

Guida di riferimento ai principali temi trattati

Prefazione	XIV
Per accedere alla letteratura	XV
Ringraziamenti	XVI
	XVII

CAPITOLO 1

Principi fondamentali del DNA, dei cromosomi e delle cellule

1.1 La struttura e la funzione degli acidi nucleici	1
<ul style="list-style-type: none"> • Concetti generali: il materiale genetico, i genomi e i geni • La chimica alla base degli acidi nucleici • L'appaiamento di basi e la doppia elica • La replicazione del DNA e la DNA polimerasi • I geni, la trascrizione e il dogma centrale della biologia molecolare 	1 2 3 5 6
1.2 La struttura e la funzione dei cromosomi	7
<ul style="list-style-type: none"> • Perché abbiamo bisogno di cromosomi altamente strutturati e come sono organizzati • La funzione del cromosoma: origini di replicazione, centromeri e telomeri 	7 8 8 8 9
1.3 Il DNA e i cromosomi nella divisione cellulare e nel ciclo cellulare	9
<ul style="list-style-type: none"> • Differenze nel numero di copie di DNA tra le cellule • La mitosi: la forma comune di divisione cellulare • La meiosi: una divisione cellulare riduttiva specializzata che dà origine agli spermatozoi e agli oociti • Perché ogni nostro gamete è unico 	9 9 10 11 11 12 13 14 15 15

Sommario 16, Domande 17, Bibliografia 17

CAPITOLO 2

Struttura fondamentale del gene, espressione genica e organizzazione del genoma umano

2.1 La struttura e l'espressione dei geni che codificano proteine	18
--	-----------

<ul style="list-style-type: none"> • Organizzazione genica: esoni e introni • Lo splicing dell'RNA: unire le informazioni genetiche negli esoni • La traduzione: decodificare l'RNA messaggero per produrre un polipeptide • Dal polipeptide neosintetizzato alla proteina matura 	19 19 20 21 22 24 24 25 25 26 28 28
2.2 I geni codificanti RNA e l'RNA non codificante	29
<ul style="list-style-type: none"> • La straordinaria struttura secondaria e la versatilità dell'RNA • Gli RNA che agiscono come regolatori specifici: da insolite eccezioni a opinione diffusa 	30 31 32 32 32
2.3 Definire i dettagli del nostro genoma e il loro significato	32
<ul style="list-style-type: none"> • Il Progetto Genoma Umano: definire i dettagli del genoma nucleare • Identificare i geni e altri elementi del DNA importanti sotto il profilo funzionale grazie alla conservazione evolutiva • Il progetto ENCODE: le analisi funzionali per determinare che cosa faccia il nostro genoma 	33 34 35 35 35 38 38 38 39
2.4 L'organizzazione e l'evoluzione del genoma umano	39
<ul style="list-style-type: none"> • Una breve panoramica dei meccanismi evolutivi che hanno plasmato il nostro genoma • Quanto del nostro genoma è importante dal punto di vista funzionale? • Il genoma mitocondriale: utilizzo efficiente, ma autonomia limitata • La distribuzione dei geni nel genoma umano • Le dimensioni del DNA ripetitivo nel genoma umano • L'organizzazione delle famiglie geniche • L'importanza della duplicazione genica e del DNA ripetitivo codificante 	39 40 40 41 42 42 44 45

Il dosaggio	45		
Le nuove varianti genetiche	45		
• Il DNA codificante altamente ripetitivo nel genoma umano	47		
Le ripetizioni derivate da trasposoni nel genoma umano	48		
Sommario 50, Domande 50, Bibliografia 51			
CAPITOLO 3			
I principi che stanno alla base delle tecnologie essenziali per lo studio del dna	52		
3.1 Il clonaggio del DNA e la PCR	52		
• Il frazionamento e la purificazione del DNA ottenuti tramite la trasformazione delle cellule con i DNA ricombinanti	52		
L'amplificazione	53		
I vettori molecolari	53		
La separazione fisica del clone	55		
Produrre il DNA ricombinante	55		
• Le librerie di DNA e gli usi e i limiti del clonaggio del DNA	57		
• Le basi della reazione a catena della polimerasi (PCR)	57		
• La PCR quantitativa e la PCR <i>real-time</i>	59		
3.2 I principi dell'ibridazione dell'acido nucleico	60		
• La formazione di eteroduplex artificiali	60		
• I saggi di ibridazione: usare acidi nucleici noti per trovare le sequenze correlate in una popolazione di acidi nucleici in esame	61		
Usare parametri di ibridazione più o meno restrittivi	62		
Due tipi di saggi di ibridazione	63		
• L'ibridazione su microarray: un'ibridazione in parallelo su larga scala per sonde fissate su supporto	64		
3.3 Le basi del sequenziamento del DNA	67		
• Il sequenziamento del DNA con dideozinucleotidi	67		
• Il sequenziamento massivo in parallelo del DNA (sequenziamento di nuova generazione)	70		
Sommario 71, Domande 72, Bibliografia 72			
CAPITOLO 4			
I principi della variabilità genetica	73		
4.1 Le origini della variabilità della sequenza del DNA	74		
• La variabilità genetica deriva da errori endogeni nella funzione dei cromosomi e del DNA	75		
Gli errori nella replicazione del DNA	75		
La segregazione cromosomica e gli errori di ricombinazione	76		
• Diverse fonti endogene ed esogene possono danneggiare il DNA alterandone la struttura chimica	76		
Il danno chimico endogeno al DNA	77		
Il danno chimico del DNA causato da mutageni esterni	78		
4.2 La riparazione del DNA	79		
• La riparazione del danno al DNA o della sequenza alterata su un singolo filamento di DNA	79		
• La riparazione delle lesioni del DNA che interessano entrambi i filamenti dell'elica	81		
La riparazione dei legami crociati tra filamenti complementari del DNA	83		
• Il mancato rilevamento di un danno del DNA, la tolleranza al danno del DNA e la sintesi translesione	83		
4.3 La scala della variabilità genetica umana	86		
• Varianti del DNA, polimorfismi e sviluppo di un catalogo completo della variabilità genetica umana	86		
• Le varianti a singolo nucleotide e i polimorfismi a singolo nucleotide	87		
• Il limite impreciso fra indel e variazioni del numero di copie	88		
• Microsatelliti e altri polimorfismi dovuti al numero variabile di ripetizioni in tandem	88		
• La variazione strutturale e la variazione a basso numero di copie	89		
• Facciamo il punto sulla variabilità genetica umana	90		
4.4 La variabilità genetica funzionale e il polimorfismo proteico	91		
• La maggior parte della variabilità genetica ha un effetto neutro sul fenotipo, ma una piccola parte è dannosa	91		
Le mutazioni dannose	92		
• La selezione darwiniana positiva e i cambiamenti adattativi del DNA nei lignaggi umani	92		
Gli adattamenti ad ambienti alterati	93		
• La generazione della diversità proteica attraverso la duplicazione genica e il processamento alternativo di un singolo gene	95		
La diversità attraverso la duplicazione genica	95		
La variabilità indotta per via post trascrizionale	97		
4.5 La straordinaria variabilità genetica del sistema immunitario	98		
• La spiccata variabilità genetica in quattro classi proteiche del sistema immunitario	98		
• La variabilità genetica post-zigotica (somatica) casuale e mirata	99		
• I meccanismi somatici che consentono la produzione cellulo-specifica di immunoglobuline e recettori del linfocita T	100		
La diversità combinatoria attraverso la ricombinazione somatica	100		

