

Gabriella Pasqua • Cinzia Forni

Biologia Cellulare e Molecolare delle Piante

Autori

E. Brasili, S. Cozzolino, N. D'Agostino,
G.P. Di Sansebastiano, C. Forni, A. Genre,
L. Lanfranco, M.S. Lenucci, A. Miccheli,
G. Pasqua, M. Reverberi, A. Valletta

PICCIN

Opera coperta dal diritto d'autore – tutti i diritti sono riservati.

Questo testo contiene materiale, testi ed immagini, coperto da copyright e non può essere copiato, riprodotto, distribuito, trasferito, noleggiato, licenziato o trasmesso in pubblico, venduto, prestato a terzi, in tutto o in parte, o utilizzato in alcun altro modo o altrimenti diffuso, se non previa espressa autorizzazione dell'editore. Qualsiasi distribuzione o fruizione non autorizzata del presente testo, così come l'alterazione delle informazioni elettroniche, costituisce una violazione dei diritti dell'editore e dell'autore e sarà sanzionata civilmente e penalmente secondo quanto previsto dalla L. 633/1941 e ss.mm.

ISBN 978-88-299-3275-7

Stampato in Italia

© 2022 by Piccin Nuova Libreria S.p.A., Padova
www.piccin.it

Autori

Elisa Brasili

Dipartimento di Biologia Ambientale,
Università di Roma "Sapienza"

Salvatore Cozzolino

Dipartimento di Biologia Strutturale e Funzionale,
Complesso Universitario di Monte S. Angelo,
Università di Napoli "Federico II"

Nunzio D'Agostino

Dipartimento di Agraria,
Università degli Studi di Napoli Federico II

Gian Pietro Di Sansebastiano

Dipartimento di Scienze e Tecnologie
Biologiche e Ambientali, Università del Salento

Cinzia Forni

Dipartimento di Biologia,
Università di Roma "Tor Vergata"

Andrea Genre

Dipartimento di Biologia Vegetale,
Università di Torino

Luisa Lanfranco

Dipartimento di Biologia Vegetale,
Università di Torino

Marcello Salvatore Lenucci

Dipartimento di Scienze e Tecnologie
Biologiche ed Ambientali,
Università del Salento

Alfredo Micheli

Già del Dipartimento di Biologia Ambientale,
Università di Roma "Sapienza"

Gabriella Pasqua

Dipartimento di Biologia Ambientale,
Università di Roma "Sapienza"

Massimo Reverberi

Dipartimento di Biologia Ambientale,
Università di Roma "Sapienza"

Alessio Valletta

Dipartimento di Biologia Ambientale,
Università di Roma "Sapienza"

Prefazione

Il testo nasce dal precedente *Biologia Cellulare e Biotecnologie Vegetali* pubblicato nel 2011. Negli ultimi 10 anni la letteratura scientifica che riguarda gli argomenti contemplati nel precedente testo ha avuto un grande sviluppo anche grazie a metodologie e strumenti innovativi. Gli autori hanno ritenuto quindi che non fosse sufficiente un aggiornamento, ma che fosse opportuno scrivere due testi separati di *Biologia Cellulare e Molecolare delle Piante* e di *Biotecnologie Vegetali*, sulla base delle più recenti acquisizioni pubblicate su riviste internazionali e monografie di rilievo.

Nel testo di *Biologia Cellulare e Molecolare delle Piante* oltre ad una revisione ed aggiornamento di alcuni capitoli, già sviluppati nel precedente volume, è stato dato ampio spazio ad approfondimenti molecolari ed alle applicazioni delle scienze "omiche". La sua stesura ha visto il coinvolgimento di docenti di varie sedi universitarie sul territorio nazionale, soprattutto giovani entusiasti del loro lavoro che hanno portato nuove competenze.

Il testo di *Biologia Cellulare e Molecolare delle Piante* è rivolto principalmente agli studenti di lauree magistrali delle classi della Biologia e Biotecnologie ed i contenuti sono stati pensati per rispondere alle esigenze dei nuovi ordinamenti didattici, non solo per fornire gli strumenti utili a superare gli esami, ma anche per stimolare la curiosità in campi in rapida e costante evoluzione.

