

# Indice generale

<b>PREFAZIONE</b>	XVIII	<b>Il dogma centrale</b>	31
<b>PARTE A</b>		• L'ipotesi dell'adattatore di Crick	32
<b>UN PO' DI STORIA</b>	1	• La scoperta dell'RNA transfer (tRNA)	32
<b>CAPITOLO 1</b>		• Il paradosso dei ribosomi non specifici	33
<b>La visione mendeliana del mondo</b>	5	• La scoperta dell'RNA messaggero (mRNA)	33
<b>Le scoperte di Mendel</b>	6	• La sintesi enzimatica dell'RNA su uno stampo di DNA	34
• Il principio della segregazione indipendente	6	• La determinazione del codice genetico	35
<b>FOCUS 1.1 PER SAPERNE DI PIÙ Le leggi di Mendel</b>	6	<b>La determinazione della direzione della sintesi proteica</b>	36
• Alcuni alleli non sono né dominanti né recessivi	8	• I segnali di inizio e di terminazione (stop) sono anch'essi codificati nel DNA	38
• Il principio dell'assortimento indipendente	8	<b>L'era della genomica</b>	38
<b>La teoria cromosomica dell'ereditarietà</b>	8	<b>CONCETTI CHIAVE</b>	39
<b>Linkage genico e crossing over</b>	9	<b>DOMANDE</b>	40
<b>FOCUS 1.2 ESPERIMENTI CHIAVE I geni sono legati ai cromosomi</b>	10	<b>PARTE B</b>	
<b>La mappatura dei cromosomi</b>	11	<b>STRUTTURA E STUDIO DELLE MACROMOLECOLE</b>	43
<b>L'origine della variabilità genetica attraverso le mutazioni</b>	14	<b>CAPITOLO 3</b>	
<b>Le prime ipotesi sulla natura dei geni e sul loro funzionamento</b>	15	<b>L'importanza dei legami chimici deboli e forti</b>	49
<b>I primi esperimenti per trovare una relazione gene-proteina</b>	16	<b>Le caratteristiche dei legami chimici</b>	50
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	16	• I legami chimici possono essere spiegati in termini di meccanica quantistica	50
<b>DOMANDE</b>	17	• La formazione dei legami chimici implica cambiamenti della forma di energia	51
<b>CAPITOLO 2</b>		• Esiste un equilibrio fra i legami creati e quelli distrutti	51
<b>Gli acidi nucleici trasmettono l'informazione genetica</b>	19	<b>Il concetto di energia libera</b>	52
<b>L'"esplosiva" scoperta di Avery: il DNA può portare la specificità genetica</b>	20	• $K_{eq}$ è correlata al $\Delta G$ in modo esponenziale	52
• I geni virali sono anch'essi acidi nucleici	21	• I legami covalenti sono molto forti	52
<b>La doppia elica</b>	22	<b>I legami deboli nei sistemi biologici</b>	54
<b>FOCUS 2.1 ESPERIMENTI CHIAVE La regola di Chargaff</b>	24	• I legami deboli hanno un'energia compresa fra 1 e 7 kcal/mol	53
• Alla ricerca delle polimerasi che sintetizzano il DNA	24	• Alle temperature fisiologiche i legami deboli si formano e si rompono continuamente	53
• Le prove sperimentali indicano che i filamenti del DNA si separano durante la replicazione	26	• La distinzione fra molecole polari e non polari	53
<b>L'informazione genetica all'interno del DNA viene trasmessa dalla sequenza dei suoi quattro componenti nucleotidici</b>	28	• Le forze di van der Waals	54
<b>FOCUS 2.2 ESPERIMENTI CHIAVE La prova che i geni controllano la sequenza amminoacidica delle proteine</b>	29	• I legami idrogeno	56
• Il DNA non può essere lo stampo che dispone direttamente in successione gli amminoacidi durante la sintesi proteica	30	• Alcuni legami ionici sono legami idrogeno	56
• L'RNA dal punto di vista chimico è molto simile al DNA	30	• Le interazioni deboli richiedono superfici molecolari complementari	57
		• Le molecole d'acqua formano legami idrogeno	57
		• I legami deboli fra molecole in soluzione acquosa	57
		• Le molecole organiche che tendono a formare legami idrogeno sono idrosolubili	58
		• I legami idrofobici stabilizzano le macromolecole	59

<b>FOCUS 3.1 PER SAPERNE DI PIÙ L'unicità delle forme molecolari e il concetto di adattamento strutturale selettivo</b>	59
• Il vantaggio di un $\Delta G$ compreso fra 2 e 5 kcal/mol	60
• I legami deboli permettono la formazione di complessi enzima-substrato	61
• I legami deboli mediano la maggior parte delle interazioni proteina-DNA e proteina-proteina	61
<b>I legami ad alta energia</b>	61
<b>Le molecole che cedono energia sono termodinamicamente instabili</b>	62
<b>Nelle reazioni biochimiche gli enzimi abbassano l'energia di attivazione</b>	64
<b>L'energia libera nelle biomolecole</b>	64
• L'idrolisi dei legami ad alta energia porta a un $\Delta G$ significativamente negativo	65
<b>I legami ad alta energia nelle reazioni biosintetiche</b>	66
• I legami peptidici si idrolizzano spontaneamente	67
• Un $\Delta G$ positivo viene accoppiato a uno negativo	68
<b>L'attivazione dei precursori nelle reazioni di trasferimento di gruppo</b>	68
• La versatilità dell'ATP nel trasferimento di gruppo	69
• L'attivazione degli amminoacidi per mezzo del legame con AMP	69
• I precursori degli acidi nucleici sono attivati dalla presenza di $P \sim P$	70
• L'importanza del rilascio di $P \sim P$ nella sintesi degli acidi nucleici	71
• La rottura del $P \sim P$ caratterizza la maggior parte delle reazioni biosintetiche	72
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	73
<b>DOMANDE</b>	74
<b>CAPITOLO 4</b>	
<b>La struttura del DNA</b>	77
<b>Composizione e struttura del DNA</b>	78
• Il DNA è formato da catene polinucleotidiche	78
• Ciascuna base si trova nella sua forma tautomerica preferita	80
• I due filamenti della doppia elica sono avvolti l'uno sull'altro con un orientamento antiparallelo	81
• Le due catene della doppia elica hanno sequenze complementari	81
• La doppia elica è stabilizzata dall'accoppiamento fra le basi e dal loro impilamento	82
• Il legame idrogeno è importante nel determinare la specificità dell'appaiamento tra le basi	83
• Le basi possono ruotare all'esterno della doppia elica	83
• Il DNA di norma è una doppia elica destrorsa	83
• La doppia elica presenta un solco maggiore e un solco minore	84
<b>FOCUS 4.1 ESPERIMENTI CHIAVE Il DNA ha, in soluzione, 10,5 paia di basi per giro d'elica: l'esperimento con la mica</b>	84
• Il solco maggiore fornisce molte informazioni di tipo chimico	85
• La doppia elica può avere molteplici conformazioni	86
<b>FOCUS 4.2 ESPERIMENTI CHIAVE Come si ottiene la struttura del DNA dai segnali puntiformi di una lastra a raggi X</b>	87
• Il DNA alcune volte può formare un'elica sinistrorsa	89
• Le due catene del DNA possono separarsi (denaturazione) e riassociarsi (rinaturazione)	89
• Alcune molecole di DNA sono circolari	93
<b>La topologia del DNA</b>	93
• Il numero di legame topologico ( <i>linking number</i> ) è una proprietà invariante del DNA circolare chiuso covalentemente	93
• Il numero di legame topologico ha due componenti: il twist e il writhe	94
• $Lk^0$ è il linking number di un cccDNA completamente rilassato in condizioni fisiologiche	95
• Il DNA nelle cellule è superavvolto negativamente	96
• I nucleosomi introducono superavvolgimenti negativi nel DNA degli eucarioti	97
• Le topoisomerasi possono rilassare il DNA superavvolto	97
• I procarioti possiedono speciali topoisomerasi che introducono superavvolgimenti nelle molecole di DNA	98
• Le topoisomerasi permettono anche l'eliminazione di nodi e la separazione di molecole di DNA	98
• Le topoisomerasi usano un legame covalente proteina-DNA per tagliare e successivamente risaldare i filamenti del DNA	100
• Le topoisomerasi formano un ponte enzimatico e permettono il passaggio di un filamento di DNA attraverso l'altro	101
• I topoisomeri di DNA possono essere separati mediante elettroforesi	102
• L'etidio causa uno srotolamento della doppia elica del DNA	102
<b>FOCUS 4.3 ESPERIMENTI CHIAVE Dimostrazione che il DNA ha una periodicità dell'elica di circa 10,5 paia di basi per giro utilizzando le proprietà topologiche di un DNA circolare</b>	103
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	104
<b>DOMANDE</b>	105
<b>CAPITOLO 5</b>	
<b>Struttura e versatilità dell'RNA</b>	107
<b>L'RNA contiene ribosio e uracile e, in genere, è a singolo filamento</b>	107
<b>Le catene di RNA si ripiegano su se stesse per formare brevi tratti a doppia elica simili al DNA di forma A</b>	108
<b>L'RNA può ripiegarsi per formare complesse strutture terziarie</b>	111