La produzione di un'ulteriore diversità	101
• Le proteine MHC (HLA): funzioni e polimorfismi	102
Le proteine MHC di classe I	102
Le proteine MHC di classe II	102
La restrizione MHC	103
Il polimorfismo dell'MHC	103
• L'importanza del sistema HLA in medicina	104
Il trapianto e l'analisi di istocompatibilità	104
Le associazioni malattia HLA	105
Sommario	106
Domande	107
Bibliografia	107

CAPITOLO 5

Le malattie monogeniche: modelli di trasmissione ereditaria, variabilità fenotipica e frequenze alleliche **108**

5.1 Introduzione: terminologia, risorse elettroniche e alberi genealogici	109
• Terminologia di base e risorse elettroniche con informazioni sulle malattie monogeniche	109
Gli alleli e le combinazioni alleliche	109
Fenotipi dominanti e recessivi	109
L'informazione elettronica sulle malattie monogeniche	109
• Indagare sulla storia familiare della malattia e registrare gli alberi genealogici.	110
5.2 I concetti basilari dei modelli di trasmissione ereditaria mendeliana del DNA mitocondriale	111
• La trasmissione ereditaria autosomica dominante	111
• La trasmissione ereditaria autosomica recessiva	112
La consanguineità	112
Fenotipi correlati alla malattia nei portatori	114
• La trasmissione ereditaria legata all'X e l'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
• La trasmissione ereditaria pseudoautosomica e la trasmissione ereditaria legata all'Y	117
La trasmissione ereditaria pseudoautosomica	118
La trasmissione ereditaria legata all'Y	118
• La trasmissione ereditaria matrilineare delle malattie del DNA mitocondriale	119
L'eteroplasmia variabile e la variabilità clinica	119
5.3 Incertezza, eterogeneità ed espressione variabile dei fenotipi mendeliani	120
• Le difficoltà che sorgono nel definire	

le modalità di trasmissione ereditaria nei piccoli alberi genealogici	120
• Nuove mutazioni e mosaicismo	121
Le mutazioni post-zigotiche e il mosaicismo	122
• L'eterogeneità nella corrispondenza fra i fenotipi e i geni e le mutazioni sottostanti	122
Eterogeneità del locus	122
L'eterogeneità allelica e fenotipica	124
• La non-penetranza e la penetranza legata all'età	124
L'età di insorgenza variabile nelle malattie a insorgenza tardiva	125
• L'espressione variabile dei fenotipi mendeliani nelle famiglie	126
L'imprinting	127
L'anticipazione	127

5.4 Le frequenze alleliche nelle popolazioni **128**

• Le frequenze alleliche e la legge di Hardy-Weinberg	129
La legge di Hardy-Weinberg	129
• Applicazioni e limiti della legge di Hardy-Weinberg	129
L'accoppiamento non casuale	130
• Le modalità con cui cambiano le frequenze alleliche nelle popolazioni	131
• Colli di bottiglia ed effetti del fondatore in una popolazione	131
• Mutazione contro selezione nella determinazione delle frequenze alleliche	133
• Il vantaggio degli eterozigoti: quando la selezione naturale favorisce i portatori di malattie recessive	135
Distinguere il vantaggio dell'eterozigote dall'effetto del fondatore	135

Sommario 136, **Domande** 137, **Bibliografia** 137

CAPITOLO 6

I principi della regolazione genica e l'epigenetica **138**

6.1 La regolazione genetica dell'espressione genica	140
• I promotori: i principali interruttori nei geni	140
• La modulazione della trascrizione, la regolazione tessuto-specifica, gli enhancer e i silenziatori	141
Gli enhancer, i silenziatori e gli elementi isolatori	141
L'attività di legame del fattore di trascrizione	142
• La regolazione genetica durante la maturazione dell'RNA: lo splicing e l'editing dell'RNA	143
La regolazione dello splicing dell'RNA	143
Lo splicing alternativo	144
L'editing dell'RNA	145
• La regolazione traduzionale attraverso le proteine regolatrici che agiscono in <i>trans</i>	145
• Il silenziamento genico post-trascrizionale attraverso i microRNA	146