È suddiviso in 20 capitoli che analizzano argomenti specifici con una breve introduzione e poi con paragrafi di approfondimento. I primi 8 capitoli trattano in modo approfondito le peculiarità degli organelli della cellula vegetale sia dal

punto di vista strutturale che funzionale. Nei capitoli 9, 10 e 11 sono descritti gli eventi che portano al differenziamento cellulare come combinazione di modelli coordinati di divisione, crescita e differenziamento cellulare, inclusa la morte cellulare. La multicellularità si è evoluta indipendentemente nelle piante e negli animali e quindi anche le strategie di sviluppo e l'attività genica correlata. Dal capitolo 12 al 15 sono descritte in dettaglio le tecniche microscopiche classiche ed avanzate che hanno permesso di comprendere la struttura, la dinamicità e la plasticità degli organelli cellulari vegetali. Gli ultimi 5 capitoli riguardano le tecniche di biologia dei sistemi, che hanno l'obiettivo di esaminare il comportamento dei sistemi biologici nella loro globalità, andando ad integrare i dati ottenuti dalla caratterizzazione di tutte le componenti: geni, trascritti, proteine e metaboliti.

Ogni capitolo è corredato da un'ampia iconografia a colori con molte immagini e schemi originali che possono rendere lo studio più vivo e più attraente. Inoltre, al termine di ogni capitolo sono stati inseriti alcuni quesiti per la verifica da parte dello studente delle conoscenze acquisite.

Un particolare ringraziamento è rivolto all'Editore Piccin, che ci ha sempre mostrato la sua stima stimolandoci a scrivere nuovi testi, alla Dr.ssa Carla Criconia e all'illustratore Marco Marzola, che con grande professionalità ed assistenza ci hanno accompagnate nell'allestimento editoriale del volume.

GABRIELLA PASQUA, CINZIA FORNI

Indice generale

1 Peculiarità della cellula vegetale . . . 1

A. Genre, G.P. Di Sansebastiano

| | |
|---|----|
| 1.1 LA CELLULA VEGETALE COME MASSIMA ESPRESSIONE DELLA COMPLESSITÀ DEGLI EUKARIOTI | 1 |
| 1.1.1 La dinamicità della cellula vegetale | 2 |
| La parete cellulare | 3 |
| Membrana e compartimenti cellulari | 3 |
| Il protoplasma | 4 |
| 1.2 MITOCONDRI | 5 |
| 1.3 MICROCORPI. | 6 |
| 1.4 LA BIOLOGIA DELLA CELLULA VEGETALE COME MODELLO PER LA COMPrensIONE DELLA CELLULA UMANA | 8 |
| 1.4.1 Segnali legati alla luce e ciclo circadiano. | 8 |
| 1.4.2 Immunità innata e recettori intracellulari | 8 |
| 1.4.3 Proteine argonauta e silenziamento genico. | 9 |
| 1.4.4 Scoperta di nuovi meccanismi molecolari e nuove potenzialità sperimentali | 9 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 10 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 10 |

2 Nucleo. 11

S. Cozzolino

| | |
|--|----|
| 2.1 ORGANIZZAZIONE GENERALE DEL NUCLEO E DEL DNA | 11 |
| 2.1.1 L'involucro nucleare e l'organizzazione del nucleo. | 11 |
| 2.1.2 Gli scambi nucleo-citoplasma | 12 |
| 2.1.3 DNA e cromosomi | 14 |
| 2.1.4 Le proteine istoniche e non istoniche | 16 |
| 2.1.5 Il controllo epigenetico della trascrizione: l'imprinting genomico | 17 |
| 2.2 IL CICLO CELLULARE. | 19 |
| 2.2.1 Il ciclo cellulare mitotico | 19 |
| 2.2.2 La regolazione del ciclo cellulare | 20 |
| 2.2.3 La divisione cellulare: mitosi e meiosi | 22 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 25 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 25 |

