

INDICE GENERALE

Prefazione

XV

Capitolo 1

Principi fondamentali: DNA, cromosomi e cellule

1.1 Struttura e funzione degli acidi nucleici

Concetti generali: materiale genetico, genomi e geni 1

La chimica alla base degli acidi nucleici 2

FOCUS 1.1 *Estremità 5' e 3' e asimmetria nei filamenti degli acidi nucleici* 3

Appaiamento di basi e doppia elica 3

FOCUS 1.2 *Prevalenza degli appaiamenti delle basi, complementarità di sequenza e modalità di notazione della sequenza degli acidi nucleici* 4

Replicazione del DNA e DNA polimerasi 5

Geni, trascrizione e dogma centrale della biologia molecolare 6

1.2 Struttura e funzione dei cromosomi

Perché abbiamo bisogno di cromosomi altamente strutturati e come sono organizzati 7

La funzione del cromosoma: origini di replicazione, centromeri e telomeri 8

I centromeri 8

Le origini di replicazione 9

I telomeri 9

1.3 DNA e cromosomi nella divisione cellulare e nel ciclo cellulare

Le differenze nel numero di copie di DNA all'interno di cellule diverse 9

Il numero di copie del DNA mitocondriale 10

Ciclo cellulare e segregazione dei cromosomi duplicati e delle molecole di DNA 10

I cambiamenti nel numero di cromosomi cellulari e nel contenuto di DNA 11

Replicazione e segregazione del DNA mitocondriale 12

La mitosi: la forma più comune di divisione cellulare 12

La meiosi: una divisione cellulare riduttiva specializzata che dà origine agli spermatozoi e agli oociti 13

L'appaiamento dei cromosomi omologhi paterno e materno (sinapsi) 14

La ricombinazione 15

Perché ogni nostro gamete è unico 15

■ **SOMMARIO** ■ **DOMANDE** ■ **BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE** 16

Capitolo 2

Principi fondamentali: geni, espressione genica e organizzazione del genoma umano

2.1 Struttura ed espressione dei geni codificanti proteine

L'organizzazione del gene: esoni e introni 18

Lo splicing dell'RNA: ricucire le informazioni genetiche contenute negli esoni 19

L'importanza evolutiva dello splicing dell'RNA 20

La traduzione: decodificare l'RNA messaggero per produrre un polipeptide 21

Il processo della traduzione 21

FOCUS 2.1 *Cornici di lettura per la traduzione e separazione delle sequenze codificanti da parte degli introni* 23

L'RNA transfer come RNA adattatore 24

Regioni non tradotte ed estremità 5' e 3' dell'mRNA maturo 24

Dal polipeptide di nuova sintesi alla proteina matura 25

Le modifiche chimiche 26

Il ripiegamento 26

FOCUS 2.2 *Una breve descrizione della struttura proteica* 27

Taglio e trasporto 28

Il legame di catene polipeptidiche multiple 28

2.2 Geni per RNA ed RNA non codificanti

Straordinaria struttura secondaria e versatilità dell'RNA 29

Gli RNA che agiscono come regolatori specifici: da rare eccezioni a opinione corrente 30

I lunghi RNA non codificanti 31

I piccoli RNA non codificanti 31

2.3 Analisi dettagliata del nostro genoma e suo significato

Il Progetto Genoma Umano: un'analisi dettagliata del genoma nucleare 32

FOCUS 2.3 *Una panoramica su eucromatina ed eterocromatina* 33

Ciò che la sequenza non ci ha chiarito e l'obiettivo di identificare tutte le sequenze funzionali del genoma umano 34

FOCUS 2.4 *Completamento del genoma umano e P progetto Pangenoma Umano* 34

I geni codificanti proteine 35

Geni per RNA non codificanti ed elementi regolatori 36

2.4 Breve panoramica di alcune risorse elettroniche per analizzare la sequenza e i prodotti genici del genoma umano

Nomenclatura dei geni e portale HGNC	37
Le banche dati contenenti sequenze nucleotidiche e proteiche	37
La ricerca di sequenze nucleotidiche e proteiche correlate	38
I collegamenti a banche dati cliniche	39

2.5 Organizzazione ed evoluzione del genoma umano

Una breve panoramica dei meccanismi evolutivi che hanno modellato il nostro genoma	39
Quanto del nostro genoma è importante dal punto di vista funzionale?	39
Conservazione delle sequenze dovuta alla selezione e stima della pressione funzionale	40
Il genoma mitocondriale: un utilizzo efficiente ma con autonomia limitata	41
La distribuzione dei geni nel genoma umano	42
Le dimensioni del DNA ripetuto nel genoma umano	42
L'organizzazione delle famiglie geniche	44
FOCUS 2.5 <i>Gli pseudogeni</i>	45
L'importanza della duplicazione genica e del DNA codificante ripetuto	46
Il dosaggio genico	48
Le nuove varianti genetiche	48
Il DNA non codificante altamente ripetuto nel genoma umano	48
Le ripetizioni derivate da trasposoni nel genoma umano	49
Il significato evolutivo delle ripetizioni trasponibili	49
■ SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	51

Capitolo 3 Principi delle tecnologie per lo studio del DNA

3.1 Amplificazione del DNA attraverso il clonaggio

L'amplificazione di un DNA di interesse all'interno di cellule batteriche	55
La necessità di vettori di DNA	55
La separazione fisica dei cloni	56
La necessità di nucleasi di restrizione	57
Librerie di DNA, utilizzo e limiti del clonaggio del DNA	57

FOCUS 3.1 *Le endonucleasi di restrizione: da guardiani batterici a strumenti genetici*

3.2 Amplificazione del DNA mediante la reazione a catena della polimerasi (PCR)

Le basi della reazione a catena della polimerasi (PCR)	59
PCR quantitativa e real time PCR	59

3.3 Principi dell'ibridazione degli acidi nucleici

La formazione di eteroduplex artificiali	61
I saggi di ibridazione: l'utilizzo di acidi nucleici noti per individuare sequenze correlate in una popolazione di acidi nucleici in esame	62
L'utilizzo di parametri di ibridazione ad alta e bassa stringenza	63
I due tipi di saggi di ibridazione	64
L'ibridazione su microarray: un'ibridazione in parallelo su larga scala a sonde fissate su supporto	64