• Reprimere i repressori: gli RNA endogeni concorrenti sequestrano il miRNA	148	La regolazione genica anomala nei loci soggetti a imprinting	170
• Gli RNA circolari come abbondanti spugne di miRNA	148	• L'imprinting e la riproduzione assistita	172
6.2 La modificazione della cromatina e i fattori epigenetici nella regolazione genica	149	Sommario 173, Domande 174, Bibliografia 174	
• I cambiamenti nella struttura della cromatina che producono un'espressione genica modificata	150	CAPITOLO 7	
• La modificazione degli istoni nei nucleosomi	150	La variabilità genetica provoca malattie causando anomalie nel DNA e nei cromosomi	176
• L'effetto degli istoni modificati e delle varianti istoniche sulla struttura della cromatina	152	7.1 In che modo la variabilità genetica provoca le malattie	177
• La funzione della metilazione del DNA nelle cellule dei mammiferi	153	7.2 Le sostituzioni nucleotidiche patogene e le piccole inserzioni e delezioni	177
• La metilazione del DNA: meccanismi, ereditabilità e funzioni globali durante le prime fasi dello sviluppo e nella gametogenesi	154	• Sostituzioni patogene di un singolo nucleotide nelle sequenze codificanti	177
• Il meccanismo della metilazione del DNA	154	• Le frequenze relative delle sostituzioni silenziose e di quelle che rimpiazzano l'amminoacido	178
• La metilazione del DNA nelle prime fasi dello sviluppo e nella gametogenesi	156	• La sostituzione conservativa: rimpiazzare un amminoacido con un altro simile	179
• Gli RNA non codificanti nella regolazione epigenetica	156	• Le sostituzioni non conservative: gli effetti su polipeptidi/proteine	180
• La regolazione <i>cis</i> -e <i>trans</i> -agente	157	• Mutazioni che producono codoni di terminazione prematura e splicing aberrante dell'RNA	181
• L'imprinting genomico: l'espressione differenziale degli alleli ereditati per via materna e paterna	158	• Mutazioni di splicing patogene	181
• Estensione e importanza dell'imprinting genomico	159	• Origine e frequenza delle mutazioni puntiformi patogene	183
• Stabilire l'imprinting sesso-specifico attraverso la metilazione differenziale	159	• I tassi di mutazione nel genoma umano	184
• L'inattivazione del cromosoma X: la compensazione delle differenze sessuali nel dosaggio genico	161	• Il carico patogeno complessivo	185
• Il conteggio del cromosoma X e le scelte di inattivazione	162	• Gli effetti dell'età e del sesso dei genitori sui tassi di mutazione nelle cellule germinali	185
• L'RNA <i>XIST</i> e l'inizio dell'inattivazione dell'X	162	• Le malattie derivanti dall'effetto dell'età paterna e la selezione spermatogonica egoista	185
• Sfuggire all'inattivazione dell'X	163	• Osservazione e classificazione delle mutazioni puntiformi che provocano le malattie	186
• Gli epigenomi e la dissezione delle basi molecolari della regolazione epigenetica	163	• Le mutazioni puntiformi nel DNA codificante	187
• L'International Human Epigenetic Consortium (IHEC)	164	• Le mutazioni puntiformi nei geni codificanti RNA e in altro DNA non codificante	187
6.3 Le anomalie della regolazione epigenetica nelle malattie mendeliane e nella disomia uniparentale	164	• I database delle mutazioni patogene nell'uomo	187
• I principi della disregolazione epigenetica	164	7.3 Le mutazioni patogene da moderate a larga scala innescate dal DNA ripetitivo	188
• Le «malattie della cromatina» dovute a mutazioni nei geni che determinano modificatori della cromatina	165	• L'espansione patogena di brevi ripetizioni in tandem di oligonucleotidi nel DNA codificante	189
• La sindrome di Rett: una tipica malattia della cromatina	166	• L'espansione patogena della polialanina	190
• Le malattie che derivano dalla disregolazione dell'eterocromatina	167	• L'espansione instabile delle ripetizioni CAG che codificano la poliglutamina	190
• Il silenziamento genico inappropriato	167	• Espansione instabile patogena di brevi ripetizioni in tandem non codificanti	192
• La riduzione dell'eterocromatina	168	• Scambi patogeni di sequenze fra cromatidi a livello di ripetizioni in tandem malappaiate	193
• La disomia uniparentale e le malattie correlate all'imprinting	169		

• Scambi patogeni di sequenze fra ripetizioni distanti nel DNA nucleare e nel mtDNA	194	L'insufficienza di α 1-antitripsina: i corpi inclusi e la morte della cellula	220
Microdelezioni e microduplicazioni cromosomiche	195	La disseminazione prodotta da stampi di proteine aberranti	220
Delezioni derivanti da ripetizioni dirette nel mtDNA	196		
La ricombinazione intracromatidica fra ripetizioni invertite	198		
7.4 Le anomalie cromosomiche	199	7.7 Le correlazioni fra genotipo e fenotipo e i motivi per cui le malattie monogeniche spesso non sono semplici	220
• Le anomalie cromosomiche strutturali	200	• La difficoltà di ottenere correlazioni affidabili tra genotipo e fenotipo	221
Le duplicazioni, le delezioni e le inversioni di ampie dimensioni	202	Spiegazioni particolari contro spiegazioni generali per le basse correlazioni fra genotipo e fenotipo	221
Le traslocazioni cromosomiche	202	• Geni modificatori e fattori ambientali: spiegazioni comuni per le scarse correlazioni fra genotipo e fenotipo	224
Gli isocromosomi	204	I geni modificatori: l'esempio della β -talassemia	224
• Le anomalie cromosomiche che comportano l'acquisto o la perdita di interi cromosomi	204	I fattori ambientali che influenzano il fenotipo delle malattie genetiche	227
La poliploidia	205		
L'aneuploidia	205		
Gli effetti dell'età materna nella sindrome di Down	206		
La mixoploidia	207	Sommario 227, Domande 228, Bibliografia 229	
7.5 Gli effetti delle varianti patogene sul fenotipo	207	CAPITOLO 8	
• Le mutazioni che colpiscono il funzionamento di un singolo gene: perdita di funzione e acquisto di funzione	207	L'identificazione dei geni delle malattie e la suscettibilità genetica alle malattie complesse	231
Le mutazioni con perdita di funzione	208	8.1 L'identificazione dei geni nelle malattie monogeniche	231
Le mutazioni con acquisto di funzione	209	Le strategie posizione-dipendenti	232
• L'effetto delle varianti patogene dipende da come interagiscono i prodotti allelici: una revisione della dominanza e della recessività	211	Il passaggio finale: lo screening di mutazioni	233
Le mutazioni con perdita di funzione rispetto a quelle con acquisto di funzione nelle malattie dominanti e recessive	211	• L'analisi di linkage per mappare i geni delle malattie monogeniche in regioni subcromosomiche definite	233
La sorprendente perdita di funzione prodotta dagli effetti dominanti-negativi negli eterozigoti	211	Le mappe genetiche umane	233
• Mutazioni con acquisto di funzione e con perdita di funzione nello stesso gene producono fenotipi differenti	213	I principi del linkage genetico	234
• La disregolazione di molti geni che deriva dalle aneuploidie e dalle mutazioni puntiformi nei geni regolatori	215	Le frequenze di ricombinazione meiotica nell'uomo	235
Le aneuploidie segmentali	216	Le analisi standard di linkage su scala genomica	237
Le sindromi da geni contigui	216	La mappatura per autozigosi in famiglie estese di consanguinei	239
7.6 Una visione della patologia molecolare dal punto di vista della struttura delle proteine	217	• Le anomalie cromosomiche e altre mutazioni su ampia scala come percorsi per identificare i geni delle malattie	239
• La patogenesi che ha origine dal misfolding proteico	218	• Il sequenziamento dell'esoma: non preoccupiamoci di trovare una posizione per i geni delle malattie!	240
La regolazione del folding proteico	218	8.2 Approcci alla mappatura e all'identificazione della suscettibilità genetica alle malattie complesse	242
Folding proteici aberranti che provocano malattie	218	• La natura poligenica e multifattoriale delle malattie comuni	242
• In che modo l'aggregazione delle proteine può provocare una malattia	218	Complessità nella previsione del rischio di malattia	243
L'anemia falciforme: fibre proteiche dannose	219	• Le difficoltà relative alla mancanza di penetranza e alla classificazione	