3 Genoma. 27

L. Lanfranco

| | |
|----------------------------------|----|
| 3.1 IL GENOMA NUCLEARE | 27 |
| 3.1.1 Ploidia | 30 |

| | |
|--|----|
| 3.1.2 Nuove informazioni dai progetti genoma. | 31 |
| 3.2 IL DNA MITOCONDRIALE: ORIGINE ED EVOLUZIONE; ORGANIZZAZIONE E CONTENUTO. | 34 |
| 3.2.1 Organizzazione, ricombinazione ed eteroplasma | 36 |
| 3.2.2 La sterilità maschile citoplasmatica | 37 |
| 3.3 IL DNA PLASTIDIALE: ORGANIZZAZIONE E CONTENUTO. | 38 |
| 3.4 IL TRASFERIMENTO DI DNA DAGLI ORGANELLI AL NUCLEO. | 40 |
| 3.5 L'ESPRESSIONE GENICA NEGLI ORGANELLI | 42 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 44 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 44 |

4 Sistema di endomembrane 45

G.P. Di Sansebastiano

| | |
|---|----|
| 4.1 IL RETICOLO ENDOPLASMATICO | 46 |
| 4.1.1 Reticolo endoplasmatico rugoso | 48 |
| 4.1.2 Traslocazione e maturazione delle proteine. | 48 |
| 4.1.3 Reticolo endoplasmatico liscio. | 49 |
| 4.1.4 Altri domini funzionali del reticolo endoplasmatico | 50 |
| 4.2 L'APPARATO DI GOLGI. | 51 |
| 4.2.1 Matrice del Golgi | 53 |
| 4.2.2 Funzioni dell'apparato di Golgi | 53 |
| 4.3 IL TRANS-GOLGI NETWORK E L'ENDOCITOSI | 54 |
| 4.4 AUTOFAGIA | 55 |
| 4.5 ESOCITOSI | 55 |
| 4.6 MATURAZIONE DELLE MEMBRANE ATTRAVERSO VARIAZIONI DELLA LORO COMPOSIZIONE LIPIDICA E PROTEICA. | 56 |
| 4.7 TRASPORTO VESICOLARE | 57 |
| 4.8 DETERMINANTI DELLA SPECIFICITÀ NEL TRAFFICO VESICOLARE: SNARE E RAB | 58 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 60 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 60 |

5 Vacuoli 61

G.P. Di Sansebastiano, C. Forni

| | |
|---|----|
| 5.1 BIOGENESI DEI VACUOLI E ORGANIZZAZIONE DEL COMPLESSO VACUOLARE. | 61 |
| 5.2 TONOPLASTO E SUCCO VACUOLARE | 63 |
| 5.2.1 Meccanismi di accumulo dei flavonoidi nei vacuoli. | 65 |

| | | |
|-------|---|----|
| 5.3 | ACCUMULO E DEGRADAZIONE DELLE PROTEINE | 66 |
| 5.3.1 | Trasporto delle proteine solubili verso i vacuoli | 67 |
| 5.3.2 | VSD sequenza specifici e loro recettori | 67 |
| 5.3.3 | VSD C-terminali e loro recettori | 69 |
| 5.3.4 | VSD influenzati dalla struttura fisica della proteina | 70 |
| 5.3.5 | Compartimenti prevacuolari | 70 |
| 5.3.6 | Il trasporto al vacuolo indipendente da vescicole rivestite | 71 |
| 5.4 | PROTEINE INTRINSECHE DEL TONOPLASTO | 72 |
| 5.4.1 | Acidificazione dei compartimenti endomembranosi | 72 |
| 5.5 | CRESCITA PER DISTENSIONE, TURGORE E MOVIMENTO | 73 |
| 5.6 | POTENZIALE BIOTECNOLOGICO | 74 |
| | LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 74 |
| | DOMANDE DI VERIFICA | 75 |