FOCUS 3.2 *La marcatura degli acidi nucleici e degli oligonucleotidi*

3.4 Principi del sequenziamento del DNA

Il sequenziamento del DNA con il metodo dei dideossinucleotidi	67
Il sequenziamento massivo in parallelo del DNA (sequenziamento di nuova generazione)	69
FOCUS 3.3 <i>Elettroforesi su gel ed elettroforesi capillare per la separazione degli acidi nucleici in base alle dimensioni</i>	70
■ SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	71

Capitolo 4 Principi della variabilità genetica

4.1 Origini della variabilità delle sequenze e meccanismi di riparazione del DNA

La variabilità genetica deriva da errori endogeni nella funzione dei cromosomi e del DNA	76
Gli errori nella replicazione del DNA	76
Segregazione cromosomica ed errori di ricombinazione	77
Diverse fonti endogene ed esogene possono danneggiare il DNA alterandone la struttura chimica	77
Il danno chimico al DNA da fonti endogene e ambientali	78
L'ampio spettro dei meccanismi di riparazione del danno al DNA	79
La riparazione del danno al DNA o della sequenza alterata su un singolo filamento	79

La riparazione delle lesioni che colpiscono entrambi i filamenti del DNA	80	La creazione di ulteriore diversità	100
Mancato rilevamento di un danno del DNA, tolleranza al danno del DNA e sintesi translesione	80	Le proteine MHC (HLA): funzioni e polimorfismi	101
FOCUS CLINICO 1 <i>Le malattie che originano da difetti nella risposta al danno del DNA o nei meccanismi di riparazione</i>	82	Le proteine MHC di classe I	101
4.2 Genomica delle popolazioni e dimensione della variabilità genetica umana	83	Le proteine MHC di classe II	101
Varianti del DNA, polimorfismi e genomica delle popolazioni umane	84	La restrizione dell'MHC	102
Varianti strutturali e varianti di piccole dimensioni a confronto	85	Il polimorfismo dell'MHC	102
FOCUS 4.1 <i>Il sequenziamento del genoma individuale e di popolazione</i>	85	L'importanza del sistema HLA in medicina	103
Le varianti su piccola scala: varianti a singolo nucleotide e piccole inserzioni e delezioni	86	Trapianto e analisi di istocompatibilità	103
Inserzioni e delezioni di piccole dimensioni	86	Le associazioni HLA-malattia	103
Microsatelliti e altri polimorfismi dovuti al numero variabile di sequenze ripetute in tandem	87	FOCUS 4.3 <i>Geni, alleli e aplotipi HLA</i>	104
Varianti strutturali e varianti a basso numero di copie	88	■ SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	104
Facciamo il punto sulla variabilità genetica umana	89	Capitolo 5	
4.3 Variabilità genetica funzionale e polimorfismi delle proteine	90	Malattie monogeniche: trasmissione ereditaria, variabilità fenotipica e frequenze alleliche	
La maggior parte della variabilità genetica ha un effetto neutro sul fenotipo, ma una piccola parte è dannosa	91	5.1 Introduzione: terminologia, risorse informatiche e alberi genealogici	109
Nella specie umana agiscono diversi tipi di selezione naturale darwiniana	91	Terminologia di base e risorse informatiche sulle malattie monogeniche	109
La selezione positiva in risposta a microrganismi patogeni	92	FOCUS 5.1 <i>Le risorse informatiche sulle malattie monogeniche umane e sui geni coinvolti</i>	110
Gli adattamenti ad ambienti alterati	92	Studio della storia familiare della malattia e alberi genealogici	110
FOCUS 4.2 <i>La forte selezione positiva più recente può causare una sweep selettiva con soppressione locale della variabilità genetica</i>	94	5.2 Concetti basilari dei modelli di trasmissione ereditaria mendeliana e del DNA mitocondriale	111
La generazione della diversità delle proteine attraverso la duplicazione genica: l'esempio dei geni per i recettori olfattivi	96	La trasmissione ereditaria autosomica dominante	111
4.4 Straordinaria variabilità genetica del sistema immunitario	96	La trasmissione ereditaria autosomica recessiva	112
La spiccata variabilità genetica nelle quattro classi di proteine del sistema immunitario	96	La consanguineità	112
La variabilità genetica post-zigotica (somatica) casuale e mirata	98	FOCUS 5.2 <i>Consanguineità e grado di correlazione genetica tra parenti stretti</i>	113
I meccanismi somatici che consentono la produzione cellula-specifica delle immunoglobuline e dei recettori dei linfociti T	98	I fenotipi correlati alla malattia nei portatori	114
La diversità combinatoria attraverso la ricombinazione somatica	98	Trasmissione ereditaria legata all'X e inattivazione del cromosoma X	114
		L'inattivazione del cromosoma X	114
		La trasmissione ereditaria recessiva legata all'X	115
		La trasmissione ereditaria dominante legata all'X	116
		Ricombinazione X-Y e omologia X-Y	116
		La trasmissione ereditaria pseudoautosomica	118
		La trasmissione ereditaria legata all'Y	118
		La trasmissione ereditaria matrilineare delle malattie del DNA mitocondriale	119
		Eteroplasmia variabile e variabilità clinica	119