<b>FOCUS 5.1 IMPLICAZIONI MEDICHE</b> Un interruttore a RNA controlla la sintesi proteica del virus della leucemia murina	112	<b>Le proteine riconoscono siti molecolari specifici</b>	138
<b>Le sostituzioni nucleotidiche in combinazione con sonde chimiche consentono di prevedere la struttura dell'RNA</b>	113	• Le proteine che riconoscono sequenze di DNA	138
<b>L'evoluzione diretta seleziona RNA che legano piccole molecole</b>	114	• Le interazioni proteina-proteina	141
<b>FOCUS 5.2 TECNICHE</b> La creazione di un RNA che simula la proteina fluorescente verde tramite la tecnologia dell'evoluzione diretta	115	• Le proteine che riconoscono l'RNA	142
<b>Alcuni RNA sono enzimi</b>	116	<b>Gli enzimi: proteine catalizzatrici</b>	143
• Il ribozima a martello (hammerhead) taglia l'RNA mediante la formazione di un fosfato ciclico 2',3'	117	<b>La regolazione dell'attività delle proteine</b>	143
• Un ribozima nel cuore del ribosoma agisce su un centro di carbonio	118	<b>FOCUS 6.5 TECNICHE</b> La criomicroscopia elettronica ha rivoluzionato le nostre conoscenze di biologia strutturale	145
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	118	<b>CONCETTI CHIAVE</b>	147
<b>DOMANDE</b>	119	<b>DOMANDE</b>	148
<b>CAPITOLO 6</b>		<b>CAPITOLO 7</b>	
<b>La struttura delle proteine</b>		<b>Le tecniche di biologia molecolare</b>	
<b>La composizione delle proteine</b>	121	<b>Gli acidi nucleici: tecniche di base</b>	152
• Gli amminoacidi	121	• L'elettroforesi su gel separa le molecole di DNA ed RNA in base alla massa molecolare	152
• Il legame peptidico	122	• Le endonucleasi di restrizione tagliano le molecole di DNA in siti specifici	153
• Le catene polipeptidiche	123	• L'ibridazione può essere usata per identificare specifiche molecole di DNA	155
• Tre amminoacidi con proprietà conformazionali speciali	124	• Le sonde di ibridazione possono identificare DNA ed RNA separati per elettroforesi	156
<b>FOCUS 6.1 PER SAPERNE DI PIÙ</b> Il grafico di Ramachandran: le combinazioni permesse degli angoli di torsione $\phi$ e $\psi$ dello scheletro polipeptidico	124	• Come isolare frammenti specifici di DNA	157
<b>L'importanza dell'acqua</b>	125	• Il clonaggio del DNA	158
<b>Le proteine possono essere descritte su quattro livelli strutturali</b>	126	• Il DNA inserito nel vettore può essere introdotto negli organismi ospiti mediante trasformazione	159
<b>I domini proteici</b>	130	• Mediante clonaggio si possono creare librerie di molecole di DNA	160
• Le catene polipeptidiche si ripiegano in uno o più domini	130	• Un clone specifico in una libreria di DNA può essere identificato mediante ibridazione	161
<b>FOCUS 6.2 PER SAPERNE DI PIÙ</b> Glossario delle proteine	130	• La sintesi chimica di specifiche sequenze di DNA	162
• Che cosa possiamo apprendere dallo studio delle strutture proteiche	132	• La reazione a catena della polimerasi (PCR) amplifica i DNA mediante ripetuti cicli di replicazione <i>in vitro</i>	163
• Le classi di domini proteici	132	• Gruppi di frammenti interni di DNA rivelano la sequenza nucleotidica	163
• Segmenti di connessione ( <i>linker</i> ) e snodi	133	<b>FOCUS 7.1 TECNICHE</b> La reazione a catena della polimerasi nelle indagini forensi	165
• Le modifiche post-traduzionali	133	• Il sequenziamento "in un colpo solo" ( <i>shotgun</i> ) del genoma batterico	167
<b>FOCUS 6.3 PER SAPERNE DI PIÙ</b> La molecola dell'anticorpo come esempio dell'organizzazione dei domini proteici	134	<b>FOCUS 7.2 ESPERIMENTI CHIAVE</b> I Sequenator sono utilizzati per il sequenziamento massivo di grandi quantità di DNA	167
<b>Dalla sequenza amminoacidica alla struttura tridimensionale</b>	134	• Il sequenziamento <i>shotgun</i> consente l'assemblaggio parziale di estese sequenze genomiche	169
• Il ripiegamento delle proteine	134	• La strategia dell'appaiamento delle estremità consente di produrre ampi assemblaggi genomici	170
• Predire la struttura di una proteina dalla sua sequenza amminoacidica	135	• Il sequenziamento del genoma umano per 1000 dollari è a portata di mano	172
<b>FOCUS 6.4 ESPERIMENTI CHIAVE</b> La struttura tridimensionale di una proteina è specificata dalla sua sequenza amminoacidica (l'esperimento di Anfinsen)	136	<b>La terza "rivoluzione" nelle tecniche di sequenziamento degli acidi nucleici</b>	173
<b>I cambiamenti conformazionali delle proteine</b>	137	<b>La genomica</b>	175

- La bioinformatica facilita l'identificazione su scala genomica dei geni che codificano proteine 175
- Per analizzare il trascrittoma vengono utilizzati tiling array che coprono l'intero genoma 176
- Le sequenze di DNA con funzione regolatrice possono essere identificate grazie a strumenti di allineamento specializzati 177

**FOCUS 7.3 TECNICHE L'analisi dell'espressione genica a livello di singola cellula** 178

**L'editing genomico: modificare in modo mirato i genomi** 180

- Nucleasi a dita di zinco e TALE (ZFN e TALEN) 181
- Il sistema CRISPR/Cas9 182

**Le proteine** 186

- Proteine specifiche possono essere isolate da estratti cellulari 186
- La purificazione di una proteina richiede un saggio specifico 186
- Come si prepara un estratto cellulare contenente proteine attive 187
- Le proteine possono essere separate utilizzando la cromatografia su colonna 187
- La separazione di proteine su gel di poliacrilammide 189
- Gli anticorpi possono essere usati per visualizzare proteine separate per elettroforesi 190
- Le molecole proteiche possono essere sequenziate direttamente 190

**La proteomica** 192

- L'uso combinato della cromatografia liquida con la spettrometria di massa permette di identificare singole proteine presenti in un estratto complesso 192
- L'analisi comparativa dei diversi proteomi rivela importanti differenze tra le cellule 194
- La spettrometria di massa può individuare anche le diverse modifiche proteiche 194
- Le interazioni proteina-proteina possono fornire informazioni funzionali 195

**Le interazioni acidi nucleici-proteine** 196

- La mobilità elettroforetica del DNA varia con il legame di una proteina 196
- Una proteina legata al DNA lo protegge dalle nucleasi e dalla modifica chimica 197
- L'immunoprecipitazione della cromatina rivela l'associazione delle proteine con il DNA nelle cellule 198
- I saggi di cattura della conformazione dei cromosomi sono utilizzati per studiare le interazioni a lungo raggio 201
- La selezione *in vitro* può essere usata per identificare sul DNA o sull'RNA il sito di legame di una proteina 201

**CONCETTI CHIAVE** 204  
**DOMANDE** 205

**PARTE C**  
**MANTENIMENTO DEL GENOMA** 207

**CAPITOLO 8**  
**Struttura del genoma, cromatina e nucleosomi** 213

**La sequenza del genoma e la diversità cromosomica** 214

- Il cromosoma può essere circolare o lineare 214
- Ogni cellula mantiene un numero definito di cromosomi 215
- La grandezza del genoma è correlata alla complessità dell'organismo 217
- Il genoma di *E. coli* è formato quasi interamente da geni 218
- Gli organismi più complessi hanno una minore densità genica 218
- I geni rappresentano soltanto una piccola porzione del DNA cromosomico eucariote 219
- La maggior parte delle sequenze intergeniche umane è formata da DNA ripetuto 221

**Duplicazione del cromosoma e segregazione** 222

- I cromosomi degli eucarioti per essere mantenuti durante la divisione cellulare richiedono i centromeri, i telomeri e le origini di replicazione 222
- Negli eucarioti la duplicazione del cromosoma e la segregazione avvengono in fasi separate del ciclo cellulare 225
- La struttura del cromosoma cambia durante la divisione cellulare eucariote 227
- La coesione dei cromatidi fratelli e la condensazione dei cromosomi sono mediate dalle proteine SMC 227
- La mitosi mantiene il medesimo numero parentale di cromosomi 228
- Nelle fasi gap le cellule si preparano per il ciclo cellulare successivo e controllano che il ciclo precedente sia terminato correttamente 228

**FOCUS 8.1 PER SAPERNE DI PIÙ Una visione integrata dei meccanismi che controllano la progressione del ciclo cellulare negli eucarioti** 231

