

Indice

Prefazione XIV

PARTE

1

CONCETTI FONDAMENTALI SU DNA, CROMOSOMI, CELLULE, SVILUPPO ED EREDITARIETÀ

1

Principi di base della struttura degli acidi nucleici e dell'espressione genica

- Il dogma centrale della biologia molecolare 4

1.1 La composizione degli acidi nucleici e dei polipeptidi 4

- Gli acidi nucleici e i polipeptidi sono sequenze lineari di semplici unità 4
- Il ruolo dei legami chimici nella stabilità e nella funzione delle macromolecole 8

1.2 L'appaiamento delle basi nel DNA e nell'RNA, la doppia elica e la replicazione del DNA 9

- Le basi metilate nel DNA 10
- L'accoppiamento alternativo delle basi e la conformazione del DNA 11
- La complementarietà e la notazione delle sequenze 12
- La replicazione semiconservativa 12
- La natura semidiscontinua della replicazione del DNA 13
- Le diverse DNA polimerasi dei mammiferi 14
- La struttura dell'RNA e i genomi a RNA 15

1.3 La trascrizione dell'RNA e l'espressione genica 17

- Il processo trascrizionale di base 18
- Le classi di RNA polimerasi nelle cellule eucariote 19
- L'RNA polimerasi II e la trascrizione dei geni nel nucleo che codificano per le proteine 19
- Diversi gruppi di geni per gli RNA sono trascritti dalle tre RNA polimerasi eucariote 20

1.4 La maturazione dell'RNA 21

- Lo splicing dell'RNA rimuove le regioni non necessarie dal trascritto primario 21
- Sono aggiunti nucleotidi specifici alle estremità della maggior parte dei trascritti prodotti dall'RNA polimerasi e dei precursori degli RNA transfer 23
- Gli RNA non codificanti sono prodotti dopo una serie di eventi di taglio e modifiche chimiche dei singoli nucleotidi 25

1.5 La traduzione, le modifiche post-traduzionali e la struttura delle proteine 27

- Gli RNA messenger sono decodificati per sintetizzare polipeptidi specifici 28
- Il codice genetico è degenerato e non è completamente universale 29
- Il processamento post-traduzionale: le modifiche chimiche degli amminoacidi e il taglio dei polipeptidi 30
- La complessa relazione tra sequenza amminoacidica e struttura proteica 34

FOCUS 1.1 Le principali classi di proteine coinvolte nella replicazione del DNA 14

FOCUS 1.2 L'estrema variabilità dei genomi virali 16

RIASSUNTO 37

SUGGERIMENTI DI LETTURA 37

2

Nozioni fondamentali su cellule e cromosomi

2.1 La struttura, la varietà cellulare e l'evoluzione della cellula 40

- I procarioti e gli eucarioti rappresentano una separazione fondamentale delle forme di vita cellulari 40
- La suddivisione del genoma in compartimenti cellulari distinti negli eucarioti 42
- La straordinaria diversità delle cellule nel corpo 43
- L'evoluzione delle cellule eucariote e l'origine di mitocondri, nucleo e citoscheletro 46
- Semplici mutazioni geniche possono aver dato origine al fondamentale sviluppo di organismi pluricellulari 48

2.2 Il DNA e il numero di copie di cromosomi durante il ciclo cellulare 49

- La ploidia può variare nelle cellule di un singolo individuo 49
- Differenze nella ploidia e nel contenuto di DNA durante il ciclo cellulare 50

2.3 La divisione cellulare e la trasmissione del DNA alle cellule figlie 52

- La mitosi è la modalità normale di divisione cellulare 52
- La meiosi è una forma specializzata di divisione cellulare che produce spermatozoi e cellule uovo 53
- La mitosi e la meiosi hanno importanti somiglianze e differenze 56
- La replicazione e la segregazione del DNA mitocondriale 57

2.4 La struttura e la funzione dei cromosomi 57

- Il DNA cromosomico è compattato attraverso un ripiegamento che inizia con il legame delle proteine istoniche per formare i nucleosomi 58
- Eucromatina, eterocromatina e la variabilità nella compattazione della cromatina in interfase 59
- Ogni cromosoma ha il suo territorio specifico nel nucleo interfascio 60
- I centromeri svolgono un ruolo centrale nei movimenti dei cromosomi ma si sono evoluti in modi molto diversi in diversi organismi 60
- Esistono poche evidenze riguardo a sequenze consenso conservate nelle origini di replicazione degli eucarioti complessi 62
- I telomeri hanno strutture specializzate per preservare le estremità dei cromosomi lineari 63

FOCUS 2.1 L'organizzazione intracellulare delle cellule animali 42

FOCUS 2.2 Le divisioni cellulari asimmetriche 46

FOCUS 2.3 Le componenti del fuso mitotico 61

RIASSUNTO 66

SUGGERIMENTI DI LETTURA 66

3**Principi basilari sulle interazioni tra cellule e sulla biologia del sistema immunitario****3.1 I principi della segnalazione cellulare** 69

- Le molecole di segnalazione si legano a specifici recettori sulle cellule riceventi per indurre un'alterazione del comportamento cellulare 70
- Alcune molecole segnale legano recettori intracellulari che attivano direttamente i geni bersaglio 72
- La via di segnalazione attraverso i recettori della superficie cellulare spesso coinvolge cascate di chinasi 73
- Le piccole molecole intermedie della segnalazione intracellulare nella trasduzione del segnale 74
- La segnalazione sinaptica non richiede l'attivazione dei fattori di trascrizione 75

3.2 La proliferazione cellulare e la morte cellulare programmata 76

- La maggior parte delle cellule negli animali adulti non si divide, ma alcuni tessuti e cellule si rinnovano rapidamente 76
- I mitogeni promuovono la proliferazione cellulare superando i meccanismi che frenano la progressione del ciclo cellulare in G1 77
- I limiti della proliferazione cellulare e il concetto di senescenza cellulare 79
- Un grande numero delle nostre cellule è programmato in modo naturale per morire 79
- L'importanza della morte cellulare programmata 80
- L'apoptosi è effettuata dalle caspasi in risposta a segnali di morte o a prolungato stress cellulare 82

3.3 L'adesione cellulare e la formazione dei tessuti 83

- I diversi tipi di giunzioni cellulari possono regolare il contatto tra le cellule 84
- La matrice extracellulare regola il comportamento cellulare e serve da impalcatura per sostenere i tessuti 85
- I tipi cellulari specializzati sono organizzati in tessuti 87