5.3 Incertezza, eterogeneità ed espressione variabile dei fenotipi mendeliani	120	I promotori: i principali interruttori on-off nei geni	140
Le difficoltà nel definire le modalità di trasmissione ereditaria con piccoli alberi genealogici	120	Modulazione della trascrizione e regolazione tessuto-specifica	141
Mutazioni post-zigotiche e mosaicismo	122	I regolatori in <i>cis</i> come modificatori dell'espressione genica basale	141
L'eterogeneità nella corrispondenza fra fenotipi e geni e mutazioni sottostanti	122	I regolatori in <i>cis</i> come elementi di confine	142
L'eterogeneità del locus	122	Legame e specificità dei fattori di trascrizione	142
FOCUS 5.3 <i>Mutazioni post-zigotiche (somatiche) e perché tutti noi siamo mosaici genetici</i>	123	La specificità dei fattori di trascrizione	143
L'eterogeneità allelica e fenotipica	124	La regolazione genetica durante la maturazione dell'RNA: lo splicing e l'editing dell'RNA	143
Non penetranza e penetranza legata all'età	125	La regolazione dello splicing dell'RNA	143
L'età di insorgenza variabile nelle malattie a esordio tardivo	125	Lo splicing alternativo	144
L'imprinting	127	L'editing dell'RNA	144
L'anticipazione	127	La regolazione della traduzione mediante proteine regolatrici che agiscono in <i>trans</i>	145
5.4 Frequenze alleliche nelle popolazioni	128	Il silenziamento genico post-trascrizionale mediante microRNA	146
Frequenze alleliche e legge di Hardy-Weinberg	128	Reprimere i repressori: gli RNA endogeni concorrenti sequestrano i miRNA	146
La legge di Hardy-Weinberg	129	6.2 Modifica della cromatina e fattori epigenetici nella regolazione genica	148
Applicazioni e limiti della legge di Hardy-Weinberg	129	Una panoramica delle basi molecolari dei meccanismi epigenetici	148
L'accoppiamento non casuale	130	L'ereditabilità dei tratti epigenetici	148
FOCUS 5.4 <i>L'utilizzo della legge di Hardy-Weinberg per calcolare i rischi dei portatori nelle malattie autosomiche recessive</i>	130	La stabilità dei tratti epigenetici	149
Le modalità con cui cambiano le frequenze alleliche nelle popolazioni	131	Come i cambiamenti nella struttura della cromatina producono un'espressione genica alterata	149
Collo di bottiglia in una popolazione ed effetto del fondatore	131	La necessità di <i>writer</i> , <i>eraser</i> e <i>reader</i> della cromatina	150
Mutazione verso selezione nella determinazione delle frequenze alleliche	133	Modifica e sostituzione degli istoni nei nucleosomi	150
Il vantaggio degli eterozigoti: quando la selezione naturale favorisce i portatori di malattie recessive	134	La sostituzione degli istoni	152
Come distinguere il vantaggio dell'eterozigote dall'effetto del fondatore	135	L'effetto degli istoni modificati e delle varianti istoniche sulla struttura della cromatina	152
■ SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	136	La funzione della metilazione del DNA nelle cellule di mammifero	154
Capitolo 6		La metilazione del DNA: meccanismi, ereditabilità e funzioni globali durante le prime fasi dello sviluppo e nella gametogenesi	154
Principi della regolazione genica e dell'epigenetica		FOCUS 6.1 <i>Isole CpG e modalità di metilazione del DNA nel genoma e nei geni</i>	155
I due tipi fondamentali di regolazione genica	138	Il meccanismo di metilazione del DNA	155
Gli effetti che agiscono in <i>cis</i> e in <i>trans</i> nella regolazione genica	138	La metilazione del DNA nelle prime fasi dello sviluppo e nella gametogenesi	156
6.1 Regolazione genetica dell'espressione genica	140	I lunghi RNA non codificanti nella regolazione epigenetica dei mammiferi	157
		La regolazione in <i>cis</i> e in <i>trans</i>	158
		L'imprinting genomico: l'espressione differenziale degli alleli ereditati per via materna e paterna	159

Estensione e importanza dell'imprinting genomico	160	Le frequenze relative delle sostituzioni sinonime e di quelle che cambiano l'amminoacido	182
L'imprinting sesso-specifico stabilito mediante la metilazione differenziale	162	Le sostituzioni conservative: rimpiazzare un amminoacido con un altro simile	183
L'inattivazione del cromosoma X: la compensazione delle differenze nel dosaggio genico tra i sessi	163	Le sostituzioni non conservative: gli effetti su polipeptidi/proteine	184
Conteggio dei cromosomi X e scelte di inattivazione	163	Le mutazioni che producono codoni di stop prematuro	184
RNA <i>XIST</i> e inizio dell'inattivazione dell'X	164	FOCUS 7.1 <i>Il decadimento mediato da un nonsense come meccanismo di sorveglianza dell'mRNA</i>	185
Sfuggire all'inattivazione dell'X	165	Le mutazioni di splicing patogenetiche	186
6.3 Anomalie della regolazione epigenetica nelle malattie mendeliane e nella disomia uniparentale	165	Origine e frequenza delle mutazioni puntiformi patogenetiche	187
I principi della disregolazione epigenetica	165	I tassi di mutazione nel genoma umano	188
Le malattie della cromatina dovute a mutazioni nei geni modificatori della cromatina	166	Il carico patogenetico complessivo	188
FOCUS CLINICO 2 <i>Caso di studio: la sindrome di Rett</i>	167	Gli effetti dell'età e del sesso dei genitori sui tassi di mutazione nelle cellule germinali	188
Le malattie che derivano dalla disregolazione dell'eterocromatina	167	Malattie dovute all'effetto dell'età paterna e selezione egoista degli spermatozoni	189
Il silenziamento genico inappropriato	168	Osservazione e classificazione delle mutazioni puntiformi che provocano le malattie	190
La riduzione dell'eterocromatina	169	Le mutazioni puntiformi nel DNA codificante	190
FOCUS CLINICO 3 <i>Caso di studio: la distrofia muscolare facio-scapolo-omeroale</i>	170	Le mutazioni puntiformi nei geni per RNA e in altro DNA non codificante	191
Disomia uniparentale e malattie correlate all'imprinting	170	Le banche dati delle mutazioni patogenetiche umane	191
La regolazione genica anomala nei loci soggetti a imprinting	171	7.3 Patogenesi dovuta alla variazione del numero di copie di brevi sequenze ripetute in tandem	192
Il cluster dei geni soggetti a imprinting in posizione 11p15.5	171	Le due principali classi di varianti patogenetiche nel numero di copie di brevi sequenze ripetute in tandem	192
Il cluster dei geni soggetti a imprinting in posizione 15q11-12	173	L'espansione patogenetica del numero di brevi sequenze ripetute in tandem senza alterazione della cornice di lettura	193
FOCUS CLINICO 4 <i>Caso di studio: la sindrome di Angelman</i>	174	Le mutazioni dinamiche che provocano malattie a causa dell'espansione instabile di brevi sequenze ripetute in tandem	194
Imprinting e riproduzione assistita	175	Il problema della traduzione non-AUG nelle sequenze ripetute	195
■ SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	175	FOCUS CLINICO 5 <i>Caso di studio: la distrofia miotonica di tipo I</i>	196
Capitolo 7		L'espansione instabile di brevi sequenze ripetute in tandem può causare malattie in modi diversi	197
Variabilità genetica nel DNA e nei cromosomi come causa di malattie		Le manifestazioni della malattia nei portatori della pre-mutazione nella sindrome dell'X fragile	197
7.1 Panoramica sulle modalità con cui la variabilità genetica porta alla malattia	179	7.4 Patogenesi indotta da lunghe sequenze ripetute in tandem e sequenze ripetute disperse nel genoma	198
L'importanza delle sequenze ripetute nell'innescare un meccanismo patogenetico	180	Gli scambi patogenetici tra ripetizioni si verificano sia nel DNA nucleare sia nell'mtDNA	198
7.2 Sostituzioni nucleotidiche patogenetiche e piccole inserzioni e delezioni	181		
Le sostituzioni patogenetiche di un singolo nucleotide nelle sequenze codificanti	181		