6 Citoscheletro 77

A. *Genre*

| | | |
|-------|---|----|
| 6.1 | LE COMPONENTI DEL CITOSCHELETRO | 77 |
| 6.1.1 | I microtubuli | 77 |
| | I centri di organizzazione dei microtubuli nelle cellule vegetali | 80 |
| 6.1.2 | I microfilamenti | 81 |
| | Nucleazione e dinamica dei microfilamenti | 83 |
| 6.1.3 | I filamenti intermedi | 83 |
| 6.1.4 | Le proteine associate al citoscheletro | 84 |
| | Proteine motrici | 84 |
| | Proteine associate ai microtubuli | 85 |
| | Proteine associate ai microfilamenti | 86 |
| 6.2 | IL CITOSCHELETRO NEL DIFFERENZIAMENTO CELLULARE | 87 |
| 6.2.1 | Il citoscheletro durante il ciclo mitotico | 88 |
| 6.3 | LA REGOLAZIONE DEL CITOSCHELETRO | 91 |
| 6.4 | IL CITOSCHELETRO NELLE INTERAZIONI TRA PIANTE E MICRORGANISMI | 92 |
| 6.4.1 | Funghi patogeni | 92 |
| 6.4.2 | Virus | 92 |
| 6.4.3 | Nematodi parassiti | 93 |
| 6.4.4 | Funghi simbiotici | 93 |
| 6.4.5 | Batteri simbiotici | 94 |
| | LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 94 |
| | DOMANDE DI VERIFICA | 95 |

7 Parete cellulare 97

M.S. Lenucci

| | | |
|-------|--|-----|
| 7.1 | ARCHITETTURA DELLA PARETE | 98 |
| 7.2 | COMPONENTI DELLA PARETE E LORO STRUTTURA | 98 |
| 7.2.1 | Cellulosa | 99 |
| 7.2.2 | Emicellulose | 101 |
| 7.2.3 | Pectine | 103 |
| 7.2.4 | Proteine | 105 |
| | Proteine strutturali | 105 |

| | | |
|-------|---|-----|
| | Proteine enzimatiche | 107 |
| | Altre proteine di parete | 108 |
| 7.2.5 | Acqua | 108 |
| 7.2.6 | Lignina e altri polimeri | 108 |
| 7.3 | BIOSINTESI DEI COMPONENTI DELLA PARETE | 110 |
| 7.3.1 | Biosintesi della cellulosa | 110 |
| 7.3.2 | Biosintesi dei polimeri di matrice | 113 |
| 7.3.3 | Biosintesi della lignina | 114 |
| 7.4 | ASSEMBLAGGIO DEI POLIMERI DI PARETE | 114 |
| 7.5 | RUOLO DELLA PARETE NELLA DIVISIONE, CRESCITA E DIFFERENZIAMENTO CELLULARE | 117 |
| 7.5.1 | Modificazioni della parete nel differenziamento cellulare | 122 |
| 7.6 | RUOLO DELLA PARETE NEI PROCESSI DI SEPARAZIONE CELLULARE | 123 |
| 7.7 | RUOLO DELLA PARETE NELLE RISPOSTE AGLI STRESS | 123 |
| 7.8 | LA PARETE NEI PROCESSI DI COMUNICAZIONE E TRASPORTO INTERCELLULARE | 126 |
| | LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 127 |
| | DOMANDE DI VERIFICA | 128 |

8 Plastidi 129

G. Pasqua

| | | |
|-------|--|-----|
| 8.1 | PROPLASTIDI | 129 |
| 8.2 | BIOGENESI E DIFFERENZIAMENTO DEI PLASTIDI | 130 |
| 8.2.1 | Divisione dei plastidi | 132 |
| 8.2.2 | Stromuli | 133 |
| 8.3 | MORFOLOGIA, STRUTTURA E FUNZIONE DEI DIFFERENTI TIPI DI PLASTIDI | 133 |
| 8.3.1 | Cloroplasti e pigmenti fotosintetici | 133 |
| 8.3.2 | Interazioni tra DNA nucleare e plastidiale | 137 |
| 8.3.3 | Cromoplasti | 139 |
| 8.3.4 | Ezioplasti | 141 |
| 8.3.5 | Leucoplasti | 141 |
| 8.3.6 | Gerontoplasti | 143 |
| 8.4 | ORIGINE EVOLUTIVA DEI PLASTIDI | 143 |
| 8.5 | I PLASTIDI PER LA PRODUZIONE DI VACCINI | 145 |
| | LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 146 |
| | DOMANDE DI VERIFICA | 147 |