3.4 La biologia del sistema immunitario 89

- L'origine delle cellule del sistema immunitario e loro caratteristiche 90
- Il sistema immunitario innato: combattere i patogeni utilizzando barriere e una risposta rapida basata su una modalità generale di riconoscimento dei patogeni 94
- Il sistema immunitario adattativo attiva risposte immunitarie specifiche potenziate dalle cellule della memoria 98
- L'immunità umorale dipende dalle attività di anticorpi solubili 99
- Nell'immunità mediata da cellule, le cellule T riconoscono cellule che contengono frammenti di proteine estranee 100

FOCUS 3.1 La struttura dei fattori di trascrizione 71

FOCUS 3.2 Il complesso maggiore di istocompatibilità e la struttura e funzione delle proteine MHC 102

RIASSUNTO 105

SUGGERIMENTI DI LETTURA 105

4**Le caratteristiche delle prime fasi dello sviluppo, del differenziamento cellulare e delle cellule staminali****4.1 I tipi di cellule e il differenziamento cellulare nelle prime fasi dello sviluppo dei mammiferi** 107

- Una panoramica dello sviluppo dei mammiferi 108
- Il controllo epigenetico dello sviluppo e la necessità d'interrompere la simmetria 109
- Fecondazione: l'inizio di una nuova vita 110
- Dallo zigote umano allo stadio di blastocisti e allo sviluppo di tre tipi di linee cellulari 111
- L'impianto 114
- La gastrulazione e la formazione dei tre foglietti germinativi embrionali 115
- Le decisioni sul destino cellulare sono generate da segnali dai tessuti circostanti o attraverso divisioni cellulari asimmetriche 118
- Le basi molecolari della specificazione cellulare primitiva e modelli alternativi di come i differenti tipi cellulari si sviluppano 120
- Lo sviluppo delle cellule germinali e la determinazione del sesso nei mammiferi 122

4.2 Le cellule staminali e il differenziamento cellulare 124

- Perché le cellule staminali sono importanti per la ricerca scientifica e medica? 125
- La divisione delle cellule staminali e l'equilibrio tra la proliferazione delle cellule staminali e il differenziamento 126
- Le cellule staminali tissutali sono importanti per il rinnovamento tissutale e sono mantenute in microambienti specializzati 127
- La manipolazione delle cellule ottenute da embrioni nei primi stadi dello sviluppo per generare linee immortali di cellule staminali pluripotenti 128
- Generare linee di cellule staminali pluripotenti attraverso la riprogrammazione epigenetica dei genomi delle cellule differenziate 133
- Dirigere artificialmente il differenziamento e progettare il transdifferenziamento delle cellule umane 135

FOCUS 4.1 Le membrane extraembrionali e la placenta nei mammiferi 108

FOCUS 4.2 La compattazione degli embrioni dei mammiferi: polarità delle prime cellule e basi per lo sviluppo di due tipi di cellule 113

FOCUS 4.3 Formazione dei gemelli nella specie umana 117

RIASSUNTO 136

SUGGERIMENTI DI LETTURA 137

5

I modelli di trasmissione ereditaria

5.1 L'eredità monogenica e multifattoriale 140

5.2 I modelli di alberi genealogici mendeliani 142

- L'identificazione della modalità di trasmissione 145
- Le complicazioni degli alberi genealogici rispetto ai tratti mendeliani semplici 146

5.3 Il mosaicismo e le nuove mutazioni 149

- Le anomalie genetiche possono essere costituzionali o presentarsi come un mosaico 149
- Le nuove mutazioni sono spesso presenti in forma di mosaico 151
- Come rilevare il mosaicismo 152

5.4 I caratteri non mendeliani 153

- Agli inizi del XX secolo ci fu una controversia tra i fautori dell'eredità mendeliana e di quella quantitativa 153
- La teoria poligenica spiega come i caratteri quantitativi possono essere geneticamente determinati 153
- L'ereditabilità misura la proporzione della variabilità totale di un carattere che dipende da differenze genetiche 155
- Il modello dell'effetto soglia estende la teoria poligenica ai caratteri dicotomici 156

FOCUS 5.1 Riassunto dei principali tipi di ereditarietà 143

RIASSUNTO 158

SUGGERIMENTI DI LETTURA 159

PARTE 2

LA COMPRESIONE DEI GENOMI

6

Le tecnologie chiave per studiare il DNA: amplificazione, ibridazione e sequenziamento

6.1 Il clonaggio del DNA nelle cellule batteriche 164

- Trasformazione delle cellule batteriche con DNA ricombinante 164
- L'amplificazione 165
- I vettori 165
- La separazione fisica dei cloni 166
- La produzione del DNA ricombinante 166
- Un esempio di clonaggio standard di DNA nelle cellule batteriche usando un plasmide e una cellula ospite modificata geneticamente 168
- Il principio delle librerie di DNA, le applicazioni e i limiti del clonaggio del DNA 169

- Il clonaggio e l'espressione del DNA nelle cellule batteriche come mezzo per produrre grandi quantità della proteina d'interesse 170

- La necessità di proteine di fusione e tag di affinità 171

- La tecnica del *phage display* 171

6.2 L'amplificazione del DNA mediante replicazione *in vitro* 173

- La PCR: caratteristiche di base e quantificazione 173
- PCR quantitativa e real time PCR 175
- Vantaggi e svantaggi della PCR 175
- L'amplificazione isoterma è un'alternativa alla PCR per amplificare sequenze di DNA *in vitro* 176
- Metodi non selettivi di amplificazione del DNA per ottenere materiale sufficiente da campioni con una quantità limitata di acido nucleico 176

6.3 Ibridazione degli acidi nucleici: principi e usi 177

- Gli eteroduplex artificiali 177
- Due usi diversi dell'ibridazione degli acidi nucleici 178
- I saggi d'ibridazione: usare acidi nucleici noti o oligonucleotidi per trovare sequenze correlate in una popolazione di acidi nucleici 179
- Le due classi di saggi d'ibridazione 182
- Saggi d'ibridazione standard con sonde per visualizzare acidi nucleici immobilizzati 184
- L'ibridazione con microarray: ibridazione in parallelo su larga scala di acidi nucleici marcati con sonde non marcate 185
- L'ibridazione degli acidi nucleici per purificare selettivamente le sequenze d'interesse 186