Ricombinazione omologa non allelica e trasposizione	199	L'effetto delle varianti patogenetiche dipende da come interagiscono i prodotti allelici: una revisione dei concetti di dominanza e recessività	220
Gli scambi patogenetici di sequenze fra cromatidi a livello delle sequenze ripetute in tandem erroneamente appaiate	199	Le mutazioni con perdita di funzione rispetto a quelle con acquisto di funzione nelle malattie dominanti e recessive	220
FOCUS CLINICO 6 <i>Il deficit di 21-idrossilasi: una malattia causata da scambi di sequenze fra un gene e uno pseudogene</i>	200	FOCUS 7.3 <i>Geni sensibili al dosaggio e aploinsufficienza</i>	221
Le malattie che derivano dagli scambi di sequenze fra elementi ripetuti distanti nel DNA nucleare	202	La sorprendente perdita di funzione prodotta dagli effetti dominanti-negativi negli eterozigoti	222
Microdelezioni e microduplicazioni cromosomiche	202	Le mutazioni con acquisto di funzione e con perdita di funzione nello stesso gene possono produrre fenotipi differenti	223
La ricombinazione intracromatidica fra sequenze ripetute invertite	202	La disregolazione di molti geni che deriva dalle aneuploidie e dalle mutazioni puntiformi nei geni regolatori	224
7.5 Anomalie cromosomiche	204	Le aneuploidie di interi cromosomi	224
FOCUS 7.2 <i>Bandeggio dei cromosomi umani e relativa classificazione</i>	205	Le aneuploidie segmentali	225
Le anomalie cromosomiche strutturali	206	7.8 Basi molecolari delle patologie correlate alla struttura delle proteine	225
Microdelezioni e microduplicazioni	206	I meccanismi patogenetici che derivano dall'errato ripiegamento proteico	226
Duplicazioni, delezioni e inversioni di ampie dimensioni	206	La regolazione del ripiegamento proteico	226
Le traslocazioni cromosomiche	207	I ripiegamenti proteici aberranti che provocano malattie	226
Gli isocromosomi	209	I diversi meccanismi con cui l'aggregazione delle proteine può provocare una malattia	226
Le anomalie cromosomiche che comportano l'acquisto o la perdita di interi cromosomi	209	L'anemia falciforme: le fibre proteiche dannose	227
La poliploidia	209	Il deficit di α 1-antitripsina: corpi inclusi e morte della cellula	228
L'aneuploidia	210	La produzione di proteine mutate attraverso stampi di proteine aberranti	228
Gli effetti dell'età materna nella sindrome di Down	211	7.9 Correlazioni fra genotipo e fenotipo e complessità delle malattie monogeniche	229
La mixoploidia: mosaicismo e chimerismo	211	La difficoltà nell'ottenere correlazioni affidabili fra genotipo e fenotipo	229
7.6 Basi molecolari delle malattie mitocondriali	212	FOCUS CLINICO 8 <i>Malattie da prioni e malattie neurodegenerative simil-prioniche: la diffusione degli aggregati proteici tra gli organismi e le cellule</i>	230
Le malattie mitocondriali dovute a mutazioni nell'mtDNA mostrano un'ereditarietà materna e percentuali variabili dei genotipi mutati	213	Le spiegazioni particolari per le scarse correlazioni fra genotipo e fenotipo	232
Le due principali classi di varianti patogenetiche dell'mtDNA: grandi delezioni e mutazioni puntiformi	214	Geni modificatori e fattori ambientali: spiegazioni comuni per le scarse correlazioni fra genotipo e fenotipo	232
La connessione tra le grandi delezioni dell'mtDNA e le brevi sequenze ripetute	215	I geni modificatori: l'esempio della β -talassemia	232
Le malattie mitocondriali derivanti da mutazioni puntiformi nell'mtDNA	216	I fattori ambientali che influenzano il fenotipo delle malattie genetiche	233
FOCUS CLINICO 7 <i>Caso di studio: la sindrome di Leigh</i>	216	FOCUS CLINICO 9 <i>Un profilo clinico di malattia: la fenilchetonuria come errore congenito del metabolismo, patologia multifattoriale ed embriofetopatia</i>	235
7.7 Effetti delle varianti patogenetiche nel DNA nucleare sul fenotipo	217	SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	236
Le mutazioni che alterano il funzionamento di un singolo gene: perdita di funzione e acquisto di funzione	218		
Le mutazioni con perdita di funzione	218		
Le mutazioni con acquisto di funzione	218		

Capitolo 8**Identificazione dei geni malattia e suscettibilità genetica alle malattie complesse****8.1 Identificazione dei geni nelle malattie monogeniche** 240

Una panoramica storica dell'identificazione dei geni nelle malattie monogeniche 240

Il confronto tra il clonaggio posizionale e gli approcci posizionali del gene candidato 241

Il passaggio finale: lo screening delle mutazioni 242

L'analisi di linkage per mappare i geni delle malattie monogeniche in regioni subcromosomiche definite 242