dei fenotipi nelle malattie complesse	245	L'utilità degli studi di GWA	271
La classificazione dei fenotipi e delle fenocopie	245	Valutazione e previsione del rischio di malattie	271
• Stimare il contributo apportato dai fattori genetici alla varianza delle malattie complesse	246	• Nuovi punti di vista nei processi biologici nelle malattie complesse possono offrire nuovi approcci nella classificazione e nella cura delle malattie	272
Gli studi sulle famiglie	246	La patogenesi delle malattie infiammatorie intestinali	273
Gli studi sull'adozione e sui gemelli	247	I nessi esistenti fra i diversi processi patologici delle malattie	275
La variabilità nel contributo genetico alle malattie	248	• I fattori protettivi e le basi della resistenza genetica alle malattie infettive	276
• Le analisi di linkage per la ricerca dei geni delle malattie complesse	248	• L'interazione gene-gene (epistasi) nelle malattie complesse	278
Le analisi di linkage parametriche nei sottogruppi mendeliani	248	• Le interazioni geni-ambiente nelle malattie complesse	279
L'analisi di linkage non parametrica e di coppie di fratelli/sorelle affetti	249	Una pletera di «fattori ambientali»	280
L'identificazione del gene di suscettibilità alla malattia	250	Gli studi prospettici di coorte	281
• Il principio dell'associazione allelica	252	• L'epigenetica nelle malattie complesse e nell'invecchiamento: significato e approcci sperimentali	281
• Il linkage disequilibrium come base delle associazioni alleliche	253	Ricerche sperimentali	282
La condivisione di segmenti cromosomici ancestrali	255	I cambiamenti epigenetici nel corso dell'invecchiamento	283
• Come si realizzano gli studi di associazione su scala genomica	257	I cambiamenti epigenetici nei gemelli monozigoti	284
Il test di disequilibrio della trasmissione	260	Le origini della salute e della malattia nell'adulto durante lo sviluppo	284
• Partire dalla regione subcromosomica candidata per identificare le varianti genetiche casuali in una malattia complessa	260	Gli effetti epigenetici transgenerazionali	285
Identificare le varianti causali	261	Sommario 286, Domande 287, Bibliografia 287	
• I limiti degli studi di GWA e il problema dell'ereditabilità mancante	262		
• I contributi relativi delle varianti comuni e delle varianti rare alla suscettibilità alle malattie complesse	263	CAPITOLO 9	
L'ipotesi malattia comune-variante comune	263	Gli approcci genetici al trattamento delle malattie	290
In che modo sono mantenuti gli alleli comuni deleteri	264		
L'ipotesi malattia comune-variante rara	264	9.1 Una panoramica sul trattamento della malattia genetica e sul trattamento genetico della malattia	291
• Le variazioni nel numero di copie associate a malattie complesse	266	• Tre diverse strategie ad ampio raggio per trattare le malattie genetiche	291
I CNP e le CNV nei disturbi neuropsichiatrici	266	La terapia additiva per le carenze genetiche	291
• La crescita esplosiva recente della popolazione umana ha fatto sì che la maggior parte delle varianti di sequenze codificanti sia rappresentata da varianti rare	267	Appropriatezza della terapia additiva molecolare	292
• Il sequenziamento massivo in parallelo del DNA per identificare le varianti rare delle sequenze associate alle malattie complesse	268	Il trattamento di malattie che determinano effetti certamente nocivi	293
Le varianti di sequenze <i>de novo</i>	269	Il trattamento attraverso la modificazione della suscettibilità alle malattie	293
Il contributo generale apportato dalle varianti rare	269	• Opzioni di trattamento molto diverse per errori congeniti del metabolismo diversi	294
		Due ampie classi fenotipiche	294
		La terapia additiva	294
		Terapia o prevenzione degli effetti nocivi di livelli alti di metaboliti	295
		Fortune alterne nel trattamento	298
		• Il trattamento genetico delle malattie può essere condotto a molti livelli diversi	298
8.3 La conoscenza dell'architettura genetica delle malattie complesse e i contributi dei fattori ambientali ed epigenetici	270		
Il successo degli studi di associazione su scala genomica	270		