6.4 I principi del sequenziamento del DNA e il sequenziamento di Sanger con dideossinucleotidi 187

- I concetti di base del sequenziamento di Sanger con dideossinucleotidi 187

6.5 Il sequenziamento massivo parallelo del DNA (sequenziamento di nuova generazione) 190

- Il sequenziamento massivo in parallelo di DNA amplificato: una panoramica 193
- La costruzione di librerie di DNA 194
- L'amplificazione di frammenti di DNA separati 194
- Le reazioni di sequenziamento del DNA 195
- Il sequenziamento massivo parallelo di DNA amplificato: le piattaforme di sequenziamento più usate 197
- Il sequenziamento massivo in parallelo di DNA non amplificato 201

FOCUS 6.1 Le endonucleasi di restrizione, da protettori dei batteri a strumenti per la genetica 167

FOCUS 6.2 La marcatura degli acidi nucleici 180

FOCUS 6.3 Elettroforesi su gel ed elettroforesi capillare per separare gli acidi nucleici in base alle dimensioni 189

FOCUS 6.4 Il pirosequenziamento 198

RIASSUNTO 203

SUGGERIMENTI DI LETTURA 204

7

L'analisi della struttura e dell'espressione dei geni e dei genomi

7.1 L'analisi della struttura del genoma e i progetti genoma 206

- Le mappe strutturali sono necessarie per il sequenziamento del genoma completo 207

- L'ordine lineare dei cloni del DNA genomico in un contiguo di sequenze deve rispecchiare le posizioni subcromosomiche originali 207
- Il Progetto Genoma Umano è stato uno sforzo internazionale e il primo grande progetto della biologia 208
- Le prime mappe genetiche umane avevano una risoluzione bassa e furono costruite principalmente con marcatori di DNA anonimi 209
- La creazione di mappe ad alta densità di marcatori del DNA e di contigui di cloni per ciascun cromosoma umano 210
- La corsa per ottenere una bozza della sequenza del genoma umano 213
- I progetti genoma per diversi organismi modello 216
- Le potenti banche dati genomiche e i browser genetici aiutano a immagazzinare e analizzare i dati genomici 216
- I metodi bioinformatici per predire i geni, le loro funzioni e l'annotazione dei geni 218
- Mettere in ordine le sequenze nei genomi complessi 220

7.2 Le analisi di base dell'espressione genica 222

- La quantificazione dell'espressione di geni individuali utilizzando la PCR quantitativa real time 222
- La mappatura dell'espressione ad alta risoluzione mediante ibridazione *in situ* e immunocitochimica 223

7.3 L'analisi in parallelo a elevata processività dell'espressione genica 226

- I microarray di DNA e di oligonucleotidi permettono di determinare il profilo trascrizionale rapidamente e globalmente 226
- L'approccio moderno allo studio dei profili di espressione genica globale sfrutta sempre più il sequenziamento per quantificare i trascritti 229
- L'analisi dell'espressione globale delle proteine rilevata mediante la spettrometria di massa 231

7.4 Le analisi genomiche su singola cellula 235

- La comprensione delle variazioni tra cellule: le innumerevoli applicazioni della genomica a singola cellula in biologia 236
- Le prospettive di avanzamento della ricerca medica usando la genomica a singola cellula 238
- La tecnologia dei saggi di sequenziamento basati sul DNA in singole cellule 239

FOCUS 7.1 Clonaggio di grandi frammenti di DNA con cromosomi artificiali di lievito e batterici 212

FOCUS 7.2 Le principali tappe nella mappatura e nel sequenziamento del genoma umano 214

FOCUS 7.3 Di chi è il genoma umano sequenziato? 215

FOCUS 7.4 La ricerca di omologie di sequenza 219

FOCUS 7.5 I metodi di rilevamento usati nella PCR quantitativa real time 224

FOCUS 7.6 La produzione di anticorpi 225

FOCUS 7.7 L'analisi dei dati di espressione ottenuti con i microarray 227

FOCUS 7.8 La spettrometria di massa nella proteomica 234

RIASSUNTO 243

SUGGERIMENTI DI LETTURA 244

8

Principi fondamentali della manipolazione genetica nelle cellule di mammifero

Una panoramica dei meccanismi di editing genomico, silenziamento genico e transgenesi della linea germinale 246

8.1 Il trasferimento artificiale di materiale genetico all'interno delle cellule di mammifero 248

- Le colture cellulari: colture di cellule primarie, metodi di coltura e conservazione delle cellule 249
- L'utilità e l'ottenimento di linee cellulari immortalizzate 250
- Metodi non virali per il trasferimento del materiale genetico nelle cellule di mammifero 251

8.2 I principi dell'espressione dei transgeni nelle cellule di mammifero 259

- I promotori inducibili permettono di controllare l'espressione dei transgeni 260
- I metodi per l'espressione stabile e transiente in cellule di mammifero 261

8.3 I meccanismi di editing genomico basati sulla ricombinazione omologa 262

- L'utilizzo della ricombinazione omologa per ottenere editing genomico: le strategie generali e la necessità di trovare sistemi di selezione 263

8.4 L'utilizzo di endonucleasi programmabili sito-specifiche per ottenere editing genomico 266

- L'utilizzo dei meccanismi di riparazione delle rotture del doppio filamento del DNA 266
- Le strategie di editing genomico che prevedono l'utilizzo di endonucleasi sito-specifiche contenenti un dominio di taglio per il DNA e un dominio modulare di legame al DNA 267
- Strategie di editing genomico che prevedono l'utilizzo di endonucleasi guidate da RNA nel sistema CRISPR/Cas 269

8.5 Il silenziamento genico 271

- La tecnologia antisense come mezzo per silenziare l'espressione di uno specifico gene 271
- L'interferenza a RNA è il metodo principale per valutare la funzione di un gene nelle cellule di mammifero in coltura 272

8.6 I meccanismi di transgenesi della linea germinale e gli animali transgenici 274

- Il trasferimento genico nei gameti e nei precursori della linea germinale 274
- La microiniezione nel pronucleo: un metodo consolidato per ottenere organismi transgenici 275
- La manipolazione genetica di cellule embrionali pluripotenti per trasmettere sequenze modificate alla linea germinale 276
- I metodi di manipolazione genica utilizzati per creare animali transgenici attraverso alleli nulli o specifiche mutazioni puntiformi 277
- Il trasferimento nucleare come metodo per produrre animali domestici geneticamente modificati 278