Le mappe genetiche umane 242

I principi del linkage genetico 243

Le frequenze della ricombinazione meiotica umana 245

Le analisi classiche di linkage su scala genomica 246

FOCUS 8.1 *Lod score e prova statistica del linkage* 247

La mappatura per autozigosi in famiglie estese di consanguinei 248

Anomalie cromosomiche e altre mutazioni di ampie dimensioni come vie per identificare i geni che causano malattie 248

Il sequenziamento dell'esoma: non preoccupiamoci di trovare una posizione per i geni delle malattie! 249

8.2 Strategie per la mappatura e l'identificazione della suscettibilità genetica alle malattie complesse 252

La natura poligenica e multifattoriale delle malattie genetiche comuni 252

Le due diverse modalità di visualizzare i meccanismi di ereditarietà 252

La divisione non del tutto netta tra malattie monogeniche e multifattoriali 253

La complessità nella predizione del rischio di malattia 253

FOCUS 8.2 *Teoria poligenica e concetto di soglia di suscettibilità per spiegare i caratteri dicotomici* 254

Le difficoltà relative alla mancanza di penetranza e alla classificazione del fenotipo nelle malattie complesse 256

Classificazione dei fenotipi e fenocopie 256

La stima dell'ereditabilità: il contributo fornito dai fattori genetici alla varianza delle malattie complesse 257

Gli studi sulle famiglie 257

Gli studi sui gemelli 258

Gli studi sull'adozione 258

La variabilità nel contributo genetico alle malattie 259

Il successo molto limitato delle analisi di linkage nell'identificazione di geni alla base delle malattie genetiche complesse 260

Le analisi parametriche di linkage nei sottogruppi mendeliani 260

Analisi di coppie di fratelli/sorelle affetti e altre analisi non parametriche di linkage 261

L'identificazione dei geni per la suscettibilità alla malattia 262

Principi dell'associazione allelica e importanza dell'associazione tra HLA e malattia 264

La natura dell'associazione allelica 264

Analisi di associazione del gene candidato, studi caso-controllo e odds ratio 265

FOCUS 8.3 *Le associazioni dei geni HLA con le patologie autoimmuni* 266

Il linkage disequilibrium come base delle associazioni alleliche 268

La condivisione di segmenti cromosomici ancestrali 268

Come si realizzano gli studi GWA 270

Soglie statistiche e visualizzazione dei dati 270

FOCUS 8.4 *Blocchi di aptotipi e progetto HapMap* 271

La necessità di phasing e imputazione 272

La gestione di una struttura del campione confondente 274

L'importanza degli studi molto grandi e ben progettati e delle metanalisi 274

Il passaggio da una regione subcromosomica candidata all'identificazione di varianti genetiche causali in malattie complesse può essere impegnativo 275

Verso l'identificazione di varianti causali e loci di suscettibilità alla malattia 275

Limiti degli studi GWA e problema dell'ereditabilità mancante 276

Il problema dell'ereditabilità mancante 276

I limiti degli studi GWA 277

Studi su scala genomica alternativi e ruolo delle varianti rare e delle varianti del numero di copie nelle malattie complesse 278

L'importanza delle varianti rare nelle malattie complesse 278

Le varianti del numero di copie associate a malattie complesse 279

Valutazione e predizione del rischio per le malattie genetiche comuni e sviluppo di punteggi di rischio poligenico 280

I punteggi di rischio poligenico 280

FOCUS 8.5 *Valutazione e predizione del rischio di malattia* 281**8.3 Aspetti dell'architettura genetica delle malattie complesse e contributo di fattori ambientali ed epigenetici** 282

Le comuni malattie neurodegenerative: da malattie monogeniche a poligeniche 283

FOCUS CLINICO 11 <i>L'utilizzo della genomica per fare luce sulla patogenesi della malattia infiammatoria intestinale (IBD)</i>	284	La terapia additiva	307
La connessione tra i sottogruppi monogenici e le malattie sporadiche	285	Terapia o prevenzione degli effetti nocivi di alti livelli di metaboliti	307
<i>APOE-ε4</i> , la variante di rischio più significativa nella malattia di Alzheimer	286	Le fortune alterne nei trattamenti	310
Varianti rare e fattori di suscettibilità comuni nella malattia di Alzheimer	287	Il trattamento genetico delle malattie può essere condotto a molti livelli diversi	310
L'importanza delle vie di segnalazione del sistema immunitario nelle malattie genetiche comuni	289	9.2 Contributi genetici nel trattamento delle malattie con farmaci a piccola molecola e proteine terapeutiche	311
Importanza dei fattori protettivi e come un fattore di suscettibilità per una malattia complessa possa essere un fattore protettivo per un'altra malattia	290	I farmaci a piccola molecola	311
Le interazioni gene-ambiente nelle malattie complesse	291	I nuovi approcci	312
Una pletera di fattori ambientali	292	Una panoramica di come le differenze genetiche influiscano sul metabolismo e sulle prestazioni dei farmaci a piccola molecola	312
Gli studi prospettici di coorte	292	I diversi stadi in cui le varianti genetiche influenzano il metabolismo di un farmaco	313
L'epigenetica nelle malattie complesse e nell'invecchiamento: significato e strategie sperimentali	293	Le reazioni di fase I e II nel metabolismo di un farmaco	314
FOCUS 8.6 <i>Aplogruppi del DNA mitocondriale e varianti del DNA mitocondriale nelle malattie comuni</i>	294	Le differenze fenotipiche derivanti dalla variabilità genetica nel metabolismo del farmaco	315
Le ricerche sperimentali	294	La variabilità genetica negli enzimi della famiglia del citocromo P450 nella fase I del metabolismo dei farmaci	315
I cambiamenti epigenetici durante l'invecchiamento	296	Varianti genetiche nell'enzima CYP2D6 e loro conseguenze	316
I cambiamenti epigenetici nei gemelli monozigoti	296	Le varianti genetiche in altri enzimi della famiglia del citocromo P450	316
Le origini embrionali della salute e della malattia nell'età adulta	296	Le varianti genetiche negli enzimi che operano nella fase II del metabolismo dei farmaci	318
Gli effetti epigenetici transgenerazionali	297	Un'alterata risposta ai farmaci dovuta a varianti genetiche nei bersagli farmacologici	319
■ SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	298	FOCUS CLINICO 12 <i>Quando i farmaci prescritti possono essere pericolosi e talvolta letali in base al genotipo del paziente</i>	320
Capitolo 9		Quando genotipi in loci multipli nei pazienti sono importanti per il trattamento farmacologico: l'esempio del warfarin	322
Approcci genetici al trattamento delle malattie		Le ricadute dei progressi genetici: dall'identificazione di nuovi geni malattia ai farmaci a piccola molecola	323
9.1 Panoramica del trattamento delle malattie genetiche e del trattamento genetico delle malattie	303	L'ipercolesterolemia familiare: i nuovi e preziosi farmaci	323
Tre diverse strategie ad ampio raggio per trattare le malattie genetiche	303	La fibrosi cistica: una prospettiva non facile per la terapia	324
La terapia additiva per le carenze genetiche	303	La sclerosi tuberosa: da una via biologica a un farmaco promettente	325
L'applicabilità della terapia additiva molecolare	305	Le ricadute dei progressi genomici e lo sviluppo di farmaci generici per superare il problema della scarsità di bersagli farmacologici	326
Il trattamento di malattie che determinano effetti nocivi	305	Lo sviluppo di farmaci biologici: proteine terapeutiche prodotte attraverso l'ingegneria genetica	327
Il trattamento attraverso la modifica della suscettibilità alle malattie	306		
Le opzioni di trattamento molto diverse per diversi errori congeniti del metabolismo	306		
Due ampie classi fenotipiche	306		