9 Comunicazione cellulare 149

A. *Genre*, L. Lanfranco

| | | |
|-------|---|-----|
| 9.1 | I RECETTORI DI MEMBRANA | 150 |
| 9.2 | LA SEGNALEZIONE MEDIATA DA ENDOSOMI | 153 |
| 9.2.1 | L'endocitosi dei recettori di membrana | 153 |
| | Endocitosi costitutiva | 153 |
| | Endocitosi indotta da ligando | 153 |
| 9.2.2 | Gli endosomi come piattaforme citoplasmatiche di segnalazione | 155 |
| 9.3 | LE MAP CHINASI | 155 |
| 9.4 | IL RUOLO DEL CALCIO | 157 |
| 9.4.1 | La generazione del segnale | 158 |
| 9.4.2 | La decodifica del segnale | 159 |

| | |
|---|-----|
| Chinasi calcio-dipendenti | 160 |
| Specificità nella trasduzione del segnale | 160 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 161 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 162 |

10 Crescita e differenziamento cellulare 163

G. Pasqua, C. Forni

| | |
|---|-----|
| 10.1 CRESCITA PER DIVISIONE E PER DISTENSIONE | 163 |
| 10.2 CELLULE STAMINALI E NICCHIE STAMINALI NELLA PIANTA | 165 |
| 10.3 CELLULE MERISTEMATICHE E CELLULE ADULTE | 169 |
| 10.4 TOTIPOTENZA DELLE CELLULE VEGETALI: DE-DIFFERENZIAZIONE E RIGENERAZIONE DI ORGANI E PIANTE | 170 |
| 10.5 CONTROLLO DEL DESTINO CELLULARE | 171 |
| 10.5.1 Metilazione del DNA | 173 |
| 10.5.2 Meccanismi di metilazione del DNA | 174 |
| 10.5.3 Regolazione dell'espressione genica | 175 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 179 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 180 |

11 Morte cellulare programmata e necrosi 181

G. Pasqua

| | |
|--|-----|
| 11.1 MORTE CELLULARE PROGRAMMATA, APOPTOSI E NECROSIS (CONFRONTO ANIMALI, PIANTE E BATTERI). | 182 |
| 11.2 MODALITÀ DI MORTE CELLULARE NELLE PIANTE | 185 |
| 11.3 MORTE CELLULARE PROGRAMMATA NEI PROCESSI DI SVILUPPO VEGETATIVI E RIPRODUTTIVI | 188 |
| 11.4 MORTE CELLULARE PROGRAMMATA NEL DIFFERENZIAMENTO DEGLI ELEMENTI VASCOLARI XILEMATICI | 189 |
| 11.5 MORTE CELLULARE PROGRAMMATA IN RISPOSTA AI PATOGENI | 191 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 193 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 194 |

12 Microscopia ottica 195

A. Valletta

| | |
|--|-----|
| 12.1 IL MICROSCOPIO OTTICO COMPOSTO | 196 |
| 12.1.1 Percorso della luce | 196 |
| 12.1.2 Ingrandimento e potere di risoluzione | 197 |
| 12.1.3 Obiettivi a secco e ad immersione | 198 |
| 12.1.4 Profondità di campo | 199 |
| 12.1.5 Contrasto | 199 |
| 12.2 PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER IL MO | 200 |
| 12.2.1 Prelievo e fissazione | 200 |
| Fissazione con agenti fisici | 200 |
| Fissazione con agenti chimici | 201 |

| | |
|--|-----|
| 12.2.2 Disidratazione, diafanizzazione, infiltrazione e inclusione | 201 |
| 12.2.3 Taglio | 202 |
| 12.2.4 Colorazione | 203 |
| 12.3 IL MICROSCOPIO STEREOSCOPICO | 204 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 205 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 206 |

13 Microscopia a fluorescenza e confocale 207

A. Genre

| | |
|---|-----|
| 13.1 LA FLUORESCENZA | 207 |
| 13.2 I FLUOROCROMI | 209 |
| 13.2.1 Le proteine fluorescenti | 209 |
| 13.3 IL MICROSCOPIO OTTICO A EPIFLUORESCENZA | 212 |
| 13.4 PREPARAZIONE DEL CAMPIONE | 215 |
| 13.5 APPLICAZIONI IN AMBITO VEGETALE | 216 |
| 13.6 IL MICROSCOPIO CONFOCALE | 217 |
| 13.6.1 I laser | 218 |
| 13.6.2 I pinhole | 219 |
| 13.6.3 I fotomoltiplicatori | 220 |
| 13.6.4 Che cosa significa confocale? | 220 |
| 13.7 SEZIONI OTTICHE E RICOSTRUZIONI 3D | 221 |
| 13.8 APPLICAZIONI DELLA MICROSCOPIA CONFOCALE | 223 |
| 13.8.1 FRET e FRAP | 225 |
| 13.9 ALTRI TIPI DI MICROSCOPI CONFOCALI | 226 |
| 13.9.1 Microscopio confocale a disco di Nipkow | 226 |
| 13.9.2 Microscopio confocale multifotone | 227 |
| 13.10 LA MICROSCOPIA CONFOCALE SU CAMPIONI VEGETALI | 228 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 229 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 229 |