FOCUS 8.1 Come ottenere linee linfoblastoidi trasformate da EBV 251

FOCUS 8.2 L'interferenza a RNA come meccanismo naturale di difesa cellulare 272

FOCUS 8.3 Inattivazione genica condizionale in animali transgenici 278

RIASSUNTO 280

SUGGERIMENTI DI LETTURA 282

9

La scoperta dell'architettura e del funzionamento del genoma umano

9.1 Una panoramica del genoma umano 283

- Il genoma mitocondriale ricorda un genoma batterico ridotto all'essenziale e il suo numero di copie varia in modo molto significativo tra le cellule 284

- L'autonomia limitata del genoma mitocondriale e l'utilizzo di un codice genetico diverso 286
- Il trasferimento recente e continuo di sequenze di mtDNA nel genoma nucleare 287
- Il genoma nucleare umano è relativamente povero di geni e ha rilevanti quantità di DNA eterocromatico 288
- La composizione variabile in basi del genoma nucleare e il significato delle isole CpG 290
- Il genoma umano contiene circa 20000 geni che codificano proteine, ma non è possibile stabilire il loro numero totale esatto 291
- Esistono numerosi RNA umani non codificanti, ma identificare e perfino definire i geni degli RNA funzionali non è immediato 292
- Il lungo viaggio per finire la sequenza del genoma nucleare 295
- Una breve panoramica di alcune risorse informatiche utilizzate per studiare la sequenza del genoma umano e i prodotti genici 297

9.2 L'organizzazione e la distribuzione dei geni nel genoma umano 300

- I geni umani mostrano una grande variabilità nelle dimensioni e nell'organizzazione interna 300
- La densità genica variabile e le unità di trascrizione sovrapposte nel genoma nucleare 302
- Le diverse origini dei geni duplicati nel genoma umano 302
- I diversi modi con cui sono organizzate le famiglie di geni codificanti proteine 306
- L'organizzazione e la distribuzione delle famiglie di geni codificanti RNA 308

9.3 L'eterocromatina e le unità ripetute di trasposoni 310

- L'eterocromatina costitutiva è in gran parte definita da lunghe unità di DNA ripetute in tandem 310
- Le ripetizioni derivate da trasposoni costituiscono la maggior parte del genoma umano e si sono sviluppate in gran parte attraverso la retrotrasposizione 312
- La doppia natura dei trasposoni: amici e nemici 314

9.4 Primi passi per capire come funziona il nostro genoma 315

- Il progetto ENCODE: il primo tentativo sistematico di catalogare elementi funzionali del DNA nel genoma umano 316
- L'approccio alle funzioni dei geni umani attraverso la manipolazione genetica delle cellule in coltura e l'estrapolazione da organismi modello 320
- Gli sforzi internazionali per produrre mappe di proteomi umani e interattomi delle proteine umane 323

FOCUS 9.1 Le isole di CpG nei vertebrati 290

FOCUS 9.2 Gli pseudogeni, i retrogeni e la copiatura diretta dagli RNA di geni codificanti proteine 305

FOCUS 9.3 La ChIP-Seq, un metodo per definire i siti di legame delle proteine associate al DNA 319

FOCUS 9.4 L'identificazione delle interazioni tra proteine mediante screening con doppio ibrido del lievito 324

RIASSUNTO 326

SUGGERIMENTI DI LETTURA 326

10

La regolazione genica e l'epigenoma

10.1 Accessibilità e conformazione della cromatina 330

- Il posizionamento dei nucleosomi e i complessi di rimodellamento della cromatina 332

10.2 Gli istoni e le altre proteine che legano il DNA 333

- I fattori trascrizionali e altre proteine che legano il DNA 335

10.3 La regolazione mediata dalla metilazione del DNA e dagli RNA non codificanti 336

- Il significato delle sequenze CpG 338
- I ruoli dell'RNA nella regolazione dell'espressione genica 340
- Le interazioni tra i meccanismi epigenetici 342

10.4 L'inattivazione dell'X: un cambiamento epigenetico trasmissibile da una cellula alla cellula figlia, ma non dai genitori ai figli 342

- A livello dei *loci* soggetti a imprinting, l'espressione dipende dall'origine parentale 346
- La memoria epigenetica transgenerazionale: un argomento poco conosciuto e controverso 350

10.5 La creazione del trascritto: promotori ed enhancer 351

- La trascrizione richiede l'assemblaggio sul promotore di un complesso di preinizio 351
- Gli enhancer 353
- L'allungamento del trascritto 355

10.6 La regolazione post-trascrizionale 357

- Lo splicing alternativo permette a un trascritto primario di codificare molte isoforme di una proteina 357
- L'editing dell'RNA può cambiare la sequenza dell'mRNA dopo la trascrizione 358
- La regolazione della traduzione 359
- La scoperta di molti piccoli RNA che regolano l'espressione genica ha determinato un cambiamento di paradigma nella biologia cellulare 359

FOCUS 10.1 La tecnica *Chromosome Conformation Capture* 332

FOCUS 10.2 Nomenclatura delle modifiche istoniche 334

FOCUS 10.3 Lo studio della metilazione del DNA 338

RIASSUNTO 362

SUGGERIMENTI DI LETTURA 363

PARTE

3

VARIAZIONI GENETICHE TRA INDIVIDUI E SPECIE

11

Una panoramica delle variazioni genetiche umane

11.1 Le origini delle variazioni delle sequenze del DNA 368

- Le variazioni genetiche derivanti da errori endogeni nella funzione del DNA e dei cromosomi 369
- Varie sorgenti endogene ed esogene possono causare danno al DNA alterando la sua struttura chimica 370

11.2 La riparazione del DNA 372

- La riparazione del danno del DNA o della sequenza alterata su un singolo filamento 373
- La riparazione delle lesioni del DNA che colpiscono entrambi i filamenti 375
- Il danno al DNA non rilevato, la tolleranza del danno al DNA e la sintesi translesione 377

11.3 La genomica delle popolazioni e la scala delle variazioni genetiche umane 378

- Le varianti del DNA, i polimorfismi e la genomica delle popolazioni 378
- Le variazioni su piccola scala: le varianti a singolo nucleotide e le piccole inserzioni e delezioni 380
- Le variazioni strutturali: inversioni, traslocazioni, inserzioni e delezioni di ampie dimensioni, e varianti del numero di copie 382
- Il sequenziamento dell'intero genoma permette la misurazione diretta dei tassi di mutazione della linea germinale e l'analisi completa delle variazioni del DNA nella linea germinale 383
- I cambiamenti post-zigotici del DNA: le mutazioni *de novo*, gli alti tassi di mutazioni somatiche e le variazioni strutturali eccezionali 387