9.2 I contributi genetici nel trattamento della malattia con farmaci a piccole molecole e proteine terapeutiche

- I farmaci a piccole molecole 299
- I nuovi approcci 300
- Una panoramica di come le differenze genetiche influiscono sul metabolismo e sulle prestazioni dei farmaci a piccole molecole 300
 - I diversi stadi in cui le varianti genetiche influenzano il metabolismo di un farmaco 301
 - Le reazioni di fase I e II nel metabolismo di un farmaco 301
 - Le differenze fenotipiche derivanti dalle varianti genetiche nel metabolismo dei farmaci 302
- Le varianti genetiche negli enzimi della famiglia del citocromo P450 nella fase I del metabolismo dei farmaci 303
 - Le varianti genetiche nel CYP2D6 e le loro conseguenze 304
 - Le varianti genetiche in altri enzimi P450 305
- Le varianti genetiche negli enzimi che operano nella fase II del metabolismo dei farmaci 305
- Le risposte ai farmaci alterate che derivano da varianti genetiche nei bersagli farmacologici 307
- Quando i genotipi di loci multipli nei pazienti sono importanti per il trattamento farmacologico: l'esempio del warfarin 308
- Le ricadute dei progressi negli studi genetici: dall'identificazione dei geni di una nuova malattia ai farmaci a piccole molecole 310
 - La fibrosi cistica: una prospettiva non facile 311
 - L'ipercolesterolemia familiare: farmaci nuovi e preziosi 312
 - La sindrome di Marfan: i vantaggi di un modello murino 312
 - La sclerosi tuberosa: da una via biologica a un farmaco promettente 313
- Le ricadute dei progressi genomici e lo sviluppo di farmaci generici come modo per superare il problema della scarsità di bersagli farmacologici 313
 - Le ricadute dei progressi nella genomica 313
 - Lo sviluppo di farmaci generici 314
- Lo sviluppo di farmaci diversi: le proteine ricombinanti per uso terapeutico prodotte con l'ingegneria genetica 314
- Gli anticorpi terapeutici geneticamente modificati con un potenziale terapeutico migliore 315
 - Gli anticorpi geneticamente modificati 316
 - Gli intracorpi 317

9.3 I principi della terapia genica e cellulare

- Due strategie generali nella terapia genica somatica 318

- Il problema della somministrazione: progettare strategie ottimali e sicure per inserire costrutti genetici nelle cellule dei pazienti 319
 - Efficienza e caratteristiche di sicurezza 321
- Le modalità diverse per trasferire costrutti genetici terapeutici e i vantaggi della terapia genica *ex vivo* 322
 - La terapia genica *in vivo* e *ex vivo* 324
- I sistemi non virali per il trasferimento di costrutti genetici terapeutici: la sicurezza a scapito dell'efficienza 325
- Il trasferimento virale di costrutti genici terapeutici: efficienza relativamente alta ma preoccupazioni per la sicurezza 325
 - I vettori virali integranti e non integranti 327
- L'importanza dei modelli di malattia per valutare terapie potenziali nell'uomo 328
 - I casi in cui i modelli di malattia di roditori possono risultare inadeguati 329

9.4 La terapia genica delle malattie ereditarie e infettive: applicazioni pratiche e futuri orientamenti

- I numerosi successi della terapia genica additiva *ex vivo* mirata alle cellule staminali ematopoietiche 331
 - Problemi di sicurezza nell'integrazione gammaretrovirale 333
 - Aumento dei profili di sicurezza utilizzando vettori lentivirali 334
 - La terapia genica *in vivo*: approcci, ostacoli e successi recenti 335
 - Trasferimento genico servendosi di vettori adenovirali e vettori virali adeno-associati 335
 - La trattabilità delle malattie con la terapia genica *in vivo* 336
 - Due esempi recenti di terapia genica *in vivo* coronata da successo 336
 - Le applicazioni nelle malattie complesse: l'esempio della malattia di Parkinson 337
 - Le terapie che mirano all'RNA: il silenziamento genico tramite l'interferenza dell'RNA e la modulazione dello splicing dell'RNA 338
 - La terapia del silenziamento genico che utilizza l'interferenza dell'RNA 338
 - La modulazione dello splicing 339
 - Prospettive future e nuovi approcci: cellule staminali terapeutiche, riprogrammazione cellulare ed editing genomico 339
 - Le cellule staminali embrionali terapeutiche 339
 - Le cellule staminali pluripotenti indotte terapeutiche 339
 - La riprogrammazione terapeutica delle cellule tramite transdifferenziazione 344
 - L'editing genomico terapeutico 344
 - Le prospettive della terapia genica della linea germinale per prevenir e le malattie del DNA mitocondriale 346
- Sommario 348, Domande 349, Bibliografia 349**

CAPITOLO 10**Genetica e genomica del cancro 351****10.1 Caratteristiche fondamentali ed evoluzione del cancro 351**

- Le caratteristiche che descrivono la crescita cellulare incontrollata e il cancro 351
- Il cancro come una battaglia fra la selezione naturale che opera a livello delle cellule e dell'organismo
 - Il bilancio fra proliferazione e morte cellulare 354
 - Perché non soccombiamo tutti al cancro 355
- Le cellule cancerose durante la loro evoluzione acquisiscono diverse caratteristiche biologiche peculiari 355
- L'inizio e la natura a molti stadi dell'evoluzione del cancro e perché la maggior parte dei cancri dell'uomo si sviluppa nel corso di molte decadi 358
 - L'espansione clonale e le successive mutazioni *driver* 359
 - Lo sviluppo del cancro attraverso mutazione accelerata 359
 - L'accumulo di mutazioni e l'età di insorgenza del cancro 360
- L'eterogeneità intratumorale si origina per infiltrazione cellulare, evoluzione clonale e differenziazione delle cellule staminali del cancro 361

