodo si basa sulla **frammentazione del DNA e sequenziamento massivo parallelo**, garantendo una copertura completa dei geni HLA con risultati più precisi.

Vantaggi del NGS rispetto alle tecnologie precedenti

- **Maggiore risoluzione:** Elimina le ambiguità nella tipizzazione.
- **Capacità di multiplexing:** Permette l'analisi simultanea di molti campioni.
- **Identificazione di varianti rare:** Migliore rilevazione di mutazioni e polimorfismi.
- **Affidabilità nei trapianti:** Riduce il rischio di rigetto immunitario.
- **Tempi di analisi ridotti:** Risultati più rapidi rispetto ai metodi tradizionali.
- **Minor consumo di DNA:** Richiede quantità minime di materiale genetico.

Confronto tra NGS e tecnologie tradizionali

Tecnologia	Precisione	Tempi di analisi	Rilevazione di varianti rare	Costo
PCR-SSP	Bassa	Medio	Limitata	Basso
PCR-SSO	Media	Medio-alto	Limitata	Medio
Sanger	Alta	Alto	Media	Alto
Microarray	Media	Basso	Limitata	Medio
NGS	Molto alta	Molto rapido	Elevata	Medio-alto



III Convegno Nazionale SITLaB
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



Metodi e Applicazioni cliniche e di ricerca

Il sequenziamento NGS è impiegato in diversi ambiti:

Trapianti d'organo e cellule staminali: Una tipizzazione HLA più precisa riduce il rischio di rigetto e migliora la compatibilità tra donatori e riceventi.

Diagnosi di malattie autoimmuni : La tipizzazione HLA con NGS consente di identificare correlazioni genetiche tra varianti HLA e malattie autoimmuni.

Medicina personalizzata: L'analisi genomica avanzata facilita la creazione di terapie mirate basate sulla risposta immunitaria individuale.

Ricerca genetica : Lo studio dell'evoluzione dei geni HLA e della loro influenza sul sistema immunitario è facilitato dal NGS.

Metodi e Applicazioni future del sequenziamento NGS

Tipizzazione ultra-rapida per i trapianti: Nuove tecnologie potrebbero ridurre i tempi di analisi a **meno di un'ora**, facilitando i trapianti urgenti.

Impatto sulle terapie immunologiche e oncologiche: L'uso del NGS potrebbe ottimizzare la selezione dei pazienti per trattamenti oncologici e immunoterapie.

Personalizzazione dei vaccini: Il NGS potrebbe rivoluzionare lo sviluppo di **vaccini mirati**, adattati alla risposta immunitaria individuale.

Monitoraggio genetico post-trapianto: Il sequenziamento avanzato consentirà di **rilevare segnali precoci di rigetto** e adattare i trattamenti immunosoppressori.

Risultati e Conclusioni

Il Next-Generation Sequencing (NGS) ha trasformato la tipizzazione dell'HLA, introducendo un livello di accuratezza e risoluzione che supera di gran lunga le tecnologie precedenti. Grazie alla sua capacità di identificare varianti rare, ridurre le ambiguità e fornire risultati in tempi rapidi, il NGS ha migliorato significativamente la compatibilità nei trapianti d'organo e il trattamento delle malattie autoimmuni.

bibliografia

Next Generation Sequencing: Translation to Clinical Diagnostics" di Brown

Svolgimento delle tecnologie NGS: Ricerca pubblicata su riviste di settore come Nature, Science, Genomics, Nucleic Acids Research, e Nature Genetics