11.4 Le variazioni genetiche funzionali e le variazioni nelle proteine 389

- Le variazioni nelle sequenze delle proteine 389
- La maggior parte delle variazioni genetiche non ha effetti sul fenotipo, ma una piccola frazione è dannosa ed è soggetta a selezione purificante 390
- La selezione positiva sostiene i cambiamenti adattativi promuovendo la frequenza delle varianti del DNA vantaggiose 391
- La diversità delle proteine generata dalla duplicazione genica e dal processamento alternativo di un gene 393

11.5 Le eccezionali variazioni genetiche nel sistema immunitario adattativo 393

- I meccanismi somatici che permettono la produzione specifica d'immunoglobuline a livello di cellule e di recettori dei linfociti T 395
- Le funzioni delle proteine del sistema maggiore di istocompatibilità (MHC) e il concetto di limitazione delle proteine MHC 398
- Qual è la base dell'eccezionale polimorfismo delle proteine MHC? 399
- L'importanza del sistema HLA in medicina 400

FOCUS 11.1 Per varie ragioni lo schema delle variazioni a singolo nucleotide nel genoma umano non è casuale 381

FOCUS 11.2 Effetti delle differenze sessuali e dell'età parentale sui tassi di mutazione nelle linee germinali 384

FOCUS 11.3 Una forte selezione positiva recente può indurre uno *sweep* selettivo con cancellazione locale delle variazioni genetiche 392

FOCUS 11.4 I geni HLA, gli alleli e gli aplotipi 401

RIASSUNTO 402

SUGGERIMENTI DI LETTURA 403

12**La genetica delle popolazioni umane****12.1 Le frequenze alleliche e le frequenze dei genotipi: la relazione di Hardy-Weinberg** 405

- Un esperimento mentale: scegliere i geni da un insieme di geni 405
- La predizione delle frequenze dei portatori di condizioni mendeliane 407

12.2 Le frequenze degli aplotipi e il linkage disequilibrium 408**12.3 Il cambiamento delle frequenze alleliche** 412

- La stima dei tassi di mutazione 412

- Le varianti neutre e la deriva genetica 413
- La selezione 415
- La manipolazione delle frequenze genetiche: l'eugenetica 418

12.4 La struttura della popolazione e l'endogamia 419

- L'identificazione della discendenza 420
- La consanguineità e il coefficiente di relazione 421

FOCUS 12.1 Il controllo della distribuzione di Hardy-Weinberg 406

FOCUS 12.2 Le misure del *linkage disequilibrium* 409

FOCUS 12.3 L'equilibrio tra mutazione e selezione 417

FOCUS 12.4 La selezione contro una condizione autosomica recessiva 419

RIASSUNTO 424

SUGGERIMENTI DI LETTURA 425

13**La genomica comparata e l'evoluzione del genoma****13.1 La genomica comparata** 428

- L'identificazione di sequenze di DNA funzionalmente importanti che sono state conservate mediante selezione negativa (purificante) 428
- L'identificazione delle basi dei recenti adattamenti evolutivi specifici del lignaggio 429
- Diversi programmi informatici consentono gli allineamenti automatizzati delle sequenze del genoma 430
- L'utilizzo di confronti tra specie per convalidare o rifiutare la predizione di geni e per identificare nuovi geni 432
- L'uso della genomica comparata per stimare la porzione di genoma sottoposta a selezione negativa 433
- La genomica comparata come metodo globale per identificare elementi di DNA non codificante conservati 435
- Risorse online per la genomica comparata 438

13.2 La duplicazione genica, le differenze tra le specie nel numero dei geni e i vantaggi evolutivi degli esoni 440

- I paradossi del valore C e del valore G: la complessità non è semplicemente correlata con le dimensioni del genoma o con il numero dei geni 440
- Nei lignaggi dei vertebrati, dopo la divisione dai tunicati, sono avvenuti due o tre eventi importanti di duplicazione dell'intero genoma 441
- La duplicazione genica: un'importante via dell'evoluzione verso lo sviluppo di una complessità funzionale 442
- La duplicazione genica e la divergenza: l'esempio della famiglia genica delle globine 444
- L'importanza evolutiva dei cambiamenti nel numero di copie di geni di uno specifico lignaggio 445
- La duplicazione e il mescolamento degli esoni determinano una maggiore complessità genica 447

13.3 L'evoluzione dei cromosomi dei mammiferi 448

- Durante l'evoluzione del genoma dei mammiferi sono avvenuti importanti riarrangiamenti cromosomici 448
- Nei cromosomi sessuali eteromorfi, quello più piccolo è presente in uno solo dei due sessi, possiede pochi geni e di solito non presenta ricombinazione 450
- Le regioni pseudoautosomiche non sono molto conservate e sono evolutivamente instabili 451

- I cromosomi del sesso nei mammiferi si sono evoluti in seguito alla comparsa di un *locus* che determina il sesso su un autosoma, facendolo divergere dal cromosoma omologo corrispondente 452
- Nella maggior parte dei casi, i geni abbondantemente espressi nei testicoli e localizzati sul cromosoma Y sono mantenuti dalla conversione genica intracromosomica 454
- L'inattivazione del cromosoma X si è sviluppata in risposta alla perdita di geni dal cromosoma Y 456

13.4 L'evoluzione delle sequenze regolatrici e l'origine delle sequenze funzionali dai trasposoni 456

- Il DNA non codificante dei metazoi complessi è dominato da sequenze derivate da elementi trasponibili ed è instabile dal punto di vista evolutivo 456
- La divergenza delle sequenze regolatrici come modo per spiegare la divergenza morfologica 458
- Nuove sequenze funzionali, tra cui esoni, elementi regolatori, lncRNA e a volte perfino geni, hanno spesso origine da elementi trasponibili 460

13.5 La filogenetica e il nostro posto nell'albero della vita 462

- La filogenetica molecolare utilizza allineamenti di sequenze per costruire alberi evolutivi 463
- Gli alberi evolutivi possono essere costruiti in modi diversi e la loro affidabilità è testata con metodi statistici 463

FOCUS 13.1 La valutazione della pressione selettiva sulle sequenze di DNA codificante utilizzando i rapporti *dN/dS* 430

FOCUS 13.2 Una controversia post-ENCODE: il DNA spazzatura (*junk*) e la proporzione del genoma che è funzionalmente importante 436

FOCUS 13.3 Le classi dei Chordata 440

FOCUS 13.4 La maggior parte dei nuovi geni deriva dalla copia di geni vecchi o di segmenti genici funzionali, ma alcuni sono originati *de novo* dal DNA non codificante 461