- La meiosi riduce il numero dei cromosomi parentali 231
- Al microscopio possono essere evidenziati diversi livelli di struttura del cromosoma 233

**Il nucleosoma** 234

- I nucleosomi sono i mattoni fondamentali del cromosoma 234

**FOCUS 8.2 ESPERIMENTI CHIAVE La nucleasi micrococcica e il DNA associato al nucleosoma** 235

- Gli istoni sono piccole proteine cariche positivamente 236
- La struttura atomica del nucleosoma 239
- Gli istoni nel nucleosoma legano tipiche regioni del DNA 239

- Le interazioni fra il core istonico e il DNA sono mediate da molti contatti indipendenti dalla sequenza 240
- Le code N-terminali degli istoni stabilizzano il DNA avvolgendosi attorno all'ottamero 241
- Il DNA arrotolato attorno al core istonico accumula una superelicità negativa 241

**FOCUS 8.3 ESPERIMENTI CHIAVE** I nucleosomi e la densità di superelica 243

**Le strutture di ordine superiore della cromatina** 245

- L'eterocromatina e l'eucromatina 245
- L'istone H1 lega il DNA linker fra i nucleosomi 245
- I nucleosomi disposti in serie possono formare strutture complesse: la fibra da 30 nm 246
- Le code N-terminali degli istoni intervengono nella formazione della fibra da 30 nm 247
- Un ulteriore compattamento è determinato dalla formazione di ampie anse di DNA nucleosomico 248
- Alcune varianti istoniche alterano la funzione del nucleosoma 249

**La regolazione della struttura della cromatina** 250

- L'interazione del DNA con l'ottamero istonico è dinamica 250
- I complessi di rimodellamento possono facilitare il movimento dei nucleosomi 251
- Alcuni nucleosomi si trovano in siti specifici: il posizionamento dei nucleosomi 252

**FOCUS 8.4 ESPERIMENTI CHIAVE** Come si determina la posizione dei nucleosomi nella cellula 255

- La coda N-terminale degli istoni viene frequentemente modificata 258
- Specifici domini proteici presenti nei complessi di rimodellamento e di modifica dei nucleosomi riconoscono gli istoni modificati 260
- Enzimi specifici sono responsabili delle modifiche degli istoni 262
- Le modifiche del nucleosoma e il rimodellamento cooperano per aumentare l'accessibilità al DNA 262

**L'assemblaggio dei nucleosomi** 264

- I nucleosomi sono assemblati immediatamente dopo la replicazione del DNA 264
- L'assemblaggio dei nucleosomi richiede chaperon degli istoni 265

**CONCETTI CHIAVE** 267

**DOMANDE** 269

**CAPITOLO 9**  
**La replicazione del DNA** 271

**La chimica della sintesi del DNA** 272

- La sintesi del DNA richiede deossiribonucleosidi trifosfato e una struttura primer:stampo 272
- Il DNA è sintetizzato allungando l'estremità 3' del primer 273
- L'idrolisi del pirofosfato è il motore per la sintesi del DNA 274

**Il meccanismo d'azione della DNA polimerasi** 274

- La DNA polimerasi utilizza un singolo sito attivo per catalizzare la sintesi del DNA 274

**FOCUS 9.1 TECNICHE** Gli esperimenti di incorporazione possono essere usati per misurare la sintesi degli acidi nucleici e delle proteine 275

**FOCUS 9.2 IMPLICAZIONI MEDICHE** I farmaci antitumorali e antivirali agiscono sulla replicazione del DNA 277

- La DNA polimerasi assomiglia a una mano che afferra la giunzione innesco:stampo 278
- Le DNA polimerasi sono enzimi processivi 281
- Le attività esonucleasiche correggono eventuali errori presenti sul DNA neosintetizzato 282

**La forcella replicativa** 284

- Entrambi i filamenti di DNA vengono sintetizzati a livello della forca replicativa 284
- L'inizio di un nuovo filamento di DNA richiede un primer a RNA 258
- I primer a RNA devono essere rimossi affinché la replicazione del DNA possa essere completata 286
- La DNA elicasi disavvolge la doppia elica davanti alla forca replicativa 286
- La DNA elicasi tira il DNA a singolo filamento facendolo passare attraverso un poro centrale proteico 287
- Le proteine che si legano al DNA a singolo filamento stabilizzano la sua struttura prima della replicazione 289
- Le topoisomerasi rimuovono i superavvolgimenti prodotti dall'apertura del DNA a livello della forcella replicativa 290
- Gli enzimi che agiscono a livello della forcella replicativa estendono il substrato utile per la DNA polimerasi 291

**La specializzazione delle DNA polimerasi** 292

- Le DNA polimerasi sono specializzate in ruoli differenti all'interno della cellula 292
- Le proteine che permettono lo scivolamento delle polimerasi (sliding clamp) sul DNA aumentano notevolmente la processività della DNA polimerasi 293
- Le sliding clamp vengono aperte e piazzate sul DNA da caricatori specifici 296

**FOCUS 9.3 PER SAPERNE DI PIÙ** L'ATP controlla la funzione proteica: il caricamento della sliding clamp 297

**La sintesi del DNA a livello della forcella replicativa** 298

- Le interazioni fra le proteine della forcella replicativa danno luogo al replisoma di *E. coli* 301

**La fase di inizio della replicazione** 303

- L'inizio della replicazione del DNA dipende da sequenze specifiche genomiche 303
- Il modello dei repliconi per l'inizio della replicazione 303
- I replicatori comprendono siti di legame per l'iniziatore e si denaturano facilmente 304

<b>FOCUS 9.4 ESPERIMENTI CHIAVE</b> L'identificazione delle origini di replicazione e dei replicatori	305
<b>Il legame e la denaturazione locale della doppia elica: l'iniziatore seleziona e attiva l'origine</b>	307
<b>FOCUS 9.5 PER SAPERNE DI PIÙ</b> La replicazione del DNA di <i>E. coli</i> è regolata dai livelli di DnaA·ATP e SeqA	308
• Interazioni proteina-proteina e proteina-DNA determinano il processo di inizio della replicazione	310
• Negli eucarioti i cromosomi vengono replicati una sola volta ogni ciclo cellulare	312
• Il caricamento dell'elicasi è il primo passaggio nell'inizio della replicazione eucariote	313
<b>FOCUS 9.6 ESPERIMENTI CHIAVE</b> La determinazione della struttura del replisoma con la criomicroscopia elettronica ha fatto emergere nuove domande scientifiche	316
• Il caricamento e l'attivazione dell'elicasi sono regolati in modo tale da permettere un solo ciclo di replicazione durante ciascun ciclo cellulare	317
• Le analogie fra l'inizio della replicazione degli eucarioti e quello dei procarioti	319
<b>Il completamento della replicazione</b>	319
• Le topoisomerasi II sono necessarie per separare le molecole di DNA figlie	319
• Il normale meccanismo di sintesi del filamento discontinuo non è in grado di copiare le estremità dei cromosomi lineari	320
• La telomerasi è una particolare DNA polimerasi che non richiede uno stampo esogeno	321
<b>FOCUS 9.7 IMPLICAZIONI MEDICHE</b> Invecchiamento, cancro e l'ipotesi dei telomeri	323
• La telomerasi risolve il problema della replicazione delle estremità allungando l'estremità 3' del cromosoma	323
• Le proteine che legano il telomero influenzano l'attività telomerasica e la lunghezza del telomero	324
• Le proteine che legano il telomero proteggono le estremità del cromosoma	326
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	327
<b>DOMANDE</b>	328
<b>CAPITOLO 10</b>	
<b>Mutabilità e riparazione del DNA</b>	331
<b>Errori di replicazione e loro riparazione</b>	332
• I diversi tipi di mutazione	332
• Alcuni errori di replicazione sfuggono alla correzione	333
<b>FOCUS 10.1 IMPLICAZIONI MEDICHE</b> L'espansione delle ripetizioni a triplette come causa di malattia	333
• La riparazione dei mismatch rimuove gli errori che sfuggono al sistema di correzione di bozze	334
<b>I danni al DNA</b>	338
• Il DNA va incontro a fenomeni di mutazione spontanea in seguito a idrolisi e deaminazione	338
<b>FOCUS 10.2 IMPLICAZIONI MEDICHE</b> Il test di Ames	339
• Alchilazione, ossidazione e irradiazione danneggiano il DNA	340
<b>FOCUS 10.3 PER SAPERNE DI PIÙ</b> La quantificazione del danno al DNA e i suoi effetti sulla sopravvivenza cellulare e sulla mutagenesi	341
• Le mutazioni sono causate anche dagli analoghi delle basi e dagli agenti intercalanti	342
<b>Riparazione e tolleranza del danno al DNA</b>	343
• La riparazione diretta del danno al DNA	344
• Gli enzimi di riparazione per escissione di basi eliminano le basi danneggiate "ribaltandole" fuori dal DNA	344
• Gli enzimi che riparano per escissione nucleotidica tagliano il DNA danneggiato su entrambi i margini della lesione	347
<b>FOCUS 10.4 IMPLICAZIONI MEDICHE</b> Il legame del sistema di riparazione per escissione nucleotidica e della sintesi translesione con una malattia umana di origine genetica	348
• La ricombinazione ripara le rotture del DNA recuperando la sequenza nucleotidica dalla doppia elica non danneggiata	349
• Le rotture a doppio filamento sono riparate anche dalla giunzione diretta delle estremità non omologhe	350
<b>FOCUS 10.5 IMPLICAZIONI MEDICHE</b> La giunzione delle estremità non omologhe	350
• La sintesi translesione di DNA permette alla replicazione di superare il danno	352
<b>FOCUS 10.6 PER SAPERNE DI PIÙ</b> La famiglia Y delle DNA polimerasi	354
<b>Le nuove scoperte sui meccanismi di tolleranza al danno e sulla riparazione del DNA negli eucarioti</b>	357
• Il ruolo dell'esonucleasi Exo1 nel sistema di riparazione NER	358
• Incorporazione di ribonucleotidi nel DNA e meccanismo di riparazione per escissione di ribonucleotidi (RER)	358
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	360
<b>DOMANDE</b>	361
<b>CAPITOLO 11</b>	
<b>La ricombinazione omologa a livello molecolare</b>	363
<b>Le rotture nel DNA spesso danno inizio alla ricombinazione</b>	364
<b>I diversi modelli per la ricombinazione omologa</b>	365
• Nella ricombinazione omologa l'invasione del filamento è un passaggio precoce fondamentale	366
• La risoluzione delle giunzioni di Holliday è un passaggio fondamentale per completare lo scambio genetico	368
• Il modello della riparazione delle rotture a doppio filamento descrive molti eventi ricombinativi	368