14 Microscopia elettronica 231

A. Valletta

| | |
|--|-----|
| 14.1 MICROSCOPIA ELETTRONICA A SCANSIONE | 231 |
| 14.1.1 SEM | 232 |
| 14.1.2 Interazione tra il fascio elettronico incidente e il campione e generazione dei segnali | 233 |
| Elettroni secondari (SE, <i>Secondary Electrons</i>) | 234 |
| Elettroni retrodiffusi (BSE, <i>Back-Scattered Electrons</i>) | 234 |
| Radiazione X | 235 |
| 14.1.3 Preparazione del campione | 236 |
| Fissazione e disidratazione | 236 |
| Essiccamento | 236 |
| Metallizzazione | 236 |
| 14.1.4 ESEM | 236 |
| 14.2 MICROSCOPIA ELETTRONICA A TRASMISSIONE | 238 |
| 14.2.1 TEM | 238 |
| 14.2.2 Preparazione dei campioni biologici per l'osservazione al TEM | 239 |
| Prelievo | 239 |
| Fissazione | 240 |

| | |
|---------------------------------------|-----|
| Disidratazione | 240 |
| Infiltrazione ed inclusione | 241 |
| Taglio | 241 |
| Colorazione | 242 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 242 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 242 |

15 Ibridazione *in situ* e immunocitochimica 243

C. Forni

| | |
|---|-----|
| 15.1 IBRIDAZIONE <i>IN SITU</i> | 243 |
| 15.1.1 Scelta della sonda | 243 |
| 15.2 PREPARAZIONE DEL CAMPIONE, IBRIDAZIONE E LAVAGGI | 245 |
| 15.2.1 Preparazione del campione | 245 |
| 15.2.2 Ibridazione | 246 |
| 15.2.3 Specificità dell'ibridazione | 248 |
| 15.3 IBRIDAZIONE <i>IN SITU</i> FLUORESCENTE (FISH) | 249 |
| 15.4 IMMUNOCITOCHIMICA | 250 |
| 15.4.1 Antigeni ed anticorpi | 252 |
| 15.5 IMMUNOLOCAZZAZIONE | 253 |
| 15.5.1 Marker | 253 |
| 15.5.2 Preparazione del campione | 253 |
| Fissazione | 253 |
| Inclusione | 254 |
| 15.5.3 Metodi per IEM | 254 |
| Metodi pre-embedding | 254 |
| Metodi post-embedding | 254 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 255 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 256 |

16 Genomica 257

N. D'Agostino

| | |
|---|-----|
| 16.1 STRATEGIE E TECNOLOGIE DI SEQUENZIAMENTO | 257 |
| 16.1.1 Tecnologie di sequenziamento di prima e di nuova generazione | 258 |
| 16.1.2 Tecnologie di sequenziamento di terza generazione | 260 |
| 16.2 ASSEMBLAGGIO DEI GENOMI | 261 |
| 16.2.1 Perché assemblare il genoma delle piante è laborioso | 261 |
| 16.2.2 Algoritmi di assemblaggio delle sequenze | 262 |
| 16.2.3 Assemblaggio del genoma o scaffolding | 264 |
| 16.2.4 Valutazione della qualità di un assemblaggio | 266 |
| 16.3 ALLINEAMENTO DELLE <i>READ</i> LUNGO UN GENOMA DI RIFERIMENTO | 266 |
| 16.4 ANNOTAZIONE DEI GENOMI | 267 |
| 16.4.1 Annotazione strutturale | 267 |
| 16.4.2 Annotazione funzionale | 269 |
| 16.5 GENOMICA COMPARATIVA | 269 |
| 16.6 PANGENOMA | 270 |
| 16.7 DAI GENOMI DI RIFERIMENTO ALLA GENOMICA DI POPOLAZIONI | 271 |
| 16.7.1 SNP <i>array</i> | 272 |