Gli anticorpi geneticamente modificati con un potenziale terapeutico migliorato	328	Le terapie con interferenza a RNA	350
Gli anticorpi geneticamente modificati	328	L'utilizzo dell'RNAi per silenziare l'allele mutato	351
Gli anticorpi intracellulari (intracorpi)	329	Le prospettive terapeutiche future utilizzando l'editing genico mediato da CRISPR-Cas	352
9.3 Principi della terapia genica e cellulare	330	CRISPR-Cas: le origini	352
Due strategie generali nella terapia genica somatica	331	L'utilizzo di CRISPR-Cas per un editing genomico a scopo terapeutico	353
Il problema della somministrazione: progettare strategie ottimali e sicure per inserire costrutti genetici nelle cellule dei pazienti	332	Applicazioni terapeutiche delle cellule staminali e riprogrammazione cellulare	355
Le caratteristiche di efficienza e di sicurezza	333	Le fonti di cellule per la terapia cellulare	356
FOCUS 9.1 Una panoramica sulle cellule staminali e sulla riprogrammazione epigenetica artificiale delle cellule	334	Gli ostacoli da superare nella terapia cellulare	356
Modalità diverse per veicolare i costrutti genetici terapeutici e vantaggi di una terapia genica <i>ex vivo</i>	336	Un caso particolare: impedire la trasmissione di gravi malattie del DNA mitocondriale attraverso la sostituzione dei mitocondri	358
La terapia genica <i>in vivo</i> ed <i>ex vivo</i>	336	■ SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	359
I sistemi non virali per il trasferimento di costrutti genetici terapeutici	337	Capitolo 10	
Il trasferimento virale di costrutti genici terapeutici: efficienza relativamente alta ma problemi legati alla sicurezza	338	Genetica e genomica del cancro	
I vettori virali utilizzati nella terapia genica	338	10.1 Caratteristiche fondamentali ed evoluzione del cancro	363
L'importanza dei modelli di malattia per valutare terapie potenziali nell'essere umano	339	Le caratteristiche che definiscono la crescita cellulare incontrollata e il cancro	363
FOCUS 9.2 Due metodi comuni per realizzare modelli di malattia nei topi	340	Perché i tumori sono diversi dalle altre malattie: la contesa tra la selezione naturale che opera a livello della cellula e a livello dell'organismo	366
I casi in cui i modelli di malattia di roditori possono risultare inadeguati	342	L'equilibrio tra la proliferazione e la morte cellulare	366
9.4 Terapia genica delle malattie ereditarie: applicazioni pratiche e prospettive future	342	Perché non soccombiamo tutti al cancro?	367
I numerosi successi della terapia genica additiva <i>ex vivo</i> mirata alle cellule staminali ematopoietiche	342	Le cellule tumorali acquisiscono diverse caratteristiche biologiche distintive nel corso della loro evoluzione	368
I problemi di sicurezza nell'integrazione gammaretrovirale	344	FOCUS 10.1 Accorciamento dei telomeri e pressione selettiva sulle cellule tumorali affinché diventino immortali attivando l'espressione della telomerasi	368
La terapia genica <i>in vivo</i> : approcci, ostacoli e recenti successi	345	Inizio e natura a più stadi dell'evoluzione del cancro e motivo per cui la maggior parte dei tumori umani si sviluppa nell'arco di molti decenni	371
Il trasferimento genico mediante vettori adenovirali e vettori virali adenoassociati	345	Espansione clonale e mutazioni driver successive	371
La suscettibilità delle malattie alla cura mediante terapia genica <i>in vivo</i>	345	Il cancro si sviluppa accelerando le mutazioni in due modi principali	372
Due primi esempi di successo della terapia genica <i>in vivo</i>	346	L'età di insorgenza del cancro è generalmente tardiva	372
Una panoramica delle terapie con RNA e oligonucleotidi	346	Cancri nell'infanzia e cancro che derivano da cellule embrionali	373
FOCUS 12 CLINICO La terapia mediante modulazione dello splicing per la distrofia muscolare di Duchenne e l'atrofia muscolare spinale	348	L'eterogeneità intratumorale scaturisce dall'infiltrazione cellulare, dall'evoluzione clonale e dal differenziamento delle cellule staminali tumorali	373