**Gli apparati proteici per la ricombinazione omologa**

**FOCUS 11.1 PER SAPERNE DI PIÙ** Come risolvere un intermedio di ricombinazione con due giunzioni di Holliday

- L'elicasi/nucleasi RecBCD processa, per la ricombinazione, le molecole di DNA rotte
- I siti Chi regolano RecBCD
- La proteina RecA si assembla sul DNA a singolo filamento e promuove l'invasione del filamento
- All'interno del filamento RecA si formano dei nuovi appaiamenti tra filamenti
- In tutti gli organismi sono presenti degli omologhi di RecA
- Il complesso RuvAB riconosce in modo specifico le giunzioni di Holliday e promuove la migrazione del chiasma
- Per completare la ricombinazione RuvC taglia specifici filamenti di DNA a livello della giunzione di Holliday

**La ricombinazione omologa negli eucarioti**

- La ricombinazione omologa negli eucarioti ha ulteriori funzioni
- La ricombinazione omologa è necessaria per la segregazione dei cromosomi durante la meiosi
- Durante la meiosi si verificano rotture a doppio filamento programmate
- La proteina MRX processa le estremità di DNA tagliate per assemblarvi le proteine simili a RecA che scambiano il filamento
- Dmc1 è una proteina simile a RecA che funziona in modo specifico nella ricombinazione meiotica
- La ricombinazione meiotica è data dall'attività di molte proteine

**FOCUS 11.2 IMPLICAZIONI MEDICHE** Il prodotto dell'oncosoppressore *BRCA2* interagisce con la proteina Rad51 e controlla la stabilità del genoma

**FOCUS 11.3 IMPLICAZIONI MEDICHE** Le proteine associate a invecchiamento precoce e cancro favoriscono una via alternativa per il processamento delle giunzioni di Holliday

**Il cambio del mating type**

- Il cambio del mating type inizia con una rottura a doppio filamento in un punto specifico
- Il cambio del mating type è un evento di conversione genica non associato al crossing over

**Le conseguenze genetiche della ricombinazione omologa**

- La riparazione del DNA durante la ricombinazione è una delle cause della conversione genica

**CONCETTI CHIAVE**  
**DOMANDE**

**CAPITOLO 12**

**Ricombinazione sito-specifica e trasposizione del DNA**

**La ricombinazione conservativa sito-specifica**

- La ricombinazione sito-specifica avviene su specifiche sequenze del DNA bersaglio
- Le ricombinasi sito-specifiche tagliano e riuniscono il DNA per mezzo di un intermedio covalente proteina-DNA
- La serina ricombinasi introduce nel DNA delle rotture a doppio filamento e poi scambia i filamenti per promuovere la ricombinazione
- La struttura del complesso fra la serina ricombinasi e il DNA suggerisce che lo scambio del filamento avviene grazie a una rotazione delle subunità
- Le tirosina ricombinasi rompono e riuniscono una coppia di filamenti di DNA alla volta
- Le strutture delle tirosina ricombinasi legate al DNA svelano il meccanismo dello scambio del DNA

**FOCUS 12.1 IMPLICAZIONI MEDICHE** L'applicazione della ricombinazione sito-specifica all'ingegneria genetica

**Le funzioni biologiche della ricombinazione sito-specifica**

- L'integrasi di  $\lambda$  promuove l'integrazione e l'escissione del genoma virale nel cromosoma della cellula ospite
- L'escissione del batteriofago  $\lambda$  richiede una nuova proteina che curva il DNA
- La ricombinasi Hin inverte un segmento di DNA permettendo l'espressione di geni alternativi
- La ricombinazione di Hin necessita di un enhancer a DNA
- Le ricombinasi convertono molecole circolari multimeriche di DNA in monomeri

**FOCUS 12.2 PER SAPERNE DI PIÙ** La ricombinasi Xer catalizza la monomerizzazione dei cromosomi batterici e di molti plasmidi batterici

- Gli altri meccanismi per dirigere la ricombinazione su specifici segmenti di DNA

**La trasposizione**

- La trasposizione sposta elementi genetici in nuove posizioni cromosomiche
- Esistono tre classi principali di elementi trasponibili
- I trasposoni a DNA contengono il gene della trasposasi, fiancheggiato dai siti di ricombinazione
- I trasposoni possono essere sia elementi autonomi sia non autonomi
- I retrotrasposoni simili ai virus e i retrovirus contengono sequenze terminali ripetute e due geni importanti per la ricombinazione
- I retrotrasposoni poliA assomigliano ai geni
- La trasposizione a DNA avviene con un meccanismo del tipo taglia e incolla

• Nella trasposizione del tipo taglia e incolla l'intermedio è risolto con il sistema di riparazione delle rotture	423	• Il fattore $\sigma$ media il legame della polimerasi al promotore	461
• Esistono molteplici meccanismi per tagliare il filamento non trasferito durante la trasposizione del DNA	424	• La transizione a complesso aperto comporta dei cambiamenti strutturali nell'RNA polimerasi e nel promotore	462
• La trasposizione a DNA mediante meccanismo replicativo	426	• La trascrizione è iniziata dall'RNA polimerasi senza l'ausilio di un primer	464
• I retrotrasposoni simili ai virus e i retrovirus si muovono tramite un intermedio a RNA	427	• Nella prima fase della trascrizione l'RNA polimerasi resta ferma e tira il DNA a valle al suo interno	465
• Le DNA trasposasi e le integrase retrovirali fanno parte di una superfamiglia proteica	429	• L'evasione dal promotore richiede la rottura delle interazioni tra la polimerasi e il promotore e tra il core enzimatico e il fattore $\sigma$	466
• I retrotrasposoni poliA si muovono con un meccanismo del tipo "splicing inverso"	430	<b>FOCUS 13.2 PER SAPERNE DI PIÙ</b> Le RNA polimerasi a singola subunità	467
<b>Alcuni esempi di elementi trasponibili e della loro regolazione</b>	432	• La polimerasi in fase di allungamento è una macchina processiva che simultaneamente sintetizza RNA e corregge le bozze dell'RNA	467
<b>FOCUS 12.3 ESPERIMENTI CHIAVE</b> Gli elementi del mais e la scoperta dei trasposoni	433	• L'RNA polimerasi si può bloccare e avere bisogno di essere rimossa	469
• La famiglia dei trasposoni IS4 è costituita da elementi compatti dotati di molteplici meccanismi per controllare il numero delle copie	433	• La trascrizione termina grazie ad alcuni segnali all'interno della sequenza dell'RNA	469
• Il fago Mu è un trasposone molto robusto	435	<b>La trascrizione negli eucarioti</b>	472
• Per evitare di trasporsi nel proprio DNA, Mu utilizza l'immunità del sito bersaglio	436	• Il core dei promotori dell'RNA polimerasi II è costituito da combinazioni di quattro classi differenti di elementi di sequenza	473
<b>FOCUS 12.4 PER SAPERNE DI PIÙ</b> Il meccanismo dell'immunità dalla trasposizione del sito bersaglio	437	• L'RNA polimerasi II forma sul promotore un complesso di preinizio con i fattori generali di trascrizione	473
• Gli elementi Tc1/ <i>mariner</i> sono sequenze di grande successo negli eucarioti	438	• L'evasione dal promotore richiede la fosforilazione della "coda" della polimerasi	475
• Gli elementi Ty del lievito si traspongono nel genoma in rifugi di sicurezza	439	• TBP si lega al DNA e lo piega usando un foglietto $\beta$ inserito nel solco minore	475
• Gli elementi LINE promuovono la propria trasposizione e anche quella di RNA cellulari	440	• I fattori generali di trascrizione hanno anche funzioni specifiche nella fase di inizio	476
<b>La ricombinazione V(D)J</b>	441	• <i>In vivo</i> , l'inizio della trascrizione ha bisogno di altre proteine, incluso il complesso del Mediatore	478
• Gli eventi precoci della ricombinazione V(D)J avvengono con un meccanismo simile all'escissione dei trasposoni	443	• Il Mediatore è composto da molte subunità, alcune delle quali sono conservate dal lievito agli umani	478
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	445	• Un nuovo gruppo di fattori stimola l'allungamento e la capacità di correzione della Pol II	479
<b>DOMANDE</b>	445	• Le polimerasi durante la fase di allungamento devono risolvere il problema della presenza degli istoni sul DNA	481
<b>PARTE D</b>		• La polimerasi durante la fase di allungamento si associa con un nuovo gruppo di fattori proteici, necessari alla maturazione dell'RNA	482
<b>ESPRESSIONE DEL GENOMA</b>	447	• La terminazione della trascrizione è associata alla distruzione dell'RNA da parte di un'RNasi altamente processiva	485
<b>CAPITOLO 13</b>		<b>Trascrizione ed RNA polimerasi I e III</b>	486
<b>I meccanismi della trascrizione</b>	453	• Le RNA Pol I e Pol III riconoscono promotori distinti e utilizzano gruppi diversi di fattori di trascrizione, ma richiedono sempre TBP	486
<b>RNA polimerasi e ciclo della trascrizione</b>	454	• L'RNA Pol I trascrive esclusivamente i geni per rRNA	487
• Le RNA polimerasi possono avere forme diverse ma condividono molte caratteristiche	454	• I promotori della Pol III si trovano a valle del sito d'inizio della trascrizione	487
• La trascrizione da parte della RNA polimerasi avviene in una serie di passaggi	456		
• L'inizio della trascrizione richiede tre passaggi distinti	458		
<b>Il ciclo della trascrizione nei batteri</b>	458		
• I promotori batterici, pur avendo alcune caratteristiche ben definite, si differenziano per la sequenza e la forza	458		
<b>FOCUS 13.1 TECNICHE</b> Le sequenze consenso	460		