10.2 Oncogeni e geni oncosoppressori 363

- Le due classi principali di geni del cancro 363
- Gli oncogeni virali e le funzioni naturali degli oncogeni cellulari 364
- L'attivazione oncogenica: riarrangiamenti cromosomici che danno come risultato un aumento dell'espressione genica o mutazioni con acquisto di funzione 366
 - L'attivazione attraverso amplificazione genica 366
 - L'attivazione genica indotta da traslocazione 367
 - Le mutazioni con acquisto di funzione 368
- I geni oncosoppressori: le funzioni normali, l'ipotesi dei due colpi e la perdita di eterozigosi nei marcatori collegati 370
 - I cancri familiari e il modello dei due colpi 370
 - La perdita di eterozigosi 371
- Il ruolo chiave dei geni oncosoppressori *gatekeeper* nella soppressione della transizione fra la fase G₁ e la fase S nel ciclo cellulare 372
- Il ruolo aggiuntivo di p53 nell'attivazione delle diverse vie dell'apoptosi per garantire che le cellule fuori controllo siano distrutte 373
- Le rare forme di cancro familiare e la necessità di rivedere il classico modellobdei due colpi del soppressore tumorale 374

L'aploinsufficienza e le mutazioni con acquisto di funzione 376
 Un modello rivisto per la soppressione tumorale 376

- L'importanza dei miRNA e dei lunghi RNA non codificanti nel cancro 376

10.3 Instabilità genomica e disregolazione epigenetica nel cancro 377

- Un quadro generale dell'instabilità genomica ed epigenetica nel cancro 377
- Tipi diversi di instabilità cromosomica nel cancro 379
 - La cromotripsia 381
 - I telomeri e la stabilità cromosomica 381
- Difetti nella riparazione dei mismatch provocano errori di replicazione non riparati e instabilità globale del DNA 382
 - Il meccanismo di riparazione dei mismatch 382
 - Le conseguenze di una riparazione dei mismatch difettosa 383
- La disregolazione epigenetica nel cancro e i suoi effetti sull'espressione genica e sulla stabilità del genoma 384
 - La metilazione aberrante del DNA 384
 - Le interazioni genoma-epigenoma 385

10.4 Nuovi contributi emersi dagli studi su scala genomica 385

- Analisi dell'espressione genica su scala genomica per selezionare profili di espressione genica distintivi clinicamente utili 386
 - Le applicazioni cliniche 387
- Il sequenziamento del genoma rivela la straordinaria diversità dell'insieme di mutazioni presenti nei tumori e porta nuove conoscenze sull'evoluzione del cancro 389
 - Il numero di mutazioni 390
 - I processi mutazionali e l'evoluzione del cancro 391
 - L'eterogeneità intertumoreale e intratumoreale 392
- Definire il panorama delle mutazioni *driver* nel cancro e la ricerca per realizzare un inventario completo dei geni di suscettibilità al cancro 392
 - La distribuzione dei geni del cancro e delle mutazioni *driver* 394
 - Nuovi geni di suscettibilità al cancro 394
 - I geni non classici del cancro collegano il metabolismo all'epigenoma 396

10.5 I progressi genetici nella terapia del cancro 396

- Trattamento o prevenzione? 397
- L'efficacia della terapia del cancro 398
- Le diverse capacità biologiche delle cellule del cancro forniscono molti punti d'attacco differenti potenzialmente terapeutici 399

• La terapia mirata del cancro	400	e in genomi ed esomi completi	422
• Le basi molecolari della recidiva del tumore e l'evoluzione della resistenza ai farmaci nel cancro	402	La ricerca di mutazioni basata su microarray gene-specifici	423
Le basi della recidiva dei tumori	402	L'analisi multiplex per la ricerca delle mutazioni: dai geni multipli agli esomi interi	423
L'evoluzione della resistenza ai farmaci	402	• L'interpretazione delle varianti delle sequenze e il problema delle varianti con un significato clinico incerto	425
Terapie farmacologiche combinate	403	L'interpretazione delle mutazioni e i database	428
Sommario 403, Domande 404, Bibliografia 405		Le varianti di significato clinico incerto	429
CAPITOLO 11		• La ricerca di possibili modificazioni patogene nei profili di metilazione della citosina	429
I test genetici dai geni ai genomi e l'etica dei test e delle terapie genetiche	407	Le tecnologie per la genotipizzazione di una specifica mutazione puntiforme o di uno SNP	430
11.1 Una panoramica sui test genetici	408	• La genotipizzazione in multiplex di varianti associate a una specifica malattia come forma di ricerca di mutazioni	432
La valutazione dei test genetici	408	11.4 I test genetici: l'organizzazione dei servizi e le applicazioni pratiche	433
• I test genetici: i saggi di genotipizzazione diretta, l'analisi delle mutazioni, i saggi su prodotti a valle e le analisi di linkage indirette	408	I test genetici su individui affetti e sui loro parenti stretti	434
Le analisi di linkage indirette	409	I test a cascata	435
I diversi livelli ai quali si possono effettuare i test genetici	410	• La diagnosi prenatale tradizionale utilizza campioni di tessuti fetali ottenuti con una procedura invasiva	435
11.2 La tecnologia dei test genetici per le anomalie cromosomiche e i cambiamenti di grandi dimensioni del DNA	411	• I test genetici preimpianto spesso analizzano una singola cellula nell'ambito della riproduzione assistita (fecondazione <i>in vitro</i>)	436
• Scoprire le aneuploidie usando la PCR quantitativa a fluorescenza	412	• Il test prenatale non invasivo (NIPT) e lo screening dell'intero genoma fetale	439
I principi della PCR quantitativa a fluorescenza	412	I progressi tecnologici	440
Le aneuploidie autosomiche	412	Dallo screening dell'aneuploidia fetale allo screening del genoma	440
Le aneuploidie dei cromosomi sessuali	413	• I test predittivi e presintomatici per le malattie monogeniche in individui asintomatici	441
Lo screening non invasivo delle aneuploidie fetali	414	I test presintomatici senza intervento medico	443
• Rilevare i cambiamenti nel numero di copie del DNA di ampie dimensioni mediante l'analisi del numero di copie del genoma basato sui microarray	414	• Una panoramica dei diversi tipi e livelli di screening genetici	443
L'ibridazione genomica comparativa con array (aCGH)	414	• Lo screening materno delle anomalie fetali	444
L'ibridazione con microarray di SNP	415	• Lo screening neonatale finalizzato all'intervento medico precoce	444
Varianti non classificate e scoperte casuali	416	Vantaggi e svantaggi	445
• La necessità dell'analisi convenzionale del cariotipo e della FISH (ibridazione fluorescente <i>in situ</i>) dei cromosomi	417	• Lo screening dei portatori per la prevenzione delle malattie nelle malattie autosomiche recessive gravi	446
La FISH dei cromosomi	417	Lo screening della β -talassemia	446
• Le tecnologie per il DNA finalizzate alla scoperta delle modificazioni patogene nel numero di copie di specifiche sequenze di DNA	417	Lo screening di comunità per la malattia di Tay-Sachs	446
Il metodo MLPA (<i>multiplex ligation-dependent probe amplification</i>)	419	• Le nuove tecnologie genomiche stanno cominciando a trasformare la diagnostica del cancro	447
11.3 La tecnologia dei test genetici per i cambiamenti di piccole dimensioni del DNA	422	Test multiplex usando il sequenziamento di un genoma bersaglio	447
• La ricerca di mutazioni puntiformi indefinite in singoli e molteplici geni			