RIASSUNTO 465

SUGGERIMENTI DI LETTURA 466

14

L'evoluzione umana

14.1 Le origini della specie umana 469

- Il posizionamento degli esseri umani all'interno della classe dei mammiferi 470
- Le testimonianze fossili e archeologiche delle origini umane 471
- L'analisi del DNA dai fossili: lo studio del DNA antico 474
- Le sequenze di DNA degli antichi ominini 475

14.2 La storia dell'evoluzione umana attraverso le sequenze genomiche 476

- Le origini e l'unicità della specie umana: gli approfondimenti genetici 476
- Gli esseri umani hanno poca diversità genetica rispetto alla maggior parte degli altri mammiferi 477
- L'estesa condivisione di varianti comuni all'interno della popolazione umana e il modello Out of Africa 480
- Le prove dell'introgresione arcaica 483

14.3 La deduzione della storia di maschi e femmine sulla base del DNA mitocondriale e del cromosoma Y 485

- Gli alberi del DNA mitocondriale e dell'MSY hanno le loro radici in Africa 486
- Altre informazioni dal confronto tra il mtDNA e l'MSY 488

14.4 Le conseguenze della nostra storia evolutiva per la salute umana 489

- La selezione negativa ubiquitaria agisce sulla variabilità genomica umana 490
- La selezione positiva di varianti vantaggiose 491
- L'importanza delle malattie infettive nell'evoluzione umana 493
- La genetica evolutiva delle malattie infiammatorie 496

FOCUS 14.1 Il linguaggio, la genetica e la storia 474

FOCUS 14.2 La dimensione effettiva di una popolazione 478

RIASSUNTO 496

SUGGERIMENTI DI LETTURA 497

PARTE

4

MALATTIE GENETICHE UMANE

15

Le anomalie cromosomiche e le varianti strutturali

15.1 L'analisi dei cromosomi umani 501

- L'analisi del cariotipo al microscopio 502
- L'ibridazione *in situ* fluorescente è una sintesi delle tecniche di microscopia e di biologia molecolare 505
- L'ibridazione genomica comparativa permette d'identificare gli sbilanciamenti in tutto il genoma 506

15.2 Le grandi anomalie cromosomiche 508

- Le anomalie numeriche includono le poliploidie e le aneuploidie 509
- Le conseguenze cliniche delle anomalie cromosomiche di numero 509
- Diverse anomalie cromosomiche costituzionali sono il risultato di errata riparazione del danno, inappropriata ricombinazione o errori nella duplicazione 511
- Le conseguenze delle anomalie cromosomiche strutturali 512

15.3 Le varianti strutturali, le microdelezioni e le microduplicazioni 516

- Le varianti strutturali ricorrenti e non ricorrenti 517
- L'invasione del filamento può portare a conversione genica 521
- Conclusioni 522

FOCUS 15.1 La nomenclatura delle bande cromosomiche 504

RIASSUNTO 523

SUGGERIMENTI DI LETTURA 523

16

Le basi molecolari delle malattie: collegare i fenotipi ai genotipi

16.1 La perdita di funzione 526

- La delezione o la rottura di un gene normalmente porterebbero a una perdita di funzione 526

- La perdita di funzione potrebbe essere dovuta alla delezione o a un'alterazione del promotore 527
- La rimozione dell'accesso a un enhancer può causare una perdita di funzione tessuto-specifica 528
- Lo splicing aberrante causa frequentemente la perdita di funzione 529
- I cambiamenti che colpiscono il codone d'inizio AUG influenzeranno la traduzione 531
- Le inserzioni e le delezioni spesso causano scivolamento delle cornici di lettura 532
- I codoni di stop prematuri di solito agiscono come mutazioni nulle 533
- I cambiamenti missenso possono o non possono influenzare la funzione della proteina 534
- Qualche volta una condizione recessiva dovuta a perdita di funzione dipende da un modesto livello residuo della funzione 536
- Gli effetti dominanti negativi si verificano in una persona eterozigote quando il prodotto del gene mutato interferisce con la funzione del prodotto normale 537

16.2 L'acquisto di funzione 538

- Di quando in quando un cambiamento missenso porta un enzima a catalizzare una nuova reazione 538
- Un prodotto genico può acquisire una funzione attraverso vari meccanismi 539
- Alcune mutazioni producono un RNA con nuove proprietà tossiche 540
- Alcune mutazioni producono una proteina mutante con nuove proprietà tossiche 541
- I complessi meccanismi patogenetici delle mutazioni dinamiche 542

16.3 Le mutazioni dinamiche: le espansioni instabili di elementi ripetuti 543

- Le mutazioni dinamiche possono avvenire in molti geni e malattie differenti 543
- Alcuni geni mostrano l'espansione patogena di tratti di polialanine 545

16.4 I meccanismi patologici molecolari nelle malattie mitocondriali 546

- I difetti dei geni mitocondriali mostrano un'eredità matrilineare e possibile eteroplasmia 546
- Le malattie causate dalle mutazioni del mtDNA sono estremamente variabili 547

16.5 Le correlazioni tra genotipo e fenotipo 549

- Le mutazioni che determinano perdita o acquisto di funzione nello stesso gene causeranno differenti fenotipi 549
- I cambiamenti che determinano perdita di funzione generano malattie sia dominanti sia recessive 552
- Si cercano spesso le correlazioni tra genotipo e fenotipo, ma si trovano raramente 554
- Lo sviluppo di banche dati dei fenotipi su vasta scala sarà uno strumento importante per il futuro della patologia molecolare 558

FOCUS 16.1 La predizione degli effetti dello splicing 530

FOCUS 16.2 Predizioni *in silico* degli effetti dei cambiamenti missenso 535

RIASSUNTO 558

SUGGERIMENTI DI LETTURA 559

17

La mappatura e l'identificazione di geni che causano malattie monogeniche

17.1 Il clonaggio posizionale inizialmente cerca di identificare i geni responsabili di una malattia mappandoli in una precisa posizione cromosomica 562

- I ricombinanti sono identificati genotipizzando i genitori e la progenie per coppie di *loci* 562
- Il riconoscimento dei ricombinanti negli alberi genealogici umani non è sempre immediato 564
- La mappatura delle malattie umane fa affidamento su gruppi di marcatori genetici rappresentativi del genoma 565
- Una volta che si è mappato il *locus* per una malattia, è necessario molto altro lavoro per identificare la reale variante causativa 568