**Le interconnessioni tra trascrizione e replicazione del DNA nel mantenimento della stabilità del genoma** 488

**CONCETTI CHIAVE** 490

**DOMANDE** 491

**CAPITOLO 14**  
**Lo splicing dell'RNA** 493

**FOCUS 14.1 ESPERIMENTI CHIAVE** L'adenovirus e la scoperta dello splicing 495

**La chimica dello splicing dell'RNA** 497

- Le sequenze all'interno dell'RNA determinano dove avviene lo splicing 497
- L'introne viene rimosso in una forma a cappio detta lariati e gli esoni laterali vengono uniti 497

**Il macchinario dello spliceosoma** 499

- Lo splicing dell'RNA viene effettuato da un complesso molto grande chiamato spliceosoma 499

**Le vie dello splicing** 500

- Assemblaggio, riarrangiamenti e catalisi all'interno dello spliceosoma: il percorso dello splicing 500
- L'assemblaggio dello spliceosoma è variabile e dinamico e il suo disassemblaggio garantisce che la reazione di splicing nella cellula vada solo in avanti 502
- Gli introni self-splicing dimostrano che l'RNA può catalizzare lo splicing 503

**FOCUS 14.2 ESPERIMENTI CHIAVE** La conversione in ribozimi degli introni del gruppo I 504

- Gli introni del gruppo I rilasciano un introne lineare anziché un cappio 504
- Come fa lo spliceosoma a trovare con precisione i siti di splicing? 506

**Le varianti di splicing** 509

- Gli esoni appartenenti a diverse molecole di RNA possono essere uniti attraverso uno splicing in *trans* 509
- Un gruppo ristretto di introni è processato da uno spliceosoma alternativo formato da un corredo diverso di snRNP 509

**Lo splicing alternativo** 510

- I singoli geni possono dare origine a prodotti diversi grazie allo splicing alternativo 510
- Esistono diversi meccanismi che garantiscono uno splicing mutualmente esclusivo 512
- L'incredibile caso del gene *Dscam* di drosophila: un esempio di splicing mutualmente esclusivo su larga scala 514
- Lo splicing mutualmente esclusivo dell'esone 6 di *Dscam* non può essere ottenuto con nessun meccanismo standard e probabilmente utilizza nuove strategie 515

**FOCUS 14.3 ESPERIMENTI CHIAVE** L'identificazione dei siti di ancoraggio e delle sequenze selettive 517

- Lo splicing alternativo è regolato da attivatori e repressori 518

- La regolazione dello splicing alternativo determina il sesso dei moscerini 520
- Un interruttore di splicing alternativo controlla la pluripotenza 522

**FOCUS 14.4 IMPLICAZIONI MEDICHE** Gli errori nello splicing del pre-mRNA causano diverse malattie umane 524

**Il rimescolamento degli esoni** 525

- Gli esoni vengono rimescolati mediante ricombinazione per produrre geni che codificano nuove proteine 525

**L'editing dell'RNA** 527

- L'editing dell'RNA rappresenta un altro modo per modificare la sequenza di un mRNA 527

**FOCUS 14.5 IMPLICAZIONI MEDICHE** Le deamminasi e l'HIV 529

- Gli RNA guida dirigono l'inserzione e la delezione delle uridine 529

**Il trasporto dell'mRNA** 531

- L'mRNA maturo viene impacchettato ed esportato dal nucleo al citoplasma per la traduzione 531

**CONCETTI CHIAVE** 532

**DOMANDE** 534

**CAPITOLO 15**  
**La traduzione** 535

**L'RNA messaggero** 536

- Le catene polipeptidiche sono specificate dalle sequenze delle cornici di lettura aperta 536
- Gli mRNA dei procarioti hanno un sito di legame per il ribosoma che recluta il macchinario per la traduzione 538
- Gli mRNA degli eucarioti sono modificati alle estremità 5' e 3' per facilitare la traduzione 538

**Gli RNA transfer** 539

- I tRNA agiscono da adattatori tra codoni e amminoacidi 539
- I tRNA hanno in comune una struttura secondaria con forma simile a un trifoglio 539

**FOCUS 15.1 PER SAPERNE DI PIÙ** Gli enzimi che aggiungono la sequenza CCA: un meccanismo di sintesi dell'RNA in assenza di uno stampo 540

- I tRNA hanno una struttura tridimensionale a "L" 541

**Il legame degli amminoacidi al tRNA** 541

- I tRNA vengono caricati con un amminoacido che si lega all'adenosina dell'estremità 3' tramite un legame acilico ad alta energia 541
- L'amminoacil-tRNA sintetasi carica i tRNA in due passaggi 541
- Ciascuna amminoacil-tRNA sintetasi attacca un solo amminoacido a uno o più tRNA 542
- Le tRNA sintetasi riconoscono le caratteristiche strutturali esclusive dei rispettivi tRNA 543
- La formazione dell'amminoacil-tRNA è molto accurata 544