	I test non invasivi per il cancro	448			
	• I test genetici per le malattie complesse e i test genetici offerti direttamente ai consumatori	449		• Le discriminazioni genetiche e le problematiche etiche, sociali e pratiche poste dal sequenziamento clinico su scala genomica	454
11.5	Considerazioni etiche e impatto sociale dei test genetici e degli approcci genetici al trattamento delle malattie	450		Le scoperte accidentali	455
	• La questione del consenso nell'esecuzione dei test genetici	450		Il sequenziamento del genoma neonatale	456
	Il problema del consenso per l'esecuzione dei test sui bambini	451		• L'etica della manipolazione genetica della linea germinale per prevenir e le malattie e per migliorare i tratti umani normali	457
	• I problemi della condivisione delle informazioni genetiche e i limiti della confidenzialità	452		Il miglioramento genetico e i bambini su misura	458
	• Problematiche etiche e sociali relative alla diagnosi e ai test prenatali	453		• Considerazioni etiche e sensibilità sociale verso il trattamento FIV delle patologie del DNA mitocondriale a tre genitori	459
	La diagnosi genetica preimpianto	453		Sommario	460,
	• Le restrizioni ai test genetici come risultato di un brevetto genico	453		Domande	461,
				Bibliografia	461
				Glossario	464
				Indice analitico	487

BOX DI APPROFONDIMENTO

CAPITOLO 1	1.1	La prevalenza di appaiamento di basi, la complementarietà di sequenza e le modalità di notazione della sequenza degli acidi nucleici	4
CAPITOLO 2	2.1	Le cornici di lettura per la traduzione e la separazione delle sequenze codificanti da parte degli introni	22
	2.2	Una breve sintesi della struttura proteica	27
	2.3	Come accedere a browser e database pubblici sul genoma	36
	2.4	Gli pseudogeni	46
CAPITOLO 3	3.1	Le endonucleasi di restrizione: da guardiani batterici a strumenti genetici	56
	3.2	La marcatura degli acidi nucleici e degli oligonucleotidi.	64
	3.3	L'elettroforesi su gel e l'elettroforesi capillare per la separazione degli acidi nucleici, in base alle dimensioni	69
CAPITOLO 4	4.1	Le conseguenze per la salute di una risposta inadeguata o di una mancata riparazione del danno del DNA	84
	4.2	Il sequenziamento del genoma personale e quello basato sulla popolazione	87
	4.3	Le selezioni positive (<i>sweep selettivi</i>) delle varianti vantaggiose del DNA	96
	4.4	I geni HLA, gli alleli e gli aplotipi	104
CAPITOLO 5	5.1	Risorse elettroniche contenenti informazioni relative a malattie monogeniche nell'uomo e ai geni che ne stanno alla base	110
	5.2	La consanguineità e il grado in cui parenti stretti risultano geneticamente correlati	113
	5.3	Le mutazioni post-zigotiche (somatiche) e perché tutti noi siamo mosaici genetici	123
	5.4	Utilizzare la legge di Hardy-Weinberg per calcolare i rischi dei portatori nelle malattie autosomiche recessive	130
CAPITOLO 6	6.1	La regolazione genica cis-agente e trans-agente	139
	6.2	L'interferenza dell'RNA come meccanismo di difesa naturale delle cellule	147
	6.3	Le isole CpG e le configurazioni della metilazione del DNA nel genoma e nei geni	155

	6.4	La riduzione dell'eterocromatina, la perdita del silenziamento genico e l'eredità digenica nella distrofia muscolare facio-scapolo-omerale	168
	6.5	La regolazione anomala dell'imprinting nelle sindromi di Angelman e Prader-Willi	173
CAPITOLO 7	7.1	Il decadimento mediato da un nonsense come meccanismo di sorveglianza dell'mRNA	182
	7.2	Le malattie collegate al FMR1 e la distrofia miotonica: due patogenesi diverse causate da ripetizioni in tandem non codificanti instabili	194
	7.3	I deficit di 21-idrossilasi steroidea: una malattia causata da scambi di sequenze fra gene e pseudogene	198
	7.4	Il bandeggio dei cromosomi umani e la relativa classificazione	201
	7.5	Le basi della variabilità delle malattie causate dalle mutazioni nel DNA mitocondriale	208
	7.6	I geni sensibili al dosaggio e l'aploinsufficienza	212
	7.7	Le malattie da prioni e le malattie neurodegenerative simil-prioniche: la diffusione degli aggregati proteici tra gli organismi e le cellule	222
	7.8	La fenilchetonuria è un errore congenito del metabolismo, una condizione multifattoriale e un'embriofetopatia	226
CAPITOLO 8	8.1	I <i>lod score</i> e la prova statistica del linkage	238
	8.2	La teoria poligenica e il concetto di soglia di suscettibilità per spiegare i caratteri dicotomici	244
	8.3	Le associazioni dei geni HLA alle patologie autoimmuni	254
	8.4	I blocchi aploipici e l'International HapMap Project	258
	8.5	I processi biologici comuni nelle forme autosomica dominante e complessa della malattia di Alzheimer	274
	8.6	Gli aplogruppi del DNA mitocondriale e la variazione del DNA mitocondriale nelle malattie comuni	282
CAPITOLO 9	9.1	Quando i farmaci prescritti possono essere pericolosi e talvolta mortali in relazione al genotipo di un paziente	308
	9.2	Una panoramica sulle cellule staminali e sulla riprogrammazione epigenetica artificiale delle cellule	320
	9.3	Due modi diffusi di realizzare modelli di malattia nei topi	330
	9.4	Due importanti problemi di sicurezza nelle sperimentazioni di terapia genica	334
	9.5	Il silenziamento genico operato dall'interferenza dell'RNA	340
	9.6	Le correlazioni genotipo-fenotipo nel gene della distrofina e la terapia del salto dell'esone nella distrofia muscolare di Duchenne	342
	9.7	Curare le malattie infettive rendendo le cellule resistenti alle infezioni virali	346
CAPITOLO 10	10.1	L'accorciamento telomerico e la pressione sulle cellule cancerose perché divengano immortali attivando l'espressione della telomerasi	356
	10.2	Il cancro come una malattia delle cellule staminali	364
	10.3	Un ruolo centrale nel cancro per il gene <i>TP53</i> che produce un oncosoppressore non classico, p53	378
CAPITOLO 11	11.1	Individuare espansioni di ampie dimensioni: i Southern blot e le analisi PCR	420
	11.2	Il sequenziamento massivo parallelo del DNA (« <i>next generation</i> », di «nuova generazione») e il sequenziamento dell'esoma intero e del genoma intero	424
	11.3	Le consultazioni genetiche, la consulenza genetica e la valutazione del rischio	438
	11.4	La sindrome di Lynch e il cancro al seno familiare (<i>BRCA1/BRCA2</i>): i rischi del cancro e lo screening del cancro	442
	11.5	Dalla genomica medica alla genomica della salute pubblica	456