10.2 Oncogeni e geni oncosoppressori	375	Profili di metilazione del DNA nelle cellule tumorali e loro effetti sull'espressione genica	397
Le due classi fondamentali di geni del cancro	375	Interazioni genoma-epigenoma e avvio epigenetico della tumorigenesi	398
FOCUS 10.2 <i>Il cancro come malattia delle cellule staminali</i>	376		
Oncogeni virali e ruolo naturale degli oncogeni cellulari	377	10.4 Nuove conoscenze dagli studi del cancro su scala genomica	399
Come i normali proto-oncogeni cellulari sono attivati per diventare geni del cancro	378	Il sequenziamento del genoma ha rivelato una straordinaria diversità mutazionale nei tumori e nuove conoscenze sull'evoluzione del cancro	400
L'attivazione attraverso l'amplificazione genica	379	Il numero delle mutazioni	400
L'attivazione di un oncogene indotta da una traslocazione	379	Processi mutazionali ed evoluzione del cancro	401
Le mutazioni con acquisto di funzione	380	L'eterogeneità inter- e intra-tumorale	402
I geni oncosoppressori: normali funzioni, ipotesi dei due colpi e perdita di eterozigosi dei marcatori associati	382	Definizione del panorama delle mutazioni driver nel cancro e istituzione di un inventario completo dei geni di suscettibilità al cancro	403
Cancro familiari e ipotesi dei due colpi	383	Geni del cancro e distribuzione delle mutazioni driver	404
La perdita di eterozigosi	384	I nuovi geni di suscettibilità al cancro	404
I ruoli chiave dei geni oncosoppressori gatekeeper nel bloccare la transizione G1/S nel ciclo cellulare	385	I geni tumorali non classici legano il metabolismo all'epigenoma	405
Il ruolo aggiuntivo di p53 nell'attivazione di diverse vie dell'apoptosi per garantire la distruzione delle cellule maligne	386	Il tracciamento della storia mutazionale dei tumori: solo una delle diverse applicazioni della genomica e della trascrittomica delle singole cellule nel cancro	405
Coinvolgimento degli oncosoppressori nei rari cancro familiari e geni oncosoppressori non classici	387	Il sequenziamento dell'RNA su scala genomica permette di comprendere il legame tra i genomi tumorali e la biologia del cancro e facilita la classificazione dei tumori	406
Gli oncosoppressori non classici	388	La necessità di focalizzarsi su vie biologiche importanti per l'evoluzione delle cellule tumorali	408
FOCUS 10.3 <i>Un ruolo centrale nel cancro per il gene TP53 che produce la proteina p53, un oncosoppressore non classico</i>	389	La trascrittomica nelle singole cellule	408
Il significato dei miRNA e dei lunghi RNA non codificanti nel cancro	390	10.5 Sviluppi della genetica per la terapia del cancro	409
		Trattamenti o prevenzione?	410
10.3 Instabilità genomica e disregolazione epigenetica nel cancro	390	Le terapie antitumorali mirate sono dirette contro le proteine chiave delle cellule tumorali coinvolte nell'oncogenesi o nell'elusione dell'immunosorveglianza	410
Una panoramica dell'instabilità del genoma e dell'epigenoma nel cancro	390	Le terapie mirate usando farmaci a piccola molecola	410
I differenti tipi di instabilità cromosomica nel cancro	391	Le terapie mirate usando gli anticorpi monoclonali	411
Cromotripsis e cromoplessia	393	Terapia con cellule CAR-T e uso di linfociti T geneticamente modificati nel trattamento del cancro	412
Telomeri e instabilità dei cromosomi	393	Basi molecolari della ricomparsa dei tumori ed evoluzione della farmacoresistenza nei tumori	413
L'inadeguatezza del sistema di riparazione dei mismatch provoca errori di replicazione non riparati e instabilità globale del DNA	394	Le basi della ricomparsa dei tumori	413
Il meccanismo di riparazione dei mismatch	394	L'evoluzione della farmacoresistenza	414
Le conseguenze della presenza di un meccanismo di riparazione dei mismatch difettoso	395	FOCUS CLINICO 14 <i>Le biopsie liquide nel cancro: verso la pratica clinica</i>	414
FOCUS CLINICO 13 <i>Caso di studio: la sindrome di Lynch</i>	396	La speranza nelle terapie farmacologiche combinate	415
La classificazione dei diversi geni della suscettibilità al cancro in base alla funzione epigenetica, alla disregolazione epigenetica e all'interazione epigenoma-genoma	397	■ SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	415
La classificazione dei geni del cancro in base alla funzione epigenetica	397		

Capitolo 11**Test genetici e genomici
nella pratica clinica
Aspetti pratici ed etici****11.1 Panoramica sui test genetici**

Differenti fonti di materiali e differenti livelli dei test genetici

Test genetici predittivi e screening genetici

I test genetici diretti e indiretti

Come possiamo valutare i test genetici

11.2 Test genetici per le anomalie cromosomiche e le varianti strutturali patogenetiche

Lo screening delle aneuploidie fetali con il metodo della PCR quantitativa fluorescente

Le aneuploidie autosomiche

Le aneuploidie dei cromosomi sessuali

Lo screening non invasivo delle aneuploidie fetali

La ricerca di varianti del numero di copie di grandi dimensioni usando l'analisi cromosomica basata sui microarray di SNP

FOCUS CLINICO 15 *L'analisi cromosomica con array di SNP per identificare eterodisomia/isodisomia in un caso di sindrome di Prader-Willi*

Rilevamento e ricerca delle fusioni geniche oncogeniche usando, rispettivamente, FISH e sequenziamento mirato dell'RNA

FISH sui cromosomi e sue applicazioni

Il sequenziamento mirato dell'RNA dei trascritti di un gene di fusione

Il rilevamento di delezioni e duplicazioni patogenetiche di medie e piccole dimensioni in loci definiti si ottiene spesso utilizzando i metodi MLPA o ddPCR

Il test di amplificazione multipla con sonde dipendenti dalla ligazione (MLPA)

La PCR digitale a goccia (ddPCR)

Due percorsi molto diversi verso lo screening universale dell'intero genoma alla ricerca di varianti strutturali: il sequenziamento dell'intero genoma e la mappatura ottica del genoma

11.3 Test genetici e genomici per le mutazioni puntiformi patogenetiche e test per la metilazione del DNA

FOCUS CLINICO 11.1 *Il sequenziamento massivo in parallelo (di nuova generazione) dell'intero genoma*

Diversi metodi consentono una rapida genotipizzazione di mutazioni puntiformi specifiche