• Alcune amminoacil-tRNA sintetasi usano un sito di correzione per caricare il tRNA con un alto grado di accuratezza	545
• Il ribosoma non è in grado di distinguere tra tRNA caricati in modo corretto o non corretto	545
<b>Il ribosoma</b>	546
<b>FOCUS 15.2 PER SAPERNE DI PIÙ La selenocisteina</b>	546
• Il ribosoma è costituito da due subunità: una maggiore e una minore	547
• Le subunità maggiore e minore si associano e si dissociano a ogni ciclo di traduzione	549
• I nuovi amminoacidi vengono attaccati all'estremità C-terminale della catena polipeptidica nascente	550
• I legami peptidici si formano mediante il trasferimento della catena polipeptidica nascente da un tRNA all'altro	550
• Gli RNA ribosomiali sono determinanti sia strutturali sia catalitici del ribosoma	551
• Il ribosoma ha tre siti di legame per il tRNA	552
• I canali che attraversano il ribosoma permettono all'mRNA e alla catena polipeptidica nascente di entrare e di uscire dal ribosoma	552
<b>L'inizio della traduzione</b>	555
• Gli mRNA dei procarioti vengono inizialmente reclutati dalla subunità minore tramite appaiamento di basi con l'rRNA	555
• Nei procarioti, un tRNA specializzato, caricato con una metionina modificata, si lega direttamente alla subunità minore	556
• Tre fattori d'inizio dirigono l'assemblaggio di un complesso iniziatore che contiene l'mRNA e il tRNA iniziatore	556
• I ribosomi degli eucarioti vengono reclutati sull'mRNA dal Cap al 5'	557
<b>FOCUS 15.3 PER SAPERNE DI PIÙ uORF e IRES: eccezioni che confermano la regola</b>	558
• I fattori d'inizio della traduzione mantengono l'mRNA eucariote in una conformazione circolare	561
• Il codone d'inizio viene trovato leggendo la sequenza dell'mRNA a partire dall'estremità 5'	562
<b>L'allungamento durante la traduzione</b>	564
• Gli amminoacil-tRNA vengono trasferiti sul sito A dal fattore di allungamento EF-Tu	564
• Il ribosoma utilizza diversi meccanismi per evitare di selezionare gli amminoacil-tRNA errati	565
• Il ribosoma è un ribozima	567
• La formazione del legame peptidico innesca la traslocazione nella subunità maggiore	569
• Il fattore EF-G fa avanzare la traslocazione stabilizzando gli intermedi	569
• EF-Tu-GDP ed EF-G-GDP devono scambiare il GDP con GTP prima di poter partecipare a un nuovo ciclo di allungamento	571
• Il ciclo di formazione di un legame peptidico consuma due molecole di GTP e una di ATP	571
<b>FOCUS 15.4 PER SAPERNE DI PIÙ Le proteine che legano il GTP, i cambiamenti conformazionali, la precisione e l'ordine degli eventi della traduzione</b>	572
<b>La terminazione della traduzione</b>	573
• I fattori di rilascio terminano la traduzione in risposta ai codoni di stop	573
• Alcune brevi regioni dei fattori di rilascio di classe I riconoscono i codoni di stop e innescano il rilascio della catena peptidica	573
• Lo scambio GDP/GTP e l'idrolisi del GTP controllano il funzionamento del fattore di rilascio di classe II	575
• Il fattore di riciclaggio del ribosoma simula un tRNA	576
<b>FOCUS 15.5 IMPLICAZIONI MEDICHE Gli antibiotici arrestano la divisione cellulare bloccando passaggi specifici della traduzione</b>	578
<b>La regolazione della traduzione</b>	581
• Nei batteri le proteine o gli RNA che si legano vicino al sito di legame del ribosoma regolano negativamente l'inizio della traduzione	581
• La regolazione della traduzione nei procarioti: le proteine ribosomiali sono repressori traduzionali della propria sintesi	582
• I regolatori globali della traduzione eucariote agiscono sui fattori indispensabili per il riconoscimento dell'mRNA e il legame del tRNA iniziatore al ribosoma	584
• Le 4E-BP specifiche per un mRNA controllano spazialmente la traduzione	586
• Una proteina di legame all'RNA, regolata dal ferro, controlla la traduzione della ferritina	587
• La traduzione dell'attivatore trascrizionale del lievito Gcn4 è controllata da piccole ORF a monte e dall'abbondanza di un complesso ternario	588
<b>FOCUS 15.6 TECNICHE La determinazione del profilo dei ribosomi e dei polisomi</b>	590
<b>La regolazione della stabilità dell'mRNA e delle proteine dipendente dalla traduzione</b>	592
• L'RNA SsrA libera i ribosomi che traducono gli mRNA spezzati	592
<b>FOCUS 15.7 IMPLICAZIONI MEDICHE Un farmaco di prima linea nella terapia della tubercolosi ha per bersaglio l'indirizzamento al ribosoma di SsrA</b>	594
• Le cellule eucariote degradano gli mRNA incompleti o dotati di codoni di stop prematuri	595
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	598
<b>DOMANDE</b>	600
<b>CAPITOLO 16</b>	
<b>Il codice genetico</b>	601
<b>Il codice è degenerato</b>	601
• Riconoscere un ordine nel codice	603
• Il tentennamento dell'anticodone	603
• Tre codoni determinano la fine della catena	605
• Come venne decifrato il codice	605

• L'incorporazione di amminoacidi specifici da parte di mRNA sintetici	605
• La sequenza poliU codifica la poli-fenilalanina	606
• I copolimeri misti consentirono l'assegnazione di altri codoni	607
• L'RNA transfer si lega a codoni trinucleotidici definiti	608
• L'assegnazione dei codoni tramite copolimeri ripetitivi	608
<b>Tre regole disciplinano il codice genetico</b>	609
• Tre tipi di mutazioni puntiformi alterano il codice genetico	610
• La prova genetica che il codice viene letto in gruppi di tre unità	611
<b>Le mutazioni di soppressione possono trovarsi nello stesso gene o in geni diversi</b>	611
• La soppressione intergenica coinvolge tRNA mutanti	612
• I soppressori nonsense leggono anche i normali segnali di terminazione	614
• La prova della validità del codice genetico	614
<b>Il codice genetico è pressoché universale</b>	615
<b>FOCUS 16.1 PER SAPERNE DI PIÙ</b> Espandere il codice genetico	617
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	618
<b>DOMANDE</b>	618
<b>CAPITOLO 17</b>	
<b>Origine ed evoluzione iniziale della vita</b>	621
<b>Quando è sorta la vita sulla Terra?</b>	623
<b>Quali furono le basi della chimica organica prebiotica?</b>	624
<b>La vita si è evoluta da un mondo a RNA?</b>	627
<b>È possibile creare ribozimi autoreplicanti tramite evoluzione diretta?</b>	628
<b>L'evoluzione darwiniana richiede protocellule in grado di autoreplicarsi</b>	631
<b>La vita è nata sulla Terra?</b>	634
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	635
<b>DOMANDE</b>	635
<b>PARTE E</b>	
<b>REGOLAZIONE GENICA</b>	637
<b>CAPITOLO 18</b>	
<b>La regolazione della trascrizione nei procarioti</b>	643
<b>I principi della regolazione trascrizionale</b>	643
• L'espressione genica è controllata da proteine regolatrici	643
• La maggior parte degli attivatori e dei repressori agisce a livello dell'inizio della trascrizione	644
• Molti promotori sono regolati dagli attivatori, che favoriscono il legame dell'RNA polimerasi al DNA, e dai repressori, che bloccano questo legame	644
• Alcuni attivatori e repressori funzionano allostericamente e regolano passaggi dell'inizio della trascrizione successivi al legame dell'RNA polimerasi	645
• Azione a distanza e formazione di un'ansa sul DNA	646
• Il legame cooperativo e l'allosteria svolgono molte funzioni nella regolazione genica	647
• Antiterminazione e oltre: non tutta la regolazione dell'espressione genica agisce sull'inizio della trascrizione	648
<b>La regolazione dell'inizio della trascrizione: alcuni esempi nei procarioti</b>	648
• L'espressione dei geni <i>lac</i> è controllata da un attivatore e da un repressore	648
• CAP e il repressore Lac influenzano in modo opposto il legame dell'RNA polimerasi al promotore <i>lac</i>	650
• CAP utilizza superfici separate della proteina per l'attivazione e il legame al DNA	650
<b>FOCUS 18.1 ESPERIMENTI CHIAVE</b> Gli esperimenti di bypass dell'attivatore	652
• La proteina CAP e il repressore Lac legano il DNA per mezzo di un motivo strutturale comune	652
• Le attività del repressore Lac e di CAP sono controllate allostericamente dai loro segnali	654
<b>FOCUS 18.2 ESPERIMENTI CHIAVE</b> Jacob, Monod e le loro teorie sulla regolazione genica	656
• Il controllo combinatorio: CAP controlla anche altri geni	658
• Fattori $\sigma$ alternativi dirigono l'RNA polimerasi su serie alternative di promotori	658
• NtrC e MerR: due attivatori trascrizionali che agiscono per mezzo dell'allosteria e non del reclutamento	659
• NtrC è dotato di un'attività ATPasica e agisce sul DNA in siti lontani dal gene	659
• MerR attiva la trascrizione facendo ruotare il DNA del promotore	660
• Alcuni repressori trattengono la RNA polimerasi sul promotore invece di escluderla	661
• AraC controlla l'operone <i>araBAD</i> mediante l'antiattivazione	662
<b>FOCUS 18.3 IMPLICAZIONI MEDICHE</b> Il blocco della virulenza mediante silenziamento dei meccanismi di comunicazione intercellulare	663
<b>L'esempio del batteriofago <math>\lambda</math>: livelli di regolazione diversi</b>	664
• Schemi alternativi di espressione genica controllano la crescita litica e quella lisogenica	665
• Le proteine regolatrici e i loro siti di legame	667
• Il repressore di $\lambda$ lega l'operatore in modo cooperativo	668
<b>FOCUS 18.4 PER SAPERNE DI PIÙ</b> Concentrazione, affinità e legame cooperativo	669
• Il repressore e Cro si legano secondo schemi alternativi per controllare il ciclo litico e quello lisogenico	671