GUIDA DI RIFERIMENTO AI PRINCIPALI TEMI TRATTATI

TEMA GENERALE	ARGOMENTI	COLLOCAZIONE
CITOGENETICA	Bandeggio dei cromosomi umano e ideogramma	Box 7.4, Figura 2.8
	Anomalie cromosomiche	Paragrafo 7.4
	Diploidia e disomia uniparentale	Paragrafi 6.2, 6.3
	Microarray cromosomico e cariotipizzazione molecolare	Paragrafo 11.2
	Citogenetica del cancro	Paragrafi 10.2, 10.3
GENETICA DELLO SVILUPPO	Regolazione della metilazione nel corso dello sviluppo	Paragrafo 6.2
	Inattivazione dell'X, imprinting e malattie dello sviluppo	Paragrafi 5.2, 6.2, 6.3
	Origini evolutive delle malattie dell'adulto	Paragrafo 8.3
	Differenziazione cellulare, cellule staminali, riprogrammazione nucleare	Paragrafo 9.3, Box 10.2
EPIGENETICA	Principi di epigenetica e meccanismi epigenetici	Paragrafo 6.2
	Disregolazione epigenetica nelle malattie monogeniche	Paragrafo 6.3
	Disregolazione epigenetica nelle malattie complesse	Paragrafo 8.3
	Riprogrammazione epigenetica artificiale delle cellule	Paragrafo 9.3
	Disregolazione epigenetica nel cancro	Paragrafo 10.3
GENETICA EVOLUZIONISTICA E DI POPOLAZIONI	Il genoma e l'evoluzione genica	Paragrafo 2.4
	Selezione purificante e conservazione della sequenza	Paragrafi 2.3, 2.4, 4.4, 5.4
	Selezione positiva e sweep selettivi	Paragrafi 4.4, 4.5
	Frequenze alleliche nelle popolazioni	Paragrafi 5.4, 8.2
ESPRESSIONE E REGOLAZIONE GENICA	Elementi di base dell'espressione genica	Paragrafi 2.1, 2.2
	Strutture e classi degli amminoacidi	Figura 2.2, Tabella 7.2
	Codice genetico	Figura 7.2
	Espressione genica complessa e regolazione genica	Paragrafi 6.1, 6.2
	RNA regolatori non codificanti	Paragrafi 2.2, 6.2
MAPPATURA DELLE VARIANTI E DEI GENI DELLE MALATTIE	Identificazione dei geni che causano le malattie monogeniche	Paragrafo 8.1
	Identificazione dei fattori genetici nelle malattie complesse	Paragrafo 8.2
	Identificazione dei geni del cancro	Paragrafi 10.2-10.4
TEST GENETICI E FARMACOGENETICA	Principi, metodologia e applicazioni dei test genetici	Paragrafi 11.1-11.4
	Farmacogenetica	Paragrafo 9.2
	Considerazioni etiche	Paragrafo 11.5
IMMUNOGENETICA	Polimorfismo del complesso HLA, alleli e alotipi	Box 4.4
	Variazioni delle immunoglobuline e del recettore dei linfociti T	Paragrafo 4.5
	Malattie autoimmuni e infiammatorie e associazioni HLA	Paragrafi 8.2, 8.3
	Anticorpi monoclonali terapeutici	Paragrafo 9.2
MUTAZIONI, RIPARAZIONE DEL DNA E VARIABILITÀ GENETICA	Origini e scala della variabilità della sequenza del DNA umano	Paragrafi 4.1, 4.3
	Riparazione del DNA	Paragrafi 4.2, 10.3
	Variabilità genetica funzionale e polimorfismo proteico	Paragrafi 4.4, 4.5
	Variabilità genetica all'origine delle malattie monogeniche	Capitolo 7
	Tassi di mutazione e carico patogeno complessivo	Paragrafi 5.4, 7.2
	Variabilità post-zigotica (somatica) in contesti diversi dal cancro	Paragrafi 4.5, 5.3
	Suscettibilità genetica alle malattie complesse	Paragrafo 8.3
	Variabilità genetica nel cancro	Paragrafi 10.1-10.4
	Esame e analisi delle mutazioni	Paragrafi 11.2, 11.3
NOMENCLATURA	Bandeggio cromosomico umano	Box 7.4
	Anomalie cromosomiche umane	Tabella 7.10
	Varianti del DNA umano e degli amminoacidi	Tabella 11.3