| | |
|---|-----|
| 16.7.2 Risequenziamento dei genomi (<i>Whole Genome Resequencing, WGR</i>) | 272 |
| 16.7.3 Sequenziamento a rappresentazione ridotta | 272 |
| 16.7.4 Cattura, arricchimento e sequenziamento di regioni bersaglio | 273 |
| 16.7.5 <i>Pipeline</i> per la chiamata degli SNP e analisi della struttura di una popolazione | 273 |
| 16.7.6 Fenotipizzazione | 274 |
| 16.7.7 Studi di associazione <i>genome-wide</i> | 274 |
| 16.7.8 Selezione genomica (<i>Genomic Selection, GS</i>) | 275 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 276 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 276 |

17 Trascrittomica 277

L. Lanfranco

| | |
|---|-----|
| 17.1 RT-PCR QUANTITATIVA | 277 |
| 17.2 ARRAY | 280 |
| 17.3 SEQUENZIAMENTO | 283 |
| 17.4 PROFILI DI ESPRESSIONE GENICA: DAGLI ORGANI ALLE CELLULE | 286 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 287 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 288 |

18 Proteomica 289

C. Forni

| | |
|---|-----|
| 18.1 PROTEOMA | 289 |
| 18.1.1 Separazione delle proteine | 290 |
| 18.1.2 Profili proteici | 292 |
| 18.1.3 Spettrometria di massa | 292 |
| 18.1.4 Proteomica quantitativa | 294 |
| Marcatura post-estrazione | 294 |
| Tecniche di marcatura <i>in vivo</i> | 294 |
| Metodi privi di marcatura | 294 |
| 18.1.5 Purificazione per affinità di complessi proteici | 295 |
| 18.2 PROTEOMICA DEGLI ORGANELLI | 295 |
| 18.2.1 Isolamento degli organelli | 295 |
| 18.3 PROFILO QUANTITATIVO DELLE FOSFOPROTEINE | 298 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 298 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 298 |

19 Metabolomica 299

E. Brasili, A. Miccheli

| | |
|---|-----|
| 19.1 STRATEGIE E TECNOLOGIE PER LA METABOLOMICA | 300 |
| 19.2 ANALISI MULTIVARIATA DEI DATI E MODELLI STATISTICI | 302 |
| 19.3 ANALISI DEI FLUSSI METABOLICI MEDIANTE IMPIEGO DI SUBSTRATI MARCATI CON ¹³ C: ANALISI DEGLI ISOTOPOMERI | 304 |
| 19.4 LA METABOLOMICA PER LO STUDIO DELLE PIANTE | 305 |
| 19.4.1 Metodologie per l'analisi metabolomica di campioni vegetali mediante ¹ H-RMN | 306 |

| | |
|---|-----|
| 19.4.2 Applicazioni della metabolomica nella biologia vegetale | 308 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 310 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 311 |

20 Lipidomica 313

M. Reverberi

| | |
|--|-----|
| 20.1 INTRODUZIONE E METODOLOGIA | 313 |
| 20.1.1 Lipidomica basata sulla spettrometria di massa | 313 |
| 20.1.2 Analisi dei dati lipidomici | 314 |
| 20.2 LA LIPIDOMICA APPLICATA AI SISTEMI VEGETALI | 316 |

| | |
|--|-----|
| 20.2.1 Le principali classi lipidiche nei vegetali | 316 |
| 20.2.2 Approccio lipidomico per studiare la modulazione dei lipidi conseguente a stress | 317 |
| 20.2.3 Lipidi con funzioni ormonali – gli jasmonati | 318 |
| 20.3 LA LIPIDOMICA APPLICATA ALLE INTERAZIONI TRA PIANTE E MICRORGANISMI | 319 |
| 20.3.1 Interazioni pianta-virus | 321 |
| 20.3.2 Interazioni pianta-batteri | 322 |
| 20.3.3 Interazioni pianta-funghi | 324 |
| LETTURE DI APPROFONDIMENTO | 327 |
| DOMANDE DI VERIFICA | 327 |

Indice analitico 329