• L'induzione lisogenica richiede il taglio proteolitico del repressore di $\lambda$	671	• Attività a distanza: loop e isolatori	703
• L'autoregolazione negativa del repressore richiede interazioni a lunga distanza e un'ampia ansa di DNA	672	• Per la corretta regolazione di alcuni gruppi di geni sono necessarie regioni di controllo specifiche	704
<b>FOCUS 18.5 ESPERIMENTI CHIAVE</b> L'evoluzione dell'interruttore di $\lambda$	674	<b>Integrazione del segnale e controllo combinatorio</b>	706
• In seguito all'infezione di un nuovo ospite, un altro attivatore, $\lambda$ CII, controlla la scelta tra ciclo litico e lisogenico	676	• Gli attivatori operano in modo sinergico per integrare i segnali	706
• Il numero di particelle fagiche che infettano una cellula influenza l'andamento litico o lisogenico dell'infezione	676	• Integrazione del segnale: il gene <i>HO</i> è controllato da due regolatori, uno recluta modificatori dei nucleosomi, l'altro recluta un mediatore	707
• Le condizioni di crescita di <i>E. coli</i> influenzano la stabilità della proteina CII e di conseguenza la scelta tra ciclo litico e lisogenico	677	• Integrazione del segnale: il legame cooperativo degli attivatori sul gene dell'interferone $\beta$ umano	708
<b>FOCUS 18.6 ESPERIMENTI CHIAVE</b> Gli approcci genetici che hanno portato all'isolamento dei geni coinvolti nella scelta tra ciclo litico e lisogenico	678	• Il controllo combinatorio dell'attività genica è fondamentale per la complessità e la diversità degli eucarioti	709
• L'antiterminazione trascrizionale nello sviluppo di $\lambda$	679	• Il controllo combinatorio dei geni del mating type di <i>S. cerevisiae</i>	711
• La retroregolazione: l'espressione del gene <i>int</i> è determinata da un gioco di controlli sulla sintesi e la stabilità dell'RNA	680	<b>FOCUS 19.4 ESPERIMENTI CHIAVE</b> Come si evolve un circuito di regolazione	712
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	682	<b>I repressori trascrizionali</b>	713
<b>DOMANDE</b>	683	<b>Trasduzione del segnale e controllo dei regolatori trascrizionali</b>	715
<b>CAPITOLO 19</b>		• I segnali sono spesso comunicati ai regolatori trascrizionali attraverso vie di trasduzione del segnale	715
<b>La regolazione della trascrizione negli eucarioti</b>	687	• Vari segnali controllano i regolatori trascrizionali eucariotici in diversi modi	717
<b>I meccanismi che regolano la trascrizione sono conservati dal lievito ai mammiferi</b>	689	<b>Il silenziamento genico</b>	718
• Gli attivatori hanno domini di legame al DNA e domini di attivazione separati	690	• Il silenziamento nel lievito è mediato da deacetilazione e metilazione degli istoni	719
• I regolatori degli eucarioti usano domini differenti per il legame al DNA, ma il riconoscimento del DNA si basa sugli stessi principi di quelli dei batteri	691	• Nella drosophila HP1 riconosce gli istoni metilati e la cromatina condensata	721
<b>FOCUS 19.1 TECNICHE</b> Il saggio del doppio ibrido	692	• La repressione mediata da Polycomb utilizza anche la metilazione istonica	722
• Le regioni di attivazione sono strutture non ben definite	695	<b>FOCUS 19.5 PER SAPERNE DI PIÙ</b> Esiste un codice istonico?	722
<b>Il reclutamento sui geni di complessi proteici indotto dagli attivatori trascrizionali</b>	696	• La metilazione del DNA nei mammiferi è associata al silenziamento genico	724
• Gli attivatori reclutano il complesso trascrizionale sui geni	696	<b>FOCUS 19.6 IMPLICAZIONI MEDICHE</b> La repressione della trascrizione e le malattie umane	725
<b>FOCUS 19.2 TECNICHE</b> I saggi ChIP-Chip e ChIP-Seq sono i metodi migliori per identificare gli enhancer	697	<b>L'epigenetica regola l'espressione genica</b>	726
• Gli attivatori reclutano anche modificatori dei nucleosomi che permettono al complesso trascrizionale di legarsi al promotore o iniziare la trascrizione	698	• Alcune modalità di espressione genica vengono ereditate con la divisione cellulare anche quando il segnale scatenante non è più presente	727
• Gli attivatori reclutano su alcuni promotori altri fattori necessari per un inizio efficiente o per l'allungamento	700	<b>CONCETTI CHIAVE</b>	729
<b>FOCUS 19.3 IMPLICAZIONI MEDICHE</b> Modifiche istoniche, allungamento trascrizionale e leucemia	701	<b>DOMANDE</b>	730
		<b>CAPITOLO 20</b>	
		<b>Gli RNA regolatori</b>	733
		<b>La regolazione mediata da RNA nei batteri</b>	733
		• I riboswitch si trovano all'interno dei trascritti dei geni di cui controllano l'espressione attraverso cambiamenti della struttura secondaria	735

**FOCUS 20.1 PER SAPERNE DI PIÙ** Gli operoni per la biosintesi degli amminoacidi sono regolati mediante l'attenuazione 737

- Gli RNA come agenti difensivi nei procarioti e negli archei 740
- Le sequenze CRISPR sono un segnale di sopravvenute infezioni e dell'acquisizione di una resistenza 740
- Le sequenze spaziatrici sono acquisite dai virus dopo l'infezione 741
- Una CRISPR è trascritta come un singolo RNA più lungo, che viene poi processato in specie più corte destinate alla distruzione di DNA o RNA invasori 742

**Gli RNA regolatori sono universalmente diffusi negli eucarioti** 744

- I piccoli RNA che silenziano i geni sono generati da diverse fonti e dirigono il silenziamento genico in tre modi distinti 744

**Sintesi e funzione dei miRNA** 747

- I miRNA hanno una tipica struttura che aiuta a identificarli e a individuare i loro geni bersaglio 747
- Un miRNA attivo viene prodotto mediante due passaggi di processamento nucleolitico 749
- Dicer è il secondo enzima che taglia l'RNA coinvolto nella produzione del miRNA e l'unico necessario per la produzione dei siRNA 749

**Il silenziamento dell'espressione genica grazie ai piccoli RNA** 750

- L'incorporazione del filamento di RNA guida in RISC porta alla formazione del complesso maturo, pronto a silenziare l'espressione genica 750
- I piccoli RNA possono silenziare trascrizionalmente i geni inducendo modifiche della cromatina 752

**FOCUS 20.2 ESPERIMENTI CHIAVE** La scoperta dei miRNA e degli RNAi 754

- L'RNAi è un meccanismo di difesa che protegge da virus e trasposoni 756

**FOCUS 20.3 IMPLICAZIONI MEDICHE** I microRNA e le patologie umane 758

- L'RNAi è diventato un potente sistema per manipolare l'espressione genica 759

**Gli RNA lunghi non codificanti e l'inattivazione del cromosoma X** 761

- Gli RNA lunghi non codificanti svolgono molti ruoli nella regolazione genica, compresi gli effetti *cis* e *trans* sulla trascrizione 761
- L'inattivazione del cromosoma X determina il mosaicismo 762
- *Xist* è un lncRNA che inattiva un solo cromosoma X nelle femmine di mammifero 762

**FOCUS 20.4 PER SAPERNE DI PIÙ** L'analisi delle interazioni funzionali tra geni a livello d'interi genomi 764

**CONCETTI CHIAVE** 765

**DOMANDE** 766

**CAPITOLO 21**

**La regolazione genica nello sviluppo e nell'evoluzione** 767

**FOCUS 21.1 IMPLICAZIONI MEDICHE** La formazione delle cellule iPS 768

**Tre strategie con cui le cellule sono indotte a esprimere specifici gruppi di geni durante lo sviluppo** 769

- Alcuni mRNA si localizzano in zone precise all'interno della cellula uovo e dell'embrione grazie a una polarità intrinseca del citoscheletro 769
- Il contatto cellula-cellula e le molecole segnale secrete stimolano cambiamenti dell'espressione genica nelle cellule vicine 770
- Il gradiente delle molecole segnale può indurre le cellule a seguire diverse vie di sviluppo in base alla loro posizione 771

**Esempi delle tre strategie utilizzate per stabilire l'espressione genica differenziale** 773

- La localizzazione del repressore Ash1 controlla il mating type del lievito attraverso il silenziamento del gene *HO* 773

**FOCUS 21.2 PER SAPERNE DI PIÙ** Il citoscheletro: asimmetria e crescita 775

- Un mRNA localizzato promuove il differenziamento muscolare nell'embrione dell'ascidia 776
- Il contatto cellula-cellula stimola l'espressione genica differenziale nel batterio sporigeno *Bacillus subtilis* 777
- Uno scambio regolativo epidermide-neuroni è controllato dal segnale di Notch nel sistema nervoso centrale degli insetti 778
- Il gradiente del morfogeno Sonic hedgehog controlla la formazione dei diversi tipi di neuroni nel tubo neurale dei vertebrati 779

**La biologia molecolare dell'embriogenesi di drosophila** 780

- Una sintesi dell'embriogenesi di drosophila 780

**FOCUS 21.3 PER SAPERNE DI PIÙ** Lo sviluppo di drosophila 781

- Il gradiente di un morfogeno controlla lo sviluppo dorso-ventrale dell'embrione di drosophila 783
- La segmentazione viene avviata da alcuni mRNA localizzati ai poli anteriore e posteriore dell'uovo non fecondato 786

**FOCUS 21.4 ESPERIMENTI CHIAVE** La sinergia degli attivatori 787

**FOCUS 21.5 PER SAPERNE DI PIÙ** La nicchia delle cellule staminali 788

- Bicoid e Nanos regolano *hunchback* 790
- Molteplici enhancer assicurano la precisa regolazione di *hunchback* 790