17.2 La condivisione degli aplotipi e l'autozigosità 569

- L'autozigosità è l'omozigosità per sequenze identiche per discendenza 569

17.3 Il sequenziamento dell'intero esoma e dell'intero genoma permette di affrontare senza ipotesi preconcepite e pregiudizi l'identificazione della causa di una condizione monogenica 572

- Il sequenziamento dell'esoma si basa su kit commerciali per la cattura degli esoni 573
- L'identificazione delle varianti vere nei dati del sequenziamento è ben lontana dall'essere banale 573

17.4 Le strategie basate sul sequenziamento degli esomi per identificare i geni associati a malattie 575

- L'identificazione del gene mutato nella sindrome di Miller, una condizione autosomica recessiva 576
- L'identificazione del gene mutato nella sindrome di Schinzel-Giedion, una condizione sporadica 577
- L'identificazione del gene mutato nella sindrome di Kabuki, una condizione dominante eterogenea 578
- L'identificazione di geni in condizioni molto eterogenee si basa sul ritrovamento di cambiamenti *de novo* 579

17.5 Come si conferma che il gene candidato è quello corretto 579

- Gli insiemi di dati esistenti possono fornire una grande quantità d'informazioni su un gene candidato 580
- Le varianti rilevanti potrebbero essere create e studiate in colture cellulari o nell'animale *in toto* 581

FOCUS 17.1 Calcolo dei lod score (Z) 566

FOCUS 17.2 Il calcolo bayesiano della soglia di significatività per un lod score a due punti 567

FOCUS 17.3 L'uso di *zebrafish* per l'analisi funzionale delle varianti associate a ciliopatie 582

RIASSUNTO 583

SUGGERIMENTI DI LETTURA 584

18

Le malattie complesse: identificare i fattori di suscettibilità e comprenderne la patogenesi

Introduzione 585

18.1 Lo studio delle malattie complesse: gli approcci epidemiologici 586

- Il rischio relativo (λ) è una misura del raggruppamento familiare 586
- Gli studi sui gemelli soffrono di numerose limitazioni 587
- Gli studi sulle adozioni rappresentano lo standard di riferimento per districare i fattori genetici da quelli ambientali 588
- L'analisi di segregazione tenta di usare i dati epidemiologici per comprendere l'architettura genetica dei caratteri multifattoriali 589

18.2 Lo studio delle malattie complesse usando il linkage 590

- Le coppie di fratelli affetti forniscono il materiale principale per l'analisi di linkage tra coppie di parenti 590
- I deludenti risultati degli studi di linkage hanno favorito l'interesse verso gli studi di associazione 591

18.3 Lo studio delle malattie complesse mediante l'associazione 592

- L'era moderna degli studi di associazione su scala genomica è iniziata nel 2007 con il Consorzio caso-controllo del Wellcome Trust 593
- Gli attuali studi di associazione su scala genomica usano la costruzione della fase, l'inferenza e la metanalisi 598
- Dalla statistica alla biologia 601

18.4 Le limitazioni degli studi di associazione su scala genomica 601

18.5 Che cosa abbiamo imparato dalla genetica dei caratteri complessi? 604

- L'identificazione delle varianti causative 605
- Andare avanti 607

FOCUS 18.1 Linkage e associazione 592

FOCUS 18.2 Misure del rischio 596

RIASSUNTO 608

SUGGERIMENTI DI LETTURA 609

19

Genetica e genomica del cancro

Introduzione 611

19.1 Gli oncogeni 613

- Le mutazioni driver spesso attivano gli oncogeni 614
- I microRNA possono agire come oncogeni 619
- L'attivazione di un oncogene risulta tumorigenica solamente in circostanze particolari 619

19.2 I geni oncosoppressori 620

- Lo studio del retinoblastoma ha fornito un paradigma per la comprensione dei geni oncosoppressori 620
- I microRNA spesso si comportano come i geni oncosoppressori 624
- I geni oncosoppressori sono spesso silenziati a livello epigenetico attraverso la metilazione del DNA 624

19.3 Gli oncogeni e gli oncosoppressori più importanti agiscono prevalentemente nella regolazione dei punti di controllo del ciclo cellulare e nel mantenimento dell'integrità del genoma 625

- pRb: un regolatore cruciale della progressione attraverso la fase G₁ 626
- *CDKN2A*: un singolo gene codificante due proteine regolatrici 626
- p53: il guardiano del genoma 627
- I difetti nei meccanismi di riparazione del DNA sono una causa importante di instabilità genomica 628

19.4 Una visione del cancro su scala genomica 629

- Le analisi condotte su piattaforme multiple descrivono le variazioni a vari livelli: cromosomico, di sequenza del DNA, epigenetico, di RNA e proteico 629
- I dati genomici permettono una nuova classificazione dei tumori 632
- Pensare in termini di vie molecolari piuttosto che di singole mutazioni o geni riduce la complessità e suggerisce collegamenti con la lista di caratteristiche di Hanahan e Weinberg 633
- Gli approcci *genome-wide* possono identificare vie biochimiche inattese 634
- Alcuni tumori mostrano cambiamenti genetici coordinati su larga scala 635
- L'evoluzione di un tumore può essere desunta dalle analisi comparative o seguita direttamente attraverso studi su singola cellula 636

19.5 Applicazioni delle nostre nuove conoscenze sul cancro 638

- Terapie antitumorali mirate 638

FOCUS 19.1 La regolazione dei livelli di β -catenina nei tumori del colon-retto 623

RIASSUNTO 643

SUGGERIMENTI DI LETTURA 644

PARTE

5

GENETICA MOLECOLARE UMANA APPLICATA

20

I test genetici in ambito sanitario e legale

20.1 Che cosa analizzare e perché 648

20.2 Le analisi per la ricerca di una variante genetica specifica 649

- Gli SNP chip consentono la genotipizzazione massiva in parallelo degli SNP distribuiti nel genoma 652

20.3 I test clinici diagnostici 653

- Il sequenziamento è il metodo d'elezione per testare un campione per varianti su piccola scala 653
- Filtro dell'elenco di varianti 655
- I metodi non basati sul sequenziamento sono utilizzati per rispondere a domande specifiche 657
- I test devono essere sempre rigorosamente valutati prima di essere introdotti nei servizi clinici 658

20.4 Lo screening di popolazione 659

- Quantificare la performance di un test 659

- Lo screening per le condizioni genetiche può essere effettuato in diversi periodi della vita 660
- Lo screening per la suscettibilità a condizioni multifattoriali 665
- I risultati incidentali rappresentano una sorta di screening opportunistico 667