I vantaggi della genotipizzazione multipla

La genotipizzazione multipla usando la spettrometria di massa

La ricerca delle mutazioni: dai geni e pannelli di geni al sequenziamento dell'intero esoma e dell'intero genoma

Il sequenziamento dell'intero esoma e dell'intero genoma

I pannelli di geni virtuali

L'interpretazione e la convalida delle varianti di sequenza possono essere supportate da un'ampia varietà di risorse disponibili online

FOCUS CLINICO 11.2 *Il sequenziamento mirato del DNA per la ricerca di mutazioni*

Referti clinici e nomenclatura delle varianti di sequenza

Standard e linee guida per l'interpretazione delle varianti di sequenza

FOCUS CLINICO 11.3 *La nomenclatura delle varianti di sequenza*

Le risorse *in silico* per descrivere e interpretare le varianti della sequenza

Risultati accidentali e varianti di significato clinico incerto

Il rilevamento dei profili di metilazione del DNA aberranti associati alle malattie

Il sequenziamento con il metodo del bisolfito

MLPA sensibile alla metilazione (MS-MLPA)

11.4 Test genetici e genomici: organizzazione dei servizi e applicazioni pratiche

La trasformazione dei servizi genetici in servizi di medicina genomica

FOCUS CLINICO 11.4 *Iniziative nazionali per la medicina genomica e sviluppo dei servizi di medicina genomica di base*

Una panoramica dei test genetici diagnostici e presintomatici o predittivi

I test a cascata

FOCUS CLINICO 11.6 *Sindrome di Lynch e cancro familiare alla mammella (BRCA1/BRCA2/PALB2): rischi e screening tumorali*

I test genetici predittivi in età pediatrica

I test genetici presintomatici per malattie il cui decorso non può essere modificato dall'intervento medico

Le diverse modalità di diagnosi delle condizioni genetiche nel periodo prenatale

FOCUS CLINICO 11.7 *Consultazioni genetiche e consulenza genetica*

420

420

422

422

423

424

426

426

426

427

427

429

430

430

431

432

433

434

435

436

437

438

441

442

442

442

443

443

444

446

446

446

447

449

450

450

450

451

452

453

454

454

456

457

458

458

458

459

460

I test genetici preimpianto sono condotti per prevenire la trasmissione di un difetto genetico usando la fecondazione <i>in vitro</i>	462	Le complicazioni nella diagnosi delle malattie mitocondriali	483
Test prenatale non invasivo (NIPT) e analisi dell'intero genoma del feto	463	Le complicazioni derivanti dalle informazioni accidentali, aggiuntive, secondarie o inaspettate	484
Le innovazioni tecnologiche	464	FOCUS CLINICO 19 <i>Caso di studio: i test genetici di scarso valore predittivo in assenza di un chiaro fenotipo clinico</i>	485
Una panoramica dei diversi tipi di screening genetico	465	I problemi di consenso nei test in età pediatrica	486
Lo screening in gravidanza per le anomalie fetali	466	FOCUS CLINICO 20 <i>Caso di studio: l'attribuzione erronea di una parentela genetica come esempio di scoperta accidentale</i>	487
Lo screening neonatale offre la possibilità di un intervento medico precoce	467	Le questioni etiche e sociali nella diagnosi e nei test prenatali	487
Vantaggi e svantaggi dello screening neonatale	468	La diagnosi genetica preimpianto (DGP)	488
Lo screening neonatale con sequenziamento dell'intero genoma (WGS)	468	Il sequenziamento del genoma dei neonati	488
I diversi tipi di screening dei portatori per le condizioni autosomiche recessive	469	I problemi etici e sociali legati ad alcuni trattamenti emergenti per le malattie genetiche	489
L'esempio dello screening della β -talassemia	469	La disparità nella disponibilità dei trattamenti	490
L'esempio dello screening della malattia di Tay-Sachs	470	L'etica del trattamento delle malattie dell'mtDNA mediante donazione mitocondriale	491
Lo screening preconcezionale delle coppie portatrici	470	L'etica delle modifiche geniche nella linea germinale per la terapia genica e il miglioramento genetico	491
Le nuove tecnologie genomiche sono sfruttate nella diagnostica del cancro	471	La terapia genica germinale (nucleare)	492
I diversi biomarcatori del cancro	471	Il miglioramento genetico e i "bambini di design"	493
I test multipli utilizzando il sequenziamento mirato del DNA	472	■ SOMMARIO ■ DOMANDE ■ BIBLIOGRAFIA PER APPROFONDIRE	493
I test non invasivi per il cancro utilizzano le biopsie liquide	472	■ GLOSSARIO	498
L'aggiramento dei servizi sanitari: l'ascesa dei test genetici diretti al consumatore (DTC)	472	■ INDICE ANALITICO	507
La genetica fai da te (DIY)	474		
I limiti dei test genetici DTC	474		
Gli svantaggi della maggiore sensibilità ottenuta attraverso il sequenziamento del genoma intero: l'aumento dell'incertezza sul significato delle varianti	475		
11.5 Questioni etiche, legali e sociali nei test genetici	476		
Le informazioni genetiche come informazioni familiari	476		
FOCUS CLINICO 18 <i>Caso di studio: consenso e dovere di assistenza ai familiari</i>	477		
I problemi del consenso nei test genetici	478		
Una diversa lente di consenso per i test genomici?	480		
La capacità di generare dati genetici sta superando la capacità di fornire un'interpretazione clinica	481		
Scoperta di nuovi geni malattia e cambiamento dei concetti di diagnosi	482		

LE RISORSE DIGITALI

A questo indirizzo sono disponibili le risorse digitali di complemento al libro:

universita.zanichelli.it/strachan-gg2e

Per accedere alle risorse protette è necessario registrarsi su my.zanichelli.it e inserire il codice di attivazione personale che si trova sul bollino argentato nella prima pagina del libro.

Dal sito del libro è possibile:

- guardare i **video** su struttura e funzione del DNA e su altri processi biomolecolari;
- consultare le **Risposte alle domande** di fine capitolo;
- trovare il link per i **test interattivi di autovalutazione**.

Le risorse digitali protette sono disponibili per chi acquista il libro nuovo. L'accesso alle risorse digitali protette è personale, non condivisibile e non cedibile, né autonomamente né con la cessione del libro cartaceo.