**FOCUS 21.6 PER SAPERNE DI PIÙ** Le soglie a gradiente 791

- Il gradiente del repressore Hunchback stabilisce i diversi limiti di espressione dei geni *gap* 791

• Hunchback e le proteine Gap producono le bande di espressione genica della segmentazione	793	<b>I circuiti a retroazione positiva</b>	821
<b>FOCUS 21.7 ESPERIMENTI CHIAVE</b> Le sequenze regolatrici che agiscono in <i>cis</i> nello sviluppo e nell'evoluzione animale	794	• I circuiti a retroazione positiva sono reti a tre nodi con proprietà utili	821
• I gradienti dei repressori gap producono molte bande di espressione genica	795	• I circuiti a retroazione positiva sono usati nello sviluppo	823
• I repressori trascrizionali a corto raggio consentono a enhancer diversi di agire indipendentemente l'uno dall'altro all'interno della complessa regione regolatrice di <i>eve</i>	797	<b>I circuiti oscillatori</b>	824
<b>I geni omeotici: un'importante classe di regolatori dello sviluppo</b>	797	• Alcuni circuiti generano profili oscillatori di espressione genica	824
• I cambiamenti nell'espressione dei geni omeotici sono la causa della diversità tra gli artropodi	799	• I circuiti sintetici simulano alcune caratteristiche delle reti naturali di regolazione	826
<b>FOCUS 21.8 PER SAPERNE DI PIÙ</b> I geni omeotici di <i>Drosophila</i> sono organizzati in raggruppamenti speciali sui cromosomi	799	<b>CONCETTI CHIAVE</b>	827
• Le variazioni dell'espressione di <i>Ubx</i> spiegano le morfologie degli arti nei crostacei	801	<b>DOMANDE</b>	828
• Perché gli insetti hanno perso gli arti addominali	802	<b>PARTE F</b>	
• L'evoluzione degli arti per il volo sembra dovuta ai cambiamenti di sequenze regolatrici del DNA	803	<b>APPENDICE</b>	829
<b>L'evoluzione dei genomi e l'origine della specie umana</b>	804	<b>Gli organismi modello</b>	833
• Animali differenti contengono una serie di geni incredibilmente simili	805	<b>I batteriofagi</b>	834
• Molti animali hanno geni anomali	805	• I saggi per la crescita fagica	836
• La sintenia è molto antica dal punto di vista evolutivo	807	• La curva di crescita a passaggio unico	836
• Il sequenziamento ad alta efficienza ( <i>deep sequencing</i> ) è stato usato per analizzare l'origine umana	808	• Incroci tra fagi e test di complementazione	837
<b>CONCETTI CHIAVE</b>	808	• Trasduzione e DNA ricombinante	837
<b>DOMANDE</b>	809	<b>I batteri</b>	838
<b>CAPITOLO 22</b>		• L'analisi della crescita batterica	839
<b>La biologia dei sistemi</b>	811	• I batteri si scambiano DNA mediante coniugazione, trasduzione mediata dai fagi e trasformazione con DNA	839
<b>I circuiti regolatori</b>	812	• I plasmidi batterici possono essere usati come vettori di clonaggio	841
<b>L'autoregolazione</b>	813	• I trasposoni possono essere utilizzati per generare mutazioni per inserzione e fusioni tra il gene e l'operone	841
• L'autoregolazione negativa smorza il rumore di fondo e permette un rapido tempo di risposta	813	• Gli studi di biologia molecolare sui batteri hanno ricevuto impulso dalla tecnologia del DNA ricombinante, dal sequenziamento del genoma e dal profilo trascrizionale	842
• Nell'espressione genica c'è rumore di fondo	814	• L'analisi biochimica è particolarmente efficace nelle cellule semplici con gli strumenti tradizionali e della genetica molecolare	842
• L'autoregolazione positiva ritarda l'espressione di un gene	816	• I batteri possono essere studiati dal punto di vista citologico	843
<b>La bistabilità</b>	816	• Fagi e batteri hanno fornito importanti informazioni sui geni	843
• Alcuni circuiti regolatori possono avere due stati stabili alternativi	816	• I circuiti sintetici e il rumore di fondo della regolazione	844
<b>FOCUS 22.1 ESPERIMENTI CHIAVE</b> Bistabilità e isteresi	818	<b>Il lievito <i>Saccharomyces cerevisiae</i></b>	844
• Gli interruttori bimodali variano la loro persistenza	819	• L'esistenza di cellule aploidi e diploidi facilita l'analisi genetica di <i>S. cerevisiae</i>	845
		• È facile ottenere mutazioni specifiche nel lievito	846
		• <i>S. cerevisiae</i> possiede un genoma piccolo e ben caratterizzato	846
		• Le cellule di <i>S. cerevisiae</i> cambiano forma durante la crescita	846
		<b>L'arabetta comune <i>Arabidopsis thaliana</i></b>	847
		• <i>A. thaliana</i> è caratterizzata da un ciclo vitale rapido con fasi aploidi e diploidi	848

• <i>A. thaliana</i> viene facilmente trasformata per gli esperimenti di genetica inversa	849	<b>Contrastare la pandemia con la bioinformatica</b>	873
• <i>A. thaliana</i> è caratterizzata da un piccolo genoma facilmente manipolabile	849	• Genomi e genomica per il controllo delle pandemie	873
• L'epigenetica	850	• Risorse e applicazioni della genomica alla pandemia di COVID-19	875
• Le piante rispondono all'ambiente	851	• La condivisione delle informazioni: banche dati primarie	875
• Sviluppo e formazione della struttura	851	• L'elaborazione delle informazioni: risorse secondarie	876
<b>Il verme nematode <i>Caenorhabditis elegans</i></b>	852	• Limiti e sfide per il futuro, oltre i genomi?	878
• <i>C. elegans</i> ha un ciclo vitale molto rapido	853	<b>Il virus CoV-2 alla luce della biologia strutturale</b>	878
• <i>C. elegans</i> è costituito da relativamente poche linee cellulari ben studiate	853	• Un altro virus con la "corona"	879
• La via della morte cellulare fu scoperta in <i>C. elegans</i>	854	• La proteasi M <sup>PRO</sup>	879
• L'RNAi fu scoperta in <i>C. elegans</i>	855	• La proteina Spike	881
<b>Il moscerino della frutta <i>Drosophila melanogaster</i></b>	855	• L'RNA polimerasi RNA dipendente (RdRp)	884
• <i>D. melanogaster</i> ha un ciclo vitale rapido	856	<b>Struttura del genoma e riproduzione virale</b>	885
• Le prime mappe genomiche sono state realizzate in <i>D. melanogaster</i>	857	• Le prime fasi dopo l'ingresso del virus	885
• I mosaici genetici consentono l'analisi dei geni letali nei moscerini adulti	858	• La replicazione del genoma virale	886
• La ricombinasi FLP di lievito consente la produzione efficiente di mosaici genetici	859	• I salti dell'RNA polimerasi dipendente dall'RNA	887
• È facile generare moscerini della frutta transgenici che contengono DNA esogeno	860	• Il ruolo dell'epigenetica	888
<b>Il topo comune <i>Mus musculus</i></b>	861	<b>La diagnosi: dagli strumenti molecolari all'intelligenza artificiale</b>	888
• Lo sviluppo embrionale del topo dipende dalle cellule staminali	862	• La trasmissione del virus	889
• È facile introdurre DNA esogeno nell'embrione di topo	863	• La diagnosi con strumenti molecolari	889
• La ricombinazione omologa consente l'ablazione selettiva di singoli geni	863	• L'uso dell'intelligenza artificiale	891
• I topi mostrano un'eredità epigenetica	865	<b>Il monitoraggio: i test sierologici</b>	893
<b>COVID-19: biologia molecolare e infezioni virali</b>	867	<b>FOCUS B.1 PER SAPERNE DI PIÙ</b> Risposta immunitaria umorale e cinetica della comparsa degli anticorpi	893
<b>Spillover e pandemia di COVID-19: una prospettiva genomica</b>	867	• I principi su cui si basano i test sierologici	894
• Come emerge una pandemia zoonica	868	• Generazione e validazione dei test sierologici	894
• Coronavirus e zoonosi	868	<b>FOCUS B.2 PER SAPERNE DI PIÙ</b> La produzione degli antigeni virali in laboratorio	894
• 2002:SARS	869	• I parametri specifici analitici e clinici di un test diagnostico	895
• 2012: MERS	869	<b>FOCUS B.3 PER SAPERNE DI PIÙ</b> La curva ROC	896
• CoV-2: pipistrello o pangolino?	870	• I tipi di test sierologici	896
• Capacità di mutare e varianti di CoV-2	871	• Quando sono utili i test sierologici	899
		<b>Lo sviluppo dei vaccini</b>	900
		• Come nasce un vaccino	900
		• La sperimentazione clinica	900
		• I vaccini a RNA	902
		<b>INDICE ANALITICO</b>	904