20.5 La farmacogenetica e la medicina personalizzata 668

- Molte differenze genetiche influenzano il metabolismo dei farmaci 669
- La variabilità genetica del bersaglio può avere effetto sulla farmacodinamica di una sostanza 672
- La warfarina è un banco di prova per l'uso di dati farmacogenetici nella medicina personalizzata 673
- La farmacogenetica e la farmacogenomica tendono a essere più di interesse accademico che pratico, ma questo potrebbe cambiare 674

20.6 L'analisi forense del DNA: identificazione individuale e di parentela 675

- L'analisi del profilo del DNA usa gli elementi brevi ripetuti in tandem amplificati mediante PCR 676
- I problemi giudiziari 680
- I problemi etici 680
- Test di paternità e di parentela 682

FOCUS 20.1 I chip di SNP 653

FOCUS 20.2 Definire le prestazioni di un test diagnostico 660

FOCUS 20.3 La curva caratteristica di funzionamento del ricevitore (ROC) 661

RIASSUNTO 682

SUGGERIMENTI DI LETTURA 683

21

Organismi modello e modelli di malattie

21.1 Una panoramica sugli organismi modello 685

- Gli organismi modello unicellulari aiutano a comprendere la biologia cellulare di base e i microbi patogeni 686
- Alcuni modelli di invertebrati offrono screening genetici ad alto rendimento e informazioni utili sulla funzione genica 687
- Vari modelli di pesci, rane e uccelli offrono vie accessibili per studiare lo sviluppo dei vertebrati 688
- I mammiferi sono i modelli animali più rilevanti, ma sono penalizzati da limitazioni pratiche e preoccupazioni etiche 689

21.2 Modelli cellulari di malattie 691

- I modelli di malattie basati sull'uso di colture cellulari tradizionali 691
- Le colture di cellule staminali pluripotenti permettono di estendere la gamma di modelli cellulari di malattie umane 693
- La generazione di modelli di malattie *in vitro* mediante l'uso di colture di organoidi basate sulle cellule staminali 695

21.3 Come si generano i modelli animali di malattie genetiche 696

- La generazione di modelli di malattie dovuti a cambiamenti del DNA che provocano un'acquisto di funzione dannosa 697
- La creazione di modelli di malattie causate da mutazioni che provocano perdita di funzione 700

- Molti modelli animali di malattie genetiche umane sono stati identificati mediante lo screening del fenotipo in programmi di mutagenesi casuale su scala genomica 701

- La generazione di nuovi fenotipi mutanti murini e modelli di malattie attraverso progetti di mutagenesi su larga scala e ad alto rendimento 702

21.4 Quanto sono utili i modelli animali di malattie genetiche? 703

- I vantaggi dei modelli di malattie genetiche manipolabili geneticamente 704
- I roditori forniscono i modelli più ampiamente usati di malattie genetiche nei mammiferi 705
- I limiti dei modelli di roditori e di altri mammiferi e il motivo per cui creare modelli animali per alcuni disturbi in cui sono implicati singoli geni è stato impegnativo 707
- Le aspettative e le difficoltà della generazione di modelli di malattie nei primati 708
- Osservazioni conclusive 710

FOCUS 21.1 Le caratteristiche dei due principali modelli animali invertebrati 688

FOCUS 21.2 Le caratteristiche di alcuni diffusi modelli animali vertebrati 690

FOCUS 21.3 Tre modi diversi per generare modelli animali di sindrome di Down 698

FOCUS 21.4 I background genetici murini e i geni modificatori 706

FOCUS 21.5 Perché può essere difficile replicare i fenotipi umani nei topi 709

RIASSUNTO 711

SUGGERIMENTI DI LETTURA 711

22

Approcci genetici alla cura delle malattie

22.1 Una panoramica del trattamento della malattia genetica e del trattamento genetico della malattia 714

- Tre diversi approcci generali nel trattamento dei disturbi genetici 714
- Il trattamento genetico della malattia può essere condotto a molti livelli diversi 716

22.2 Il trattamento di malattie con proteine ingegnerizzate per via genetica 717

- Le proteine ricombinanti terapeutiche prodotte mediante ingegneria genetica 717
- Gli anticorpi geneticamente modificati con un potenziale terapeutico aumentato 717

22.3 I principi di base della terapia genica e gli interventi terapeutici basati su RNA (*RNA therapeutics*) 721

- Due strategie ad ampio raggio nella terapia genica somatica 721
- Il problema della consegna: progettare strategie ottimali e sicure per trasportare i costrutti genici nelle cellule dei pazienti 722
- La terapia genica è talvolta eseguita *in vivo*, ma la terapia genica *ex vivo* offre vantaggi significativi 724
- I sistemi non virali per il trasporto di costrutti genici terapeutici: sicurezza a spese dell'efficienza 724

- Il trasporto virale di costrutti genici terapeutici: efficienza relativamente alta ma problemi di sicurezza 726

22.4 La sovraespressione dei geni per il trattamento di malattie ereditarie recessive 728

- I molti successi della terapia *ex vivo* con aumentata espressione mirata alle cellule staminali ematopoietiche 729
- La terapia genica *in vivo*: approcci, barriere e recenti successi 731

22.5 Gli approcci terapeutici mediante l'uso di RNA, le prospettive terapeutiche dell'editing genetico e gli approcci genetici per prevenire le malattie 733

- La terapia mediante RNA: silenziamento genico con l'interferenza a RNA e la modulazione dello splicing dell'RNA 733
- Le prospettive dell'editing terapeutico del genoma usando le nucleasi programmabili 734
- La terapia sostitutiva mitocondriale: un caso specializzato di prevenzione della trasmissione

di malattie genetiche attraverso la modifica della linea germinale 736

FOCUS 22.1 La produzione di anticorpi monoclonali terapeutici completamente umani 719

FOCUS 22.2 Dal trapianto di midollo osseo alla terapia genica *ex vivo* 725

FOCUS 22.3 I due maggiori problemi di sicurezza nei trial di terapia genica 730

FOCUS 22.4 Lo studio del potenziale terapeutico per la terapia dell'HIV mediante trapianto di cellule staminali e l'editing genetico 737

RIASSUNTO 739

SUGGERIMENTI DI LETTURA 740

Glossario 741

Indice analitico 760

BANDEGGIO DEI CROMOSOMI UMANI 784